

**T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VAKUM AMBALAJDA DEPOLANAN TAVUK GÖĞÜS
FİLETOLARININ BOZULMASINI KONTROL ETMEK
İÇİN ERİK EKŞİSİ BAZLI MARİNATA EKLENEN
LİNALOL VE ÖJENOLÜN ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Merva Nur ATASOY**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Hilal YILDIZ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Şubat 2023
NEVŞEHİR**

**T.C.
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VAKUM AMBALAJDA DEPOLANAN TAVUK GÖĞÜS
FİLETOLARININ BOZULMASINI KONTROL ETMEK
İÇİN ERİK EKŞİSİ BAZLI MARİNATA EKLENEN
LİNALOL VE ÖJENOLÜN ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ**

**Tezi Hazırlayan
Merva Nur ATASOY**

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Hilal YILDIZ**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Şubat 2023
NEVŞEHİR**

Doç. Dr. Hilal YILDIZ danışmanlığında Merva Nur ATASOY tarafından hazırlanan **"Vakum ambalajda depolanan tavuk göğüs filetoalarının bozulmasını kontrol etmek için erik ekşisi bazlı marinata eklenen linalol ve öjenolün antimikrobiyal etkisi"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.../.../2023

JÜRİ

Başkan : Prof. Dr. Zülal KESMEN

Üye : Doç. Dr. Hilal YILDIZ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Bülent ZORLUGENÇ

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun.....tarih ve..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.../.../2023

Doç. Dr. Cemal ÇARBOĞA
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Merva Nur ATASOY



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince akademik bilgi birikimini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini esirgemeyen ve tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve yazımında büyük emeği olan, aynı zamanda kişilik olarak da bana çok şey katan değerli hocam Doç. Dr. Hilal YILDIZ'a,

Çalışmalarım boyunca akademik desteklerini ve yönlendirmelerini esirgemeyen 2. danışmanım sayın Dr. Öğr. Üyesi Bahar Tuba FINDIK'a,

Teknik ve idari yardımlarından dolayı Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Rektörlüğü'ne, Mühendislik- Mimarlık Fakültesi Dekanlığı'na, Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na,

Bugünlere gelmemde en büyük rolü oynayan, beni her konuda destekleyen canımdan çok sevdiğim, babam Mehmet İLİKHAN, annem Melek İLİKHAN ve kardeşlerim Demet, Abdullah ve Özcan Cenk İLİKHAN'a,

Her an yanımda olan, bana maddi ve manevi destek vermekten hiç çekinmeyen, biricik eşim, hayat yoldaşım Yusuf ATASOY'a,

Uzaklardan bana destek olan çok sevdiğim arkadaşlarım, dostlarım Seher Hatun, Şeyma Kargı Gül ve Merve Vahide Bilen'e, Nevşehir'de bana yoldaş, arkadaş olan Tagina Jalili, Tareq DBL ve Cansel Başaran'a

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

**VAKUM AMBALAJDA DEPOLANAN TAVUK GÖĞÜS FİLETOLARININ
BOZULMASINI KONTROL ETMEK İÇİN ERİK EKŞİSİ BAZLI MARİNATA
EKLENEN LİNALOL VE ÖJENOLÜN ANTİMİKROBİYAL ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Merva Nur ATASOY

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2023

ÖZET

Araştırmada, vakum ambalajda depolanan tavuk göğüs filetolarının bozulmasını kontrol etmek için erik ekşisi bazlı marinata eklenen linalol ve öjenolün *in vitro* ve *ex situ* antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde linalol ve öjenolün sekiz adet gıda kaynaklı referans patojen bakteri suşu üzerine *in vitro* antimikrobiyal etkinlikleri disk difüzyon ve rezasurin-broth mikrodilüsyon yöntemleri ile belirlenmiştir. Sonuçlar *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 suşunun her iki aktif esansiyel yağ bileşenine en duyarlı, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032 suşunun ise en dirençli bakteri olduğunu göstermiştir. Araştırmanın ikinci bölümünde ise linalol ve öjenolün *ex situ* uygulamaları için model gıda olarak tavuk göğüs filetoları kullanılmıştır. Vakum ambalaj koşullarında 4 °C’de 9 gün depolanan marine tavuk göğüs filetolarına iki farklı konsantrasyonda (%0.15 ve %0.30) eklenen linalol ve öjenolün antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Örnekler depolama periyodunun 0, 3, 6 ve 9. günlerinde pH değerleri ve mikrobiyolojik (toplam aerob mezofil bakteri (TAMB), *Pseudomonas* spp., laktik asit bakterileri (LAB), toplam koliform ve maya-küf) açıdan incelenmiştir. Veriler, test edilen mikroorganizmalar arasında TAMB ve *Pseudomonas* spp.’nin tavuk örneklerinde en baskın mikroorganizmalar olduğunu göstermiştir. Ek olarak aktif esansiyel yağ bileşenlerinin kullanımının bozucu mikroorganizmaların gelişimini geciktirdiği, TAMB ve *Pseudomonas* spp. sayısını depolamanın 9. gününde kontrol örneğine göre sırasıyla 0.95-2.19 ve 0.75-2.10 log birim azalttığı tespit edilmiştir ($p<.000$). LAB sayısı ise tüm deneme gruplarında kontrol örneğine göre depolamanın 9. gününde 0.79-1.68 log birim

azalmıştır ($p<.000$). Maya sayısı depolamanın son gününde, kontrol ve diğer gruplara göre öjenol içeren deneme gruplarında önemli ölçüde düşüş sergilemiştir ($p<.000$). Kontrol ve deneme grupları duyuşal özellikler (tat, koku, aroma, lezzet, renk, yumuşaklık, sululuk ve genel beğenilirlik) açısından da incelenmiş ve bulgular tavuk göğüs filetolarına aktif uçucu yağ bileşeni uygulamasının ürüne farklı bir aroma ve lezzet kattığını, öjenol içeren örneklerin tüketici kabulü açısından linalol içeren örneklere göre daha beğenilir olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Tavuk göğüs filetosu, marinasyon, aktif esansiyel yağ bileşenleri, antimikrobiyal aktivite, muhafaza

Tez Danışman: Doç. Dr. Hilal YILDIZ

Sayfa Adeti:87

**ANTIMICROBIAL EFFECT OF LINALOOL AND EUGENOL ADDED TO
PLUM-SOUR SAUCE-BASED MARINADE TO CONTROL THE SPOILAGE
OF CHICKEN BREAST FILLETS STORED IN A VACUUM PACKAGE**

(M. Sc. Thesis)

Merva Nur ATASOY

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

February 2023

ABSTRACT

In this study, the *in vitro* and *ex situ* antimicrobial effects of linalool and eugenol added to a plum-sour sauce-based marinade were investigated in order to control the spoilage of chicken breast fillets stored in vacuum packaging. In the first part of the study, the *in vitro* antimicrobial activities of linalool and eugenol against eight foodborne pathogenic bacteria were determined using disc diffusion and resazurin-broth microdilution methods. The results showed that *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 was the most sensitive strain to both active essential oil components, while *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032 was the most resistant strain. In the second part of the study, chicken breast fillets were used as model food for *ex situ* applications of linalool and eugenol. The antimicrobial effects of two different concentrations (0.15% and 0.30%) of linalool and eugenol added to marinated chicken breast fillets stored at 4 °C for 9 days under vacuum packaging conditions were investigated. The pH values and microbiological quality (total aerobic mesophyll bacteria (TAMB), *Pseudomonas* spp., lactic acid bacteria (LAB), total coliforms, and yeast and mold) of the samples were examined on days 0, 3, 6, and 9 of the storage period. The data indicated that TAMB and *Pseudomonas* spp. were the most dominant microorganisms in chicken samples. Additionally, it was determined that the usage of active essential oil components delayed the growth of spoilage microorganisms and reduced the number of TAMB and *Pseudomonas* spp. on the 9th day of storage in comparison to the control sample by 0.95-2.19 log units and 0.75-2.10 log units, respectively ($p<.000$). The number of LABs in all experimental groups decreased by 0.79-1.68 log units on the 9th day of storage compared to the control sample ($p<.000$). Yeast

count decreased significantly in the experimental groups containing eugenol compared to the control and other groups on the last day of storage ($p<.000$). The sensory properties of the control and experimental groups were also analyzed based on six sensory attributes: taste, smell, aroma, flavor, color, softness, juiciness, and general acceptability. The findings demonstrated that the application of active essential oil components to chicken breast fillets gave the product a different aroma and flavor and that the samples containing eugenol had a higher score for consumer acceptance compared with the samples containing linalool.

Keywords: Chicken breast fillet, marination, active essential oil compounds, antimicrobial activity, preservation

Thesis Supervisor: Assoc. Dr. Hilal YILDIZ

Page Number:87

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİM SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGELER ve KISATMALAR LİSTESİ	xii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1. Amaç ve Kapsam	1
BÖLÜM 2	4
KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Tavuk eti.....	4
2.2. Esansiyel yağlar ve aktif esansiyel yağ bileşenleri	5
2.2.1. Linalol	9
2.2.2. Öjenol.....	10
2.3. Marinasyon.....	12
BÖLÜM 3	17
MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal	17
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin (öjenol ve linalol) <i>in vitro</i> antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi	17
3.2.1.1. Agar disk difüzyon metodu	18
3.2.1.2. Rezasurin-Broth mikrodilüsyon metodu	19
3.2.2. Linalol ve öjenolün tavuk göğüs filetoları üzerine etkilerinin incelenmesi.....	21
3.2.2.1. Marinasyon sıvısı ve deneme gruplarının hazırlanması.....	21
3.2.2.2. pH analizi	22
3.2.2.3. Mikrobiyolojik analizler	22
3.2.2.3.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı	22
3.2.2.3.2. Laktik asit bakterileri (LAB) sayımı	23
3.2.2.3.3. <i>Pseudomonas</i> spp. bakteri sayımı	23
3.2.2.3.4. Maya ve küf sayımı	23

3.2.2.3.5. Toplam koliform grubu bakteri sayımı	23
3.2.3. Duyusal Analiz.....	24
3.2.4. İstatistiksel Analiz.....	25
BÖLÜM 4	26
TARTIŞMA ve BULGULAR.....	26
4.1. Linalol ve öjenolün gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı <i>in vitro</i> antimikrobiyal aktivite sonuçları	26
4.1.1. Agar disk difüzyon analiz sonuçları.....	26
4.1.2. Rezasurin-Broth mikrodilüsyon analiz sonuçları.....	36
4.2. Linalol ve öjenolün tavuk göğüs filetolarının mikrobiyal kaliteleri üzerine etkileri	40
4.2.1. pH analiz sonuçları.....	41
4.2.2. Mikrobiyolojik analiz sonuçları	42
4.2.2.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı.....	43
4.2.2.2. <i>Pseudomonas</i> sayısı	46
4.2.2.3. LAB sayısı.....	49
4.2.2.4. Koliform sayısı.....	51
4.2.2.5. Maya ve küf sayısı	52
4.2.2.6. Duyusal analiz sonuçları	54
BÖLÜM 5	57
SONUÇ ve ÖNERİLER.....	57
KAYNAKLAR	62
EKLER.....	80
ÖZGEÇMİŞ	87

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1.	Duyusal değerlendirme panel formu	24
Tablo 4.1.	Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon zon çapları.....	27
Tablo 4.2.	Test edilen mikroorganizmalara karşı linalol ve öjenolün MİK değerleri ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	37



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1.	Disklerin petri kutularına yerleştirilimi	19
Şekil 3.2.	Mikrodilüsyon yönteminde kullanılan 96-kuyucuklu U-tabanlı mikroplak	20
Şekil 4.1.	Linalol (858 µg/µL), öjenol (1060 µg/µL) ve pozitif kontrollerin (1 µg/µL) gıda kaynaklı patojenler üzerine inhibisyon zon çapları (mm)	30
Şekil 4.2.	Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince pH değişimleri	41
Şekil 4.3.	Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk eti örneklerinin Total Aerob Mezofil Bakteri sayısı.....	44
Şekil 4.4.	Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin <i>Pseudomonas</i> sayısı (log KOB/g)	47
Şekil 4.5.	Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin LAB sayısı (log KOB/g).....	50
Şekil 4.6.	Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin koliform bakteri sayısı (log KOB/g).....	52
Şekil 4.7.	Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin maya-küf sayısı (log KOB/g)	53
Şekil 4.8.	Marine tavuk göğüs filetoalarının duyuşal profili.....	55

SİMGELER ve KISATMALAR LİSTESİ

Simgeler	Açıklamalar
γ	Gama
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
g	Gram
kg	Kilogram
mg	Miligram
μ g	Mikrogram
mL	Mililitre
μ l	Mikrolitre
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir

Kısaltmalar	Açıklamalar
CLSI	Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü
DMSO	Dimetil sülfoksit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EO	Esansiyel yağ
EUCAST	Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi
FDA	Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
GRAS	Genel olarak güvenilir kabul edilen
KOB	Koloni oluşturan birim
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyonu
MRS	Man Rogosa Sharpe Agar
PCA	Plate Count Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
TAMB	Toplam aerob mezofil bakteri
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler
VRB	Violet Red Bile Agar
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Amaç ve Kapsam

Sağlıklı yaşamın en önemli yapıtaşı olan gıda güvenliği, gündelik yaşamda doğal çevrede bulunan patojenik mikroorganizmalar tarafından tehdit edilebilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) her on kişiden birinin bakteriyel patojenlerle enfekte olan gıdaları tükettikten sonra hastalandığını, kontamine olmuş gıda ürünlerinin tüketimi ile yılda 600 milyona yakın kişinin enfeksiyona bağlı hastalık geçirdiğini ve 420 bin kişinin öldüğünü bildirmektedir [1,2]. Dolayısıyla insan sağlığına yönelik en büyük tehditlerden biri olan gıda güvenliği konuları dünya çapında büyük ilgi görmektedir [3].

Gıda güvenliğini tehdit eden gıda kaynaklı hastalıklar hem önemli halk sağlığı sorunlarına hem de ekonomik ve sosyal yüklere neden olmaktadır. Bu hastalıkların etkileri, artan nüfus hareketliliği ve gıda arzının küreselleşmesi ile artış sergilemektedir [4]. Gıda kaynaklı mikroorganizmalar ciddi ve ölümcül hastalıklara neden olabildikleri gibi gıdaların bozulmasından da sorumludurlar. Bozucu mikroorganizmaların bir gıdadaki varlığı ve gelişimi gıda bozulmalarının ana nedenlerinden biridir. Bu mikroorganizmalar gıdaların üretimi, nakliyesi, depolanması ve satışı sırasında yeterli önlemler alınmadığı takdirde gıdaları kontamine edebilmektedir [5].

Kırmızı et, kanatlı eti, süt, yumurta, meyve, sebze ve bunlardan hazırlanmış gıdalar kolay bozulabilen, yenilebilir çiftlik ve tarım ürünleri olarak tanımlanmaktadır [6]. Kolay bozulabilen bu ürünler arasında önemli yeri olan tavuk etinin üretimi ve tüketiminin son yıllarda dünya çapında kademeli olarak arttığı ve 2022 yılında sırasıyla 100 ve 98 milyon tona ulaştığı bildirilmiştir. Kanatlı eti tüketiminin son yıllarda küresel olarak artan bir trende ulaşmasında düşük maliyeti, yüksek besin değeri, düşük yağ içeriği ve yaygın olarak kabul edilebilir lezzeti gelmektedir [7,8]. Sağlıklı özelliklerinin yanısıra kanatlı etleri *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. ve *Listeria monocytogenes* gibi gıda kaynaklı enterik patojenlerin rezervuarı olmaları ve yüksek mikrobiyal yükleri nedeniyle gıda güvenliği açısından riskli ürünlerdir [9].

Marinasyon; etin daha yumuşak, daha gevrek ve lezzetli olmasını sağlayan ve yüzyıllardır farklı medeniyetler tarafından kullanılan bir işlemdir. Etin tuzlara maruz bırakıldığı bir işlem olan marinasyon sayesinde, kullanılan marinasyonun içeriğine bağlı olarak ürün mikrobiyolojik açıdan daha güvenli hale getirilebilmektedir [10]. Yapılan literatür araştırmalarında et marinasyonu amacıyla kullanılan materyaller arasında genellikle kekik yağı, kırmızı şarap, limon ve nar suyu, sirke, soya sosu, soğan suyu, koruk suyu, zeytinyağı ve yoğurt bulunmaktadır [11]. Marinasyon sıvılarına aktif esansiyel yağ bileşenlerinin eklenmesi ise son zamanlarda ilgi odağı olmuş ve ürünlerin tat, aroma ve mikrobiyolojik kalitesinin artırılmasına yönelik araştırmalar yürütülmeye başlanmıştır. Bununla birlikte marinasyon sıvısına baz olarak eklenmesi planlanan erik ekşisi ise ilk kez bu çalışmada denenecektir.

Sentetik katkı maddelerine (sorbit ve benzoat gibi) karşı doğal alternatiflerin (esansiyel yağlar gibi) popülaritesi gün geçtikçe artmaktadır [12]. Doğal katkı maddeleri arasında yer alan esansiyel yağlar bitkilerin ikincil metabolizmasının kokulu ve uçucu bileşenleri olup oldukça geniş bir uygulama alanına sahiptirler [13]. Bu yağların içeriğinde; terpenoid, asit, alkol, aldehit, alifatik hidrokarbonlar, laktonlar, nadiren nitrojen ve sülfür bileşenleri, kumarinler ve fenil propanoidlerin homologları yer alır [14]. Bu bileşenlerden monoterpen ve fenilpropanoid gibi sekonder metabolitler gıda endüstrisinde kullanım potansiyeli taşırlar [15]. Öjenol gibi fenilpropanoidler gıdaların aroma ve lezzetinden sorumlu temel bileşenlerdir [16]. Linalol gibi monoterpenler ise gıda ürünlerinin lezzet özellikleri ve kabulü açısından belirleyici olduğu düşünülen meyvemsi, çiçeksi, nanemsi, otsu, kafurlu, odunsu, çamımsı, baharatlı ve turunçgil aromalarla ilgilidir. Ek olarak, bu bileşikler veya monoterpenlerce zengin esansiyel yağlar biyoyakıt, tıp, kozmetik, tarım ve biyoteknoloji endüstrilerinde de kullanılmaktadırlar [17].

Öjenol ($C_{10}H_{12}O_2$) karanfil, tulsı (hint fesleğeni), şerbetçiotu, kişniş ve fesleğen gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların ana komponenti iken [18], linalol ($C_{10}H_{18}O$) ise kişniş, lavanta ve fesleğenden elde edilen uçucu yağların ana komponenti olup her iki aktif bileşen antioksidan, antimikrobiyal, antitümoral, antiinflamatuvar etkinliğe sahiptir [19,20]. Bitkilerden ekstrakte edilen uçucu yağların bakteri ve küflere karşı *in vitro* antimikrobiyal etkileri konusunda bugüne kadar yoğun araştırmalar yapılmışken, bu konuda hem uçucu yağların hem de uçucu yağların ihtiva ettiği aktif bileşenlerin gıda

model sistemlerinde uygulamalarına yönelik araştırmalar son yıllarda yürütülmeye başlanmıştır. Dahası, marine edilmiş tavuk etinin bozucu mikrobiyotası üzerine, aktif esansiyel yağ bileşenlerinin etkileri hakkında çok az bilgiye rastlanmıştır.

Rosaceae familyasının bir yesi olan erik (*Prunus salicina* L.) hoş rengi, lezzetli tadı ve zengin biyolojik aktif maddeleriyle bilinir. Genellikle taze meyve olarak tketilmelerine rağmen olgun erikler çabuk bozulur ve bu nedenle meyve suyu, reel veya konserve olarak işlenir [21]. Erik ekşisi de bu işleme yöntemlerinden biri olup ülkemizde evsel üretimi olan bir üründür.

Gıda kaybının engellenmesi, gıda güvenliği ve et üretiminin sürdürülebilirliğinin sağlanması adına et ve et ürünlerinde hem patojenlerin hem de bozucu mikroorganizmaların kontrol altına alınması ve bu ürünlerin raf ömürlerinin uzatılması amacı ile yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Literatürde marine edilmiş tavuk etlerinin güvenliği, duysal veya fiziko-kimyasal kalitesi ile ilgili [11,12,22-25] araştırmalara rastlanırken, marinata eklenen aktif esansiyel yağ bileşenlerinin gıda kaynaklı patojen ve tavuk etinin bozucu mikroflorası üzerine etkilerini araştıran çok az çalışma mevcuttur [22,26]. Varolan kısıtlı sayıda çalışmada timol, karvakrol gibi aktif esansiyel yağ bileşenlerinin ve ambalajlama yöntemlerinin marine edilmiş tavuğun raf ömrü üzerindeki kombine etkileri ile *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella*'ya karşı soğuk atmosferik plazma ve linalol nanoemülsiyonlarının tüketime hazır tavuk eti üzerindeki antibakteriyal etkisi incelenmiştir.

Bu tez çalışması ile tavuk etinin marinasyonu işleminde erik ekşisi ve aktif esansiyel yağ bileşenleri (linalol, öjenol) kullanılarak, kanatlı et kalitesini ve küresel pazarın sürekli devam eden ihtiyaını karşılamada önemli bir faktör olan raf ömrü üzerine, bu marinatların nasıl ve ne derecede etki ettiği ortaya konulmuştur. Araştırma kapsamında gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı linalol ve öjenolün *in vitro* antimikrobiyal etkileri de incelenmiştir. Model gıda olarak seçilen tavuk etinden hazırlanan deneme grupları için planlanan deneyler iki tekrarlı yürütülmüş ve her tekrar için üç örnek mikrobiyolojik analizler ve pH parametreleri açısından analiz edilmiştir. Depolama süresince ilgili parametreler ile aktif uçucu yağ bileşenlerinin ilişkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

BÖLÜM 2

KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Tavuk eti

Yeterli ve dengeli beslenme için gerek duyulan besin öğelerinin (protein, mineral, vitamin ve karbonhidrat) karşılanmasında ilk sırada hayvansal kaynaklı gıdalar yer almaktadır [27]. Hayvansal gıda ürünleri arasında yer alan tavuk eti; yüksek kaliteli protein, düşük yağ miktarı, yüksek doymamış yağ asitleri, düşük kolesterol ve sodyum içeriği nedeniyle kaliteli bir et olarak kabul edilir [28,29]. Tavuk her yerde yaşayabilen, kolay çoğaltılabilen ve istenilen et verimine kısa sürede ulaşılabilen ekonomik bir hayvan türüdür. Üretim maliyetlerinin ve yağ miktarının düşük olması, önemli ölçüde protein ve diğer besin bileşenlerinin kaynağı olması nedeniyle son yıllarda diğer et ürünlerine göre tavuk ve kümes hayvanlarının tüketimi oldukça artmıştır [27,30,31].

Diğer taraftan et ve et ürünleri mikrobiyal ve oksidatif bozulmaya yatkın gıda maddelerinin başında gelmektedirler [32]. Taze tavuk eti içerdiği zengin besin öğeleri ve su miktarı, nötr pH'ya sahip olması ve aerobik depolama koşullarında muhafazası dolayısıyla bakterilerin gelişimini destekleyen bir materyaldir. Raf ömrü buzdolabı koşullarında 4 veya 5 gün ile sınırlı olan tavuk etinin [31] bu kısa raf ömrünün; tekstürel değişiklikler, kötü kokular ve istenmeyen tatlar olarak ortaya çıkabilen mikrobiyal aktiviteden kaynaklandığı iyi bilinmektedir [33]. Mikroorganizmalardan kaynaklanan bu et bozulmaları ise çok büyük ekonomik kayıplara neden olabilmektedir [8].

Tavuk etinde koliformlar, psikrofiller, toplam aerob mezofil bakteriler (TAMB), maya ve küfler bozulmaya sebep olan mikroorganizmalardır. En sık rastlanan bakteriler arasında *Enterobacter*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Acinetobacter* ve *Moraxella* cinslerine ait türler yer almakta ve ürünün kalite indikatörleri olarak değerlendirilmektedirler. Tavuk etlerinden izole edilen sağlığa zararlı bakteriler ise *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Aeromonas* ve *Enterococcus* cins ve türleridir [34]. Yapılan

araştırmalar, tavuk etinde toplam aerob mezofil bakteri sayısının yüksek değerlerde saptanmasının patojenik ve saprofit mikroorganizmaların varlığının göstergesi olduğunu bildirmektedir [35-37].

Et endüstrisi için önemli ekonomik kayıplara yol açan bu bozulmalar, kümes hayvanı ve kümes hayvanı ürünlerine uzun raf ömrü sağlayan ve aynı zamanda tüketicilerin güvenli, kaliteli ve lezzetli ürün taleplerini karşılayan etkili ve doğal koruma yöntemleri ihtiyacını doğurmuştur [33]. Bu ihtiyaçtan yola çıkılarak son zamanlarda araştırmacılar gıda güvenliğini arttırmak ve raf ömrünü uzatmak amacı ile doğal biyokoruyucu olan esansiyel yağlara ve bunların aktif bileşenlerine odaklanmıştır [22].

2.2. Esansiyel yağlar ve aktif esansiyel yağ bileşenleri

Esansiyel yağlar (EO) doğal bitkilerden elde edilen konsantre uçucu aromatik sıvılardır. Bitkilerin köklerinden, tohumlarından, çiçeklerinden, yapraklarından, kabuklarından, toprak altı parçalarından, gamlarından veya reçinelerinden ikincil metabolitler olarak üretilen uçucu yağlar bitki savunma mekanizmasında önemli rol oynarlar [19,38-40]. EO düşük moleküler ağırlıklı uçucu kimyasal bileşiklerin değişken miktarlardaki karmaşık kombinasyonlarıdır ve kimyasal olarak alkoller, esterler, aldehitler, epoksitler, fenoller, kumarinler, eterler, ketonlar, asitler ve diğer bileşenleri içeren kompleks bir karışımdır [40-42]. Genellikle yağ kanallarında, reçine kanallarında ve bitkilerin trikomlarında depolanan EO konsantre ve hidrofobiktirler. Farklı bitki kaynaklarından elde edilen EO belirgin bir aromanın yanısıra antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiparazitik ve virüsidal aktiviteler gibi çeşitli biyolojik aktiviteler sergilerler [41,42]. EO'ın mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek için hücre duvarını, hücre zarını veya sitoplazmayı hedef aldığı bilinmektedir [43]. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından güvenli maddeler olarak tanınan (GRAS) EO'ın biyolojik olarak parçalanabilirlikleri ve omurgalıları karşı düşük veya toksik olmayan yan etkileri nedeniyle gıda alanında kullanımlarına izin verilmiştir [41,42].

Gıda endüstrisi, gıda kaynaklı patojenik bakterilerin neden olduğu salgınların ortaya çıkmasını önlemek için yoğun çaba sarfetmektedir. Isıl işlem gibi teknolojik koruma yöntemlerinde uygulanan işlemler gıda üzerinde istenmeyen organoleptik değişimlere ve besin değerinde azalmalara neden olabilmektedir. Dolayısıyla hem ürünlerin çeşitliliği,

fiyatı, ulaşılabilirliği, uygunluğu ve kalitesi ile ilgili gereksinimleri olanaklı kılması, hem de teknolojik işlemlerin yoğunluğunu azaltması bakımından kimyasal koruyucu katkı maddelerinin kullanımı vazgeçilmez olmuştur. Bununla birlikte, tüketiciler arasında belirli gıda katkı maddelerinin kullanımına yönelik endişeler dolayısıyla doğal katkı maddelerine bir yöneliş başlamıştır [44,45]. Tüketicilerin sürdürülebilirlik ve sağlık konusundaki artan farkındalığı göz önüne alındığında, EO ve bu yağların aktif bileşenleri doğal alternatifler olarak dikkati çekmiştir. Bugüne kadar esansiyel yağların model gıda uygulamalarına yönelik birtakım araştırmalar yürütülmüş ve oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Shankar ve çalışma arkadaşları (2022) tarafından *L. monocytogenes*, *S. enterica*, *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı antimikrobiyal bir formülasyon geliştirmeye yönelik yürütülen bir araştırmada, kemiksiz tavuk butlarının raf ömrünü uzatmak için dört farklı esansiyel yağa [*Origanum compactum* (oregano), *Thymus satureioides* (kekik), *Cinnamomum verum* (tarçın), *Allium sativum* (sarımsak)] ve gama (γ) ışınlamasına başvurulmuştur. Çalışmada EO'nun ikili, üçlü ve dördü kombinasyonları kullanılmış ve bu kombinasyonlar arasında kekik+oregano+tarçın kombinasyonunun tavuk butlarının raf ömrünü 3 gün, sadece γ ışınlama uygulamasının ise 8 gün uzattığı bildirilmiştir. Diğer taraftan kekik+oregano+tarçın+ γ -ışınlama kombinasyonunun ise tavuk butlarının raf ömrünü 14 gün uzattığı bildirilmiştir [46].

Fратиanni ve çalışma arkadaşları (2010) tavuk göğüs etlerinin raf ömrünü iyileştirmek amacı ile kekik (*Thymus vulgaris*) ve melisa (*Melissa officinalis*) esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, melisa ve kekik esansiyel yağlarının tavuk göğüs etlerinin doğal mikroflora yükünü düşürdüğünü ve kontrol örneği ile karşılaştırıldığında toplam mikroorganizma sayısını neredeyse %50 oranında azalttığını bildirmişlerdir. Ayrıca kekik yağının *E. coli* üzerinde, melisa yağının ise *Salmonella* spp. üzerinde daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir [47].

