

ÇEŞİTLİ BİTKİSEL EKSTRAKTLAR VE KOMBİNASYONLARININ KÖFTEDE ANTİMİKROBİYEL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI*

Gülten Kolcuoğlu^{1**}, A.Kadir Halkman²

¹Arkim Laboratuvar Malzemeleri Tic. A.Ş., Ankara, Türkiye

²Ankara Üniv., Mühendislik Fakültesi, Gıda Müh. Blm., Ankara, Türkiye

Geliş / Received: 10.05.2021; Kabul / Accepted: 14.07.2021; Online baskı / Published online: 06.08.2021

Kolcuoğlu, G., Halkman, A.K. (2021). Çeşitli bitkisel ekstraktlar ve kombinasyonlarının köftede antimikrobiyel etkisinin araştırılması. *GIDA* (2021) 46 (5) 1092-1104 doi: 10.15237/gida.GD21084

Kolcuoğlu, G., Halkman, A.K. (2021). Investigation of the antimicrobial effect of various herbal extracts and combinations in meatball. GIDA (2021) 46 (5) 1092-1104 doi: 10.15237/gida.GD21084

ÖZ

Bu çalışmada zeytin yaprağı ekstraktı, greyfurt uçucu yağı, portakal kabuğu uçucu yağı, biberiye uçucu yağı ve propolisin, tek başına ve kombinasyonlar halinde *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis*, *E. coli* Biotip 1, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemiyle araştırılmıştır. Patojenlere karşı en yüksek inhibisyon zonu oluşturan materyal greyfurt uçucu yağı olmuştur. Bitki materyallerinin 2'li kombinasyonlarının en yüksek antibakteriyel etki gösterdiği Gram negatif bakteri, *S. Enteritidis* olurken 3'lü kombinasyonların en yüksek antibakteriyel etki gösterdiği Gram negatif bakteri ise *E. coli* O157:H7 olmuştur. Bu çalışmada tek başına antibakteriyel aktiviteye sahip olmayan materyallerin farklı sayıda kombinasyonlarının sinerjik etki oluşturabileceği ve bazı kombinasyonlarda da birbirlerini baskılayarak aktiviteyi düşürebildikleri gözlemlenmiştir. Yapılan toplam fenolik miktarı analizi sonucunda en çok toplam fenolik miktarı greyfurt uçucu yağında gözlemlenmiştir. Çalışmada kullanılan bitki materyallerinin antibakteriyel aktivite sonuçları ile toplam fenolik miktarlarının sonuçları birbiri ile paralellik göstermektedir. Çalışma için seçilen 5 bitki materyali ve materyallerin 3'lü kombinasyonlarından 2 tanesi duyusal analiz amacıyla köftele eklenmiştir. Panelistlerin renk, görünüş, koku, tat, tekstür ve genel beğeni değerlendirmeleri sonucunda kontrol köftesine en yakın kriterleri zeytin yaprağı ekstraktı içeren köftenin gösterdiği ve 3'lü kombinasyonların en düşük beğeni puanlarını aldığı tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Baharat, bitki materyali, propolis, antibakteriyel etki, sinerjik etki, köfte

INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL EFFECT OF VARIOUS HERBAL EXTRACTS AND COMBINATIONS IN MEATBALL

ABSTRACT

In this study, olive leaf extract, grapefruit essential oil, orange peel essential oil, rosemary essential oil, and propolis were used alone and in different combinations against *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella* Enteritidis, *E. coli* Biotype 1, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus*. The antibacterial activities of these materials were investigated using the disk diffusion method. Grapefruit essential

* Bu makale, Gülten Kolcuoğlu'nun Yüksek Lisans Tezinin özetidir. *This paper is summary of Gülten Kolcuoğlu's MSc Thesis*

** Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gultenkolcuoglu@gmail.com

☎ (+90) 505 439 0099

Gülten Kolcuoğlu; ORCID no: 0000-0002-3694-8931

A. Kadir Halkman; ORCID no: 0000-0001-9987-0732

oil created the highest zone of inhibition against pathogens. The two-in-one combinations of plant materials had the highest antibacterial effect against *S. Enteritidis* while the triple combinations had the highest antibacterial effect against *E. coli* O157:H7 among the Gram-negative bacteria. It was observed that the combinations of different numbers of materials that did not have antibacterial activity alone created a synergistic effect, but this effect was reduced through the suppression of the activity of certain materials in some combinations. As a result of the analysis of total phenolic content, the highest total phenolic content was observed in grapefruit essential oil. The antibacterial activity results of the plant materials used in the study and the results concerning the total phenolic amounts were consistent. Five plant materials and two of the three combinations of materials selected for the study were added to the patties for a sensory analysis. As a result of the panelists' evaluations of the color, appearance, odor, taste, texture, and overall acceptability criteria, it was determined that the meatball samples containing olive leaf extract had the closest results with reference to the control patties, and the triple combinations received the lowest appreciation scores.

Keywords: Spices, plant extract, propolis, antimicrobial effect, synergistic effect, meatball

GİRİŞ

Gıdalara renk, tat, koku ve lezzet vermesi amacıyla çeşitli bitkilerin tohum, tomurcuk, çekirdek, kök, gövde, yaprak, meyve, çiçek, kabuk ve sap gibi kısımlarının kurutulup, bütün halde veya öğütülmesi ile elde edilen ürünlere baharat adı verilmektedir (Anonim, 2013). Botanik sınıflandırmada baharat, aromatik bitkilerin içerisinde yer alır ve tropik iklim kuşağındaki bölgelerde daha çok bulunurlar. Varoluşundan beri insanın vazgeçilmez temel beslenme kaynaklarından olan bitkilerin, farklı kısımları çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Anonim, 2013; Kapılan, 2015; Sales ve Pashazadeh, 2020).

Bitkilerin yararlı etkilerinden insanlar gibi arılar da faydalanmaktadır. Arılar bitkilerin yaprak, gövde ve tomurcuklarından topladıkları yararlı bileşikleri kendi salgılarıyla tepkimeye sokarak propolis adı verilen bir ürün oluştururlar (Anonim, 2003). Propolis, kovan içerisindeki arıları çeşitli patojen mikroorganizmalara karşı korur. Propolisin yararları insanlar tarafından keşfedildikten sonra yara iyileştirici, bağışıklık sağlayıcı ve gıda koruyucu olarak kullanılmaktadır (Soares de Arruda vd., 2020).

Antibakteriyel aktivite gösteren bitkilerdeki baskın aktif kimyasallar fenoliklerdir ve gıdalarda kullanım miktarı duyuşal özelliklere ve gıda bileşenine göre değişiklik göstermektedir (Ceylan ve Fung, 2004; Ríos ve Recio, 2005; Mendonca vd., 2018).

Aromatik bitkilerin çeşitli materyallerinden elde edilen ürünlerden biri de uçucu yağlardır (Solorzano-Santos ve Miranda-Novales, 2012). Uçucu yağların en yaygın elde edilme yöntemi su buharı ile damıtma yöntemidir, ancak çeşitli çözügenlerle ekstraksiyonu veya presleme yöntemleri de sıklıkla kullanılmaktadır (Dikmetaş vd., 2019). Uçucu yağların elde edilme yöntemleri uçucu yağ bileşimini etkilemektedir (Gonza'lez-Mas vd., 2019).

Uçucu yağlar, oldukça farklı derişimlerde 20-100 bileşenin karışımlarıdır ve bazı bileşiklerin derişimi oldukça yüksek iken diğer bileşenler eser miktarlarda bulunabilir (Luciardi vd., 2019). Uçucu yağların antibakteriyel ve biyolojik aktivitelerinde yüksek derişimlerdeki ana bileşenler (terpenler, terpenoitler, aromatik halkalı moleküller) önemli bir rol oynar (Bakkali vd. 2008, Perricone vd. 2015). Ancak bazı durumlarda asıl biyolojik aktiviteye derişimi daha düşük olan bir bileşen de neden olabilir (Raut ve Karuppayil, 2014).

Antibakteriyel etki gösteren baharat ve bitki ekstraktlarının gıdalarda kullanım miktarı duyuşal özelliklere ve gıda bileşenine göre değişiklik gösterir, ancak bu miktar yaklaşık %0.05- 0.1 arasındadır (Ceylan ve Fung, 2004).