Ntzimani ve çalışma arkadaşları (2010) hazır bir ürün olan yarı pişmiş tavuk göğüs filetoalarının raf ömrünün uzatılması amacı ile yürüttükleri bir araştırmada, çeşitli antimikrobiyal maddelerin etkinliğini incelemişlerdir. Antimikrobiyal madde olarak biberiye yağı (BY), kekik yağı (KY), lizozim (L) ve etilendiamin tetra asetik asit (EDTA)

seçilmiş ve bu maddelerin farklı kombinasyonları (EDTA+L; EDTA+L+BY; EDTA+L+KY) kullanılarak göğüs filetoları muamele edilmiş, elde edilen örnek grupları vakumlu ve vakumsuz ambalaj ortamında 4 ± 0.5 °C’de 18 gün depolanmıştır. Depolama periyodunun çift günlerinde çeşitli mikrobiyolojik analizler (TAMB, *Pseudomonas* spp., *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacteriaceae*, LAB, maya ve küf) gerçekleştirilerek en etkin antimikrobiyal kombinasyon saptanmıştır. Elde edilen mikrobiyolojik analizler sonucunda EDTA+L+BY ve EDTA+L+KY kombinasyonlarının hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerin gelişimini inhibe eden en etkili kombinasyonlar olduğunu, mayalar üzerinde ise bu kombinasyonların düşük etki sergilediklerini bildirmişlerdir. Sonuç olarak bu kombinasyonların yarı pişmiş tavuk göğüs filetolarının raf ömrünü, kontrol örneklerine göre 7-8 gün uzattığı saptanmıştır. Diğer taraftan kombinasyonlar arasında esansiyel yağ eklenmemiş lizozim ve EDTA kombinasyonunun duyuşal açıdan panelistler tarafından en beğenilen örnek olduğu ve bu kombinasyonun tavuk göğüs filetolarına limon tadı hissi verdiği bildirilmiştir. Biberiye yağının (%0.2 v/w) bulunduğu kombinasyonların ise farklı ama tavsiye edilebilir hoş bir tat ve koku verdiği, kekik yağının ise acımsı tadından dolayı kabul edilebilirliğinin düşük olduğu ifade edilmiştir [48].

Esansiyel yağların antimikrobiyal etkinliklerinin belirlenmesine yönelik yürütölen bir tez çalışmasında, *Laurus nobilis* defne uçucu yağının antibakteriyal etkisi *in vitro* yöntem (disk difüzyon) ile gıda kaynaklı 6 referans mikroorganizma (*S. Typhimurium* ATCC 14028, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis* ATCC 13076, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. aureus* ATCC 25923) üzerinde test edilmiştir. *In vitro* test sonucunda defne uçucu yağının en etkili olduğu suşun *E. coli* ATCC 25922 olduğu belirlenmiştir. Daha sonra *ex situ* denemede model gıda olarak tavuk göğüs eti kullanılmış ve öncelikle tavuk göğüs etleri %5 asetik asit-distile su karışımı ile 45 dakika muamele edilerek örneklerin doğal mikroflorası uzaklaştırılmıştır. Daha sonra *E. coli* ATCC 25922 suşu (240 µL) ile farklı konsantrasyonlarda defne uçucu yağı (160, 200, 240, 280 ve 2400 µL) karıştırılarak tavuk eti yüzeyine sürölmüştür. Örneklerin mikrobiyolojik kalitesi 6 günlük bir depolamanın belirli periyotlarında (0, 1, 3, 5. gün) incelenerek kontrol örneğı ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar tavuk göğüs etine uygulanan defne uçucu yağının tüm konsantrasyonlarının *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı inhibitör etki gösterdiğini ve konsantrasyona bağılı olarak etkinin arttığını göstermiştir [49].

Harmankaya ve Vatansever (2016) karanfil (*Syzygium aromaticum*) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis.*) uçucu yağlarının tavuk etinin raf ömrü üzerine etkisini araştırmışlardır. Her iki uçucu yağın öncelikle *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri, daha sonra tavuk etinin raf ömrü üzerine *ex situ* antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Araştırmacılar karanfil ve biberiye uçucu yağlarının tavuk etinin mikroflorası üzerine etkili olduğunu ancak raf ömrü üzerinde önemli bir etki göstermediğini bildirmişlerdir [30].

Yapılan bir çalışmada, çeşitli esansiyel yağlar (kekik, biberiye veya karanfil) ile zenginleştirilmiş kemiksiz tavuk eti protein filmleri hazırlanmış ve bu filmlerin antimikrobiyal, antioksidan ve fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bu çalışma, kemiksiz tavuk eti protein filmlerinin fizikokimyasal, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin genel olarak esansiyel yağ ilavesiyle iyileştirildiğini ve karanfil esansiyel yağı içeren filmlerin diğer esansiyel yağ içeren filmlere kıyasla en iyi sonuçları gösterdiğini bildirmiştir [50].

Requena ve çalışma arkadaşları (2019) oregano ve karanfil esansiyel yağları ile bunların ana bileşenleri olan karvakrol ve öjenolü içeren beş farklı poli (3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivarelat, PHBV) filmler hazırlamışlardır. Elde edilen bu beş farklı filmin (PHBV: Kontrol, PHBV-OR, PHBV-CLO, PHBV-CA, PHBV-EU) antibakteriyel etkileri hem çeşitli gıda matrikslerinde (tavuk göğsü, peynir, kavun, kabak) hem de *in vitro* koşullarda (*Listeria innocua* ve *E. coli* üzerinde) incelenmiştir. Her bir filmin gıda matrikslerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin *in vitro* testlerden elde edilen sonuçlarla kıyaslandığında daha az dikkat çekici olduğu vurgulanmıştır. *In vitro* testlerde elde edilen antilisterial etkiye rağmen, bu durumun hiçbir gıda matriksinde fark edilmediği bildirilmiştir. Diğer taraftan *ex situ* uygulamalarda *E. coli*'ye karşı en önemli antibakteriyel etkinin peynir ve kabakta gözleendiği hem karvakrol hem de öjenolün en yüksek migrasyonunun ise kavunda tespit edildiği bildirilmiştir [51].

Yapılan bir araştırmada buzdolabı sıcaklığında (4 °C) depolanan taze marine tavuk etinin raf ömrü üzerinde timol, karvakrol ve vakum paketlemenin kombine etkisi araştırılmıştır. Örnekler toplam aerob mezofil bakteri, laktik asit bakterileri, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas spp.*, toplam koliform, *E. coli*, maya ve küf sayısı bakımından incelenmiş

ve sonuçlar aktif esansiyel yağ bileşenlerinin vakum ambalajda depolanan örneklerde ilgili mikroorganizma sayısını önemli ölçüde düşürdüğünü (2.90-3.10 log KOB/g) göstermiştir [22].

Osaili ve çalışma arkadaşları (2021) tarafından yürütülen bir araştırmada marinata eklenen üç farklı aktif uçucu yağ bileşeninin tavuk göğüs etleri üzerindeki antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir. Öncelikle özel bir marinasyon sıvısı hazırlanmış ve bu marinatanın bir bölümüne aktif esansiyel yağ bileşenleri [karvakrol (K), sinnamaldehit (S) ve timol (T)] eklenerek sekiz farklı deneme grubu [CB: Tavuk göğüs eti; CBM: Marine edilmiş tavuk göğüs eti; %1 KA: Marine edilmiş tavuk göğüs eti ve %1 K; %2 K: Marine edilmiş tavuk göğüs eti ve %2 KA; %1 SA: Marine edilmiş tavuk göğüs eti ve %1 SA; %2 SA: Marine edilmiş tavuk göğüs eti ve %2 SA; %1 TM: Marine edilmiş tavuk göğüs eti ve %1 TM; %2 TM: Marine edilmiş tavuk göğüs eti ve %2 TM] hazırlanmıştır. Daha sonra taze tavuk göğüs etleri gıda kaynaklı patojenler (*L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. ve *E. coli* O157:H7) ile inoküle edilmiş ve esansiyel uçucu yağ içeren ve içermeyen marinatlara ile marine edilmiştir. 10 °C'de depolanan marine örneklerde *L. monocytogenes* sayısının kontrol örneğine göre 4. ve 7. günde 2.4 log KOB/g azaldığı, marinata aktif esansiyel yağ bileşenlerinin eklenmesinin ise 4 °C ve 10 °C'de depolama sırasında *L. monocytogenes* sayılarını değiştirmedığı bildirilmiştir. *Salmonella* spp. sayılarının ise 10 °C'de saklama sırasında 4. ve 7. günlerde marine edilmemiş numunelere kıyasla yaklaşık 4.9 log KOB/g azaldığı bildirilmiştir. 10 °C'de depolama sırasında marine edilmemiş örneklerle karşılaştırıldığında marine örneklerde depolamanın 4. ve 7. günlerinde *E. coli* O157:H7 sayısının ise yaklaşık 3.3 log KOB/g azaldığı bildirilmiştir. Marinata aktif uçucu yağ bileşenlerinin eklenmesinin patojen sayısında az bir düşüşe yol açtığı, bu bileşenlerin konsantrasyonlarındaki artışın ise durumu değiştirmedığı bildirilmiştir [52].

2.2.1. Linalol

200'den fazla bitki türünden (lavanta, bergamot, kişniş, biberiye, adaçayı, sakız, fesleğen, gül, narenciye vb.) ekstrakte edilen esansiyel yağların bileşiminde bulunan linalol (3,7-dimetil-1,6-oktadien-3-ol/C₁₀H₁₈O) güçlü antimikrobiyal etki gösteren monoterpen bir alkoldür. Lamiaceae/Labiatae familyasına ait lavanta bitkisinden elde edilen esansiyel yağın iki önemli bileşeninden biri linalol asetat (%20-60) iken diğeri linalol (%20-

30)'dür. Bergamot ile tatlandırılmış bir çay çeşidi olarak bilinen early grey çaylarındaki birincil aroma bileşenleri arasında da yer alan linalol, sadece bitkiler tarafından değil aynı zamanda mikroorganizmalar tarafından da sentezlenebilmektedir. Çiçeğimsi kokulardan sorumlu olan (%70) linalol, kimya ve kozmetik sektörleri ile beraber ilaç sektöründe de E vitamini sentezi için öncülük etmektedir. Yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olan linalol gıda endüstrisi için umut vadeci doğal gıda katkı maddesi potansiyeli taşımaktadır [19,53-62].

González-González ve çalışma arkadaşları (2021) tarafından yürütülen bir araştırmada tüketime hazır tavuk etindeki *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* bakterilerine karşı soğuk atmosferik plazma ve linalol nanoemülsiyonlarının antibakteriyal etkisi incelenmiştir. Araştırmacılar linalol nanoemülsiyonun ve cold plazmanın bu iki gıda kaynaklı patojen üzerinde önemli ölçüde antibakteriyal etki gösterdiğini ve bu iki metodun kombinatoryal kullanımının ise yemeğe hazır tavuk etindeki bu patojenlerin dekontaminasyonunu artırdığını bildirmişlerdir [63]. Bir diğer çalışmada ise, linalolün *L. monocytogenes*'e karşı antibakteriyel mekanizması ve tavuk göğüs etinin muhafazası üzerine etkisi incelenmiştir. Araştırma bulguları linalolün gıdanın duyuşal kabul edilebilirliğini etkilemeden, 4 °C'de 9 gün boyunca depolanan tavuk göğüs etindeki *L. monocytogenes* gelişimini etkili bir şekilde azalttığını kanıtlamıştır [64].

2.2.2. Öjenol

Birçok aromatik bitkide (tulsi, tarçın, fesleğen, biber, karanfil, defne, muskat) bulunan fakat esas olarak karanfilden (*Syzygium aromaticum*) izole edilen öjenol (4-alil-2-metoksifenol, C₁₀H₁₂O₂), fenilpropenoidler sınıfına ait uçucu bir biyoaktif bileşendir [42,65]. Karanfil bitkisinin gövde, yaprak ve tomurcuğundan elde edilen karanfil esansiyel yağının ana bileşeni olan öjenol; renksiz veya sarımsı renkli, organik çözücülerde çözünürken suda çözünmeyen, yüksek antimikrobiyal etkiye sahip aktif esansiyel yağ bileşenidir [66,67]. Kimya, eczacılık, ilaç, kozmetik, tarım gibi birçok endüstride çeşitli uygulama alanlarında da kullanılan öjenol FDA tarafından bir gıda katkı maddesi olarak kullanılmak üzere onaylanmış ve son yıllarda mükemmel antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan özelliklerinden dolayı gıdaların korunmasında kullanımı yaygınlaşmıştır [67-71].

Alanazi ve çalışma arkadaşları (2018) tarafından yrtlen bir araştırmada, *Clostridium perfringens* bakterisinin gelişimi ve spor çimlenmesine karşı farklı esansiyel yağ bileşenlerinin (sinamaldehit, öjenol, alil izotiyosiyanat ve karvakrol) inhibitör etkisi *in vitro* ve *ex situ* (tavuk eti) ortamda incelenmiştir. Sonuçlar *in vitro* ortamda sinamaldehit, öjenol ve karvakrol aktif esansiyel yağ bileşenlerinin *C. perfringens*'in spor çimlenmesini %0.05-0.1 oranında düşürdüğünü ancak alil izotiyosiyanatın etkili olmadığını gösterirken, tüm esansiyel yağ bileşenlerinin bakterinin vejetatif hücre gelişimini inhibe ettiğini göstermiştir. Diğer taraftan, *in vitro*'da elde edilen sonuçların aksine test edilen dört aktif bileşen arasında sadece alil izotiyosiyanatın pişirilmif tavuk etinde bakteri sporlarının gelişimini etkili bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir [72]. Bir başka çalışmada ise tavuk kıymasında *Salmonella*'nın termal inaktivasyonu üzerine farklı sıcaklık (55 ve 65°C) uygulamaları ile farklı konsantrasyonlarda gallik asit (%0 ve %2,0) ve öjenol (%0 ve %2,0) kullanımının kombine etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar sıcaklık, gallik asit ve öjenolün tavuk kıymasında bulunan *Salmonella* spp.'nin ısı direncini azaltmada sinerjistik bir etki sergilediğini ve bu etkinin öjenol ile gallik asidin konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiğini göstermiştir [73]. Wagle ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada (2019) tavuk kanat etindeki *C. jejuni*'nin azaltılması üzerine öjenol ile zenginleştirilmif pektin ve kitosan kaplamanın etkinliği incelenmiştir. Sonuçlar, kümes hayvanı rnlerinde *C. jejuni* kontaminasyonuna karşı öjenol ile zenginleştirilmif pektin veya kitosan kaplamanın potansiyel biyokoruyucu bir çözüm olabileceğini ileri srmştir. Bu ürünlerle kaplanan tavuk etlerindeki mikrobiyal yükün 7 günlük depolama sonucunda 2.78 logaritmik bir düşüş sergilediği ve *C. jejuni* bakteri yükündeki yaklaşık 2 logaritmik birim azalmanın insan sağlığını önemli şekilde tehdit eden *Campylobacter* enfeksiyon riskini >%90 oranında azaltacağı da sonuçlar arasında yer almaktadır [74].

Bir diğer çalışmada ise, öjenol (0.1 g/100 g), nane esansiyel yağı (1.0 g/100 g), kitosan 1.0 g/100 g) ve EDTA (35 mg/kg) gibi bileşenlerin tavuk etinden hazırlanan erişteye eklenmesinin örneklerin antioksidan, antimikrobiyal ve duyuşal kaliteleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar öjenol ile muamele edilen tavuk etli eriştelerin daha güçlü antioksidan etki sergilediğini ve mikrobiyolojik kalitelerinin daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca duyuşal analiz sonuçları incelendiğinde öjenol içeren örneklerin

genel kabul edilebilirlik açısından panelistlerden en yüksek puanı aldığı bildirilmiştir [75].

2.3. Marinasyon

Marine etme, çiğ et ürünlerinin duyu niteliklerini (pişmiş ürünün tadı, dokusu, yumuşaklığı, nemliliği) iyileştirmek ve raf ömrünü uzatmak için çeşitli sıvılar ile et ürünlerinin ön inkübasyonunu ifade eder. Marinasyon işlemi ile etin lezzeti ve sululuğu artmakta, sert kaslar yumuşamakta ve raf ömrü uzamaktadır. Dolayısıyla marinasyon ile etin duyu özellikleri iyileşmekte ve mikrobiyolojik kalitesi artmaktadır [12,33,76,77].

Marinatlar çeşitli esansiyel yağlar, aroma bileşenleri, tıbbi aromatik bitkiler veya baharatlar içerdikleri gibi, farklı sos karışımlarından da oluşabilmekte ve marinatların antimikrobiyal aktiviteleri; sahip oldukları düşük pH ve su aktivitesi, içerdikleri antimikrobiyal özelliklere sahip bazı bitki ve katkı maddelerinin varlığından ileri gelmektedir [33,76,78,79].

Marine edilmiş et ürünleri köklü geleneksel gıdalar arasında yer almaktadır [80]. Son yıllarda marinasyon işlemi kanatlı etlerinde de tercih edilmekte ve etin yumuşaklığını ve lezzetini iyileştirmek için genellikle tuz, organik asitler, aromatik bitkiler, baharatlar ve fosfatlar kullanılmaktadır. Kanatlı etlerinde marinasyonun kullanılma sebepleri arasında tüketici talepleri, ürünlerdeki aroma gelişimi, pişirme kayıplarında azalma, su tutma kapasitesinde artış, antimikrobiyal etki ile daha güvenli gıda üretimi, ürünün lezzet, renk, doku gibi duyu özelliklerinde artış sergileyerek ürünün değerini artırması gelmektedir. Araştırmalar, tavuk etlerine uygulanan marinasyon işlemleri sonucunda ürünün kalite, lezzet, sululuk ve yumuşaklık gibi özelliklerinde artış olduğunu bildirmiştir. Aynı zamanda kanatlı etlerinin marinasyonunun sadece etin duyu özelliklerini iyileştirmek için değil, aynı zamanda etin güvenliğini ve kalitesini artırmak için de kullanılacak önemli bir süreç olduğunu ortaya koymuştur [11,81,82].

Lytou ve çalışma arkadaşları (2019) tavuk filetoların doğal bozucu mikroflorasının ve filetolara aşıl原因 *Salmonella* spp.'nin gelişimi üzerine limon ve sirke marinatlarının antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. Araştırmada marinatların içerdiği farklı asitlerin konsantrasyonlarının, kullanılan asit türünün, depolama sıcaklığının ve depolama

süresinin inoküle edilen patojenler ve doğal mikroflora üzerine etkileri belirlenmiştir. Tavuk filetolarının birinci grubu %0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 (v/v) konsantrasyonlarda asetik asit içeren elma sirkesine daldırılırken; ikinci grup %1.0, 2.0, %3.0 ve %4.0 (v/v) sitrik asit içeren limon suyuna daldırılmış; üçüncü grup ise marinasyon işlemi uygulanmayan kontrol grubunu oluşturmuştur. Yüksek konsantrasyonlarda asit içeren marinatların *Salmonella* ve bozulmaya neden olan mikroorganizmalara karşı düşük konsantrasyonda asit içeren marinatlardan daha etkili olduğu, ara konsantrasyonların ise asidik strese karşı mikrobiyal tepkilerde özellikle ilgi çekici farklılaşmalar sergilediği bildirilmiştir. Ayrıca *Salmonella* bakterisinin hayatta kalması ve gelişimi üzerine asetik asidin sitrik asitten daha yüksek bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir [24].

Yapılan bir çalışmada, beş farklı marinatin (limon suyu, elma sirkesi, nar suyu, nar suyu+limon suyu ve elma sirkesi+nar suyu), üç farklı marinasyon sıcaklığı (4, 10, 20 °C) ve beş farklı marinasyon zaman aralığında (1, 3, 6 ve 9 saat) tavuk göğsü filetoları üzerine etkileri mikrobiyal ve duyuşal parametreler dikkate alınarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, seçilen marinatların tavuk göğsü filetolarının doğal mikrobiyotasına karşı etkili olduğunu göstermiştir. Geleneksel olarak kullanılan limon ve sirke marinatlarının nar suyu ile kombine edilmesinin, filetoların organoleptik ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine kabul edilebilir etki gösterdiği bildirilmiştir. Marinasyon sıcaklığının test edilen deneme gruplarının çoğunda önemli bir etkiye sahip olmadığı, üç saat süresince marine edilen örneklerin ise hem mikrobiyolojik kalitelerinin arttığı hem de duyuşal açıdan daha kabul edilebilir olduğu bildirilmiştir [83].

Şengün ve çalışma arkadaşları (2020) marinasyon sıvısı olarak kullandıkları koruk ürünlerinin (koruk suyu ve kurutulmuş koruk posası), kanatlı etlerine inoküle edilen gıda kaynaklı patojenlere (*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* ve *S. Typhimurium*) karşı antimikrobiyal etkilerini incelemiştir. Koruk suyu ile hazırlanan marinasyon formülasyonlarının inaktivasyon etkileri, kurutulmuş koruk posası ile hazırlanan marinasyon sıvılarına göre genel olarak daha etkili bulunmuştur. Sonuçlar, koruk suyu ve kurutulmuş koruk posası ile hazırlanan marinasyon sıvılarının patojen ve inokülasyon seviyesine bağlı olarak kanatlı etlerinin güvenliğini artırmada etkili olduğunu ortaya koymuştur [11].

İncili ve çalışma arkadaşları (2020), klasik ev yapımı bir marinat (domates salçası, kırmızı biber salçası, ayçiçeği yağı, kırmızı biber, karabiber, kimyon, tuz, taze limon suyu, sarımsak) ile tavuk budu, kanat ve göğüs etlerini marine etmiş ve bu marinasyon işleminin tavuk ürünlerinin doğal mikrobiyotası ve deneme tavuk etlerine inoküle edilen *L. monocytogenes* ve *S. Typhimurium*'a karşı antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Sonuçlar, marine edilen tavuk ürünlerinde *S. Typhimurium* sayısının 24 saatte yaklaşık 4.0 log azaldığını, *L. monocytogenes* sayısında ise önemli bir değişiklik olmadığını göstermiştir. Diğer yandan çalışmada kullanılan ev yapımı marinatın *S. Typhimurium* ve toplam mezofilik aerobik bakterilere karşı bakterisidal bir etki gösterdiği, *L. monocytogenes* ve psikrotrofik bakterilere karşı ise bakteriyostatik bir etki gösterdiği bildirilmiştir [84].

Bir başka araştırmada çeşitli satış noktalarından temin edilen hazır marine edilmiş (marinat içerikleri bilinmeyen) 80 farklı tavuk ürününün mikrobiyolojik kalite ve güvenliği *Campylobacter* spp., *Salmonella*, *L. monocytogenes* ve *Pseudomonas* spp. gibi patojen ve bozucu bakterilerin varlığı açısından değerlendirmiştir. Örneklerin %50'sinde *Campylobacter* spp., %11'inde *Salmonella* ve %44'ünde *L. monocytogenes* saptanırken, toplam örneklerin %16'sında ise bu patojenlere rastlanmamıştır. *Campylobacter* cinsine ait 40 izolat arasından 27 izolat *Campylobacter coli*, 4 izolat *Campylobacter jejuni* kalan 9 izolat ise tanımlanamayan *Campylobacter* türleri olarak belirlenmiştir. *Pseudomonas* spp. örneklerin %43'ünde dominant bozucu mikroorganizma olarak tespit edilirken, %31'inde ise *Pseudomonas* spp. ve *Brochothrix thermosphacta* gözlenmiştir. Örneklerin %31'inde koruyucu bileşen varlığı doğrulanmış ve bu bileşenlerin ürünün mikrobiyolojik profilini az da olsa etkilediği bildirilmiştir. Sonuç olarak elde edilen veriler, marine tavuk ürünlerinde gıda kaynaklı patojenlerin varlığını göstermiş ve bu ürünlerin mikrobiyolojik kalitesi hakkında genel bir fikir vermiştir [85].

2.4. Erik ekşisi ve suyu

Bitkisel kaynaklar, et ve et ürünlerinde kullanılan kimyasal maddelere önemli alternatiflerdir ve son yıllarda kanatlı etinin güvenliğini sağlamak için biyoaktif bileşenlerce zengin bitki kaynaklarının kullanımına yönelik araştırmalar artmıştır [86].

Rosaceae familyasının *Prunus* cinsine ait çok amaçlı kullanımı olan erik (*Prunus domestica* L.), tüketici tercihi, eşsiz tadı ve beslenme özellikleri bağlamında en önemli meyveler arasındadır [87]. Avrupa eriği olarak da adlandırılan erik, elma gibi tarih öncesi ekimi yapılmış çekirdekli bir meyvedir. Arkeolojik araştırmalara göre incir ve üzümle aynı zamanda keşfedilen erik fenolik bileşenler, antosiyaninler, karotenoidler, flavonoidler ve vitaminler gibi antioksidan özellikteki fitokimyasalların zengin bir kaynağıdır [88-90]. Genel olarak taze meyve olarak tüketilen eriğin büyük bir yüzdesi kurutularak tüketilir. Bunların yanısıra marmelata, jöleye, alkollü ve alkolsüz içeceğe, kompostoya, pestile ve erik ekşisine dönüştürülerek de kullanılmaktadır [91,92]. Zengin vitamin ve mineral kaynaklarından olan erik meyvesinin bileşiminde malik asit gibi organik asitler (lezzet arttırıcı), pektin (nem tutucu) ve sorbitol gibi şeker alkolü (doğal nemlendirici) yer almaktadır. Ayrıca aroma verici, antimikrobiyal, antioksidan ve yağ ikame edici özelliklere de sahiptir [93-95].

Erik ve erik ürünlerinin çeşitli et ve et ürünlerinde kullanımına yönelik araştırmalar incelendiğinde özellikle antioksidatif, renk, tekstür ve duyuşal özellikler üzerine yoğunlaşdığı görülmüştür. Bu çalışmalar erik ve erik bazlı ürünlerin et ve ürünleri üzerinde antioksidatif etki gösterirken, gıdanın duyuşal özellikleri üzerinde ise olumsuz bir etki göstermediğini bildirmiştir [96-100]. Yürütölen bu araştırmalardan biri soğutulmuş veya dondurulmuş olarak saklanan hem çiğ hem de önceden pişirilmiş domuz sosislerinde kurutulmuş erik pürelerrinin antioksidan özelliklerini belirlemiş ve domuz sosislerinde erik püresinin sentetik antioksidanlar yerine kullanılabilereceği bildirilmiştir [96]. Nuñez de Gonzalez ve çalışma arkadaşları (2008) tarafından yürütölen bir diğerr araştırmada ise, farklı konsantrasyonlarda taze ve kuru erik bileşenleri içeren ve 10 haftalık bir süre boyunca buzdolabında depolamaya tabi tutulan tuzlu su enjektelerde edilmiş, pişmiş rostoların fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Tüm erik bazlı ürünlerin depolama süresince etin tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) değerlerini düşürdüğü, diğerr taraftan yumuşaklığı, duyuşal karakteristikleri, renk ve görünüşü açısından ise minimal bir etki gösterdiği bildirilmiştir. Özellikle %2.5 taze erik suyu konsantresinin ve kuru erik suyu konsantresinin, lipit oksidasyonunu önlemek amacıyla dana rostosunun önpişirilme işlemlerinde kullanılabilereceği rapor edilmiştir [97]. Bir diğerr araştırma domuz sosislerinin fenolik içeriği ve duyuşal özellikleri üzerine yaban mersini püresi veya kuru erik püresinin etkisi değerlendirilmiştir. Bu meyve pürelerrinin

ürünün özellikle fenolik profilini zenginleştirdiği ve tüketici kabulü aldığı bildirilmiştir [98]. Farklı konsantrasyonlarda (%5, %10 veya %15) erik püresi kullanımının az yağlı dana köftelerinin bazı özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, artan erik püresi konsantrasyonu ile sığır köftesinin nem içeriğinin azaldığı ve pH'sının düştüğü bildirilmiştir. Depolama süresi sonunda kontrol örneklerinin TBARS değerlerinin ise erik püresi eklenmiş örneklerle göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir [99]. Erik ekstraktı formüle edilmiş ve ışın uygulanmış rulo hindi göğüs etinin bazı kalite özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, rulo hindi eti örnekleri depolamanın 0. ve 7. günlerinde lipid oksidasyonu, uçucu bileşen profilleri, renk, tekstür ve duyusal özellikler bakımından değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, erik ekstraktı ilavesinin hindi etinin renk değerlerini etkilediği hindi etinin a^* (kırmızılık) ve b^* (sarılık) değerlerinin yükseldiği, L^* (parlaklık) değerinin ise düştüğü bildirilmiştir. Rulo hindi etine %2'den fazla erik ekstraktının eklenmesi ile ışın uygulanan örneklerde lipid oksidasyonu kontrol altına alınırken, ışın uygulanmamış örneklerde aldehit (heksanal, heptanal, oktanal ve nonanal) üretimi kontrol altına alınmıştır. Erik ekstraktı ile muamele edilen rulo hindi etinin tekstürü etkilenmezken etin sululuğu artmıştır [100].

Diğer taraftan erik bazlı ürünlerin tavuk marinasyonunda kullanımına yönelik olarak yürütülen bir çalışmada ise, tavuk etinin marinasyonunda kullanılan marinata fosfat ikamesi olarak kuru erik ürünleri ilave edilmiş ve marine edilen tavuk eti tekstür, pH, renk, su tutma kapasitesi ve duyusal açıdan değerlendirilmiştir [101].

Erge ve çalışma arkadaşları (2018) tavuk göğüs etlerini %1'lik sodyum tripolifosfat ve farklı konsantrasyonlardaki doğal elma ve erik suyu ile 4 °C'de 36 saat marine ederek, duyusal, tekstür, renk, pH, son ürün verimi, pişirme kaybı parametreleri açısından değerlendirmişlerdir. Araştırma bulguları elma suyu ile yapılan marinasyonun erik suyu ile yapılan marinasyondan incelenen parametreler bakımından daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir [95].

Bu çalışmalarda mikrobiyolojik açıdan bir değerlendirme yapılmamış ve mevcut tez çalışmasında bu boşluğu doldurmak hedeflenmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Tavuk göğüs etleri Nevşehir ilinde satışa sunulan yerel bir işletmeden alınmış ve soğuk zincir altında Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Gıda Mühendisliği Mikrobiyoloji Laboratuvarına getirilmiş ve derhal marinasyon işlemine tabi tutulmuştur. Tavuk göğüs etlerinin alındığı günün satışa sunulduğu gün olmasına dikkat edilmiştir. Aktif esansiyel yağ bileşenleri olan linalol ve öjenol ile Tween 20 Sigma Aldrich (Darmstadt, Almanya) firmasından alınmıştır. Marinasyon işleminde kullanılan ev yapımı erik ekşisi yerel bir pazardan (Muslubey Köyü, Çarşamba, Samsun) temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin (öjenol ve linalol) *in vitro* antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi

Linalol ve öjenolün antimikrobiyal etkinlik taraması için agar disk difüzyon ve rezasurin-broth mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin antimikrobiyal aktiviteleri 8 referans mikroorganizma suşu üzerinde öncelikle agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ardından rezasurin-broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak aktif esansiyel yağ bileşenlerinin bakterilerin üremesini durduran minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir.

Mikroorganizmalar

Linalol ve öjenolün antimikrobiyal aktivite tayini için Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Gıda Mühendisliği ve Biyokimya laboratuvarlarında bulunan 3 adet Gram-pozitif, 5 adet Gram-negatif referans bakteri suşları kullanılmıştır. Kullanılan mikroorganizma suşları aşağıda verilmiştir.

Gram-pozitif bakteri suşlar: *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Gram-negatif bakteri suşlar: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43897), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 35032), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) ve *Yersinia enterocolitica* (ATCC 27729).

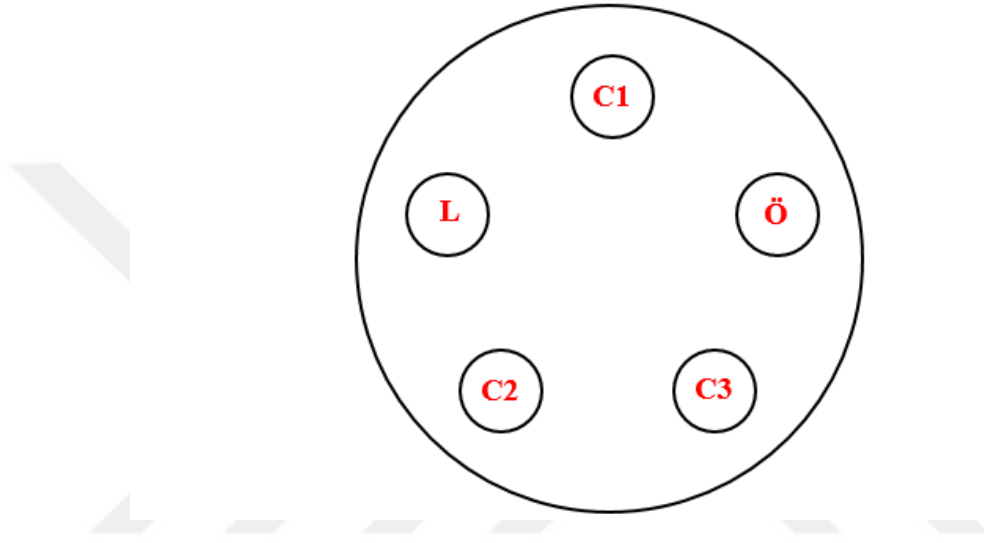
İnokulumun hazırlanması, İnokülasyon ve İnkübasyon

Gıda Mühendisliği genel uygulama laboratuvarında bulunan -80 °C ultra derin dondurucuda %20'lik gliserol ortamında muhafaza edilen kültür koleksiyonumuzda yer alan bakteri suşları aktifleştirilmek amacıyla steril öze yardımıyla Nutrient Agar (NA) plaklara ekilerek 35°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası genç kültürlerden steril öze yardımıyla alınan koloniler %0.85'lik fizyolojik tuzlu su içerisine aktarılmış ve bakteri süspansiyonunun yoğunluğu 0.5 McFarland bulanıklığına (10^8 KOB/mL) eşdeğer olacak şekilde ayarlanarak standard bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. 0.5 McFarland bulanıklığı standardı *Escherichia coli* için yaklaşık $1-2 \times 10^8$ kob/mL'ye karşılık gelmektedir. Gerektiği taktirde suşlar için spesifik standartlar spektroskopik yöntemle hazırlanmıştır. Süspansiyonlar hazırlandıktan sonra 15 dakika içerisinde kullanılmıştır [102].

3.2.1.1. Agar disk difüzyon metodu

0,5 McFarland bulanıklığı standardına göre hazırlanmış olan bakteri süspansiyonundan 100 µL alınarak daha önceden hazırlanan Nutrient Agar plakların yüzeyine inoküle edilmiş ve swap yardımıyla tüm yüzeye eşit bir şekilde dağıtılmıştır. Filtre kağıdından (Whatman No:1) hazırlanan 6 mm çapındaki 5 adet steril disk steril bir pens yardımıyla, diskler arasında uygun bir mesafe olacak şekilde agar yüzeyine yerleştirilmiş ve isimlendirilmiştir (Şekil 3.1). Her bir aktif esansiyel yağ bileşeninin antibakteriyal etkisi hem dilüe hem de saf formda kullanılarak test edilmiştir. Dilüe form için çözücü olarak Dimetil sülfoksit (DMSO) [103] ve emülgatör olarak Tween 20 kullanılarak [104] 10 µg/µL konsantrasyonda hazırlanmış ve ardından hazırlanan stok çözeltiden disklere 10 µl emdirilmiştir. Saf formlarının konsantrasyonları ise linalol için 858 µg/µL, öjenol için 1060 µg/µL olup disklere 10'ar µL uygulanmıştır. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin uçucu olması sebebi ile agar plaklar parafilm ile kapatılmış ve öncelikle aktif bileşenin

difüzyonunun gerçekleşmesi için 4 °C'de 15 dk buzdolabında bekletilmiş ardından 18-24 saat süreyle 35 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra disklerin etrafında oluşan şeffaf zon çapları (mm) ölçülmüştür [105]. Pozitif kontrol olarak vankomisin (1 µg/µL) ve amfisilin (1 µg/µL), negatif kontrol olarak ise %10 DMSO ve %0.5 Tween 20 kullanılmıştır. Negatif kontrol aktif esansiyel yağ bileşenlerinin dilüe formlarının değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

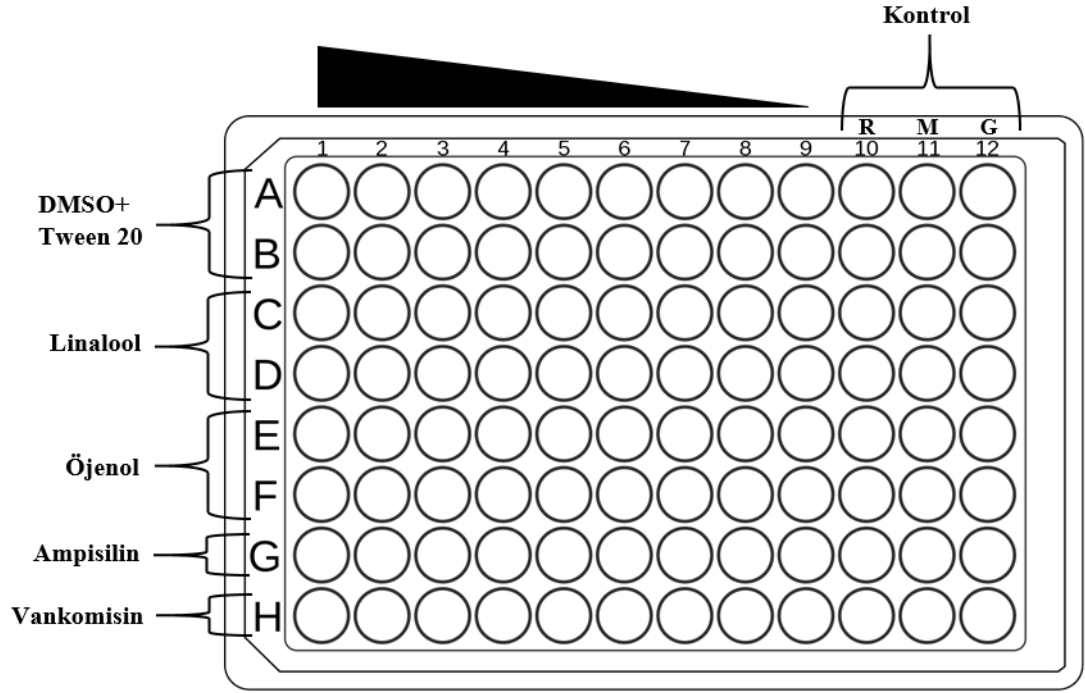


Şekil 3.1. Disklerin petri kutularına yerleştirilimi

(C1: %10 DMSO+%0.5 Tween 20; C2: Vankomisin; C3: Amfisilin; L: Linalol; Ö: Öjenol

3.2.1.2. Rezasurin-Broth mikrodilüsyon metodu

Disk difüzyon yönteminde pozitif sonuç veren öjenol ve linalolün *in vitro* koşullarda görülebilir mikroorganizma üremesini engelleyen minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK değeri) CLSI-M07-A9-2012 standardına göre broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Mikrodilüsyon yöntemi 96-kuyucuklu U-tabanlı mikropalakalarda Şekil 3.2.'de görüldüğü gibi uygulanmıştır. Yatay olarak kullanılmış olan mikropalakların 1-9 sütunları analizi yapılacak maddenin azalan konsantrasyonlarını için, 10-12 sütunları ise kontrol olarak kullanılmıştır. Antibiyotikler hariç diğer örnekler tek bir plak içerisinde ikili çalışılmış ve ardışık satırlar birbirinin tekrarı olarak kullanılmıştır [106].



Şekil 3.2. Mikrodilüsyon yönteminde kullanılan 96-kuyucuklu U-tabanlı mikroplak

Linalol ve öjenol: Aktif esansiyel yağ bileşenleri; Vankomisin, amfisilin: Pozitif kontrol; %10 DMSO+%0.5 Tween 20: Negatif kontrol; R: Aktif bileşen sterilite kontrolü; M: besiyeri kontrolü; G: Üreme kontrolü

Her bir bakteri suşu için 96-kuyucuklu U-tabanlı bir mikroplak kullanılmıştır. İlk aşamada 12. kuyucuğa 100 µL, kalan diğer tüm kuyucuklara 50'şer µL Luria Bertani (LB) broth eklenmiştir. Aktif esansiyel yağ bileşenleri, pozitif ve negatif kontrollerin başlanılmak istenilen konsantrasyonlarının dört kat üst konsantrasyonları hazırlanarak 1 sütununda bulunan ilk kuyucuklara 50'şer µL eklenmiştir ve daha sonra 1 sütunundan başlanarak 10 sütununa kadar katlı seri dilüsyonlar yapılarak istenilen konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Tüm bileşenler mikroplağa aktarıldıktan sonra 0.5 McFarland bulanıklığına eşdeğer olacak şekilde ayarlanmış bakteri süspansiyonu 1:150 (5 mL LB+ 33 µL bakteri suşu) oranında seyreltilerek 10 (R) ve 11 (M) sütunlarında yer alan kuyucuklar hariç tüm kuyucuklara 50 µL eklenmiştir. 10 sütunu (R) aktif esansiyel yağ bileşenlerinin sterilite kontrol kuyucuğu, 11 sütunu (M) besiyeri sterilite kontrol kuyucuğu ve 12 sütunu (G) ise üreme kontrol kuyucuğu olarak kullanılmıştır (Şekil 3.2.).

İnokulasyon yapıldığında her bir kuyucukta olması istenen bakteri miktarı 5×10^5 KOB/mL (aralık $2-8 \times 10^5$ KOB/mL)'dir. İnokulum standardize edildikten sonra 20 dk içinde mikroplaklara ekim yapılmıştır [107]. Kurumayı önlemek için mikroplakların üzeri streç film ile kaplanarak $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda ilk olarak tüm kuyucuklarda üreme olup olmadığı spektrofotometrik (630 nm) olarak belirlenmiş ve üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon o bileşiğin MİK değeri olarak saptanmıştır.

İkinci aşama da ise spektrofotometreden çıkarılan mikroplak bek alevi yanına alınmış, hücre gelişiminin inhibisyonunu izlemek için bir redoks boyası olan %0.015 Resazurin boyasından her kuyucuk içine $30 \mu\text{L}$ eklenerek tekrar streç film ile kaplanarak etüvde $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 1 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda etüvden çıkarılan mikroplaklardaki renk değişimi not edilmiştir. Mavi kuyucuklar üremenin olmadığı, pembe kuyucuklar ise üremenin gerçekleştiği kuyucukları temsil etmektedir. Son mavi kuyucuk üremenin olduğu MİK konsantrasyonunu vermektedir [108].

3.2.2. Linalol ve öjenolün tavuk göğüs filetoları üzerine etkilerinin incelenmesi

Yapılan *in vitro* analizler sonucunda linalol ve öjenolün antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Yapılan analiz sonuçları temel alınarak aktif esansiyel yağ bileşenlerinin *ex-situ* etkinliğinin belirlenmesi için gıda modeli olarak tavuk göğüs filetoları kullanılmıştır.

3.2.2.1. Marinasyon sıvısı ve deneme gruplarının hazırlanması

Deneyel tasarımda erik ekşisi bazlı bir marinat kullanılmıştır. Öncelikle erik ekşisi ve distile su (1:5) homojen bir şekilde karıştırılarak marinasyon sıvısı hazırlanmış ve hazırlanan marinasyon sıvısı beş gruba ayrılmıştır. Denemede toplam 6 grup yer almıştır:

1. C: Kontrol grubu herhangi bir marinasyon işlemine tabi tutulmamış çiğ tavuk göğüs filetosundan hazırlanmıştır
2. MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su)
3. MS2: MS1 + Linalol (L; v/v; %0.15)
4. MS3: MS1 + Linalol (L; v/v; %0.30)

5. MS4: MS1 + Öjenol (Ö; v/v; %0.15)
6. MS5: MS1 + Öjenol (Ö; v/v; %0.30)

Tavuk göğüs filetoları aseptik koşullar altında, steril paslanmaz çelik bir bıçak yardımıyla steril bir kesme tahtası üzerinde 15-20 g'lık parçalar halinde kesilerek her bir deney grubu için 400 g ayrılmıştır. 1:2 w/v oranında et ve marinasyon sıvısı kilitli plastik torbalara konularak 4 °C buzdolabı koşullarında 24 saat marine edilmiştir.

Marinasyon işlemi tamamlandıktan sonra buzdolabından çıkarılan örneklerden öncelikle marinasyon sıvısı uzaklaştırılmış ve örnekler yüksek yoğunluklu polietilen torbalara yerleştirilmiş ve vakum altında paketlenerek 9 gün boyunca 4 °C'de buzdolabı ortamında depolanmıştır. Depolama periyodunun 0, 3, 6 ve 9. günlerinde tüm analizler iki tekrarlı yapılmış ve her tekrar için üç örnek kullanılmıştır.

3.2.2.2. pH analizi

Deneme gruplarının pH ölçümlerinde Analitik Kimya laboratuvarında bulunan Thermo Scientific Orion 4-Star Benchtop digital pH metre kullanılmıştır. Ölçüm yapılmadan önce pH metre, pH değeri 4, 7 ve 10 olan standart solüsyonlar (Orion™ pH Buffer solution, Boston, USA) kullanılarak kalibre edilmiştir. 10 g numune üzerine 90 mL deiyonize su ilave edilerek laboratuvar tipi blender (Waring Blender 8011ES) yardımıyla homojen hale getirilmiş, 10 dakika dengelendikten sonra pH ölçülmüştür.

3.2.2.3. Mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizler için 10 g örnek aseptik şartlarda 90 mL steril fizyolojik peptonlu su (%0.85 NaCl + %0.1 pepton, w/v) içeren Stomacher torbasına aktarılarak homojenize edilmiş ve seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Ardından yayma (TAMB, *Pseudomonas*, maya-küf ve LAB sayımları) ve dökme (toplam koliform bakteri sayımı) kültürel sayım yöntemleri kullanılarak ilgili besiyerlerine mikrobiyolojik ekimler yapılmıştır.

3.2.2.3.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı

TAMB sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 0.1'er mL çift petri plağına aktarılmış ve steril drigalski spatülü ile

yayılmıştır. Plaklar 30-32 °C’de 48-72 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda gözlenen tüm koloniler sayılmıştır [109,110].

3.2.2.3.2. Laktik asit bakterileri (LAB) sayımı

LAB sayımı için Man Rogosa Sharpe (MRS) agar (Merck, Darmstadt, Germany) besiyeri uygun şekilde hazırlanıp 121 °C’de 15 dakika sterilize edildikten sonra 45-50 °C’ye soğutulmuş ve steril petri kutularına 12-15 mL aktarıldıktan sonra düz bir zeminde katılaştırılmıştır. MRS agara yayma kültürel sayım yöntemine göre ekimin ardından petri kutuları anaerobik şartlar altında (Anaerocult A, Merck, Darmstadt, Germany) 30-32 °C’de 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından katalaz negatif tipik koloniler sayılmıştır [109].

3.2.2.3.3. *Pseudomonas* spp. bakteri sayımı

Pseudomonas spp. sayımı için *Pseudomonas* Agar P, Base (Merck, Darmstadt, Germany) besiyeri kullanılmıştır. Besiyerine ekimin ardından petri kutuları 25 °C’de 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda oluşan beyaz kolonilerin tamamı sayılmıştır [110,111].

3.2.2.3.4. Maya ve küf sayımı

Maya ve küflerin sayımı için Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Darmstadt, Germany) besiyeri kullanılmış sterilizasyon işleminden sonra besiyeri steril %10’luk laktik asit ile asitlendirilmiştir. Besiyeri petri kutularına aktarılmış ve katılaştıktan sonra yayma kültürel sayım yöntemi kullanılarak ekim yapılmıştır. Ekimin ardından petri kutuları 25 °C’de 5-7 gün inkübasyona bırakılmış ve maya-küf kolonileri sayılmıştır [109,110].

3.2.2.3.5. Toplam koliform grubu bakteri sayımı

Toplam koliform grubu bakterilerin sayımı için Violet Red Bile (VRB) Agar (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift tabaka dökme kültürel sayım yöntemi kullanılarak ekim yapılmış ve petri kutuları 35-37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tipik koloniler (>0.5 mm çapında kırmızımsı bir presipitat zonu ile çevrili kırmızı koloniler) sayılmıştır [109,110].

3.2.3. Duyusal Analiz

Tavuk göğüs filetoları tat, koku, aroma, lezzet, renk, yumuşaklık, sululuk ve genel beğenilirlik parametreleri baz alınarak hedonik skala ile 15 kişilik panelist tarafından duyusal analize tabi tutulmuştur. (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Duyusal değerlendirme panel formu

DUYUSAL DEĞERLENDİRME PANEL FORMU

Adı soyadı:

Tarih:

Cinsiyeti :

Ürün kodu	1	2	3	4	5	6
Tat						
Koku						
Aroma						
Lezzet						
Renk						
Yumuşaklık						
Sululuk						
Genel kabul edilebilirlik						

***Not: Formu doldururken aşağıdaki numaralama kriterlerini göz önünde bulundurunuz ve seçtiğiniz grup numarasını formda daire içine alınız.

Puan skalası

Oldukça iyi	9
Çok iyi	8
İyi	7
Biraz iyi	6
Ne iyi ne kötü	5
Biraz kötü	4
Kötü	3
Çok kötü	2
Tüketilemez	1

Not: Formun doldurulmasında aşaşıdaki kriterleri göz önünde bulundurunuz.

Tat	Koku	Aroma	Lezzet
- Acı	- Keskin	- Çiçeksi	- Çok lezzetli
- Ekşi	- Kötü	- Odunsu	- Lezzetli
- Tatlı	- Rahatsız	- Meyvemsi	- Tatsız
- Füme	edici	- Çamımsı	- Son derece
- Etimsi	- Hoş	- Aroma yok	tatsız
- Tuzlu	- Tatlı		
	- Kokusuz		
Renk	Yumuşaklık	Sululuk	Genel kabul edilebilirlik
- Beyaz	- Çok	- Çok Sulu	
- Açık sarı	yumuşak	- Sulu	
- Soluk	- Yumuşak	- Kuru	
- Kremsi	- Sert	- Çok kuru	
- Kahverengi	- Çok sert		
- Pembe			
- Turuncu			
- Kırmızı			

3.2.4. İstatistiksel Analiz

Analiz sonuçları SPSS 22 paket programı (IBM, SPSS Statistics, New York, ABD) kullanılarak varyans analizi (ANOVA)'ne tabi tutulmuş ve ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA ve BULGULAR

4.1. Linalol ve öjenolün gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı *in vitro* antimikrobiyal aktivite sonuçları

Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin (linalol ve öjenol) sekiz farklı gıda kaynaklı patojen bakteri suşu üzerine antimikrobiyal etkileri disk difüzyon ve rezasurin-broth mikrodilüsyon testleri ile belirlenmiştir.

4.1.1. Agar disk difüzyon analiz sonuçları

Linalol ve öjenolün 3 Gram pozitif (*Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ve 5 Gram negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43897, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 ve *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729) referans bakteri suşları üzerindeki antimikrobiyal etkileri öncelikle agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak vankomisin ve amfisilin kullanılmıştır.

Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin gıda kaynaklı patojen bakterilere karşı gösterdiği antibakteriyal aktivite Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) yönergesine göre [105] test edilmiş ve test sonucunda saf formda uygulanan aktif esansiyel yağ bileşenleri için elde edilen zon çapları Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de sunulmuştur. Bileşenlerin dilüe formlarının aktiviteleri de test edilmiş, ancak çok aktif olmadıkları için elde edilen sonuçlara tezde yer verilmemiştir.

Tablo 4.1. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon zon çapları

Microorganizma	Aktif esansiyel yağ bileşenleri ve pozitif kontrollerin inhibisyon zon çapları (mm)			
	Saf Linalol (858 µg/µL)	Saf Öjenol (1060 µg/µL)	Vankomisin (1 µg/µL)	Amfisilin (1 µg/µL)
Gram negatif bakteriler				
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	31.33±0.58 ^b	25.00±0.00 ^b	10.67±0.57 ^c	00.00 ^c
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	14.67±3.21 ^c	21.33±1.15 ^b	19.67±1.53 ^b	23.33±0.58 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 35032)	11.00±0.00 ^c	12.33±3.79 ^c	00.00 ^e	00.00 ^c
<i>Salmonella</i> Typhimurium (ATCC 14028)	24.67±3.79 ^b	21.67±2.08 ^b	8.00±1.00 ^d	12.00±3.46 ^b
<i>Yersinia enterocolitica</i> (ATCC 27729)	85.00±0.00 ^a	40.33±0.58 ^a	18.72±1.15 ^b	00.00 ^c
Gram pozitif bakteriler				
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778)	26.67±2.89 ^b	20.33±4.73 ^b	22.67±0.58 ^a	11.00±1.00 ^b
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 7644)	25.67±0.58 ^b	23.00±1.00 ^b	22.00±2.00 ^a	11.33±1.15 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	16.33±8.39 ^c	22.33±2.52 ^b	22.68±1.53 ^a	24.67±1.53 ^a

^{a-e} Aynı sütunda farklı üst indis küçük harfler ile gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

Araştırma bulguları aktif esansiyel yağ bileşenleri olan linalol ve öjenolün gıda kaynaklı patojenleri farklı seviyelerde inhibe ettiğini göstermiştir.

Linalolün farklı bakteri suşlarına karşı mükemmel bir antibakteriyal ajan olduğu ve hücre depolarizasyonuna neden olarak ATP üretimini ve hücre içi metabolik fonksiyonları etkilediği ve hücre zarının yapısını bozarak antimikrobiyal etki sergilediği bildirilmiştir. [103]. Araştırmamızda linalol en yüksek antibakteriyal etkiyi *Yersinia enterocolitica* bakteri suşuna (85 mm) karşı sergilemiştir (Tablo 4.1.).

Bir hidroksifenil propen olan öjenol küflere, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktivite sergileyen aktif bir bileşendir [112]. Araştırma kapsamında kullandığımız bir diğer aktif esansiyel yağ bileşeni olan öjenol de linalol gibi en yüksek antibakteriyal etkiyi *Yersinia enterocolitica* bakteri suşuna karşı (40 mm) sergilerken, en düşük antibakteriyal etkiyi ise *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı (12 mm) göstermiştir (Tablo 4.1.).

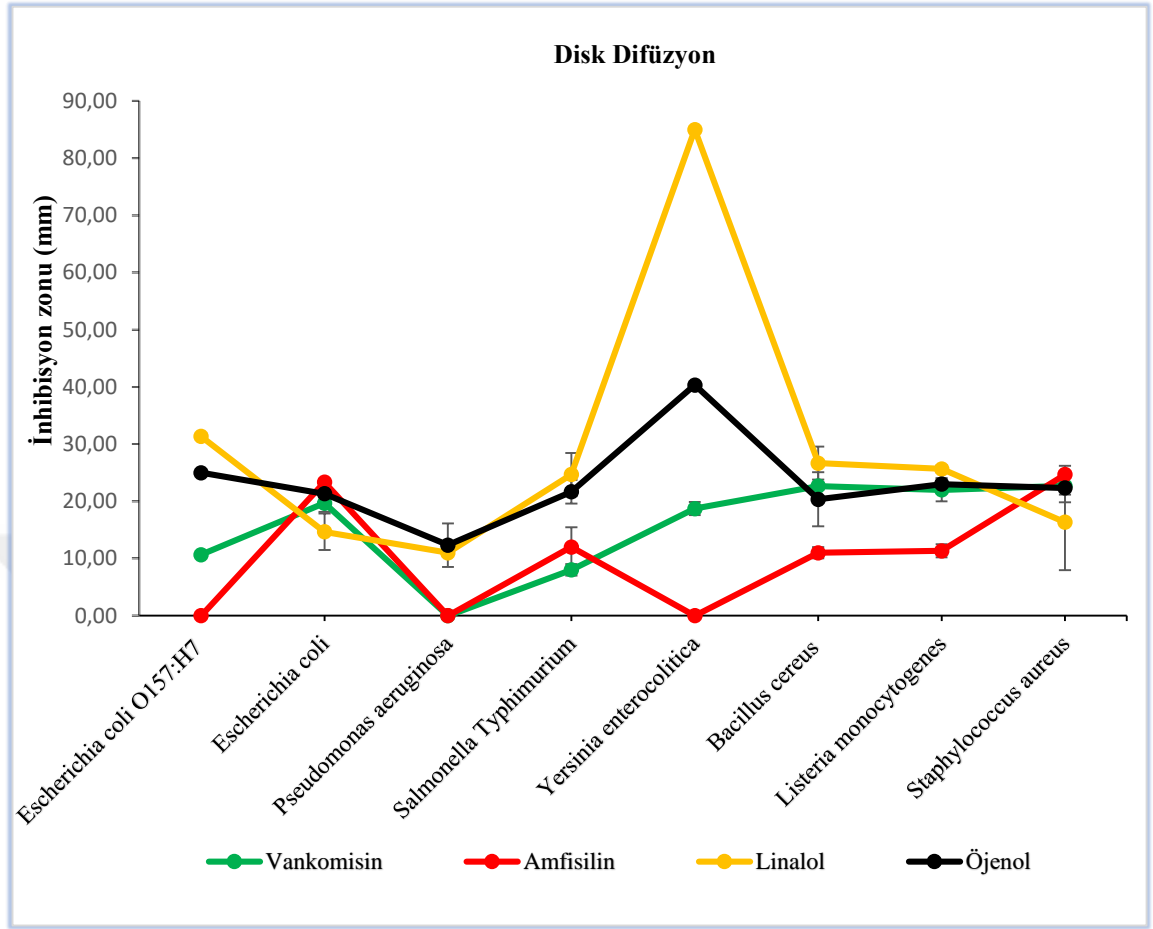
Yersinia enterocolitica üzerine literatürde öjenolün antimikrobiyal etkisine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle yüksek konsantrasyonda öjenol içerdiğinden karanfil esansiyel yağı ile ilgili çalışma sonuçları bu bakteri açısından tartışılmıştır. Goñi ve çalışma arkadaşları (2009) tarafından yürütülen bir araştırmada tarçın ve karanfil

esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin belirlendiği bir araştırmada karanfil esansiyel yağının *Yersinia enterocolitica*'ya karşı saptanan inhibisyon zon çapı 23.00 ± 3.00 mm olarak bildirilmiştir [113]. Araştırmamızda karanfil esansiyel yağında dominant bileşen olarak dikkat çeken öjenolün *Yersinia enterocolitica*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı 40 mm olarak saptanmıştır. Trajano ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada ise (2010), Brezilya'nın kuzeydoğusunda küçük çiftliklerde üretilen ve yaygın olarak tüketilen Coalho peynirinde sıklıkla risk oluşturan patojenlerin inhibisyonunda *Eugenia caryophyllata* (karanfil) yapraklarından elde edilen esansiyel yağ kullanılmıştır. Bu uçucu yağda bulunan en baskın bileşiğin öjenol (%74) olduğu bildirilmiştir. Peynirde risk oluşturan patojenler üzerine bu uçucu yağın antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş ve test organizmaları olarak *S. aureus* ATCC 6538, *L. monocytogenes* ATCC 7664, *Y. enterocolitica* ATCC9610, *P. aeruginosa* ATCC 9027 ve *S. enterica* ATCC 6017 kullanılmıştır. Sonuçlar karanfil yaprağı esansiyel yağının test edilen tüm mikroorganizmalara karşı inhibisyon etkisinin olduğu, en hassas bakterinin ise *Y. enterocolitica* olduğu bildirilmiştir [114].

Diğer taraftan araştırmamız kapsamında incelenen pozitif kontrollerin *Y. enterocolitica* suşuna karşı inhibisyon zonları vankomisin için 19 mm olarak belirlenirken, amfisilin için tespit edilmemiştir. Araştırmalar *Y. enterocolitica*'nın amfisilin, amoksisilin-klavulanat, sefalotin, sefazolin ve tikarsilin'e karşı doğal olarak dirençli olduğunu bildirmiştir [115,116].