Bitkilerin gıda koruyucu olarak kullanılmasının önündeki temel engel, çoğu zaman tek başına yeterince etkili olmamaları ve antimikrobiyel etki sağlamaları için yeterli olan miktarlarının negatif duyuşal etkilere yol açmalarıdır. Birkaç ekstraktın

sinerjik etkisinden yararlanmak bu soruna bir çözüm olarak önerilmektedir (Hyldgaard vd., 2012; Smith, 2019). Sinerji, bileşiklerin ve/veya faktörlerin, birlikte uygulandıklarında tek tek uygulamaya göre aktiviteyi arttıracak şekilde etkileşmesidir. Bitki karışımlarındaki bileşiklerin sinerjistik aktiviteye sahip oldukları bildirilmiştir (Gyawali vd., 2015). Gıda sistemlerindeki baharat miktarı, her zaman antibakteriyel etki oluşturmak için yeterli olmasa da pH ve sıcaklık gibi faktörlerle birleştirildiğinde sinerjik olarak antibakteriyel aktivite gösterebilirler (Ceylan ve Fung, 2004; Ataman vd., 2019).

Zeytin yaprağı, oleuropein fenolik bileşiiği açısından zengin, antibakteriyel etkisi geniş, gıdalara eklendiği zaman meydana gelecek antibakteriyel aktiviteleri ve duysal özellik bakımından kabul edilebilirlik düzeyleri hakkında araştırmalara ihtiyaç olan bir bitki materyalidir (Thielman vd., 2017).

Propolis, bağışıklık güçlendirici, antioksidan ve antibakteriyel etkilerinden dolayı oldukça dikkat çeken bir bitki materyalidir fakat tadı ve aroması önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır (Pobiega vd., 2019). Propolisin tek başına kullanımının yanında gıdalara eklendiği zaman meydana gelecek antibakteriyel aktiviteleri ve duysal özellik bakımından kabul edilebilirlik düzeyleri hakkında da araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çeşitli sektörlerde kullanılan turunçgil kabuklarının toplam fenolik içeriğinin soyulmuş meyveye oranla oldukça yüksek olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Gorinstein vd., 2001; Özdemir vd., 2014; Garrido vd., 2019). Turunçgil işleme yan ürünlerinin antibakteriyel aktiviteleri ve sağığa yararlı etkileri bakımından gıda uygulamalarında önemli bir potansiyel olduğu düşünölmektedir (Bora vd., 2020).

Biberiyenin çeşitli sağlık yararları, antimikrobiyel, antioksidan, antifungal ve insektisit aktiviteleri bulunmaktadır. Et ve et ürünlerinde çoğunlukla yaprağı kullanılan bitkilerden biridir (Kırpık 2005).

Bu çalışmada amaç zeytin yaprağı ekstresi, propolis, biberiye uçucu yağı, portakal uçucu yağı, greylfurt uçucu yağı, çeşitli bitki kaynaklı materyallerin, gıda kaynaklı hastalıklara neden olan belirli patojenlere karşı antibakteriyel etkisini tek başlarına ve kombinasyonlar halinde belirlemek ile güçlü etki gösterenlerin köfede duysal kabul edilebilirliğinin değerlendirilmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bu çalışmada 4 bitkisel ekstrakt ve propolisin, gıdalarda bulunan 4 temel patojen ve 1 indikatör bakteri üzerinde antibakteriyel etkisi araştırılmıştır.

Biberiye uçucu yağı (BUY), portakal kabuğu uçucu yağı (PUY) ve greylfurt uçucu yağı (GUY) Balen (Ankara) firmasından, zeytin yaprağı ekstresi (ZYE) Anti (Ankara) firmasından, propolis (PRP) Bee'o (İstanbul) firmasından sağlanmıştir. Hazır olarak temin edilen uçucu yağlardan BUY ve GUY'nın damıtma yöntemiyle, PUY'nın ise presleme yöntemiyle elde edildiği bildirilmiştir. ZYE, toz olarak sağlanmış ve kaynar su ile 1:9 oranında çözöldükten sonra 40 °C'ta ultrasonik banyoda 1 saat ekstrakte edilmiştir. Propolisin %30'luk etanollü ekstraktı tercih edilmiştir. Uçucu yağlar ve propolis herhangi bir seyreltme işlemine uğratılmamıştır.