Y. enterocolitica, Enterobacteriaceae familyasına ait *Yersinia* cinsinin 17 türünden biridir. Gram negatif, çubuk şekilli ve spor oluşturmeyen bu bakteri önemli gıda kaynaklı zoonotik bir hastalık olan yersiniozise sebep olur [117]. *Y. enterocolitica* 25-30 °C arasında üreyen, asidik ortamlara dayanıklı olmayan ancak %5 sodyum klorür varlığında yaşayabilen ve buzdolabı sıcaklıklarında da çoğalabilen psikrotrofik bir patojendir. *Y. enterocolitica*'nın insanlara bulaştığı başlıca kaynaklar çiğ süt ve süt ürünleri, az pişmiş et (çoğunlukla domuz eti), kümes hayvanları, sebzeler, tofu, mantar, yumurta, deniz ürünleri ve kanalizasyonla kirlenmiş sulardır. *Y. enterocolitica* toksininin ısıl işleme, soğutma koşullarına ve enzimatik degradasyona karşı kararlı olması nedeniyle yersiniozisten kaynaklanan sağlık riski özellikle yüksektir [116].

Tez çalışmamız kapsamında antimikrobiyal etkinliğini incelediğimiz linalolün en düşük antibakteriyal etkisi *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı (11 mm) saptanmıştır. Guo ve çalışma arkadaşları (2018) tarafından yürütülen bir araştırmada linalol (95%)'ün de içinde bulunduğu 7 referans antimikrobiyal bileşenin antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiş ve *P. aeruginosa* üzerine linalolün antibakteriyal etkisi oldukça düşük (6 mm zon çapı) saptanmıştır [118]. Herman ve çalışma arkadaşları (2016) tarafından yapılan bir diğer araştırmada ise, linalolün tek başına ve farklı esansiyel yağlarla (*Thymus vulgaris*, *Juniperus communis*, *Pelargonium graveolens*, *Citrus bergamia*, *Citrus grandis*, *Lavandula angustifolia*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Melaleuca alternifolia* ve *Syzygium aromaticum*) kombinasyonunun antimikrobiyal aktiviteleri test edilmiş ve çalışmanın sonuçları linalolün tek başına *P. aeruginosa* üzerine 8 mm çapında zon oluşturduğunu göstermiştir [119]. Linalole yönelik yürütülen bu araştırmalar çalışmamızla benzer olarak *P. aeruginosa*'nın bu aktif bileşene nispeten dirençli olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan araştırmamız kapsamında pozitif kontrol olarak kullanılan vankomisin ve amfisilin *P. aeruginosa* suşuna karşı antibakteriyal etkileri de gözlenmemiştir. Literatürde *P. aeruginosa*'nın amfisilin dahil olmak üzere birçok yaygın antibiyotiğe dirençli olduğu bildirilmiştir [120]. Yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal maddelere dirençli olması dolayısıyla *P. aeruginosa* tarafından tetiklenen çeşitli enfeksiyon türlerinin, dünya çapında giderek artan bir şekilde önemli bir sağlık sorunu haline geldiği bildirilmektedir. *P. aeruginosa* özellikle ciddi yanıklardan, kanser veya kistik fibrozisten muzdarip bağışıklığı baskılanmış hastalarda sepsis, solunum yolu enfeksiyonu, endokardit, idrar yolu enfeksiyonu ve merkezi sinir sistemi enfeksiyonu dahil olmak üzere bir dizi enfeksiyona neden olabilen fırsatçı bir patojendir. *P. aeruginosa* toprak, su ve bazı gıdalar gibi nemli ortamlarda yaygın olarak bulunan bir bakteridir. Avrupa Toplulukları ve Codex Alimentarius Komisyonu hükümlerine göre bu bakteri su ve gıdalarda bulunmamalıdır [121]. *P. aeruginosa*, yüksek adaptasyon kabiliyeti, hızlı üreme ve gelişimleri için besin gereksinimlerinin (nemli koşullarda) düşük olması nedeniyle birçok çevreden izole edilirler. Aynı zamanda çoğu gıdada (su, süt ürünleri, et ve bitki bazlı gıdalar) yaygın olarak bulunur ve gıdaların bozulmasına neden olurlar [122].



Şekil 4.1. Linalol (858 µg/µL), öjenol (1060 µg/µL) ve pozitif kontrollerin (1 µg/µL) gıda kaynaklı patojenler üzerine inhibisyon zon çapları (mm)

Sanla-Ead ve çalışma arkadaşları (2012) tarafından yürütülen bir araştırmada bazı gıda kaynaklı patojenler üzerine öjenolün antimikrobiyal etkisi belirlenmiş ve öjenolün *P. aeruginosa* (DMST 4739) suşu üzerindeki inhibisyon zon çapının 8.70 mm olduğu bildirilmiştir [123]. Çalışmamız da ise aynı bakterinin farklı suşu olan *P. aeruginosa* (ATCC 35032) üzerine öjenolün oluşturduğu inhibisyon zon çapı 12 mm olarak saptanmıştır.

Araştırma sonuçlarımız incelendiğinde hem linalol hem de öjenolün *P. aeruginosa*'ya karşı daha düşük aktivite sergilediği, kullanılan pozitif kontrollerin ise kullanıldıkları konsantrasyonlarda etkisiz olduğu görülmektedir. Literatür araştırması sonucunda elde ettiğimiz bilgiler de *P. aeruginosa*'nın antimikrobiyallere dirençli olduğunu göstermiştir. *P. aeruginosa*'nın genel olarak antibiyotik saldırılarına karşı koymak için kullandıkları

birincil mekanizmaları **intrinsik**, **edinilmiş** ve **adaptif direnç** olarak sınıflandırılabilir. *P. aeruginosa*'nın **intrinsik direnci**; düşük dış membran permeabilitesi, antibiyotikleri hücre dışına atan akış pompaları ve antibiyotik inaktive edici enzimlerin üretimini içerir. *P. aeruginosa*'nın **kazanılmış direnci**, direnç genlerinin yatay transferi veya mutasyonel değişiklikler yoluyla elde edilebilir. *P. aeruginosa*'nın **adaptif direnci** ise enfekte hastaların akciğerlerinde biyofilm oluşumu ile gerçekleşir ki bu biyofilm, bakteri hücrelerine antibiyotik erişimini sınırlamak için bir difüzyon bariyeri görevi görür [124,125].

Tipik olarak insanların ve diğer hayvanların bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olan *E. coli*, bağırsak ve bağırsak dışı enfeksiyonlar da dahil olmak üzere çeşitli enfeksiyonlara neden olabilen çok yönlü bakterilerden biridir [126]. Gıdalarda *E. coli* varlığı fekal kontaminasyonunun önemli bir göstergesidir [127]. *E. coli* kontaminasyonunun en sık görüldüğü gıda kaynakları arasında hamburger eti, çürük elmalar, pastörize edilmemiş elma suyu ve süt, patates, marul, klorsuz su ve mayonez gelmektedir [128]. Araştırma kapsamında kullandığımız linalolün referans *E. coli* (ATCC 25922) suşu üzerine inhibisyon zon çapı 14.67 ± 3.21 mm olarak belirlenmiştir. Guo ve çalışma arkadaşları (2018) tarafından yapılan bir araştırmada ise linalolün aynı suş üzerine inhibisyon etkisi 41.64 mm olarak bildirilmiştir [118]. Herman ve çalışma arkadaşları (2016) tarafından yürütülen bir araştırmada ise linalolün *E. coli* NCTC 12923 suşu üzerine antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi ile test edilmiş ve inhibisyon zonunun 21.00 mm olduğu bildirilmiştir [119].

Araştırma sonuçlarımız incelendiğinde *E. coli* ATCC 25922 suşu üzerine öjenolün inhibisyon zon çapı 21.33 ± 1.15 mm olarak belirlenmiştir. Zhang ve çalışma arkadaşları (2017) tarafından yürütülen bir araştırmada aynı suşa karşı öjenolün oluşturduğu inhibisyon zon çapı 17.10 ± 1.20 mm olarak saptanmıştır [129]. Her iki araştırmada da *E. coli*'nin aynı suşları kullanılmasına rağmen farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu fark aktif bileşenin kullanılan konsantrasyonlarındaki farklılıktan ileri gelmektedir. Dhara ve Tripathi (2013) tarafından yürütülen bir çalışmada 134 Enterobacteriaceae familyası üyesinden 57 adet *E. coli* ve 77 adet *Klebsiella pneumoniae* üzerine farklı esansiyel yağ ve aktif esansiyel yağ bileşenlerinin inhibitör etkisi araştırılmıştır. 30 adet *E. coli* arasından 26'sı üzerine %100 konsantrasyondaki öjenolün etkisi $11-20$ mm arasında

tespit edilirken, 2'si üzerindeki etkisi 7-10 mm ve geri kalan 2'si üzerinde ise etkisi 6 mm olarak saptanmıştır [130]. Sonuçlar, kullanılan antimikrobialerin aktivitesi üzerine suş farkının etkinliğini göstermektedir.

Araştırma kapsamında kullandığımız vankomisin ve amfisilinin kullanılan konsantrasyonlarında *E. coli* (ATCC 25922) suşuna karşı antibakteriyel etkileri sırasıyla 19.67 ± 1.53 mm ve 23.33 ± 0.58 mm olarak tespit edilmiştir.

Araştırmamızda linalolün *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı inhibisyon zon çapı 16.33 ± 8.39 mm olarak saptanmıştır. Guo ve çalışma arkadaşları (2018) tarafından yapılan bir araştırmada linalolün aynı suş üzerine inhibisyon etkisi 41.88 mm olarak saptanmıştır [118]. Yapılan bir diğer çalışmada ise linalolün tek başına farklı bir *S. aureus* NCTC 10788 suşuna karşı agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenen zon çapı 13.00 mm olarak saptanmıştır [119]. İnsan ve hayvanlarda çeşitli hastalıklara yol açan zoonotik ve Gram pozitif bir bakteri olan *S. aureus*; hava, su, süt inekleri, çiftlik ve kümes hayvanları gibi çeşitli ortamlarda yaygın olarak bulunan ve gıdaları kontamine eden bir bakteridir. Çiğ ve işlenmiş et, süt ve süt ürünleri ile tüketime hazır gıda ürünlerinde antibiyotiğe dirençli *S. aureus* yaygın olup ısıya dayanıklı stafilkokal enterotoksinler ise ishal, mide bulantısı ve kramp gibi gıda zehirlenmesi semptomlarına neden olabilmektedir [131].

Çalışmamızda *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı öjenolün gösterdiği inhibisyon zon çapı 22.33 ± 2.52 mm olarak belirlenmiştir. *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı öjenolün antibakteriyel aktivitesinin belirlendiği bir çalışmanın bulguları ise öjenolün ilgili gıda kaynaklı patojen üzerindeki inhibisyon zon çapının 12.70 ± 0.6 mm olduğunu bildirmiştir [129]. Her iki çalışmada *S. aureus*'un aynı suşu kullanılmasına rağmen farklı sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmamızın sonuçları ile kıyaslandığında gözlenen farklılığın metodolojik farklılıklardan (örn. farklı büyüme ortamları ve aktif bileşenin başlangıç konsantrasyonu) ileri gelebileceği düşünülmektedir [63].

Diğer taraftan araştırmamız kapsamında *S. aureus* ATCC 25923 suşunun kullanılan pozitif kontrollere karşı duyarlı olduğu belirlenmiş, vankomisin ve amfisilinin *S. aureus* suşuna karşı kullanılan konsantrasyonlarında oluşturdukları inhibisyon zon çapları sırasıyla 22.68 ± 1.53 ve 24.67 ± 1.53 mm olarak saptanmıştır. Sader ve çalışma arkadaşları (2006) tarafından yapılan bir araştırmada 207 adet *S. aureus* suşu seçilmiş ve

vankomisinin bu izolatlar üzerine zon çapı sonuçlarının ≥ 16 mm olduğu ve CLSI sınır değerlerine göre (≥ 15 mm) duyarlı kabul edildiği bildirilmiştir [132]. Watanakunakorn (1981) vankomisinine *S. aureus* (metisiline dirençli suşlar dahil) bakterisine karşı aktif olduğunu bildirmiştir [133].

Araştırmamızda *E. coli* O157:H7 suşu üzerine linalolün önemli antibakteriyal etkisi gözlenmiş ve elde edilen inhibisyon zon çapı 31.33 ± 0.58 mm olarak tespit edilmiştir. González-González ve çalışma arkadaşları (2021) tarafından yapılan bir çalışmada linalolün *E. coli* O157:H7 bakteri suşuna karşı antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş ve sonuçlar linalolün *E. coli* O157:H7 üzerine inhibisyon zon çapının 16.40 mm olduğunu bildirmiştir. Araştırmamızın sonuçları ile kıyaslandığında gözlenen farklılığın metodolojik farklılıklardan (örn. farklı büyüme ortamları ve aktif bileşenin başlangıç konsantrasyonu) ileri gelebileceği düşünülmektedir [63].

Gıda kaynaklı en tehlikeli patojenlerden biri olan *E. coli* O157:H7, enterohemorajik bir *E. coli* (EHEC) serotipi olarak kabul edilir ve shiga toksin üreten bir bakteri olarak bilinir. Bu bakteri çok düşük enfektif dozlarda ($10-10^2$ KOB/g veya mL) dahi gastrointestinal hastalıklara neden olmakta; kanlı ishal, hemolitik kolit, hemolitik üremik sendrom ve bazı durumlarda böbrek yetmezliği bu bakterinin neden olduğu en önemli hastalıklar arasında yer almaktadır [134]. Et ürünleri ve süt ürünleri üretim ve işleme sırasında *E. coli* O157:H7 ile kolayca kontamine olurken, sebzelerin yüzeyinde ve stomalarında biyofilmler oluşturabilirler. Bu durum ise doğrudan taze gıda tüketen insanların sağlığını tehdit edebilmektedir [135].

Araştırma kapsamında kullanılan aktif esansiyel yağ bileşenlerinden öjenole, *E. coli* O157:H7 (ATCC 43897) suşunun duyarlı olduğu belirlenmiş ve inhibisyon zon çapı 25.00 ± 0.00 mm olarak ölçülmüştür. Sanla-Ead ve çalışma arkadaşları (2012) tarafından yürütülen bir araştırmada ise *E. coli* O157:H7 (DMST 12743) üzerine öjenolün antimikrobiyal etkisi belirlenmiş ve inhibisyon zon çapı 12.20 mm olarak tespit edilmiştir [123].

Diğer taraftan araştırmamız kapsamında kullanılan pozitif kontrollerden vankomisinine *E. coli* O157:H7 suşuna karşı inhibisyon zon çapı 10.67 ± 0.57 mm olarak saptanırken, bu bakterinin aynı konsantrasyondaki amfisiline karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Saf

linalol ve öjenolün bu suşun inhibisyonu üzerinde etkili olduğu, dolayısıyla gıda kaynaklı en tehlikeli patojenlerden biri olan *E. coli* O157:H7 suşunun kontrolünde bu iki aktif esansiyel yağ bileşeninin doğal birer ajan olarak kullanılabilceği düşünölmektedir.

Çalışmamızda *S. Typhimurium* ATCC 14028 suşu üzerine linalolün etkisi incelendiğinde inhibisyon zon çapı sonucunun 24.67 ± 3.79 mm olduğu saptanmıştır. González-González ve çalışma arkadaşları (2021) ise linalolün *S. enterica* serovar. Typhimurium üzerine inhibisyon zon çapının 18.60 mm olduğunu bildirmişlerdir [63]. Araştırmamız kapsamında *S. Typhimurium* ATCC 14028 suşuna karşı öjenolün gösterdiği inhibisyon zon çapı ise 21.67 ± 2.08 mm olarak belirlenmiştir. Yapılan bir araştırmada *S. Typhimurium* ATCC 19430 suşuna karşı öjenolün inhibisyon zon çapı 20.10 ± 1.00 mm olarak tespit edilmiş ve bulgularımız ile benzer bir sonuç elde edilmiştir [129].

Her yıl tüm dünyada gıda kaynaklı hastalıkların yaklaşık yüzde 85'ile ilişkili olan *Salmonella* salgınları 100.000'den fazla ölüme ve ciddi ekonomik maliyetlere yol açmaktadır. 2500'den fazla serotipi olan *Salmonella* özellikle süt ürünleri ve hayvansal kaynaklı gıdalardan izole edilmektedir [136]. Araştırmamız kapsamında kullandığımız vankomisin ve amfisilinin *S. Typhimurium* ATCC 14028 suşu üzerine inhibisyon zon çapları sırasıyla 8.00 ± 1.00 mm ve 12.00 ± 3.46 mm olarak tespit edilmiştir. Şekil 4.1. incelendiğinde linalol ve öjenolün (24.67 ± 3.79 mm ve 21.67 ± 2.08 mm) *S. Typhimurium*'un inhibisyonu üzerinde etkili olduğu görölmektedir.

Araştırmamız kapsamında incelediğimiz bir diğere patojen *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşu olup bu suş üzerine linalolün önemli antibakteriyal etkisi gözlenmiş ve elde edilen inhibisyon zon çapı 25.67 ± 0.58 mm olarak tespit edilmiştir. Linalolün *L. monocytogenes* üzerine antimikrobiyal etkinliğinin incelendiği bir çalışmada ise Çin'de yetiştirilen 14 adet narenciye esansiyel yağının kimyasal bileşiminin, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin linalol (95%)'ün de içinde bulunduğu 7 referans antimikrobiyal bileşen ile karşılaştırmalı analizi yapılmıştır. Bu çalışmada linalolün *L. monocytogenes* ATCC 19115 suşu üzerine belirlenen inhibisyon zon çapı 39.58 mm olarak tespit edilmiştir [118]. Bu farkın aktif bileşenin konsantrasyonu ve kullanılan suş farklılıklarından ileri gelebileceği düşünölmektedir.

L. monocytogenes listeriozise neden olan gıda kaynaklı önemli bir patojendir. Sağlıklı bireyler için *L. monocytogenes* enfeksiyonu hafif gastroenterit ile sonuçlanabilirken, bağışıklığı baskılanmış kişilerde (hamile kadınlar, bebekler ve yaşlılar) bakteriyemi, menenjit, pnömoni, endokardit ve sepsis gibi ciddi invaziv hastalıklara yol açabilir. Genel olarak *L. monocytogenes* düşük pH, yüksek ozmotik basınç ve düşük sıcaklıklar dahil olmak üzere çevresel streslere karşı oldukça dirençli olup gıda ile temas eden yüzeylere yapışabilme ve gıda işleme sırasında kolaylıkla çıkarılmayan olgunlaşmış biyofilmler oluşturabilme özelliğine sahiptir. Bu bakterinin neden olduğu enfeksiyon olan listeriosis vakaları sıklıkla çiğ veya yemeye hazır gıda maddelerinin tüketimi ile ilişkilidir [137,138].

Araştırmamızda öjenolün *L. monocytogenes* (ATCC 7644) suşu üzerine inhibisyon etkisi 23.00 ± 1.00 mm olarak belirlenmiştir. Yapılan bir araştırmada ise *L. monocytogenes* (DMST 17303) suşu üzerine öjenolün oluşturduğu inhibisyon zon çapı 11.40 mm olarak saptanmıştır [123]. Pozitif kontrollerin kullanılan konsantrasyonlarının *L. monocytogenes* suşu üzerine inhibisyon zon çapları vankomisin ve amfisilin için sırasıyla 22.00 ± 2.00 mm ve 11.33 ± 1.15 mm olarak tespit edilmiştir. Watanakunakorn (1981) ile Maggio ve çalışma arkadaşları (2022) *L. monocytogenes*'in vankomisine duyarlı olduğunu bildirmiştir [133,139]. *L. monocytogenes* genellikle Gram-pozitif bakterilere karşı etkili olan antibiyotiklere duyarlıdır. Ancak son zamanlarda antibiyotiğe dirençli *L. monocytogenes* suşları sıklıkla tanımlanmış ve farklı kaynaklardan rapor edilmiştir [138].

Çalışmamız kapsamında değerlendirilmeye alınan bir diğer mikroorganizma *Bacillus cereus* ATCC 11778 suşu olup, bu bakteri üzerine linalolün gösterdiği inhibisyon zon çapı 26.67 ± 2.89 mm olarak tespit edilmiştir. Fisher ve Philips (2006) tarafından yürütülen bir araştırmada linalol 20 mm çapındaki diskler üzerine emdirilmiş ve *B. cereus* üzerine etkisi incelenmiştir. *B. cereus* ATCC 11778 suşu üzerine linalolün etkisi >90 mm olarak saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız ile kıyaslandığında ortaya çıkan bu farkın metodolojik farklılıklardan ileri geldiği düşünülmektedir [63]. Gram pozitif, çubuk şeklinde ve spor oluşturan bir bakteri olan *B. cereus* gıda kaynaklı bir patojendir. Endospor oluşturma yeteneği dolayısıyla geniş bir sıcaklık ve pH aralığında dayanıklı olan bu bakteri zorlu çevre koşullarında hayatta kalabilmektedir. Dirençli sporları dolayısıyla kurutma, pastörizasyon gibi gıda işleme proseslerine oldukça dayanıklıdır.

B. cereus nişastalı gıdalar ve pirinç, çiğ ve püre haline getirilmiş ve minimum düzeyde işlenmiş sebzeler, ekmek, süt ve süt ürünleri, et ürünleri ve yemeye hazır gıdalar gibi çeşitli gıdalardan yaygın olarak izole edilirler [140].

Bacillus cereus ATCC 11778 suşu üzerine öjenolün gösterdiği inhibisyonu zon çapı 20.33 ± 4.73 mm olarak tespit edilmiştir. Bu bakterinin farklı bir suşu (*Bacillus cereus* DMST 5040) üzerine öjenolün antimikrobiyal etkinliğinin belirlendiği bir araştırmada ölçülen inhibisyon zon çapı 11.40 mm olarak bildirilmiştir [123].

Diğer taraftan araştırmamız kapsamında *Bacillus cereus* ATCC 11778 suşunun kullanılan pozitif kontrollere karşı duyarlı olduğu belirlenmiş, vankomisin ve amfisilinin kullanılan konsantrasyonlarının *Bacillus cereus* ATCC 11778 suşuna karşı inhibisyon zon çapları sırasıyla 22.67 ± 0.58 ve 11.00 ± 1.00 mm olarak saptanmıştır. *B. cereus*'un vankomisine amfisiline göre daha duyarlı olduğu belirlenmiştir.

4.1.2. Rezazurin-Broth mikrodilüsyon analiz sonuçları

Antibakteriyel aktiviteyi değerlendirmek için her bir bileşiğin *in vitro* koşullarda görülebilir mikroorganizma üremesini engelleyen minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri, Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteri suşlarına karşı rezazurin destekli sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Pozitif kontrol olarak vankomisin ve amfisilin, negatif kontrol olarak ise %10 DMSO+%0.5 Tween 20 kullanılmıştır. Tablo 4.2.'de test edilen mikroorganizmalara karşı linalol ve öjenolün MİK değerleri sunulmuştur.

Tablo 4.2. Test edilen mikroorganizmalara karşı linalol ve öjenolün MİK değerleri (µg/mL)

Mikroorganizma	Aktif esansiyel yağ bileşenleri, pozitif ve negatif kontrollerin MİK değerleri (µg/mL)				
	Linalol	Öjenol	C1	C2	C3
Gram negatif bakteriler					
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	2048	1024	0.00	8.00	64.00
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	>2048	2048	0.00	0.50	4.00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 35032)	nd	nd	0.00	nd	256
<i>Salmonella</i> Typhimurium (ATCC 14028)	2048	1024	0.00	nd	16.00
<i>Yersinia enterocolitica</i> (ATCC 27729)	1024	512	0.00	2.00	nd
Gram pozitif bakteriler					
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 11778)	1024	1024	0.00	0.25	128
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 7644)	1024	1024	0.00	>0.50	32.00
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	nd	2048	0.00	0.25	4.00

C1: %10 DMSO+%2 Tween 20; C2: Vankomisin; C3: Amfisilin nd: Tespit edilemedi

Araştırma kapsamında *E. coli* O157:H7 için linalol ve öjenolün MİK değerleri sırasıyla 2048 µg/mL ve 1024 µg/mL olarak saptanmıştır. González-González ve çalışma arkadaşları (2021) tarafından yapılan bir çalışmada linalolün *E. coli* O157:H7 bakteri suşuna karşı antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş ve MİK değerinin %0.0625 olduğu bildirilmiştir [63]. Bir başka çalışmada ise linalolün *E. coli* O157:H7 ATCC 700728 suşuna karşı MİK değerinin %0.6 olduğu belirlenmiştir [141]. Shah ve çalışma arkadaşları (2013) iki farklı *Escherichia coli* O157:H7 suşu için öjenolün MİK değerinin 1000 µg/mL olduğunu bildirmişlerdir [142]. Bu çalışmanın sonuçları bulgularımız ile benzerlik göstermektedir.

E. coli (ATCC 25922) için linalolün MİK değeri tespit edilemezken, öjenolün MİK değeri 2048 µg/mL olarak belirlenmiştir. Parasuraman ve çalışma arkadaşları (2022) linalol yüklü kalsiyum-aljinat biyokapsüllerinin *E.coli*'ye karşı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak tespit edilen MİK değerlerini 32 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar linalolün patojen membran potansiyelini azalttığı ve sitoplazmik materyal sızıntısı sonucu bakteri hücre bütünlüğünü bozduğunu bildirmişlerdir [103]. Varia ve çalışma arkadaşları (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, emülgatör olarak %3 Tween-20 kullanılarak hazırlanan 40 mg/mL konsantrasyonundaki linalolün *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı belirlenen MİK değerinin 0.63 mg/mL olduğu bildirilmiştir [143]. Yapılan bir diğer çalışmada linalolün *E. coli* (ATCC 11229) suşuna karşı MİK

değeri %0.19 olarak saptanmıştır [144]. Guimarães ve çalışma arkadaşları (2019) ise DMSO (0.75 mg/mL) içerisinde hazırladıkları ve linalolün de içinde bulunduğu stok uçucu bileşen solüsyonlarını Mueller-Hinton broth içinde seyreltmış ve son konsantrasyonları DMSO ve linalol için sırasıyla %0.25 ve 0.25 mg/mL olarak belirlemişler ve uygulama sonrası *E. coli*'ye karşı linalolün MİK değerini 0.25 mg/mL olarak bildirmişlerdir [145]. Bai ve çalışma arkadaşları (2023) tarafından yürütülen bir çalışmada araştırmamız kapsamında kullanılan *E. coli* (ATCC 25922) suşuna karşı öjenolün MİK değerinin 320 µg/mL olduğu bildirilmiştir [42]. Orlo ve çalışma arkadaşları (2021), *E. coli* ATCC 13762 bakteri suşuna karşı öjenolün antibakteriyel etkisini broth mikrodilüsyon yöntemi ile incelemiş ve öjenolün *E. coli* ATCC 13762 üzerine MİK değerini 12.5 mM olarak bildirmişlerdir [146]. Bir diğer çalışmada (2020) öjenolün *E. coli* CECT 434 bakteri suşuna karşı MİK değerinin 3 mM olduğu bildirilirken [147], Guimarães ve çalışma arkadaşları (2019) *E. coli*'ye karşı öjenolün MİK değerini 3 µg/mL olarak saptamışlardır [145].

Araştırmamız kapsamında *P. aeruginosa* (ATCC 35032) için linalol ve öjenolün MİK değerleri tespit edilememiştir. Liu ve çalışma arkadaşları (2020) linalolün *P. aeruginosa* ATCC 9027 bakteri suşuna karşı MİK değerini 431 µg/mL olarak saptayarak linalolün ilgili bakteriye karşı önemli antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir [59]. Orlo ve çalışma arkadaşları (2021) yaptıkları bir çalışmada öjenolün *P. aeruginosa* ATCC 9027'a karşı antibakteriyel etkisini broth mikrodilüsyon yöntemi ile incelemiş ve ilgili bakteri suşuna karşı öjenolün MİK değerini 12.5 mM saptamışlardır [146]. Araştırmamızda disk difüzyon sonuçlarımız da dikkate alındığında hem linalol hem de öjenolün oldukça düşük inhibisyon zonu oluşturduğu ve bu iki aktif bileşene dirençli olduğu görülmektedir (Tablo 4.1.).

Salmonella Typhimurium (ATCC 14028) bakteri suşu üzerine linalolün MİK değeri 2048 µg/mL, öjenolün 1024 µg/mL olarak belirlenmiştir. Varia ve çalışma arkadaşları (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, linalolün *S. Typhimurium* ATCC 23564 bakteri suşuna karşı MİK değerinin 1250 µg/mL olduğu bildirilmiştir [143]. Yapılan bir diğer çalışma da ise, *S. Typhimurium* (CCM 5445) bakteri suşuna karşı linalolün MİK değerinin %0.7 olduğu bildirilmiştir [141]. Öjenolün antibakteriyel aktivitesini inceleyen Liu ve çalışma arkadaşları (2015) ilgili bakteriye karşı öjenolün MİK değerini 2048 µg/mL [148] olarak

belirlerken, bir diğer çalışmada (2019) *Salmonella enterica* serovar Typhimurium'a karşı öjenolün MİK değerinin 70 µg/mL [145] olduğu bildirilmiştir.

Yersinia enterocolitica (ATCC 27729) için linalol ve öjenolün MİK değerleri sırasıyla 1024 µg/mL ve 512 µg/mL olarak belirlendi. Yapılan bir çalışmada %92 oranında linalol içerdiği bildirilen *Cinnamomum camphora* yapraklarından elde edilen esansiyel yağın ve %14.10 oranında linalol içeren *Laurus nobilis* esansiyel yağının *Yersinia enterocolitica*'ya karşı MİK değerlerinin sırasıyla 900 µg/mL ve 620 µg/mL olduğu saptanmıştır. Aynı çalışmada %35.60 linalol ve %11.30 öjenol içeren *Ocimum basilicum* esansiyel yağının *Yersinia enterocolitica*'ya karşı MİK değerinin 75.0 µg/mL olduğu bildirilmiştir [116]. Catherine ve çalışma arkadaşları (2012) yaptıkları bir araştırmada öjenolün *Y. enterocolitica* MTCC 859'ya karşı MİK değerinin %0.25 olduğunu bildirmişlerdir [149].

Bacillus cereus (ATCC 11778) için linalolün ve öjenolün MİK değerleri 1024 µg/mL olarak saptanmıştır. Baldim ve çalışma arkadaşları (2018) tarafından yrtlen bir araştırmada *Ocimum basilicum* (fesleğen)'un 10 farklı çeşidinden esansiyel yağ elde edilmiş ve bu yağların gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Bu 10 çeşit fesleğenden elde edilen esansiyel yağlardan linalol içeriği %51.38-60.22 arasında olan beş esansiyel yağın *Bacillus cereus*'a karşı MİK değerlerinin 100 - >400 µg/mL olduğu bildirilmiştir [150]. Guimarães ve çalışma arkadaşları (2019)'nın *B. cereus*'a karşı öjenolün antimikrobiyal aktivitesini inceledikleri bir çalışmalarında, öjenolün *B. cereus*'a karşı MİK değerinin 70 µg/mL olduğunu bildirmişlerdir [145].

Listeria monocytogenes (ATCC 7644) bakteri suşu için linalol ve öjenolün MİK değerleri 1024 µg/mL olarak saptanmıştır. He ve çalışma arkadaşları (2022) *L. monocytogenes* ATCC 19115 bakteri suşuna karşı linalolün antibakteriyel mekanizmasını incelemişler ve linalolün bu bakteriye karşı MİK değerini 1.293 mg/L olarak bildirmiştir. Ayrıca pozitif kontrol olarak kullandıkları amfisilinin *L. monocytogenes* zerine etkisi 25 mg/L olarak belirlenmiş, çalışmamızda ise amfisilin MİK değeri 32 µg/mL olarak saptanmıştır [151]. Yapılan bir diğer çalışmada (2021) ise linalolün *L. monocytogenes* (ATCC 19117)'e karşı sergilediği MİK değeri %6.250 [144] olarak saptanmıştır. Shah ve çalışma arkadaşları (2013) tarafından yrtlen bir araştırmada öjenolün *Listeria monocytogenes* bakterisine

ait iki adet suşun MİK değerlerinin 1500 µg/mL olduğunu [142], Liu ve çalışma arkadaşları (2015) ise *L. monocytogenes*'e karşı öjenolün MİK değerini 1024 µg/mL olarak belirlemişlerdir [148]. Bu sonuçlar araştırma bulgularımız ile benzerlik göstermektedir. Yapılan bir diğer çalışmada ise *L. monocytogenes* (ATCC 19117) bakterisi suşlarına karşı öjenolün %1.560 MİK değeri sergilediği gözlenmiştir [144].

Araştırmamız kapsamında *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) bakterisi suşuna karşı linalolün MİK değeri tespit edilemezken, öjenolün MİK değeri 2048 µg/mL olarak belirlenmiştir. Silva ve çalışma arkadaşları (2021) tarafından yapılan bir çalışmada linalolün *S. aureus* (ATCC 6538) bakterisi suşuna karşı MİK değeri %3.125 olarak saptanırken [144], konu hakkında yürütülen bir diğer çalışmada linalolün *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı belirlenen MİK değerinin 1250 µg/mL olduğu bildirilmiştir [143]. Guimarães ve çalışma arkadaşları (2019) öjenolün *S. aureus*'a karşı MİK değerinin 3 µg/mL olduğunu bildirirken [145], bir diğer çalışma *S. aureus* (ATCC 6538)'a karşı öjenolün MİK değerini %0.780 olarak bildirmiştir [144]. Catherine ve çalışma arkadaşları (2012) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise öjenolün *in vitro* ortamda *S. aureus* FRI 722 bakterisi suşuna karşı %0.20 MİK değeri sergilediği gözlenmiştir [149]. Öjenolün *S. aureus* üzerine antimikrobiyal etkisinin incelendiği diğer çalışmalarda ise MİK değerleri 260 µg/mL [42], 6.25 mM [146] olarak belirlenmiştir.

Araştırma bulgularımız ve literatürdeki sonuçlar dikkate alındığında aynı mikroorganizma için MİK değerlerinde benzerlikler olabildiği gibi önemli farklılıklar da görülmektedir. Bu farklılıkların inokulum, suş farkı, besiyeri bileşimi (tuz konsantrasyonu, pH, a_w), uygulama ile inkübasyon arasındaki süre, sıcaklık, inkübasyon süresi, aktif bileşenin konsantrasyonu, antagonizim ve sinerjizm gibi faktörlerden ileri gelebileceği düşünülmektedir [63,152].

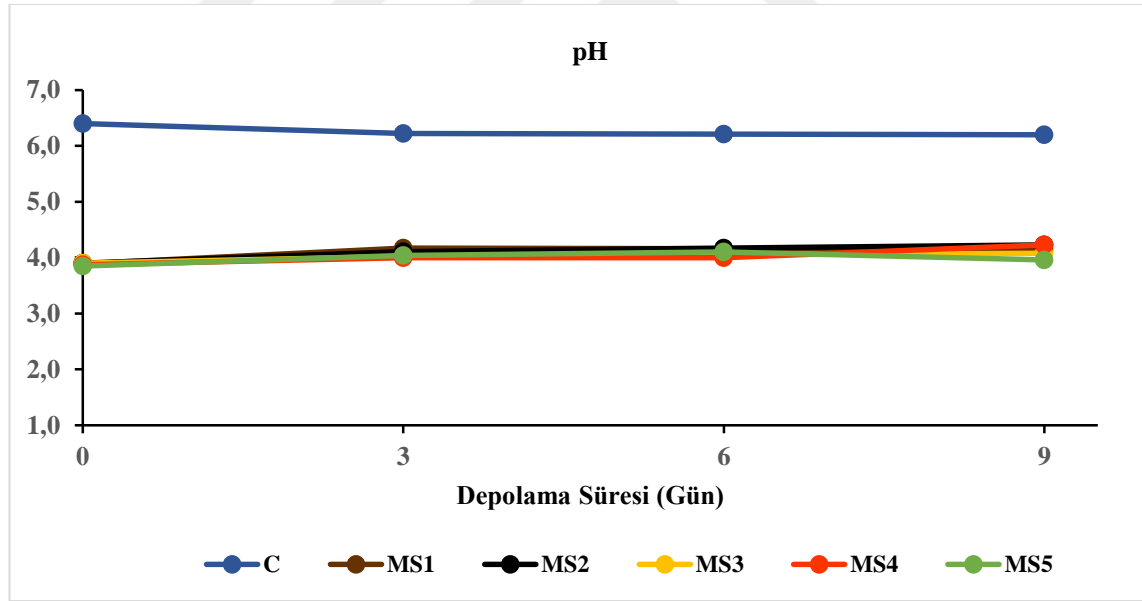
4.2. Linalol ve öjenolün tavuk göğüs filetolarının mikrobiyal kaliteleri üzerine etkileri

In vitro'da etkinlikleri saptanan linalol ve öjenolün *ex situ* uygulamaları için model gıda olarak tavuk göğüs eti filetoları kullanılmıştır. Marine edilip buzdolabı şartlarında 9 gün süreyle depolanan örneklerin depolamanın 0, 3, 6 ve 9. günlerinde pH ölçümleri ve

mikrobiyolojik analizleri (TAMB, LAB, *Pseudomonas* spp., koliform, maya-küf) yapılmış ve elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmaktadır.

4.2.1. pH analiz sonuçları

pH; kanatlı et ürünlerinin yumuşaklık, su tutma kapasitesi, renk, sululuk ve raf ömrü gibi özellikleri üzerinde doğrudan bir etkiye sahip en önemli parametrelerden biridir [153]. Etin pH'ı kalitenin çok önemli bir göstergesi olup etin tazeliği, yenilebilirliği ve bozulma derecesi pH izlenerek değerlendirilebilmektedir [154]. Kontrol ve marine tavuk eti örneklerinin 4 °C'de 9 gün depolama süresince ölçülen pH değerlerindeki değişim Şekil 4.3 ve Ek-Tablo 4.1.'de verilmiştir. Marinasyon sonrası kontrol ve deneme gruplarının başlangıç pH değerleri C, MS1, MS2, MS3, MS4 ve MS5 grupları için sırasıyla 6.40 ± 0.03 , 3.89 ± 0.02 , 3.90 ± 0.07 , 3.90 ± 0.03 , 3.97 ± 0.02 ve 3.85 ± 0.03 olarak kaydedilmiştir.



Şekil 4.2. Vakum ambalajda ve 4 °C'de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince pH değişimleri.

Veri noktaları, iki tekrarlı deneyden alınan üç örneğin ortalamasını temsil eder ve hata çubukları standart hataları gösterir. 0. gün: Marinasyondan 24 saat sonraki günü temsil etmektedir.

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L; v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L; v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö; v/v, %0.15); MS5: (Ö; v/v, %0.30).

Kontrol örneğinin pH değeri 4 °C’de depolama süresince 6.20±0.03-6.40±0.03 arasında değişmiştir. Depolamanın 0. günü ile diğer günler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark ($p<.001$) görülürken, 3, 6 ve 9. günlerde istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir ($p>.05$). Marine örneklerin depolama süresince pH’sı ise 3.85±0.03-4.23±0.03 arasında değişmiştir. Kontrol örneği ile marine edilmiş örnekler arasında pH değerlerindeki bu fark marinasyon bazının (1:5 erik ekşisi:distile su) pH (2.89)’sından ileri gelmektedir. Yıldız-Turp ve Serdaroğlu (2010) tarafından az yağlı dana köfte formülasyonuna farklı oranlarda (%5, %10 veya %15) erik püresi eklendiğinde pH değerlerinde benzer şekilde düşüşler gözlenmiştir [99]. Lytou ve çalışma arkadaşları ise limon suyu, elma suyu sirkesi, nar suyu, nar ve limon suyu karışımı ve nar ve elma suyu sirkesi karışımı ile tavuk göğüs filetoalarını marine etmiştir. Sonuçlar marinatların sahip olduğu düşük pH dolayısıyla marine etlerin pH’sının da düştüğünü bildirmiştir. Bu sonuçlar araştırma bulgularımız ile benzer bir eğilim göstermiştir. Yapılan bir diğer çalışma da ise farklı konsantrasyonlarda elma ve erik suyu ile marine edilen tavuk göğüs eti örneklerinin pH değerlerinin kontrol örneğine göre daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada kontrol örneğinin pH değeri 5.89, elma ve erik suyu ile marine edilen tavuk göğüs etlerinin pH değeri ise elma suyunda 3.69-3.71 ve erik suyunda 3.21-3.24 aralığında saptanmıştır [95]. Çalışmamızda marinata eklenen esansiyel yağ bileşenleri marinatın pH’sını önemli ölçüde etkilememiş ve bu sonuçlar Kirkpınar ve çalışma arkadaşları (2014) tarafından yürütülen bir araştırma sonuçları ile benzerlik göstermiştir. Araştırmacılar kekik ve sarımsak esansiyel yağlarının tavuk etinin bazı kalite özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, esansiyel yağların pH üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir [155].

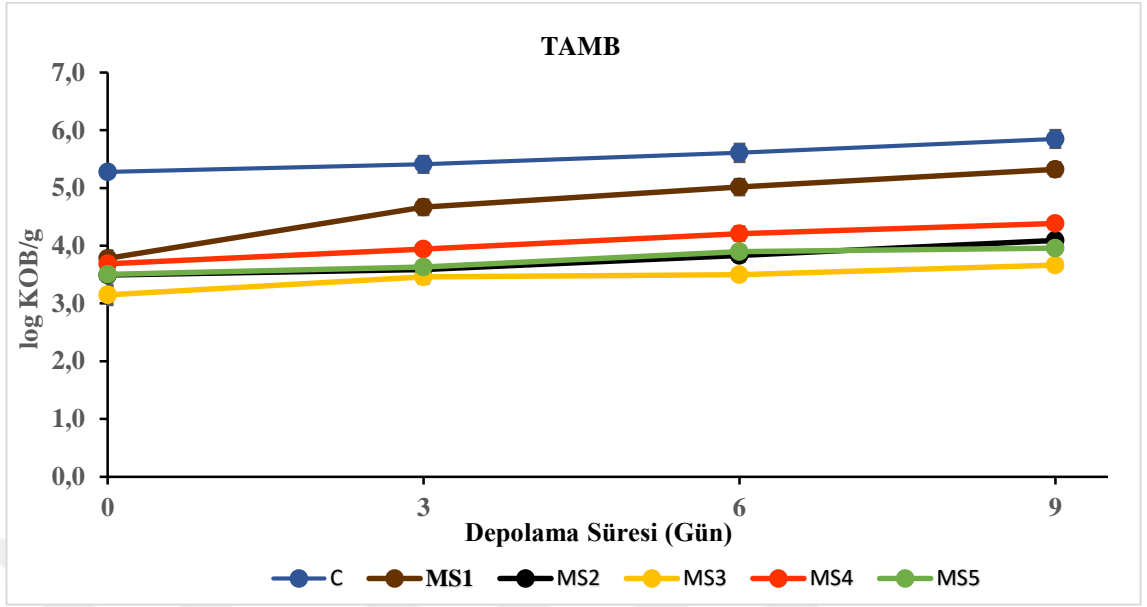
4.2.2. Mikrobiyolojik analiz sonuçları

Tavuk göğüs filetoalarının bozulmasını kontrol etmek için erik ekşisi bazlı marinata eklenen linalol ve öjenolün *ex situ* antimikrobiyal etkisi, 4 °C’de 9 günlük depolama süresi boyunca TAMB, *Pseudomonas* spp., LAB, toplam koliform, maya ve küf bakımından değerlendirilmiş ve sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

4.2.2.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı

Aerobik mezofilik bakteriler, gıdaların raf ömrünün ve bozulma durumunun belirlenmesinde indikatör mikroorganizma olarak kullanılırlar ve gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin değerlendirilmesinde önemlidirler. Çünkü bunların varlığı gıdanın patojenler tarafından kontaminasyonunu gösterir [156]. Çalışmamızda kontrol grubu örneğinin TAMB sayısı depolamanın 0. gününde 5.28 ± 0.02 log KOB/g olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4). Türk Gıda Kodeksi Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları tebliğine göre, çiğ kanatlı etlerindeki TAMB sayısının potansiyel risk sınırının 6.69 log KOB/g olduğu bildirilmiştir [157]. Diğer taraftan araştırma kapsamında kontrol örneklerinin TAMB sayısı 9 günlük depolama periyodu sonunda başlangıç sayısı olan 5.28 ± 0.02 log KOB/g'dan 5.85 ± 0.13 log KOB/g'a ulaşmıştır. Bu sonucun vakum ambalaj koşullarında depolamadan ileri geldiği düşünülmektedir. Nitekim Karam ve çalışma arkadaşları (2019) tarafından normal ve vakum ambalaj koşullarında 4 °C'de 21 gün depolanan tavuk etlerinin depolamanın son gününde TAMB sayılarının vakum ambalaj koşullarında depolanan örneklerde normal ambalaj koşullarına göre, taze tavuk eti için üst mikrobiyolojik sınır olarak kabul edilen 7.00 log KOB/g değerinin altında kaldığı bildirilmiş ve vakum ambalajın önemi ortaya konulmuştur [22]. Nyam ve çalışma arkadaşları (2023) tarafından yürütülen bir araştırmada çiğ tavuk göğüs etinde TAMB sayısı 6.36 log KOB/g olarak bildirilmiştir [158].

Vakum ambalaj altında 4 °C'de 9 gün süreyle depolanan erik ekşisi bazlı marinat ve %0.15 ve %0.30 konsantrasyonlarında aktif esansiyel yağ bileşenleri eklenen marinat ile marine edilmiş tavuk göğüs filetoalarının kontrol ve deneme gruplarına ait TAMB sayıları Şekil 4.3'de ve Ek-Tablo 4.2.'de sunulmuştur.



Şekil 4.3. Vakum ambalajda ve 4 °C'de depolanan kontrol ve marine tavuk eti örneklerinin Total Aerob Mezofil Bakteri sayısı.

Veri noktaları, iki tekrarlı deneyden alınan üç örneğin ortalamasını temsil eder ve hata çubukları standart hataları gösterir. 0. gün: Marinasyondan 24 saat sonraki günü temsil etmektedir. C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L; v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L; v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö; v/v, %0.15); MS5: (Ö; v/v, %0.30).

Kontrol örneği ve 24 saat marinasyondan sonra tüm grupların 0. gün TAMB sayıları 3.15 ± 0.15 - 5.28 ± 0.02 log KOB/g arasında değişmiştir. Diğer taraftan depolamanın 0. gününde marinatin asidik (pH 2.89 ± 0.02) doğasından dolayı tüm deneme gruplarının TAMB sayısı kontrole göre düşmüştür. Erik ekşisi-bazlı marinata (MS1) kontrol grubuna göre depolamanın 9. gününde 0.53 log birim düşüş sergilerken, erik ekşisi bazlı marinata %0.15 linalol eklenmesi TAMB sayısını 1.76 log birim düşürmüştür. Marinattaki linalol oranı iki katına yani %0.30'a çıktığında depolamanın son günü TAMB sayısı 2.18 log birim düşmüştür. Marinata %0.15 öjenol eklenmesi ise TAMB sayısını kontrol örneğine göre 1.46 log birim düşürmüştür. Marinata %0.30 öjenol eklenmesi ise TAMB sayısını 1.89 log birim düşürmüştür.

Kontrol örneğine (5.28 ± 0.02 log KOB/g) göre MS1 örneğinin TAMB sayısı 24 saatlik marinasyondan sonra 3.78 ± 0.08 log KOB/g'a düşerken, depolamanın 3. gününden itibaren kontrol örneğine göre sadece 0.74 log birim düşüş sergilemiştir. Bu fark depolamanın 6. ve 9. günlerinde sırasıyla 0.60 log birim ve 0.53 log birim olmuştur.

Depolamanın 9. gününde hazırlanmış kanatlı etinin TAMB sayısı 5.32 ± 0.10 log KOB/g'a ulaşmıştır. Hazırlanmış kanatlı etlerindeki TAMB sayısının potansiyel risk sınırı da ilgili tebliğde 6.69 log KOB/g olarak bildirilmiştir [157]. Diğer taraftan marinasyon sıvısına aktif esansiyel yağ bileşenleri eklenmiş gruplar 24 saatlik marinasyondan sonra MS1 örneğinden daha düşük TAMB sayısı içerirken, depolamanın 3, 6. ve 9. günlerinde MS1 örneğine göre aktif esansiyel yağ bileşenleri eklenen gruplarda, TAMB sayıları ortalama 1.00 log birimlik düşüş göstermeye devam etmiştir. Bu sonuçlar asitlik faktörünün dışında aktif esansiyel yağ bileşenlerinin antibakteriyal etkinliklerini *ex situ* uygulamada kanıtlamıştır. Ayrıca aktif esansiyel yağ bileşenleri ile muamelenin hazırlanmış kanatlı etlerindeki TAMB sayısını potansiyel risk sınırının (6.69 log KOB/g) altına düşürdüğü tespit edilmiştir. Her bir grubun depolama periyodu süresince TAMB sayısındaki değişim istatistiksel olarak önemli ($p < .001$) bulunmuştur. Aynı zamanda her bir depolama gününde grupların TAMB sayısındaki değişim de istatistiksel olarak önemli ($p < .000$) bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada işlem görmemiş tavuk kanatlarında 0. gün TAMB sayısının 4.69 log KOB/örnek olduğu, depolamanın 7. günü 7.15 log KOB/örnek sayısına ulaştığı ve ilk güne göre 2.46 log birim artış gösterdiği bildirilmiştir. Tavuk kanatlarının TAMB sayılarının hazırlanan kaplama materyallerine öjenol eklenmesine bağlı olarak tüm depolama günlerinde düşüş sergilediği bildirilmiştir. Diğer taraftan çalışmanın sonuçları öjenol konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma sayısındaki değişimin hem artış hem de azalış sergilediğini göstermiştir [74]. Muppalla ve çalışma arkadaşları (2014) karboksimetil selüloz, polivinilalkol ve karanfil yağı karışımlarına dayalı aktif bir film geliştirmek ve bu filmin fiziksel ve fonksiyonel özelliklerini karakterize etmek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu filmin et muhafazasındaki etkinliklerini tespit etmek amacıyla model gıda olarak tavuk etini seçmişler ve bu filmlerle paketlenmiş et örneklerinin toplam canlı sayılarının daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Kaplama filmin içeriğinde yer alan karanfil yağının etkisiyle tavuk etinin toplam canlı yükünün 2-3 log KOB/g azaldığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar 16 gün boyunca buzdolabında muhafaza edilen filmle kaplı örneklerin 12 günlük bir raf ömrü sergilediğini, kontrol örneklerinin ise 4 gün içinde bozulduğunu bildirmişlerdir [159]. Bir diğer çalışmada tavuk etinden hazırlanan erişteye öjenol (0.1 g/100 g), nane esansiyel yağı (1.0 g/100 g), kitosan 1.0 g/100 g ve EDTA (35 mg/kg) gibi bileşenlerin eklenmesi ile tavuk etinin

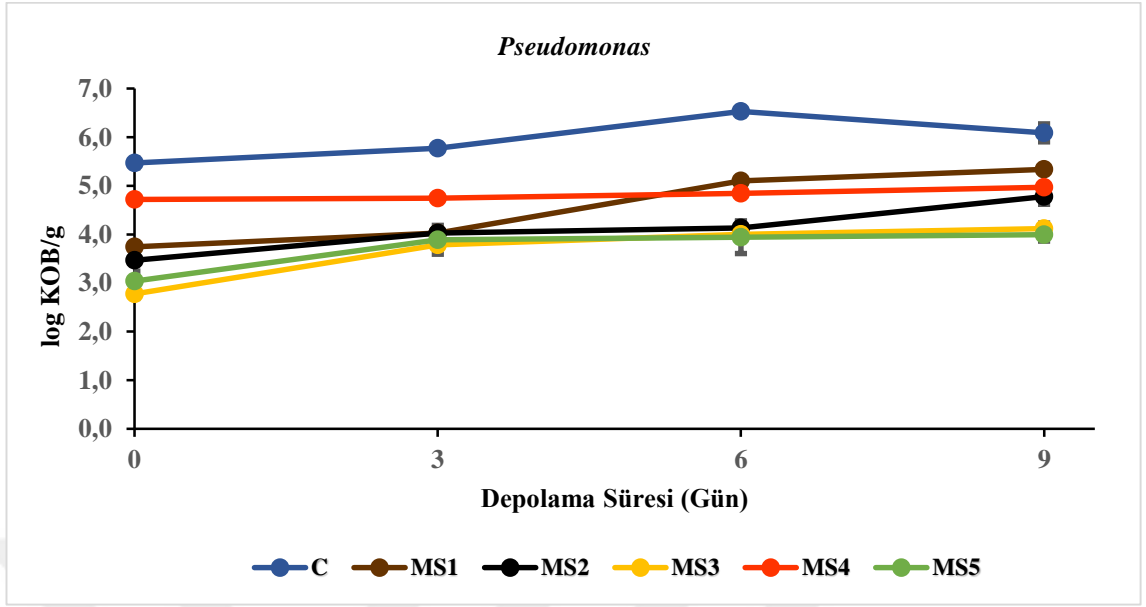
TAMB sayısının önemli ölçüde düştüğü bildirilmiştir [75]. Karam ve çalışma arkadaşları tarafından yürütülen bir araştırmada marine tavuk etinin raf ömrü üzerine timol, karvakrol ve paketlemenin kombine etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgular %0.4 ve %0.8 (v/w) konsantrasyonlarında test edilen aktif esansiyel yağ bileşenlerinin özellikle yüksek konsantrasyonda kullanımının vakum ambalajlama ile birleştirildiğinde, taze marine edilmiş tavuk etinde toplam canlı sayısının inhibisyonu üzerinde önemli antimikrobiyal bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu çalışmalar ile karşılaştırıldığında elde ettiğimiz sonuçlar benzer olup, aktif esansiyel yağ bileşenleri *ex situ* koşullarda TAMB sayısının depolama süresince azalmasında önemli rol oynamıştır.

4.2.2.2. *Pseudomonas* sayısı

Dünyadaki en yaygın bakteri türlerinden biri olarak tanımlanan psikrotrofik *Pseudomonas* cinsi, her ortamda bulunan ve metabolik olarak çok yönlü bakterilerdir. Basit beslenme gereksinimleri ve hızlı büyümeleri nedeniyle, çeşitli çevre koşullarında hayatta kalma yeteneğine sahiptirler [160].

Araştırma kapsamında kontrol grubu örneklerinin *Pseudomonas* sayısı depolamanın 0. gününde 5.47 ± 0.09 log KOB/g olduğu, depolamanın 3, 6 ve 9. günlerinde ise bu sayının sırasıyla 5.77 ± 0.02 , 6.53 ± 0.08 ve 6.09 ± 0.18 log KOB/g olduğu saptanmıştır (Şekil 4.5., Ek Tablo 4.5.). “Türk Gıda Kodeksi Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları Tebliği”ne göre çiğ kanatlı etlerindeki *Pseudomonas* sayısının potansiyel risk sınırının 5.69 log KOB/g olduğu bildirilmiştir [157]. Dolayısıyla kontrol örneğinin *Pseudomonas* spp. sayısı açısından potansiyel risk taşıdığı görülmektedir (Şekil 4.4. ve Ek-Tablo 4.3.).

Kontrol ve deneme gruplarına ait *Pseudomonas* sayıları Şekil 4.5. ve Ek-Tablo 4.3.de sunulmuştur. Depolama süresince tüm grupların *Pseudomonas* spp. sayıları artış sergilemiş ve bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < .000$) (Şekil 4.4. ve Ek-Tablo 4.3.).



Şekil 4.4. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin *Pseudomonas* sayısı (log KOB/g)

Veri noktaları, iki tekrarlı deneyden alınan üç örneğin ortalamasını temsil eder ve hata çubukları standart hataları gösterir. 0. gün: Marinasyondan 24 saat sonraki günü temsil etmektedir. C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L; v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L; v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö; v/v, %0.15); MS5: (Ö; v/v, %0.30).

Diğer taraftan depolama süresince kontrol örneğine göre tek başına erik ekşisi bazlı marinasyon sıvısının (MS1) ve bu marinata eklenen aktif esansiyel yağ bileşenlerinin *Pseudomonas* sayısını kontrol örneğine kıyasla düşürdüğü belirlenmiş ve gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < .000$). Tek başına erik ekşisi bazlı marinasyon sıvısının (MS1), 24 saatlik marinasyon sonrası (depolamanın 0. günü) *Pseudomonas* sayısının %0.15 öjenol içeren deneme grubundan (MS4) daha düşük olduğu ancak depolamanın 6. gününden itibaren MS1 örneğinin *Pseudomonas* sayısının aktif esansiyel yağ bileşenleri içeren tüm deneme gruplarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. *Pseudomonas* sayıları bakımından depolamanın 0. gününde kontrol grubu ile diğer gruplar arasında 0.75-2.69 log KOB/g bir düşüş saptanırken, depolamanın 9. gününde bu düşüş 0.75-2.10 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Ayrıca linalol ve öjenolün konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak düşüş artmış ve depolamanın son günü en düşük *Pseudomonas* sayıları MS3 (linalol, %0.30) ve MS5 (öjenol, %0.30) örneklerinde gözlenmiştir. Aktif esasiyel yağ bileşenlerinin konsantrasyonlarının artışı ile birlikte

antimikrobiyal etkinin de artmış olması yönünde elde ettiğimiz bulgu Karam ve çalışma arkadaşlarının (2019) timol ve karvakrolün etkisini araştırdıkları çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir [22].

Pseudomonas türleri iyi adaptasyon yeteneği, yüksek proteaz ve lipaz aktiviteleri nedeniyle aerobik olarak saklanan soğutulmuş gıdalarda bozulmaya neden olan anahtar mikroorganizmalardır. Et endüstrisi için önemli bir bozulma sebebi olan *Pseudomonas* spp.'nin ette gelişimi ürünlerde yapışkanlık ve kötü koku oluşumuna sebep olmaktadır. Gelişimleri sırasında etin besin bileşenlerini kullanarak esterler, ketonlar, alkoller, aldehitler, organik asitler, sülfür bileşenleri ve aminler gibi uçucu ve uçucu olmayan metabolitler açığa çıkararak istenmeyen organoleptik değişikliklere ve etin bozulmasına yol açarlar [161]. Sonuçlarımız incelendiğinde 9 günlük depolama süresince kontrol örneğindeki *Pseudomonas* sayısı 6.09 ± 0.18 log KOB/g'a ulaşmış ve bu değer Türk Gıda Kodeksi Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları Tebliği'ne [157] göre potansiyel risk sınırını aşmıştır. Erik ekşisi bazlı marinat ile marine edilen örneklerde de 5.34 ± 0.05 log KOB/g'a ulaşmıştır. Erik ekşisi bazlı marinata eklenen aktif esansiyel yağ bileşenlerini içeren marinatlar ile marine edilen örneklerde ise *Pseudomonas* sayısı bu tebliğde belirtilen potansiyel risk sınırının altında tespit edilmiştir. Dolayısıyla aktif esansiyel yağ bileşenlerinin marinata eklenmesi ile hazırlanan marinasyon ile muamele edilen ve 9 gün süreyle depolanan tavuk etlerinin *Pseudomonas* açısından güvenli olduğu sonucuna varılmıştır.

Karam ve çalışma arkadaşları (2019) tarafından, normal ve vakum ambalaj altında 4 °C'de 21 gün depolanan özel bir marinat sıvısı ile marine edilmiş taze tavuğa %0.4 ve %0.8 v/w oranlarında eklenen karvakrol ve timolün antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda vakum ambalaj ile depolanan örneklerin, mevcut oksijen miktarındaki azalma nedeniyle *Pseudomonas* sayısının normal ambalaja göre önemli ölçüde azaldığı ve marinata esansiyel yağ ilavesinin tek başına vakum ambalajdan daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca karvakrol ve timolün kombinasyonunun, *Pseudomonas* sayılarının azalması üzerinde sinerjistik bir etki gösterdiği de vurgulanmıştır [22].

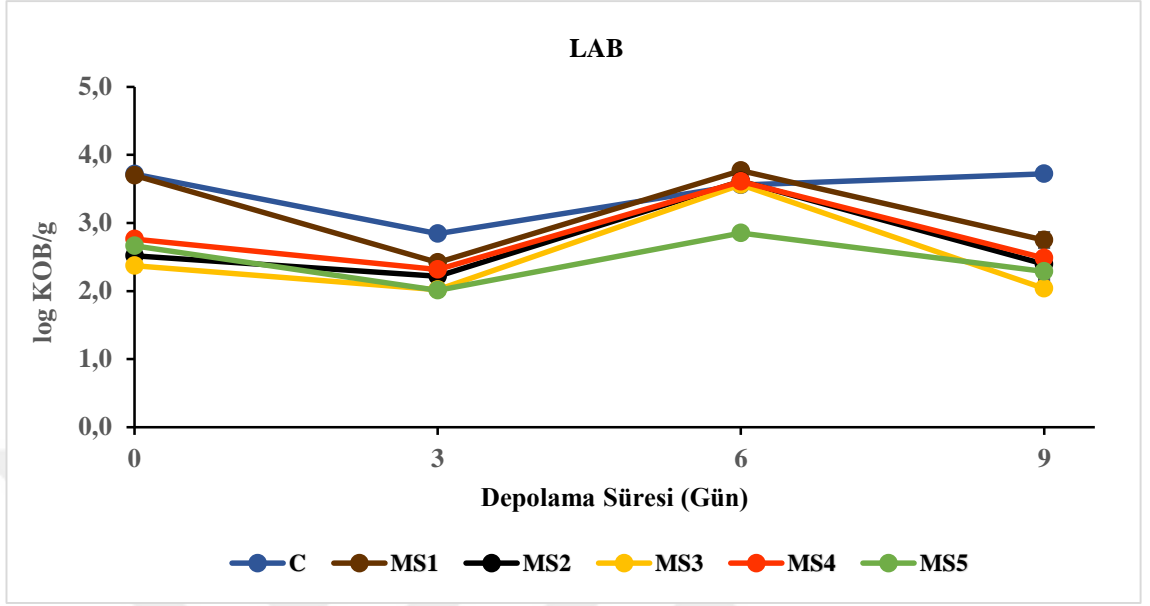
Fernández-Pan ve çalışma arkadaşları (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada tavuk göğsünün kalitesini iyileştirmek ve raf ömrünü uzatmak için doğal antimikrobiyaller

olarak kekik veya karanfil esansiyel yağları içeren peyniraltı suyu protein izolatu yenilebilir film kaplamalar geliştirilmiştir. Araştırmacılar bu film ile tavuk göğüs filetoalarını kaplamış ve 4 °C’de 13 gün depolamışlardır. Depolama süresince *Pseudomonas* spp. gelişimindeki değişim incelenmiş ve elde edilen sonuçlar depolamanın 3. gününe kadar hem kontrol hem de deneme gruplarının *Pseudomonas* sayısında bir değişiklik olmadığını ve depolamanın 5. gününden itibaren artış olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan kontrol örneğine kıyasla diğer grupların *Pseudomonas* sayılarının ise depolamanın son gününde 0.80-1.52 log birim arasında azalma sergilediği tespit edilmiştir. Araştırmacılar aynı zamanda kaplamaların antimikrobiyal etkisinin esansiyel yağ konsantrasyonuna (ne kadar yüksekse o kadar iyi), esansiyel yağ çeşidine (kekik esansiyel yağı en aktif olan) ve analiz edilen mikroorganizma grubuna (*Pseudomonas* spp. en dirençli) bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir [162].

4.2.2.3. LAB sayısı

Laktik asit bakterileri (LAB), taze etin aerobik veya vakum ambalajda saklanması sırasında et mikroflorasına hakim olabilen bozucu bir mikroorganizma grubudur [163], [164]. Araştırma kapsamında kontrol grubunun başlangıç LAB sayısı 3.70 ± 0.03 log KOB/g olarak belirlenirken, sadece erik ekşisi bazlı marinata ile marine edilen MS1 örneğinde ise 3.69 ± 0.02 log KOB/g olarak belirlenmiştir. Marinata aktif esansiyel yağ bileşenlerinin eklenmesi sonucunda başlangıç LAB sayıları ise MS2, MS3, MS4 ve MS5 grupları için 0.96-1.35 log birim aralığında düşüş sergilemiş ve istatistiksel olarak $p < .000$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Kontrol ve deneme gruplarına ait LAB sayıları Şekil 4.5. ve Ek Tablo 4.4’da sunulmuştur.

Depolamanın 3. gününde tüm grupların LAB sayısında 0. güne göre bir düşüş gözlenirken, kontrol örneğinin LAB sayısı 3. ve 9. günlerde artış sergilemiştir. Depolamanın 9. günü kontrol örneğinin LAB sayısı 3.72 ± 0.02 log KOB/g iken, en düşük LAB sayısı erik ekşisi bazlı marinata %0.30 konsantrasyonda eklenen linalol ile marine edilen tavuk göğüs etlerinde (2.04 ± 0.04 log KOB/g) saptanmıştır.



Şekil 4.5. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin LAB sayısı (log KOB/g)

Veri noktaları, iki tekrarlı deneyden alınan üç örneğin ortalamasını temsil eder ve hata çubukları standart hataları gösterir. 0. gün: Marinasyondan 24 saat sonraki günü temsil etmektedir.

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L; v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L; v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö; v/v, %0.15); MS5: (Ö; v/v, %0.30).

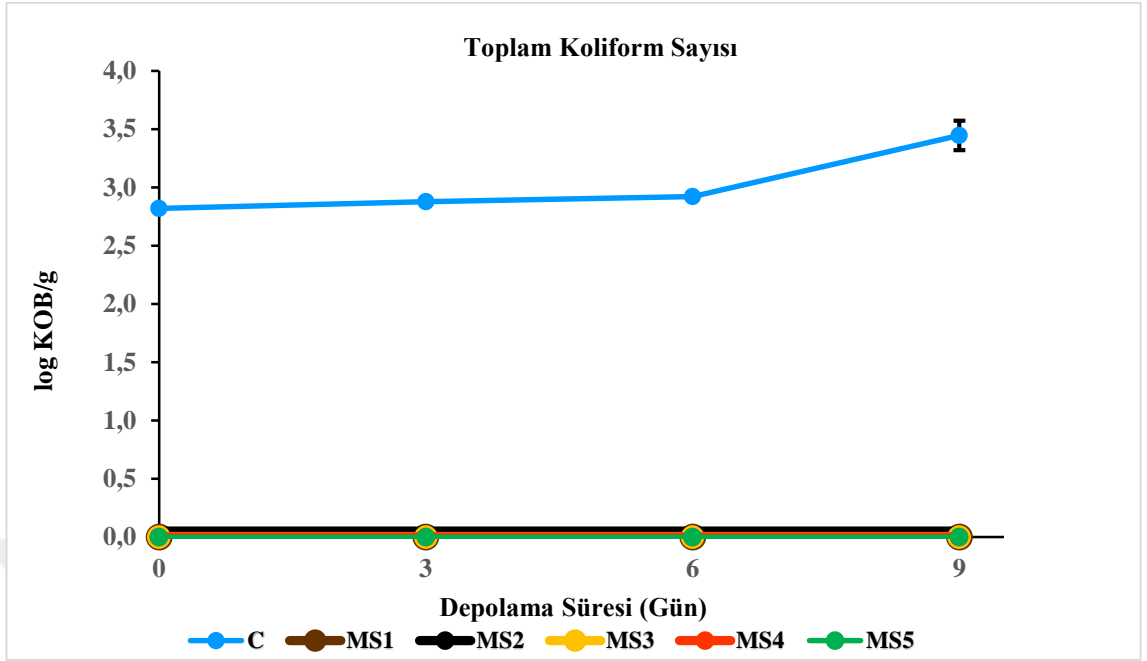
Bir araştırmada, marinata timol ve karvakrol eklenerek muamele edilen tavuk eti örnekleri normal ve vakum ambalaj altında 4 °C’de 21 gün depolanmıştır. Depolamanın 6. gününden itibaren en yüksek LAB sayısı vakum paketlenmiş marine tavuk eti örneklerinde gözlenirken, en düşük LAB sayısı ise %0.8 oranında karvakrol ve timol eklenmiş marinat ile marine edilen vakum ambalajlanmış örneklerde gözlenmiştir [22]. Bu sonuçlar dikkate alındığında, fakültatif anaerob doğalarından dolayı LAB’nin gelişimi üzerine vakum ambalajlamanın sınırlayıcı bir etkisi olmadığı ancak aktif esansiyel yağ bileşenleri kombinasyonu ile bu bakteri grubunun gelişiminin kısıtlandığı söylenebilir. Diğer taraftan çalışma bulgularımıza benzer olarak Karam ve çalışma arkadaşları (2019) tarafından yürütülen çalışmada da elde edilen LAB sayıları depolama süresi boyunca hem yükseliş hem düşüş sergilemiştir.

Fernández-Pan ve çalışma arkadaşları (2014)'nın tavuk gsnn kalitesini iyileştirmek ve raf ömrünü uzatmak için geliştirdikleri kekik veya karanfil esansiyel yağları içeren peyniraltı suyu protein izolatu yenilebilir film kaplamaların, örneklerin depolama periyodu süresince LAB sayılarındaki değişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Kontrol ve deneme gruplarının başlangıç LAB sayıları 3.37 ± 0.21 log KOB/g olarak bildirilmiş ve depolamanın 13. gününde LAB sayısının kontrol grubunda 8.96 ± 0.08 log KOB/g'a ulaştığı bildirilmiştir. Deneme gruplarının LAB sayıları ise kontrol grubuyla kıyaslandığında 0.14-1.91 log birim azalmıştır [162].

Aerobik koşullarda paketlenen ve buzdolabı şartlarında depolanan tavuk etleri için başlıca endüstriyel ve ticari bozulma indikatörleri toplam aerobik mezofilik mikrobiyota, psikrotrofik bakteriler (*Pseudomonas* spp.) ve LAB'dir. Bu nedenle Avrupa Birliği mikrobiyolojik kriterler tebliğine göre taze ve soğutulmuş et ürünleri için önerilen mikrobiyolojik kriterler dikkate alındığında sınır değerlerin toplam aerobik mezofilik bakteriler için 10^6 KOB/g, *Pseudomonas* türleri için 10^7 veya 10^8 KOB/g ve LAB için 10^8 KOB/g olduğu bildirilmiştir [162]. Bulgularımız incelendiğinde örneklerin TAMB sayılarının en yüksek 5.85 log KOB/g, *Pseudomonas* spp. sayılarının en yüksek 6.53 log KOB/g ve LAB sayılarının ise en yüksek 3.77 log KOB/g olduğu grlmektedir.

4.2.2.4. Koliform sayısı

Bazı mikroorganizmalar, gıdaların hijyenik olarak işlenmesinin potansiyel bir göstergesi olarak tanımlanmıştır. Özellikle aerobik koliform bakteri miktarı etin hijyenik kalitesini belirlemek için iyi bir kriterdir [165]. Kontrol ve deneme gruplarına ait koliform sayıları şekil 4.6. ve Ek Tablo 4.5.'de sunulmuştur.



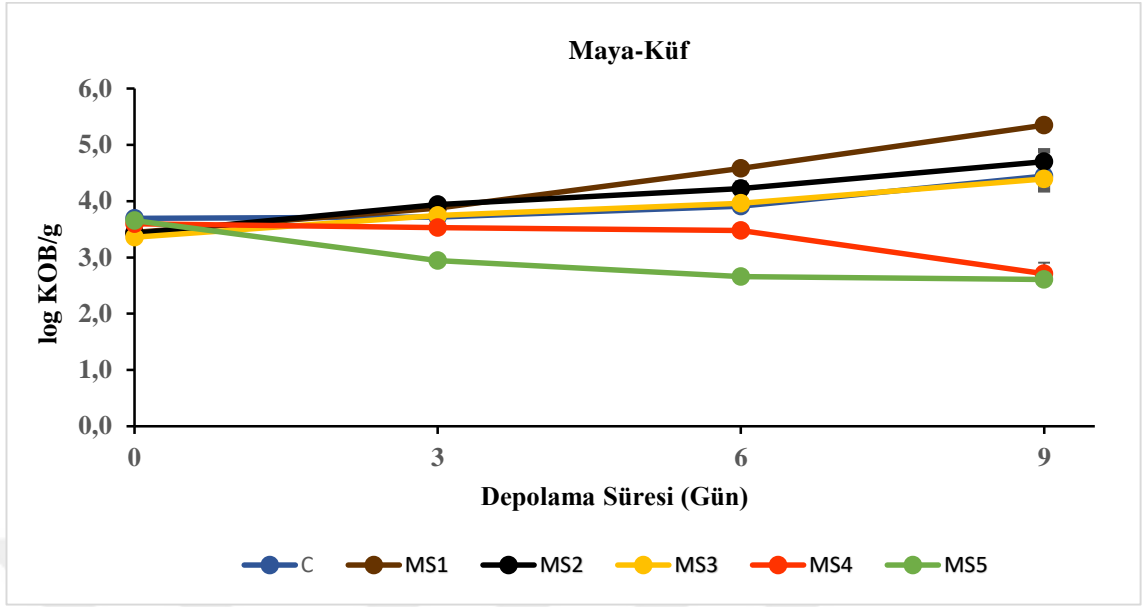
Şekil 4.6. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin koliform bakteri sayısı (log KOB/g)

Veri noktaları, iki tekrarlı deneyden alınan üç örneğin ortalamasını temsil eder ve hata çubukları standart hataları gösterir. 0. gün: Marinasyondan 24 saat sonraki günü temsil etmektedir. C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan Erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L; v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L; v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö; v/v, %0.15); MS5: (Ö; v/v, %0.30).

Araştırma kapsamında toplam koliform sayısı depolama periyodu süresince kontrol grubunda 2.82 ± 0.03 - 3.45 ± 0.13 aralığında değişmiştir. Tüm deneme gruplarında ise koliform sayısı tespit sınırının altında bulunmuştur (<1). Bu sonuçlar öncelikli olarak marinatın asidik doğasından ileri gelmektedir.

4.2.2.5. Maya ve küf sayısı

Kontrol ve deneme gruplarına ait maya-küf sayıları Şekil 4.7. ve Ek Tablo 4.6.’da sunulmuştur. Araştırma kapsamında tüm depolama günlerinde küfe rastlanmamış olup verilen sonuçlar mayalara aittir. Maya florası üzerine öjenol bileşeni önemli antimaya etkisi sergilemiştir.



Şekil 4.7. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine tavuk göğüs fileto örneklerinin maya-küf sayısı (log KOB/g)

Veri noktaları, iki tekrarlı deneyden alınan üç örneğin ortalamasını temsil eder ve hata çubukları standart hataları gösterir. 0. gün: Marinasyondan 24 saat sonraki günü temsil etmektedir. C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L; v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L; v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö; v/v, %0.15); MS5: (Ö; v/v, %0.30).

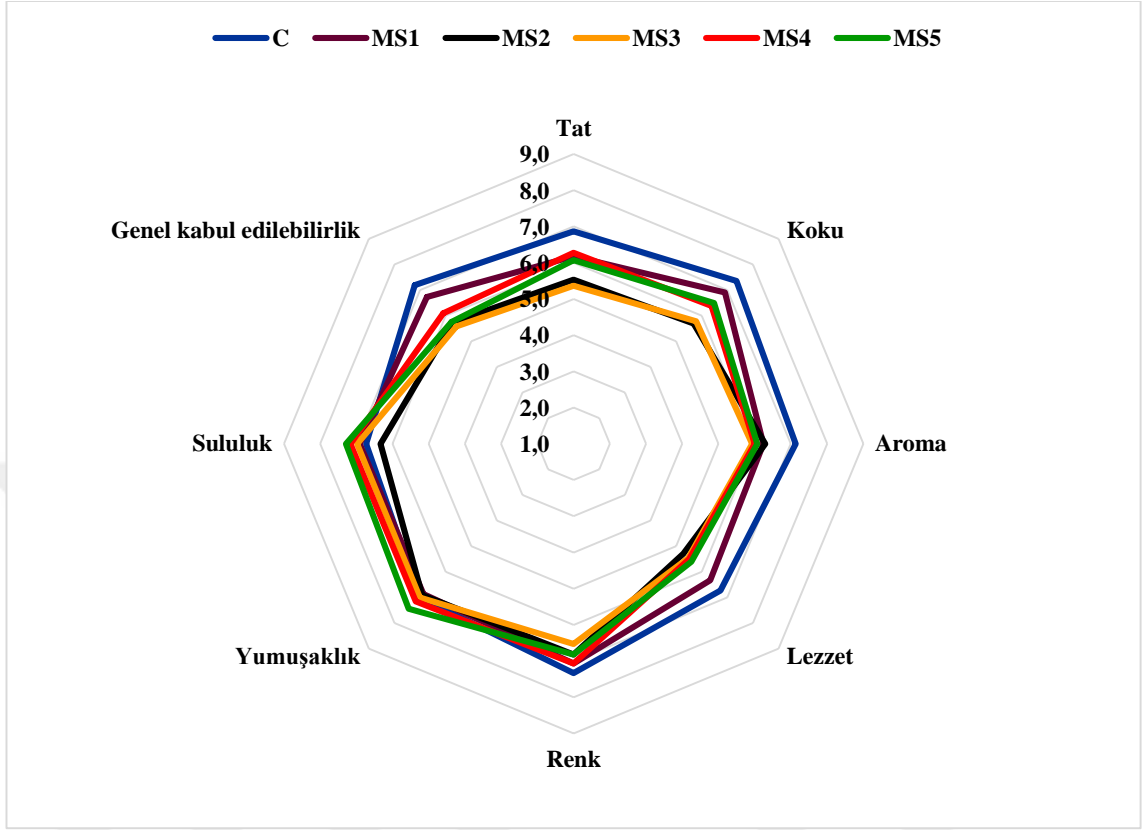
Depolama periyodunun başlangıcında en yüksek maya sayısı kontrol grubunda (3.69 ± 0.068) tespit edilmiştir. Diğer taraftan depolama süresince öjenol ilave edilmiş gruplar (MS4 ve MS5) haricinde diğer grupların maya sayısı artış sergilemiş ve istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < .000$). Öjenol ilave edilmiş örneklerin ise maya sayıları depolama süresince düşüş sergilemiş ($p < .000$) ve MS4 (%0.15 öjenol) grubunda 2.71 ± 0.01 log KOB/g’a, MS5 (%0.30 öjenol) grubunda ise 2.61 ± 0.04 log KOB/g’a düşmüştür. Araştırma bulgularımız incelendiğinde öjenol eklenmiş marinatlarla marine edilmiş tavuk göğüs filetolarında maya-küf sayısının diğer gruplara kıyasla önemli ölçüde azaldığı, dolayısıyla öjenolün maya üzerinde güçlü inhibisyon etkisinin olduğunu kanıtlamıştır.

Çeşitli esansiyel yağların biyokoruyucu olarak kullanımı ve bunların dondurulmuş koşullarda vakumla paketlenmiş taze tavuk sosislerinin kalitesine etkisi konusunda yürütülen bir araştırmada esansiyel yağlar ile muamele edilmiş vakumla paketlenmiş taze

tavuk sosislerinde maya sayısının tespit sınırının altında olduğu bildirilmiştir [166]. Literatürde aktif esansiyel yağ bileşenleri olarak karvakrol-timol kombinasyonu ve ambalajlama modelinin (normal ve vakum) marine etin mikrobiyal florası üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada aktif esansiyel yağ bileşenlerinin marinata eklenmesi ile bu aktif bileşenlerin konsantrasyonlarına bağlı olarak maya-küf sayısı yaklaşık olarak 3.00 log KOB/g ve altında saptanmıştır [167]. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin mayalara ve küflere karşı etki mekanizması hakkında literatürde yeterli veri mevcut olmayıp, etkinin özellikle hücre zarfı ile etkileşim, ergosterol biyosentezinin bozulması ve hücre homeostazında bozulma (Ca^{2+} kaybı) sonucu ortaya çıkabileceği bildirilmiştir [163].

4.2.2.6. Duyusal analiz sonuçları

Kontrol grubu ve farklı konsantrasyonlarda linalol ve öjenol ilavesi ile hazırlanan erik ekşisi bazlı marinasyon sıvısı ile marine edilen tavuk göğüs filetolarının duyusal profili Şekil 4.8’de sunulmuştur. Tavuk göğüs filetolarının marinasyonunda kullanılan aktif esansiyel yağ bileşenlerinin tat, koku, lezzet, sululuk ve genel kabul edilebilirlik parametreleri üzerinde çok çok önemli ($p<.000$), aroma üzerinde çok önemli ($p<.001$), renk üzerinde önemli ($p<.05$) düzeyde etkili bulunmuştur. Yumuşaklık parametresi üzerine kontrol ve deneme grupları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p>.05$).



Şekil 4.8. Marine tavuk göğüs filetolarının duyuşal profili

Kontrol ve deneme tavuk göğüş filetolarının duyuşal analiz değerlerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Ek Tablo 4.8’de verilmiştir. En düşük ortalama tat değeri (5.36 ± 1.37) MS3 grubunda, en yüksek değer ise kontrol grubunda (6.87 ± 1.69) belirlenmiştir. Koku açısından en düşük skor MS2 örneğinde (5.69 ± 1.24) belirlenirken, kontrol örneği en yüksek (7.36 ± 1.58) koku skoruna sahip olmuştur. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinin marinata eklenmesi ile hazırlanan marinasyon sıvısı ile marine edilen tavuk göğüş filetolarının lezzet açısından en beğenileni 6.73 ± 1.25 skoru ile kontrol örneği olmuştur. Lezzet skorunun en düşük (5.29 ± 1.65) olduğu örnek ise %0.15 konsantrasyonunda linalol kullanılan marinat ile muamele edilen MS2 olmuştur. Sululuk parametresi açısından incelendiğinde tüm grupların panelistler tarafından ortalama 6.0-7.0 (iyi) skoru aldığı görölmektedir (Şekil 4.8. ve Ek Tablo 4.8.). Diğer taraftan aroma açısından en beğenilen örnek kontrol (7.13 ± 1.52) örneği olmuştur. Renk açısından en düşük skor (6.53 ± 1.29) MS3 örneğinde, en yüksek skor (7.33 ± 1.14) kontrol örneğinde

saptanmıştır. Yumuşaklık parametresi açısından gruplar arasında panelistler tarafından önemli bir fark tespit edilememiş ve elde edilen skorlar istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p>.05$). Duyusal analiz sonuçları incelendiğinde genel kabul edilebilirlik açısından en beğenilen örnekler kontrol ve sadece erik ekşisi ile muamele edilen MS1 grupları olmuştur. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinden öjenol içeren marinatlar ile muamele edilen MS4 ve MS5 örnekleri, linalol içeren örneklerle (MS2 ve MS3) göre tüm parametreler açısından daha yüksek skorlar almıştır. Genel beğenilirlik açısından kontrol örneği en yüksek skoru alırken en düşük skorları ise linalol içeren örnekler almıştır.

He ve çalışma arkadaşları (2023) linalolün tavuk göğsünün duyuşsal özellikleri üzerindeki etkisini koku, doku, renk ve genel kabul edilebilirlik parametreleri açısından değerlendirmişlerdir (1 en kötü, 5 en iyi). Duyusal analizler sonucunda elde edilen veriler linalolün tavuk göğüs etine uygulanmasının kabul edilebilir olduğunu göstermiştir [64]. Araştırmamızda ise en düşük skorları linalol ile muamele edilen örnekler almıştır.

Mytle ve çalışma arkadaşları (2006) tarafından yürütölen bir araştırmada %1 ve %2 karanfil yağı yüzey uygulamasına tabi tutulan tavuk sosislerinin ön bir duyuşsal değerlendirilmesi yapılmıştır. Üç üyeli eğitimsiz panelistler tarafından örnekler aroma, tat ve genel kabul açısından değerlendirilmişlerdir. İşlenmiş sosisleri değerlendirmek için beş noktalı bir hedonik ölçek kullanılmış ve karanfil yağının duyuşsal özelliklerinin tavuk sosislerinde daha yüksek konsantrasyona (2.0 v/v) kıyasla, düşük konsantrasyonda (1.0 v/v) daha fazla kabul edilebilir olduğu bildirilmiştir [168]. Bu araştırmanın duyuşsal analiz sonucu öjenol içeren tavuk göğüs filetoalarının linalol içerenlere göre daha çok beğenilmesi açısından çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

BÖLÜM 5

SONUÇ ve ÖNERİLER

Gıda kaynaklı patojenler birçok hastalığa neden olabilmekte, aynı zamanda sağlık maliyetleri, enerji ve zaman israfı dikkate alındığında dünya çapında büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Gıda kaynaklı patojenlerin neden olduğu bu tür zararların en aza indirilmesi gıda endüstrisinin önemli konuları arasında yer almaktadır. Günümüzde patojen ve bozucu mikroorganizmalarla mücadelede sıcaklık (ısıl işlemler, soğukta depolama), asitlik (fermentasyon) ve koruyucu (sentetik koruyucular) kullanımı en çok başvurulan yöntemlerdir. Bu yöntemlerin çoğunun gıdanın yapısal özelliklerini olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle kullanımlarında sınırlamalar söz konusudur. Ayrıca minimum düzeyde işlenmiş ve/veya koruyucu içermeyen gıdalara olan talep her geçen gün artmaktadır. Bu bağlamda antimikrobiyal özelliklere sahip uçucu yağlar ve bu yağların aktif bileşenleri gıda ürünlerinde doğal koruyucu olarak kullanım potansiyeline sahiptir.

Bu araştırmada ana motivasyonumuz aktif esansiyel yağ bileşenleri arasında yer alan linalol ve öjenolün 3 adet Gram-pozitif [*Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)] ve 5 adet Gram-negatif [*Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43897), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 35032), *Salmonella* Typhimurium (ATCC 14028) ve *Yersinia enterocolitica* (ATCC 27729)] referans bakteri suşlarına karşı *in vitro* koşullarda antibakteriyal aktivitelerini belirlemek ve *in vitro* koşullarda elde edilen sonuçların *ex situ* koşullarda ne ölçüde etkili olduğunu saptamaktır.

Çalışmanın ilk aşamasında gıda kaynaklı referans bakteri suşlarına karşı linalol ve öjenolün anti bakteriyal etkileri disk difüzyon ve rezasurin-broth mikrodilüsyon yöntemleri ile belirlenmiş ve çalışmanın devamında *in vitro* koşullarda elde edilen sonuçların *ex situ* ortamda ne ölçüde etkili olduğunun belirlenmesi amacıyla model gıda olarak tavuk göğüs filetosu seçilmiştir. Vakum ambalajda depolanan tavuk göğüs filetolarının bozulmasını kontrol etmek için erik ekşisi bazlı marinata eklenen linalol ve öjenolün antimikrobiyal etkisini belirlemek amacı ile hazırlanan deneme grupları 9 gün boyunca 4 °C'de depolanmış ve depolamanın 0, 3, 6 ve 9. günlerinde örnekler pH,

mikrobiyolojik (toplam aerob mezofil bakteri, laktik asit bakterileri, *Pseudomonas*, koliform grubu bakteriler ve maya-küf) ve duyuşal parametreler bakımından analiz edilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen verilere varyans analizi uygulanmış ve önemli bulunan ana varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Araştırma sonucunda elde edilen bulgular ve bu bulgular ışığında varılan sonuç ve öneriler aşağıda sunulmuştur.

1. Aktif esansiyel yağ bileşenlerinden linalol ve öjenolün gıda kaynaklı 8 referans bakteri suşuna karşı antimikrobiyal aktiviteleri öncelikle disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş ve hem linalol hem de öjenolün gıda kaynaklı patojenleri farklı seviyelerde inhibe ettiği tespit edilmiştir. Her iki aktif esansiyel yağ bileşeninin en etkili olduğu bakteri suşu *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 olurken en düşük aktivite ise *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032 suşuna karşı sergilenmiştir.
2. Antibakteriyel aktiviteyi değerlendirmek için her bir bileşiğin *in vitro* koşullarda görülebilir mikroorganizma üremesini engelleyen minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değeri rezasurin-broth mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Öjenolün en düşük MİK değeri (512 µg/mL) *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 suşuna karşı elde edilmiştir. Hem linalol hem de öjenolün kullanılan konsantrasyonlarda *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 35032 suşuna karşı MİK değerleri tespit edilememiştir.
3. Çiğ tavuk göğüs filetolarının pH değeri depolamanın başlangıcında 6.40 olarak ölçülmüştür. Kontrol ve deneme gruplarına ait pH değerleri tüm depolama periyodu süresince 3.85-6.40 arasında değişmiştir. Marinasyon bazı olarak 1:5 oranında sulandırılan erik ekşisi (pH değeri 2.89) kullanıldığı için, tüm deneme gruplarının başlangıç pH'ları 3.85-3.97 arasında değişmiş ve aktif esansiyel yağ bileşenlerinin kullanımı pH değeri üzerinde önemli bir farklılığa neden olmamıştır.
4. TAMB sayısı hem depolamanın başlangıcında hem de tüm depolama periyodu süresince kontrol grubunda diğer gruplara göre daha yüksek bir ortalama sayı (5.54 log KOB/g) vermiştir. Deneme gruplarında ise, TAMB sayısı 24 saatlik marinasyon işleminin ardından çok daha düşük tespit edilmiştir. Bu düşüşün öncelikle marinasyon bazı olarak kullanılan 1:5 oranında seyreltilmiş erik ekşisinin

pH değerinden ileri geldiği düşünülürse, depolamanın ilerleyen günlerinde sadece marinyasyon sıvısı ile muamele edilen örneğin (MS1) TAMB sayısı kontrole çok yaklaşmıştır. Marinyasyon sıvısına linalol ve öjenolün eklenmesi ile elde edilen örnek gruplarının TAMB sayıları ise hem kontrol hem de sadece marinyasyon sıvısı ile muamele edilmiş örneğe göre (MS1) daha düşük sayılarda tespit edilmiştir. Dolayısıyla marinata eklenen linalol ve öjenol, kullanım konsantrasyonlarına bağlı olarak TAMB sayısını >1.00 log birim düşürmüş ve aktif esansiyel yağ bileşenleri ile muamelenin hazırlanmış kanatlı etlerindeki TAMB sayısını depolama süresince potansiyel risk sınırının (6.69 log KOB/g) altına düşürdüğü tespit edilmiştir. TAMB gelişimi üzerine linalolün inhibitör etkisinin öjenolden daha yüksek olduğu görülmüştür.

5. *Pseudomonas* sayıları bakımından da kontrol grubu, depolamanın başlangıcından itibaren tüm depolama periyodu süresince diğer gruplara göre daha yüksek tespit edilmiştir (5.47-6.53 log KOB/g). “Türk Gıda Kodeksi Çiğ Kanatlı Eti ve Hazırlanmış Kanatlı Eti Karışımları Tebliği’ne göre tavuk etinde *Pseudomonas* sayısına yönelik potansiyel risk sınırının 5.69 log KOB/g olduğu bildirildiğinden, kontrol örneğinin depolamanın 3, 6 ve 9. günlerinde ulaştığı sayının potansiyel risk sınırını aştığı belirlenmiştir. Diğer taraftan deneme gruplarının *Pseudomonas* sayısı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında depolamanın 0. gününde 0.75-2.69 log birim düşüş göstermiş ve depolamanın 9. gününde benzer bir düşüş (0.75-2.10 log birim) sergilemiştir. Bu düşüş üzerine marinyasyon sıvısının başlangıç pH değerinin de katkısı olmakla birlikte, linalol ve öjenolün konsantrasyonlarının artmasına bağlı olarak daha fazla bir düşüş görülmüş ve depolamanın son günü en düşük *Pseudomonas* sayıları MS3 (linalol, %0.30) ve MS5 (öjenol, %0.30) örneklerinde gözlenmiştir. Bu düşüşte linalolün etkisi öjenolden genel olarak daha yüksek bulunmuştur.
6. LAB, taze etin aerobik veya vakum ambalajda saklanması sırasında et mikroflorasına hakim olabilen bozucu bir mikroorganizma grubu olup mevcut çalışma kapsamında kontrol grubunun başlangıç LAB sayısı 3.71 log KOB/g olarak belirlenirken, sadece erik ekşisi bazlı marinat ile marine edilen MS1 örneğinde başlangıç LAB sayısı kontrole yakın (3.69 log KOB/g) olarak tespit edilmiş ve marinatın pH değeri LAB sayısı üzerinde önemli bir etkiye yol

açmamıştır. Bu durumun nedeninin LAB'nin aside toleranslarından ileri gelebileceği düşünülmektedir. Diğer taraftan marinata eklenen linalol ve öjenol LAB sayısını kontrol ve MS1 örneğine göre >1.00 log birim düşürmüştür.

7. Tavuk göğüs filetolarının kontrol grubunda toplam koliform sayısı depolamanın başlangıcında 2.82 log KOB/g iken, bu değer depolama süresinde artmış ve 9. gün 3.44 log KOB/g'a ulaşmıştır. Tüm deneme gruplarında ise koliform bakterileri saptanabilir seviyenin altına düşmüştür. Bunun nedeni marinasyon bazı olarak kullanılan erik ekşisinin pH'sının düşük olmasından ileri gelmektedir.
8. Kontrol ve deneme gruplarının başlangıç maya-küf sayıları benzer olup, aktif esansiyel yağ bileşenlerinden öjenol ile muamele edilen gruplarda depolamanın 3. gününden itibaren maya-küf sayılarında önemli ölçüde düşüş sergilenmiştir. Bu sonuç öjenolün *ex situ* koşullarda mayalar üzerinde inhibisyon etkisinin olduğunu kanıtlamıştır.
9. Araştırma sonuçları dikkate alındığında linalolün antibakteriyal etkisinin öjenolden daha yüksek, öjenolün ise anti-maya aktivitesinin linalole göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.
10. Aynı süre ve sıcaklıkta pişirilen ve tat, koku, aroma, lezzet, renk, yumuşaklık, sululuk ve genel kabul edilebilirlik parametreleri açısından 15 panelist tarafından değerlendirilen kontrol ve deneme tavuk göğüs filetolarının en beğenilen grupları, kontrol (C) ve sadece erik ekşisi ile muamele edilen (MS1) gruplar olmuştur. Diğer taraftan aktif esansiyel yağ bileşenlerinden öjenol içeren marinatlar ile muamele edilen örnekler (MS4 ve MS5), linalol içeren örneklere (MS2 ve MS3) göre tüm parametreler açısından daha yüksek skorlar elde etmiştir. Genel beğenilirlik açısından kontrol örneği en yüksek skoru alırken en düşük skorları ise linalol içeren örnekler almıştır. Ancak linalol içeren örnekler de ilgili parametreler açısından 5 puanın üzerinde bir skora ulaşmıştır. Sonuçlar hem linalol hem de öjenol ile muamele edilen örneklerin tüketici kabulü açısından cazip olabileceğini göstermiştir.
11. Tüketicilerin kimyasal katkı maddelerine olan olumsuz eğilimleri yeni bileşiklerin araştırılmasını teşvik etmiştir. Planlanan ve yürütülen bu çalışma ile aktif esansiyel yağ bileşenleri olan linalol ve öjenolün, marine edilmiş tavuk etinde bozulmaya neden olan mikroorganizmaların gelişimini kontrol etmek için doğal

ve etkili antimikrobiyal ajanlar olarak önemli bir potansiyele sahip olduklarını göstermiştir.

12. Ancak, bulgularımızı desteklemek ve kullanılan uygulamaların farklı et matrisleri üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Ayrıca aktif esansiyel yağ bileşenlerinin farklı konsantrasyonlarının ve farklı koruma yöntemleri ile kombinasyonlarının kullanılması yönünde yapılacak yeni araştırmalar ile hem tavuk etinin hem de riskli diğer gıdaların güvenliğini etkileyen spesifik patojenlerin ortadan kaldırılmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca planlanacak uygulamalar ve kombinasyonlar ile duyuşal açıdan tüketici kabulü de artırılabilir.

KAYNAKLAR

1. WHO, "Food safety," <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (accessed Jan. 18, 2023), 2022.
2. Islam, M. N., Roy, N., Amin, M. B., Madilo, F. K., Karmakar, K., Hossain, E., Airin, N. J., "Food safety knowledge and handling practices among household food handlers in Bangladesh: A cross-sectional study", *Food Control*, 147, 109578, 2023.
3. Qin, Y., Ke, W., Faheem, A., Ye, Y., Hu, Y., "A rapid and naked-eye on-site monitoring of biogenic amines in foods spoilage", *Food Chemistry*, 404, 134581, 2023.
4. Gemedu, B. A., Amenu, K., Girma, S., Grace, D., Srinivasan, R., Roothaert, R., Knight-Jones, T. J., "Knowledge, attitude and practice of tomato retailers towards hygiene and food safety in Harar and Dire Dawa, Ethiopia", *Food Control*, 145, 109441, 2023.
5. Shao, L., Chen, S., Ning, Z., Xu, X., Wang, H. "Characterization of effector protein Hap determining meat spoilage process from meat-borne *Aeromonas salmonicida*", *Food Chemistry*, 135457, 2023.
6. Alfian, G., Syafrudin, M., Farooq, U., Ma'arif, M. R., Syaekhoni, M. A., Fitriyani, N. L., ... Rhee, J., "Improving efficiency of RFID-based traceability system for perishable food by utilizing IoT sensors and machine learning model", *Food Control*, 110, 107016, 2020.
7. Tsafarakidou, P., Sameli, N., Bosnea, L., Chorianopoulos, N., Samelis, J. "Assessment of the spoilage microbiota in minced free-range chicken meat during storage at 4 °C in retail modified atmosphere packages", *Food Microbiology*, 99, 103822, 2021.
8. Shao, L., Tian, Y., Chen, S., Xu, X., Wang, H., "Characterization of the spoilage heterogeneity of *Aeromonas* isolated from chilled chicken meat: In vitro and in situ", *LWT*, 162, 113470, 2022.
9. Souza, V. R., Illera, A. E., Keener, K. M., "High voltage atmospheric cold plasma technology as a food safety intervention for decontamination of cutting tools during

- ready-to-eat poultry meat slicing,” *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 80, 103065, 2022.
10. Moon, H., Kim, N. H., Kim, S. H., Kim, Y., Ryu, J. H., Rhee, M. S., “Teriyaki sauce with carvacrol or thymol effectively controls *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and indigenous flora in marinated beef and marinade,” *Meat Sci*, 129, 147-152, 2017.
 11. Sengun, I. Y., Kilic, G., Ozturk, B., “The effects of koruk products used as marination liquids against foodborne pathogens (*Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium) inoculated on poultry meat,” *LWT*, 133, 110148, 2020.
 12. Sahebkar, A., Hosseini, M., Sharifan, A., “Plasma-assisted preservation of breast chicken fillets in essential oils-containing marinades,” *LWT*, 131, 109759, 2020.
 13. Choi, J. W., Kim, R., “Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Pinus koraiensis* Seed Against Pathogens Related to Acne,” *KSBB J*, 29 (3), 179-182, 2014.
 14. Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., De Feo, V., “Effect of essential oils on pathogenic bacteria,” *Pharmaceuticals*, 6 (12), 1451-1474, 2013.
 15. Silva, J. C., Pereira, R. L. S., de Freitas, T. S., Rocha, J. E., Macedo, N. S., Nonato, C. D. F. A., ... Santos, G. J. G. “Evaluation of antibacterial and toxicological activities of essential oil of *Ocimum gratissimum* L. and its major constituent eugenol,” *Food Biosci*, 50, 102128, 2022.
 16. Mandoulakani, B. A., Eyvazpour, E., Ghadimzadeh, M., “The effect of drought stress on the expression of key genes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids and essential oil components in basil (*Ocimum basilicum* L.),” *Phytochemistry*, 139, 1-7, 2017.
 17. Paulino, B. N., da Silva, G. N. S., Araújo, F. F., Néri-Numa, I. A., Pastore, G. M., Bicas, J. L., Molina, G., “Beyond natural aromas: The bioactive and technological potential of monoterpenes,” *Trends Food Sci Technol*, 128, 188-201, 2022.
 18. Öntürk H., Özbek H., “Trans-karyofillen ve öjenol’ün akut toksisitesi ve hipoglisemik etkinliğinin diyabetik fareler üzerinde araştırılması”, *Genel Tıp Dergisi*, 19 (1), 17-23, 2009, [Online]. Available: <http://www.selcukpediatri.org/upload/sayi/59/GTD-00468.pdf>.

19. Yildiz, H., “Chemical Composition, Antimicrobial, and Antioxidant Activities of Essential Oil and Ethanol Extract of *Coriandrum sativum* L. Leaves from Turkey,” *Int J Food Prop*, 19 (7), 2016.
20. Tekeli, İ. O., “Deneysel Ülseratif Kolit Modelinde Kolona Hedeflendirilen Linalool ve Likopen’in Etkinliğinin Araştırılması,” *Fırat Üniversitesi*, 2016. [Online]. Available: file:///C:/Users/neu/Downloads/437454.pdf
21. Zhang, M., Zhong, T., Heygi, F., Wang, Z., Du, M., “Effects of inoculation protocols on aroma profiles and quality of plum wine in mixed culture fermentation of *Metschnikowia pulcherrima* with *Saccharomyces cerevisiae*,” *LWT*, 161, 113338, 2022.
22. Karam, L., Roustom, R., Abiad, M. G., El-Obeid, T., Savvaidis, I. N., “Combined effects of thymol, carvacrol and packaging on the shelf-life of marinated chicken,” *Int J Food Microbiol*, 291, 42-47, 2019.
23. İncili, G. K., Akgöl, M., Aydemir, M. E., Alan, S., Mutlu, M., İlhak, O. İ., Öksüztepe, G., “Fate of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium in homemade marinade and on marinated chicken drumsticks, wings and breast meat,” *LWT*, 134, 110231, 2020.
24. Lytjou, A. E., Tzortzinis, K., Skandamis, P. N., Nychas, G. J. E., Panagou, E. Z., “Investigating the influence of organic acid marinades, storage temperature and time on the survival/inactivation interface of *Salmonella* on chicken breast fillets,” *Int J Food Microbiol*, 299, 47-57, 2019.
25. Osaili, T. M., Hasan, F., Dhanasekaran, D. K., Obaid, R. S., Al-Nabulsi, A. A., Ayyash, M., ... Holley, R., “Effect of active essential oils added to chicken tawook on the behaviour of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 during storage,” *Int J Food Microbiol*, 337, 108947, 2021.
26. González-González, C. R., Labo-Popoola, O., Delgado-Pando, G., Theodoridou, K., Doran, O., Stratakos, A. C., “The effect of cold atmospheric plasma and linalool nanoemulsions against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on ready-to-eat chicken meat,” *LWT*, 149, 111898, 2021.
27. Ayyildiz, M. Çiçek, A., “Determination of Factors Effecting Chicken Meat Consumption: The Case of Ankara Province,” in *SETSCI Conference Proceedings*, 307-312, 2019.

28. Cheng, Z., Jia, Y., Bai, Y., Zhang, T., Ren, K., Zhou, X., ... Hong, J., "Intensifying the environmental performance of chicken meat production in China: From perspective of life cycle assessment," *J Clean Prod*, 384, 135603, 2023.
29. Gurunathan, K., Tahseen, A., Manyam, S., "Effect of aerobic and modified atmosphere packaging on quality characteristics of chicken leg meat at refrigerated storage," *Poult Sci*, 101 (12), 102170, 2022.
30. Harmankaya, S., Vatansever, L., "The Effect of Essential Oils of Rosemary and Clove on Shelf Life Chicken Meat*," *Van Veterinary Journal*, 28 (1), 11-19, 2017.
31. Majdinasab, M., Niakousari, M., Shaghaghian, S., Dehghani, H., "Antimicrobial and antioxidant coating based on basil seed gum incorporated with Shirazi thyme and summer savory essential oils emulsions for shelf-life extension of refrigerated chicken fillets," *Food Hydrocoll*, 108, 106011, 2020.
32. Wang, L., Liu, T., Liu, L., Liu, Y., Wu, X., "Impacts of chitosan nanoemulsions with thymol or thyme essential oil on volatile compounds and microbial diversity of refrigerated pork meat," *Meat Sci*, 185, 108706, 2022.
33. Lytougou, A., Panagou, E. Z., Nychas, G. J. E., "Development of a predictive model for the growth kinetics of aerobic microbial population on pomegranate marinated chicken breast fillets under isothermal and dynamic temperature conditions," *Food Microbiol*, 55, 25-31, 2016.
34. Aydın, Ö. D., "Tavuk etinde *Salmonella* Enteritidis'in gelişimi üzerine *Salmonella* Enteritidis bakteriyofajlarının etkisi," *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans*, Niğde, 2018.
35. Kılıç Altun, S., Atasever, M., "Erzurum'da Tüketime Sunulan Tavuk Etlerinin Bazı Patojen Bakteriler Yönünden İncelenmesi," *Manas J Agr Vet Life Sci*, 8 (1), 36-50, 2018.
36. Yenilmez, F., "Microbiological Comparison of Wet and Dry Plucked Chicken Meat Sold in Adana Province," *Turkish Journal of Agricultural Engineering Research*, 3 (1), 78-85, 2022.
37. Şahin, S., Kalın R., Arslanbaş, E., Moğulkoç, M. N. "Satışa sunulan tavuk etlerinde bazı bakteri ve indikatör mikroorganizmaların belirlenmesi," *Manas J Agr Vet Life Sci*, 7 (1), 4756, 2017.

38. Álvarez-Astorga, M., Capita, R., Alonso-Calleja, C., Moreno, B., & García-Fernández, C., “Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain,” *Meat Sci*, 62 (1), 45-50, 2002.
39. Şengün Yücel, İ., Öztürk, B., “Bitkisel Kaynaklı Bazı Doğal Antimikrobiyaller,” *Anadolu University Journal of Science and Technology C- Life Sciences and Biotechnology*, 7 (2), 256-276, 2018.
40. Bayaz, M., “Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri,” *Akademik Gıda* , 12 (3), 45-53, 2014.
41. Liang, J., Zhang, Y., Chi, P., Liu, H., Jing, Z., Cao, H., ... Kong, D., “Essential oils: Chemical constituents, potential neuropharmacological effects and aromatherapy - A review,” *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 6, 100210, 2023.
42. Meenu, M., Padhan, B., Patel, M., Patel, R., Xu, B., “Antibacterial activity of essential oils from different parts of plants against *Salmonella* and *Listeria* spp.,” *Food Chem*, 404, 134723, 2023.
43. Bai, J., Li, J., Chen, Z., Bai, X., Yang, Z., Wang, Z., & Yang, Y., “Antibacterial activity and mechanism of clove essential oil against foodborne pathogens,” *LWT*, 173, 114249, 2023.
44. Hung, Y. H. R., Lin, H. J., Lee, E. C., Lu, W. J., Lin, Y. T., Huang, B. B., ... Lin, H. T. V., “Effect of lemon essential oil on the microbial control, physicochemical properties, and aroma profiles of peeled shrimp,” *LWT*, 173, 114340, 2023.
45. Barcenilla, C., Ducic, M., López, M., Prieto, M., Álvarez-Ordóñez, A., “Application of lactic acid bacteria for the biopreservation of meat products: A systematic review,” *Meat Sci*, 183, 108661, 2022.
46. Perito, M. A., Chiodo, E., Serio, A., Paparella, A., Fantini, A., “Factors Influencing Consumers’ Attitude Towards Biopreservatives”, *Sustainability*, 12 (24), 2020.
47. Shankar, S., Karboune, S., Salmieri, S., Lacroix, M., “Development of antimicrobial formulation based on essential oils and gamma irradiation to increase the shelf life of boneless chicken thighs,” *Radiation Physics and Chemistry*, 192, 109893, 2022.

48. Fratianni, F., De Martino, L., Melone, A., De Feo, V., Coppola, R., Nazzaro, F., "Preservation of Chicken Breast Meat Treated with Thyme and Balm Essential Oils," *J Food Sci*, 75 (8), M528-M535, 2010.
49. Ntzimani, A. G., Giatrakou, V. I., Savvaidis, I. N., "Combined natural antimicrobial treatments (EDTA, lysozyme, rosemary and oregano oil) on semi cooked coated chicken meat stored in vacuum packages at 4 °C: Microbiological and sensory evaluation," *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11 (1) ,187-196, 2010.
50. Erbaşcivan, D., "Effect of microbial load during the handling of chicken breast meat with Laurel Essential oil", *Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans*, Mersin, 2020.
51. Sarıcaoglu, F. T., Turhan, S., "Physicochemical, antioxidant and antimicrobial properties of mechanically deboned chicken meat protein films enriched with various essential oils", *Food Packag Shelf Life*, 25, 100527, 2020.
52. Requena, R., Vargas, M., Chiralt, A., "Eugenol and carvacrol migration from PHBV films and antibacterial action in different food matrices," *Food Chem*, 277, 38-45, 2019.
53. Osaili, T. M., Hasan, F., Dhanasekaran, D. K., Obaid, R. S., Al-Nabulsi, A. A., Ayyash, M., ... Holley, R., "Effect of active essential oils added to chicken tawook on the behaviour of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7 during storage," *Int J Food Microbiol*, 337, 108947, 2021.
54. Maćzka, W., Duda-Madej, A., Grabarczyk, M., Wińska, K., "Natural Compounds in the Battle against Microorganisms-Linalool," *Molecules*, 27 (20), 6928, 2022.
55. Guo, F., Chen, Q., Liang, Q., Zhang, M., Chen, W., Chen, H., ... Chen, W., "Antimicrobial Activity and Proposed Action Mechanism of Linalool Against *Pseudomonas fluorescens*," *Front Microbiol*, 12, 562094, 2021.
56. Taghavi, E., Mirhosseini, H., Tan, C. P., Tan, T. B., Ngadin, A. A., Lani, M. N., Anarjan, N., "Formulation and functionalization of linalool nanoemulsion to boost its antibacterial properties against major foodborne pathogens," *Food Biosci*, 44, 101430, 2021.

57. Hu, J., Liu, S., Deng, W., “Dual responsive linalool capsules with high loading ratio for excellent antioxidant and antibacterial efficiency,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, 190, 110978, 2020.
58. Prakash, A., Vadivel, V., Rubini, D., Nithyanand, P., “Antibacterial and antibiofilm activities of linalool nanoemulsions against *Salmonella* Typhimurium,” *Food Biosci*, 28, 57-65, 2019.
59. Gao, Z., Van Nostrand, J. D., Zhou, J., Zhong, W., Chen, K., & Guo, J., “Anti-*Listeria* Activities of Linalool and Its Mechanism Revealed by Comparative Transcriptome Analysis,” *Front Microbiol*, 10, 2947, 2019.
60. Liu, X., Cai, J., Chen, H., Zhong, Q., Hou, Y., Chen, W., Chen, W., “Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*,” *Microb Pathog*, 141, 103980, 2020.
61. Jin, L., Liu, X., Bian, C., Sheng, J., Song, Y., Zhu, Y., “Fabrication linalool-functionalized hollow mesoporous silica spheres nanoparticles for efficiently enhance bactericidal activity,” *Chinese Chemical Letters*, 31 (8), 2137-2141, 2020.
62. Orth, A. M., Yu, L., Engel, K. H., “Assessment of dietary exposure to flavouring substances via consumption of flavoured teas. Part 1: occurrence and contents of monoterpenes in Earl Grey teas marketed in the European Union,” *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30 (10), 1701-1714, 2013.
63. Rinaldi, M. A., Tait, S., Toogood, H. S., Scrutton, N. S., “Bioproduction of Linalool From Paper Mill Waste,” *Front Bioeng Biotechnol*, 10, 2022.
64. González-González, C. R., Labo-Popoola, O., Delgado-Pando, G., Theodoridou, K., Doran, O., Stratakos, A. C., “The effect of cold atmospheric plasma and linalool nanoemulsions against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on ready-to-eat chicken meat,” *LWT*, 149, 2021.
65. He, R., Zhong, Q., Chen, W., Zhang, M., Pei, J., Chen, H., Chen, W., “Transcriptomic and proteomic investigation of metabolic disruption in *Listeria monocytogenes* triggered by linalool and its application in chicken breast preservation,” *LWT*, 114492, 2023.
66. Johny, A. K., Darre, M. J., Donoghue, A. M., Donoghue, D. J., Venkitanarayanan, K., “Antibacterial effect of trans-cinnamaldehyde, eugenol, carvacrol, and thymol

- on *Salmonella* Enteritidis and *Campylobacter jejuni* in chicken cecal contents in vitro,” *Journal of Applied Poultry Research*, 19 (3), 237-244, 2010.
67. Correia, A. M., Pedrazzani, A. S., Mendonça, R. C., Massucatto, A., Ozório, R. A., Tsuzuki, M. Y., “Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in amphiprion clarkii (Bennett, 1830),” *Brazilian Journal of Biology*, 78 (3), 436-442, 2018.
 68. Zeng, Z., Yang, Y. J., Tu, Q., Jian, Y. Y., Xie, D. M., Bai, T., ... Liu, A. P., “Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan/pullulan composite film incorporated with eugenol and its application in the preservation of chilled meat,” *Meat Sci*, 198, 109085, 2023.
 69. Du, G., Guo, Q., Qiang, L., Chang, S., Yan, X., Chen, H., ... Yue, T., “Influence of encapsulated *Lactobacillus plantarum* and eugenol on the physicochemical properties and microbial community of fresh-cut apples,” *Food Chem X*, 17, 100563, 2023.
 70. Ahmad, N., Ahmad, F. J., Bedi, S., Sharma, S., Umar, S., Ansari, M. A., “A novel Nanoformulation Development of Eugenol and their treatment in inflammation and periodontitis,” *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27 (6), 778-790, 2019.
 71. Hossain, M. I., Mizan, M. F. R., Tousehik, S. H., Roy, P. K., Jahid, I. K., Park, S. H., Ha, S. D., “Antibiofilm effect of nisin alone and combined with food-grade oil components (thymol and eugenol) against *Listeria monocytogenes* cocktail culture on food and food-contact surfaces,” *Food Control*, 135, 108796, 2022.
 72. Ju, J., Lei, Y., Guo, Y., Yu, H., Cheng, Y., Yao, W., “Eugenol and citral kills *Aspergillus niger* through the tricarboxylic acid cycle and its application in food preservation,” *LWT*, 173, 114226, 2023.
 73. Alanazi, S., Alnoman, M., Banawas, S., Saito, R., Sarker, M. R., “The inhibitory effects of essential oil constituents against germination, outgrowth and vegetative growth of spores of *Clostridium perfringens* type A in laboratory medium and chicken meat,” *Food Microbiol*, vol. 73, pp. 311–318, 2018.
 74. López-Romero, J. C., Valenzuela-Melendres, M., Juneja, V. K., García-Dávila, J., Camou, J. P., Peña-Ramos, A., González-Ríos, H., “Effects and interactions of gallic acid, eugenol and temperature on thermal inactivation of *Salmonella* spp. in ground chicken,” *Food Research International*, 103, 289-294, 2018.

75. Wagle, B. R., Shrestha, S., Arsi, K., Upadhyaya, I., Donoghue, A. M., Donoghue, D. J., "Pectin or chitosan coating fortified with eugenol reduces *Campylobacter jejuni* chicken wingettes and modulates expression of critical survival genes," *Poult Sci*, 98 (3), 1461-1471, 2019.
76. Khare, A. K., Biswas, A. K., Sahoo, J., "Comparison study of chitosan, EDTA, eugenol and peppermint oil for antioxidant and antimicrobial potentials in chicken noodles and their effect on colour and oxidative stability at ambient temperature storage," *LWT - Food Science and Technology*, 55 (1), 286-293, 2014.
77. Pathania, A., McKee, S. R., Bilgili, S. F., Singh, M., "Antimicrobial activity of commercial marinades against multiple strains of *Salmonella* spp.," *Int J Food Microbiol*, 139 (3), 214-217, 2010.
78. Gargi A., Sengun, I. Y., "Marination liquids enriched with probiotics and their inactivation effects against food-borne pathogens inoculated on meat," *Meat Sci*, 182, 108624, 2021.
79. Sengun, I. Y., Turp, G. Y., Cicek, S. N., Avci, T., Ozturk, B., Kilic, G., "Assessment of the effect of marination with organic fruit vinegars on safety and quality of beef," *Int J Food Microbiol*, 336, 108904, 2021.
80. Akyüz, S., Güneşer, O., Esen, B. N., "Farklı marinasyon formülasyonları ile hazırlanmış hindi göğüs etlerinin bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri," *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2 (6), 190-205, 2020.
81. Shi, Y., Wang, Y., Shi, J., Li, Z., Huang, X., Liang, J., ... Hu, X., "Simulation of diffusion behavior of NaCl in multi-tissue beef marination process," *Food Chem*, 402, 134164, 2023.
82. Sengun, I. Y., Goztepe, E., Ozturk, B., "Efficiency of marination liquids prepared with koruk (*Vitis vinifera* L.) on safety and some quality attributes of poultry meat," *LWT*, 113, 108317, 2019.
83. Ergezer, H., Gökçe, R., "Kanatlı etlerinin marinasyon tekniğı ile işlenmesi," *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10 (2), 227-233, 2004.
84. Lytou, A. E., Panagou, E. Z., Nychas, G. J. E., "Effect of different marinating conditions on the evolution of spoilage microbiota and metabolomic profile of

- chicken breast fillets,” *Food Microbiol*, vol. 66, pp. 141-149, Sep. 2017, doi: 10.1016/J.FM.2017.04.013.
85. İncili, G. K., Akgöl, M., Aydemir, M. E., Alan, S., Mutlu, M., İlhak, O. İ., Öksüztepe, G., “Fate of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium in homemade marinade and on marinated chicken drumsticks, wings and breast meat,” *LWT*, 134, 110231, 2020.
86. Lytjou, A. E., Renieri, C. T., Doulgeraki, A. I., Nychas, G. J. E., Panagou, E. Z., “Assessment of the microbiological quality and safety of marinated chicken products from Greek retail outlets,” *Int J Food Microbiol*, 320, 108506, 2020.
87. Jayasena, D. D., Jo, C., “Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review,” *Trends Food Sci Technol*, 34 (2), pp. 96-108, 2013.
88. Sheikh, M. A., Saini, C. S., Sharma, H. K., “Structural modification of plum (*Prunus domestica* L.) kernel protein isolate by supercritical carbon-dioxide treatment: Functional properties and in-vitro protein digestibility,” *Int J Biol Macromol*, 230, 123128, 2023.
89. Mohaghegh, S., Osouli-Bostanabad, K., Nazemiyeh, H., Javadzadeh, Y., Parvizpur, A., Barzegar-Jalali, M., Adibkia, K., “A comparative study of eco-friendly silver nanoparticles synthesis using *Prunus domestica* plum extract and sodium citrate as reducing agents,” *Advanced Powder Technology*, 31 (3), 1169-1180, 2020.
90. Mahmoudi, R., Razavi, F., Rabiei, V., Gohari, G., Palou, L., “Application of Glycine betaine coated chitosan nanoparticles alleviate chilling injury and maintain quality of plum (*Prunus domestica* L.) fruit,” *Int J Biol Macromol*, 207, 965-977, 2022.
91. Mocan, A., Diuzheva, A., Carradori, S., Andruch, V., Massafra, C., Moldovan, C., Locatelli, M. “Development of novel techniques to extract phenolic compounds from Romanian cultivars of *Prunus domestica* L. and their biological properties,” *Food and Chemical Toxicology*, 119, 189-198, 2018.
92. Mateus, A. R. S., Pena, A., Sendón, R., Almeida, C., Nieto, G. A., Khwaldia, K., Silva, A. S., “By-products of dates, cherries, plums and artichokes: A source of valuable bioactive compounds,” *Trends Food Sci Technol*, 131, 220-243, 2023.

93. Niimi, J., Guixer, B., Splivallo, R., "Odour active compounds determined in the headspace of yellow and black plum wines (*Prunus domestica* L.)," *LWT*, 130, 109702, 2020.
94. Kosmala, M., Milala, J., Kołodziejczyk, K., Markowski, J., Zbrzeźniak, M., Renard, C. M., "Dietary fiber and cell wall polysaccharides from plum (*Prunus domestica* L.) fruit, juice and pomace: Comparison of composition and functional properties for three plum varieties," *Food Research International*, 54 (2), 1787-1794, 2013.
95. Jarvis, N., O'Bryan, C. A., Ricke, S. C., Crandall, P. G., "The functionality of plum ingredients in meat products: A review," *Meat Sci*, 102, 41-48, 2015.
96. Erge, A., Cin, K., Şeker, E., "Erik ve elma suyunun tavuk eti marinasyonunda kullanılması," *Gıda / The Journal Of Food*, 1040-1052, 2018.
97. Nunez de Gonzalez, M. T., Boleman, R. M., Miller, R. K., Keeton, J. T., & Rhee, K. S., "Antioxidant properties of dried plum ingredients in raw and precooked pork sausage," *J Food Sci*, 73 (5), H63-H71, 2008.
98. de Gonzalez, M. N., Hafley, B. S., Boleman, R. M., Miller, R. K., Rhee, K. S., & Keeton, J. T., "Antioxidant properties of plum concentrates and powder in precooked roast beef to reduce lipid oxidation," *Meat Sci*, 80 (4), 997-1004, 2008.
99. Leheska, J. M., Boyce, J., Brooks, J. C., Hoover, L. C., Thompson, L. D., & Miller, M. F., "Sensory attributes and phenolic content of precooked pork breakfast sausage with fruit purees," *J Food Sci*, 71 (3), S249-S252, 2006.
100. Yıldız-Turp, G., Serdaroglu, M., "Effects of using plum puree on some properties of low fat beef patties," *Meat Sci*, 86 (4), 896-900, 2010.
101. Lee, E. J., Ahn, D. U., "Quality characteristics of irradiated turkey breast rolls formulated with plum extract," *Meat Sci*, 71 (2), 300-305, 2005.
102. Jarvis, N., Clement, A. R., O'Bryan, C. A., Babu, D., Crandall, P. G., Owens, C. M., Ricke, S. C., "Dried Plum Products as a Substitute for Phosphate in Chicken Marinade," *J Food Sci*, 77 (6), S253-S257, 2012.
103. Saki, M., Seyed-Mohammadi, S., Montazeri, E. A., Siahpoosh, A., Moosavian, M., Latifi, S. M., "In vitro antibacterial properties of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil against clinical extensively drug-resistant bacteria," *Eur J Integr Med*, 37, 101146, 2020.

104. Parasuraman, V., Sharmin, A. M., Anand, M. A. V., Sivakumar, A. S., Surendhiran, D., Sharesh, G., & Kim, S., "Fabrication and bacterial inhibitory activity of essential oil linalool loaded biocapsules against *Escherichia coli*," *J Drug Deliv Sci Technol*, 74, 103495, 2022.
105. Fisher, K., Phillips, C. A., "The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* in vitro and in food systems," *J Appl Microbiol*, 101, 6, 1232-1240, 2006.
106. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), "Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method Version 9.0 January," *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, vol. 0, no. January, pp. 1–21, 2021.
107. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard — Ninth Edition*, vol. 32, no. 2. 2012.
108. Kowalska-Krochmal, B., Dudek-Wicher, R., "The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance," *Pathogens*, 10 (2), 165, 2021.
109. Korkmaz, U., Findik, B. T., Dede, B., Karipcin, F., "Synthesis, structural elucidation, in vitro antibacterial activity, DFT calculations, and molecular docking aspects of mixed-ligand complexes of a novel oxime and phenylalanine," *Bioorg Chem*, 121, 105685, 2022.
110. H. Yildiz, "Isolation-identification of lactic acid bacteria and yeasts from pickle and olive and determination of some properties of isolates," *Atatürk University Graduate School of Natural and Applied Sciences*, Erzurum, Turkey, 2011.
111. Harrigan, W. F. *Laboratory methods in food microbiology*, 3rd. San Diego: Academic Press, 1998.
112. Mellor, G. E., Bentley, J. A., Dykes, G. A., "Evidence for a role of biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* in the spoilage of fresh aerobically stored chicken meat," *Food Microbiol*, 28 (5), 1101-1104, 2011.
113. Marchese, A., Barbieri, R., Coppo, E., Orhan, I. E., Daglia, M., Nabavi, S. F., Ajami, M., "Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint," *Crit Rev Microbiol*, 43 (6), 668-689, 2017.

114. Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., Nerín, C., “Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils,” *Food Chem*, 116 (4), 982-989, 2009.
115. Trajano, V. N., Lima, E. D. O., Souza, E. L. D., Travassos, A. E. R. “Inhibitory effect of the essential oil from *Eugenia caryophyllata* Thumb leaves on coalho cheese contaminating microorganisms, *Food Science and Technology*, 30, 1001-1006, 2010.
116. Ahmad, S., Raza, S., Uddin, R., Rungrotmongkol, T., Azam, S. S., “From phylogeny to protein dynamics: A computational hierarchical quest for potent drug identification against an emerging enteropathogen ‘*Yersinia enterocolitica*’, *J Mol Liq*, 265, 372-389, 2018.
117. Durofil, A., Maddela, N. R., Naranjo, R. A., Radice, M., “Evidence on antimicrobial activity of essential oils and herbal extracts against *Yersinia enterocolitica* - A review,” *Food Biosci*, 47, 101712, Jun. 2022.
118. Leon-Velarde, C. G., Jun, J. W., & Skurnik, M., “*Yersinia* phages and food safety,” *Viruses*, 11 (12), 1105, Nov. 2019.
119. Guo, J. J., Gao, Z. P., Xia, J. L., Ritenour, M. A., Li, G. Y., Shan, Y., “Comparative analysis of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of citrus essential oils from the main cultivated varieties in China,” *LWT*, 97, 825-839, Nov. 2018.
120. Herman, A., Tambor, K., Herman, A., “Linalool Affects the Antimicrobial Efficacy of Essential Oils,” *Curr Microbiol*, 72 (2), 165-172, 2016.
121. Alam, S. T., Le, T. A. N., Park, J. S., Kwon, H. C., Kang, K., “Antimicrobial biophotonic treatment of ampicillin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with hypericin and ampicillin cotreatment followed by orange light,” *Pharmaceutics*, 11 (12), 641, 2019.
122. Zeng, L., Guo, L., Wang, Z., Xu, X., Ding, H., Song, S., Xu, C., “Gold nanoparticle-based immunochromatographic assay for detection *Pseudomonas aeruginosa* in water and food samples,” *Food Chem X*, 9, 100117, 2021.
123. Wang, Q., Peng, Y., Chai, L., Ding, W., “Antimicrobial effect of sorbic acid-loaded chitosan/tripolyphosphate nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa*,” *Int J Biol Macromol*, 226, 1031-1040, 2023.

124. Sanla-Ead, N., Jangchud, A., Chonhenchob, V., Suppakul, P., “Antimicrobial activity of cinnamaldehyde and eugenol and their activity after incorporation into cellulose-based packaging films,” in *Packaging Technology and Science*, 25 (1), 7-17, 2012.
125. Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., Cheng, Z., “Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies,” *Biotechnol Adv*, 37 (1), 177-192, 2019.
126. Yoo, J. H., Baek, K. H., Heo, Y. S., Yong, H. I., Jo, C., “Synergistic bactericidal effect of clove oil and encapsulated atmospheric pressure plasma against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* and its mechanism of action,” *Food Microbiol*, 93, 103611, 2021.
127. Priyanka, P., Meena, P. R., Raj, D., Rana, A., Dhanokar, A., Duggirala, K. S., Singh, A. P., “Urinary tract infection and sepsis causing potential of multidrug-resistant Extraintestinal pathogenic *E. coli* isolated from plant-origin foods,” *Int J Food Microbiol*, 386, 110048, 2023.
128. Zhang, S., Huang, Y., Yang, G., Lei, T., Chen, M., Ye, Q., Wu, Q., “High prevalence of multidrug-resistant *Escherichia coli* and first detection of IncHI2/IncX4-plasmid carrying mcr-1 *E. coli* in retail ready-to-eat foods in China,” *Int J Food Microbiol*, 355, 109349, 2021.
129. Pebdeni, A. B., Roshani, A., Mirsadoughi, E., Behzadifar, S., Hosseini, M., “Recent advances in optical biosensors for specific detection of *E. coli* bacteria in food and water,” *Food Control*, 135, 108822, 2022.
130. Zhang, L. L., Zhang, L. F., Xu, J. G., & Hu, Q. P., “Comparison study on antioxidant, DNA damage protective and antibacterial activities of eugenol and isoeugenol against several foodborne pathogens,” *Food Nutr Res*, 61 (1), 1353356, 2017.
131. Dhara, L., Tripathi, A., “Antimicrobial activity of eugenol and cinnamaldehyde against extended spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae by in vitro and molecular docking analysis,” *Eur J Integr Med*, 5 (6), 527-536, 2013.
132. Ding, Y., Huang, C., Chen, M., Wang, J., Shao, Y., Wang, X., “Rapid and simultaneous detection of viable *S. aureus* and its penicillin susceptibility by phage amplification techniques in different food matrices,” *LWT*, 114526, 2023.

133. Sader, H. S., Fritsche, T. R., Jones, R. N., “Daptomycin bactericidal activity and correlation between disk and broth microdilution method results in testing of *Staphylococcus aureus* strains with decreased susceptibility to vancomycin,” *Antimicrob Agents Chemother*, 50 (7), 2330-2336, 2006.
134. Watanakunakorn, C., “The Antibacterial Action of Vancomycin”, *Reviews of infectious diseases*, 3(Supplement), S210-S215, 1981. [Online]. Available: <https://www.jstor.org/stable/4452679>
135. Mozaffari, P., Berizi, E., Hosseinzadeh, S., Derakhshan, Z., Taghadosi, V., Montaseri, Z., Götz, F., “Isolation and characterization of *E. coli* O157: H7 novel bacteriophage for controlling this food-borne pathogen,” *Virus Res*, 315, 198754, 2022.
136. Cui, H., Yang, X., Li, C., Ye, Y., Chen, X., Lin, L., “Enhancing anti-*E. coli* O157:H7 activity of composite phage nanofiber film by D-phenylalanine for food packaging,” *Int J Food Microbiol*, 376, 109762, 2022.
137. Yuan, P., Deng, Z., Qiu, P., Yin, Z., Bai, Y., Su, Z., He, J., “Bimetallic Metal–Organic framework nanorods with peroxidase mimicking activity for selective colorimetric detection of *Salmonella typhimurium* in food,” *Food Control*, 144, 109357, 2023.
138. Wu, M., Dong, Q., Ma, Y., Yang, S., Aslam, M. Z., Liu, Y., Li, Z., “Potential antimicrobial activities of probiotics and their derivatives against *Listeria monocytogenes* in food field: A review,” *Food Research International*, 160, 111733, 2022.
139. Shen, J., Zhang, G., Yang, J., Zhao, L., Jiang, Y., Guo, D., Wang, X., “Prevalence, antibiotic resistance, and molecular epidemiology of *Listeria monocytogenes* isolated from imported foods in China during 2018 to 2020,” *Int J Food Microbiol*, 382, 109916, 2022.
140. Maggio, F., Rossi, C., Chaves-López, C., Valbonetti, L., Desideri, G., Paparella, A., Serio, A., “A single exposure to a sublethal concentration of *Origanum vulgare* essential oil initiates response against food stressors and restoration of antibiotic susceptibility in *Listeria monocytogenes*,” *Food Control*, 132, 108562, 2022.

141. Rahnama, H., Azari, R., Yousefi, M. H., Berizi, E., Mazloomi, S. M., Hosseinzadeh, S., Conti, G. O., "A systematic review and meta-analysis of the prevalence of *Bacillus cereus* in foods," *Food Control*, 143, 109250, 2023.
142. Zengin, H., Baysal, A., "Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes against Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy," *Molecules*, 19 (11), 17773-17798, 2014.
143. Shah, B., Davidson, P. M., Zhong, Q., "Nanodispersed eugenol has improved antimicrobial activity against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in bovine milk," *Int J Food Microbiol*, 161 (1), 53-59, 2013.
144. Varia, R. D., Patel, J. H., Modi, F. D., Vihol, P. D., Bhavsar, S. K., "In vitro and In vivo Antibacterial and Anti-inflammatory Properties of Linalool," *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 9 (9), 1481-1489, 2020.
145. Silva, C. G., Yudice, E. D. C., Campini, P. A. L., Rosa, D. S., "The performance evaluation of Eugenol and Linalool microencapsulated by PLA on their activities against pathogenic bacteria," *Mater Today Chem*, 21, 100493, 2021.
146. Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., Fronza, M., Scherer, R., "Antibacterial Activity of Terpenes and Terpenoids Present in Essential Oils," *Molecules*, 24 (13), 2471, 2019.
147. Orlo, E., Russo, C., Nugnes, R., Lavorgna, M., Isidori, M., "Natural Methoxyphenol Compounds: Antimicrobial Activity against Foodborne Pathogens and Food Spoilage Bacteria, and Role in Antioxidant Processes," *Foods*, 10 (8), 1807, 2021.
148. Olszewska, M. A., Gędas, A., Simões, M., "The Effects of Eugenol, Trans-Cinnamaldehyde, Citronellol, and Terpineol on *Escherichia coli* Biofilm Control as Assessed by Culture-Dependent and -Independent Methods," *Molecules*, 25 (11), 2641, 2020.
149. Liu, Q., Niu, H., Zhang, W., Mu, H., Sun, C., Duan, J., "Synergy among thymol, eugenol, berberine, cinnamaldehyde and streptomycin against planktonic and biofilm-associated food-borne pathogens," *Lett Appl Microbiol*, 60 (5), 421-430, 2015.

150. Catherine, A. A., Deepika, H., Negi, P. S., “Antibacterial activity of eugenol and peppermint oil in model food systems,” *Journal of Essential Oil Research*, 24 (5), 481-486, 2012.
151. Baldim, J. L., Silveira, J. G. F., Almeida, A. P., Carvalho, P. L. N., Rosa, W., Schripsema, J., Luiz, J. H. H., “The synergistic effects of volatile constituents of *Ocimum basilicum* against foodborne pathogens,” *Ind Crops Prod*, 112, 821-829, 2018.
152. He, R., Chen, W., Chen, H., Zhong, Q., Zhang, H., Zhang, M., Chen, W., “Antibacterial mechanism of linalool against *L. monocytogenes*, a metabolomic study,” *Food Control*, 132, 108533, 2022.
153. Rivas, L., McDonnell, M. J., Burgess, C. M., O'Brien, M., Navarro-Villa, A., Fanning, S., Duffy, G., “Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol,” *Int J Food Microbiol*, 139 (1–2), 70-78, 2010.
154. Mir, N. A., Rafiq, A., Kumar, F., Singh, V., & Shukla, V., “Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review,” *Journal of Food Science and Technology*, 54 (10), 2997-3009, 2017.
155. Liu, Y., Yu, Y., Meng, Q., Wei, Q., He, W., Zhao, Q., Zhang, J., “A fluorescent pH probe for evaluating the freshness of chicken breast meat,” *Food Chem*, 384, 132554, 2022.
156. Kirkpinar, F. I. G. E. N., Ünlü, H. B., Serdaroğlu, M., Turp, G. Y., “Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, colour, pH and sensory quality of broiler meat,” *Br Poult Sci*, 55 (2) 157-166, 2014.
157. Park, J., Kim, M., “Comparison of dry medium culture plates for mesophilic aerobic bacteria in milk, ice cream, ham, and codfish fillet products,” *Prev Nutr Food Sci*, 18 (4), 269-272, 2013.
158. Anonim, “Türk gıda kodeksi çiğ kanatlı eti ve hazırlanmış kanatlı eti karışımları tebliği (Tebliğ No: 2006/29),” Ankara, 2006.
159. Nyam, K. L., Goh, K. M., Chan, S. Q., Tan, C. P., Cheong, L. Z., “Effect of sous vide cooking parameters on physicochemical properties and free amino acids

- profile of chicken breast meat,” *Journal of Food Composition and Analysis*, 115, 105010, 2023.
160. Muppalla, S. R., Kanatt, S. R., Chawla, S. P., Sharma, A., “Carboxymethyl cellulose–polyvinyl alcohol films with clove oil for active packaging of ground chicken meat,” *Food Packag Shelf Life*, 2 (2), 51-58, 2014.
 161. Radovanovic, R. S., Savic, N. R., Ranin, L., Smitran, A., Opavski, N. V., Tepavcevic, A. M., Gajic, I. “Biofilm Production and Antimicrobial Resistance of Clinical and Food Isolates of *Pseudomonas* spp.,” *Curr Microbiol*, 77 (12), 4045-4052, 2020.
 162. Fang, J., Feng, L., Lu, H., Zhu, J., “Metabolomics reveals spoilage characteristics and interaction of *Pseudomonas lundensis* and *Brochothrix thermosphacta* in refrigerated beef,” *Food Research International*, 156, 111139, 2022.
 163. Fernández-Pan, I., Carrión-Granda, X., Maté, J. I., “Antimicrobial efficiency of edible coatings on the preservation of chicken breast fillets,” *Food Control*, 36 (1), 69-75, 2014.
 164. Karam, L., Chehab, R., Osaili, T. M., Savvaidis, I. N., “Antimicrobial effect of thymol and carvacrol added to a vinegar-based marinade for controlling spoilage of marinated beef (Shawarma) stored in air or vacuum packaging,” *Int J Food Microbiol*, 332, 108769, 2020.
 165. Kargiotou, C., Katsanidis, E., Rhoades, J., Kontominas, M., Koutsoumanis, K., “Efficacies of soy sauce and wine base marinades for controlling spoilage of raw beef,” *Food Microbiol*, 28 (1), 158-163, 2011.
 166. Mohammed, H. H. H., He, L., Nawaz, A., Jin, G., Huang, X., Ma, M., Khalifa, I., “Effect of frozen and refrozen storage of beef and chicken meats on inoculated microorganisms and meat quality,” *Meat Sci*, 175, 108453, 2021.
 167. Sharma, H., Mendiratta, S. K., Agrawal, R. K., Gurunathan, K., Kumar, S., & Singh, T. P., “Use of various essential oils as bio preservatives and their effect on the quality of vacuum packaged fresh chicken sausages under frozen conditions,” *LWT - Food Science and Technology*, 81, 118-127, 2017.
 168. Mytle, N., Anderson, G. L., Doyle, M. P., Smith, M. A., “Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters,” *Food Control*, 17 (2), 102-107, 2006.

EKLER

Ek-Tablo 4.1 Vakum ambalajda ve 4 °C'de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince pH değişimleri

Deneme grupları	Depolama süresi (gün)			
Örnek	0	3	6	9
Kontrol	6.40±0.03 ^{aA}	6.22±0.06 ^{aB}	6.21±0.05 ^{aB}	6.20±0.03 ^{aB}
MS1	3.89±0.02 ^{bB}	4.17±0.03 ^{bA}	4.16±0.03 ^{bA}	4.14±0.02 ^{cA}
MS2	3.90±0.07 ^{bC}	4.11±0.01 ^{cB}	4.17±0.03 ^{bAB}	4.23±0.03 ^{bA}
MS3	3.90±0.03 ^{bC}	4.02±0.02 ^{dB}	4.05±0.04 ^{cdAB}	4.08±0.01 ^{dA}
MS4	3.87±0.02 ^{bC}	4.03±0.02 ^{dB}	4.00±0.05 ^{dBC}	4.23±0.02 ^{bA}
MS5	3.85±0.03 ^{bD}	4.04±0.03 ^{dB}	4.10±0.02 ^{bcA}	3.96±0.03 ^{eC}

Her sütun ve satır için istatistiksel analiz kendi içerisinde yapılmıştır

^{a-d}: Aynı sütunda farklı üst indis küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$ $p < .001$)

^{A-E}: Aynı satırda farklı üst indis büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L;v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L;v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö;v/v, %0.15); MS5: (Ö;v/v, %0.30)

Ek-Tablo 4.2. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince TAMB sayısı (log KOB/g)

Deneme grupları	Depolama süresi (gün)			
Örnek	0	3	6	9
Kontrol	5.280±0.020 ^{aC}	5.410±0.120 ^{aBC}	5.610±0.130 ^{aB}	5.850±0.130 ^{aA}
MS1	3.780±0.080 ^{eD}	4.667±0.119 ^{bC}	5.016±0.125 ^{bB}	5.323±0.106 ^{bA}
MS2	3.493±0.085 ^{cC}	3.586±0.015 ^{deC}	3,833±0.085 ^{dB}	4.090±0.090 ^{dB}
MS3	3.150±0.150 ^{dC}	3.460±0.090 ^{eB}	3.497±0.015 ^{eAB}	3.667±0.060 ^{eA}
MS4	3.690±0.200 ^{bD}	3.940±0.010 ^{cC}	4.210±0.096 ^{cB}	4.387±0.035 ^{cA}
MS5	3.503±0.015 ^{cC}	3.633±0.040 ^{dB}	3.900±0.075 ^{dA}	3.957±0.060 ^{dA}

Her sütun ve satır için istatistiksel analiz kendi içerisinde yapılmıştır

^{a-c}: Aynı sütunda farklı üst indis küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

^{A-D}: Aynı satırda farklı üst indis büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .001$)

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L;v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L;v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö;v/v, %0.15); MS5: (Ö;v/v, %0.30)

Ek-Tablo 4.3. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince *Pseudomonas* sayısı (log KOB/g)

Deneme grupları	Depolama süresi (gün)			
Örnek	0	3	6	9
Kontrol	5.470±0.097 ^{aD}	5.776±0.025 ^{aC}	6.530±0.082 ^{aA}	6.090±0.182 ^{aB}
MS1	3.747±0.085 ^{cD}	4.030±0.044 ^{cC}	5.100±0.066 ^{bB}	5.340±0.053 ^{bA}
MS2	3.467±0.223 ^{dC}	4.026±0.055 ^{cB}	4.137±0.127 ^{cB}	4.783±0.161 ^{cA}
MS3	2.778±0.095 ^{fC}	3.787±0.021 ^{dB}	4.003±0.025 ^{cA}	4.123±0.109 ^{dA}
MS4	4.720±0.036 ^{bC}	4.750±0.046 ^{bBC}	4.847±0.067 ^{bB}	4.973±0.085 ^{cA}
MS5	3.043±0.093 ^{eB}	3.890±0.295 ^{cdA}	3.943±0.339 ^{cA}	3.993±0.130 ^{dA}

Her sütun ve satır için istatistiksel analiz kendi içerisinde yapılmıştır

^{a-f}: Aynı sütunda farklı üst indis küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

^{A-D}: Aynı satırda farklı üst indis büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L;v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L;v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö;v/v, %0.15); MS5: (Ö;v/v, %0.30)

Ek-Tablo 4.4. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince LAB sayısı (log KOB/g)

Deneme grupları	Depolama süresi (gün)			
Örnek	0	3	6	9
Kontrol	3.717±0.035 ^{aA}	2.843±0.040 ^{aC}	3.557±0.055 ^{bB}	3.720±0.020 ^{aA}
MS1	3.697±0.016 ^{aA}	2.417±0.065 ^{bC}	3.767±0.068 ^{aA}	2.750±0.091 ^{bB}
MS2	2.520±0.030 ^{dB}	2.216±0.031 ^{dD}	3.613±0.030 ^{bA}	2.393±0.059 ^{cC}
MS3	2.370±0.060 ^{eB}	2.020±0.027 ^{eC}	3.560±0.056 ^{bA}	2.040±0.040 ^{aC}
MS4	2.763±0.015 ^{bB}	2.313±0.042 ^{cD}	3.610±0.063 ^{bA}	2.483±0.025 ^{cC}
MS5	2.663±0.030 ^{cB}	2.010±0.010 ^{eC}	2.853±0.055 ^{cA}	2.287±0.070 ^{dC}

Her sütun ve satır için istatistiksel analiz kendi içerisinde yapılmıştır

^{a-c}: Aynı sütunda farklı üst indis küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

^{A-D}: Aynı satırda farklı üst indis büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L;v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L;v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö;v/v, %0.15); MS5: (Ö;v/v, %0.30)

Ek-Tablo 4.5. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince koliform sayısı (log KOB/g)

Deneme grupları	Depolama süresi (gün)			
Örnek	0	3	6	9
Kontrol	2.820±0.026 ^{aB}	2.877±0.032 ^{aB}	2.923±0.025 ^{aB}	3.447±0.127 ^{aA}
MS1	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
MS2	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
MS3	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
MS4	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹
MS5	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹	< 10 ¹

Her sütun ve satır için istatistiksel analiz kendi içerisinde yapılmıştır

^{a-c}: Aynı sütunda farklı üst indis küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

^{A-B}: Aynı satırda farklı üst indis büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L;v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L;v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö;v/v, %0.15); MS5: (Ö;v/v, %0.30)

Ek-Tablo 4.6. Vakum ambalajda ve 4 °C’de depolanan kontrol ve marine edilen örneklerin depolama süresince maya-küf sayısı (log KOB/g)

Deneme grupları	Depolama süresi (gün)			
Örnek	0	3	6	9
Kontrol	3.697±0.068 ^{aC}	3.720±0.030 ^{bC}	3.910±0.066 ^{cB}	4.477±0.150 ^{bcA}
MS1	3.443±0.041 ^{dD}	3.877±0.117 ^{aC}	4.583±0.076 ^{aB}	5.353±0.050 ^{aA}
MS2	3.427±0.021 ^{deD}	3.940±0.040 ^{aC}	4.223±0.100 ^{bB}	4.703±0.195 ^{bA}
MS3	3.360±0.044 ^{eD}	3.747±0.045 ^{bC}	3.963±0.047 ^{cB}	4.397±0.195 ^{cA}
MS4	3.602±0.027 ^{cA}	3.530±0.101 ^{cB}	3.480±0.026 ^{dB}	2.710±0.010 ^{dC}
MS5	3.657±0.031 ^{bA}	2.943±0.040 ^{dA}	2.657±0.031 ^{eB}	2.610±0.040 ^{dB}

Her sütun ve satır için istatistiksel analiz kendi içerisinde yapılmıştır

^{a-c}: Aynı sütunda farklı üst indis küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

^{A-D}: Aynı satırda farklı üst indis büyük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L;v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L;v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö;v/v, %0.15); MS5: (Ö;v/v, %0.30)

Ek-Tablo 4.7. Kontrol ve marine edilen örneklerin duyuşal profili

GRUP	Tat	Koku	Aroma	Lezzet	Renk	Yumuşaklık	Sululuk	Genel kabul edilebilirlik
C	6.87±1.69 ^a	7.36±1.58 ^{ca}	7.13±1.52 ^a	6.73±1.25 ^a	7.33±1.14 ^a	7.00±1.37 ^{ab}	6.73±1.13 ^{bc}	7.20±0.84 ^a
MS1	6.18±1.45 ^{bc}	6.91±0.83 ^{ab}	6.24±1.11 ^b	6.33±1.26 ^a	7.07±1.07 ^{ab}	6.87±0.89 ^b	6.91±0.63 ^{ab}	6.73±0.94 ^a
MS2	5.53±1.60 ^{cd}	5.69±1.24 ^c	6.29±1.63 ^b	5.29±1.65 ^b	6.82±1.25 ^{ab}	6.91±1.12 ^{ab}	6.33±1.33 ^c	5.73±1.40 ^b
MS3	5.36±1.37 ^d	5.78±1.13 ^c	5.93±1.25 ^b	5.47±1.31 ^b	6.53±1.29 ^b	7.00±1.22 ^{ab}	6.98±1.03 ^{ab}	5.58±1.27 ^b
MS4	6.27±1.54 ^{ab}	6.38±1.32 ^b	6.00±1.48 ^b	5.51±1.46 ^b	7.07±1.18 ^{ab}	7.16±1.31 ^{ab}	7.16±1.09 ^{ab}	6.09±1.22 ^b
MS5	6.07±1.42 ^{bc}	6.49±1.31 ^b	6.07±1.38 ^b	5.60±1.54 ^b	6.82±1.00 ^{ab}	7.44±1.18 ^a	7.29±0.92 ^a	6.42±1.44 ^{ab}
<i>p</i>	0.000	0.000	0.001	0.000	0.029	0.220	0.000	0.000

Her sütun ve satır için istatistiksel analiz kendi içerisinde yapılmıştır

^{a-d}: Aynı sütunda farklı üst indis küçük harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p < .000$)

C: Kontrol; MS1: Marinasyon sıvısı (1:5 oranında hazırlanan erik ekşisi ve distile su); MS2: MS1+linalol (L;v/v, %0.15); MS3: MS1+linalol (L;v/v, %0.30); MS4: MS1+öjenol (Ö;v/v, %0.15); MS5: (Ö;v/v, %0.30)