Bu çalışmada, Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanan *Escherichia coli* O157:H7, *E. coli* Biyotip 1, *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* test bakterileri olarak kullanılmıştir. Denemelerde kullanılan bu bakteriler, Trypticase Soy (CASO) Broth (Merck) besiyeri kullanılarak 37 °C'ta 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir (Bauer vd., 1966).

Yöntem

Kullanılan besiyerleri ve çözöltülerin hazırlanması

Bakterilerin geliştirilmesi ve stok kültür hazırlanması için CASO Broth (Merck), antibakteriyel aktivitenin belirlenmesinde kullanılan disk difüzyon yöntemi için Mueller

Hinton Agar (MHA) (Merck), uçucu yağların toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu reaktifi (Merck) ve Na₂CO₃ (Merck) kullanılmıştır (Moisa vd., 2018).

Antibakteriyel aktivitenin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan beş materyalin, beş bakteriye karşı olan baskılayıcı etkisi tek başlarına ve sinerjik etkinin belirlenebilmesi amacıyla ikili, üçlü, dörtlü ve beşli kombinasyonlar olarak denenmiştir. Çalışmanın bu aşamasında amaç sadece durum tespiti olduğu için tek tekrür ile çalışılmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, araştırmanın izleyen aşamalarında değerlendirilmiş, materyallerin antibakteriyel aktiviteleri tek başlarına ve iki adet üçlü kombinasyon halinde ve bu kez üç tekrürlü olarak belirlenmiştir.

Antibakteriyel etki zon çapı, disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Besiyeri hazırlama yönergesine göre hazırlanan MHA, eritilip 15 mL olacak şekilde tüplere dağıtıldıktan sonra 121 °C'ta 15 dk otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası besiyeri uygun sıcaklığa (~40 °C) geldiğinde 100 µL aktif test bakteri kültürü inoküle edilip, yeterince vortekslenip Petri kutularına dökülmüştür. Besiyeri oda sıcaklığında 5-10 dakika kurutulmaya bırakıldıktan sonra steril kâğıt diskler (Oxoid) Petri kutusuna yeterli ölçüm sağlayacak aralıklarla yerleştirilmiş ve diskler üzerine 5 µL antibakteriyel materyal damlatılıp 37 °C'ta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonucunda materyalin antibakteriyel etki zon çapları verniyeli kumpas ile ölçülmüştür. Disklerin etrafında oluşan zonlardan düzgün olanlar tek noktadan, düzgün olmayan zonlarda ise 3 farklı eksende ölçüm yapılmış ve bu 3 değerın ortalaması inhibisyon çapı olarak hesaplanmıştır.

Toplam fenolik madde miktarı tayini

ZYE, BUY, PUY, GUY ve PRP'in toplam fenolik madde miktarı, Moisa ve arkadaşlarının belirledikleri yöntemde birkaç değişiklik uygulanarak spektrofotometrik analiz ile Folin-Ciocalteu (FC) prosedürü kullanılarak belirlenmiştir (Moisa vd., 2018). Materyaller damıtık su ile 25 kat (h:h) seyreltilmiştir. Test tüpüne 100 µL seyreltilmiş materyal ilave

edildikten sonra üzerine 500 µL FC, 2 mL (%20) Na₂CO₃ ve 5 mL damıtık su aktarılmıştır. Oda sıcaklığında ve karanlıkta 90 dakika inkübe edildikten sonra ölçümler, kuvars küvetler kullanılarak $\lambda = 765$ nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır. Referans standart eğrisi, gallik asit standart alınarak 0, 50, 100, 150, 200, 250 ve 500 mg/L konsantrasyonlarda kurveler çizilmesiyle elde edilmiştir ve uçucu yağların toplam fenol madde miktarı, gallik asit eşdeğeri (mg GAE/L) olarak verilmiştir. Bu aşamada tüm deneyler 3 paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Köftenin hazırlanması

Yerel bir kasaptan 1 kg orta yağlı dana eti temin edilip kıyma makinesinde çektilmiş ve ardından soğuk zincirle laboratuvara getirilmiştir. Baharat olarak piyasada bulunan farklı marka köfte harçları arasında, içinde en az bileşen olanı seçilmiş ve üretici firmanın tarifine uygun olarak kıymaya katılmış ve karıştırılmıştır. Köfte rastgele sekiz eşit parçaya bölünmüştür. Kontrol grup ayrıldıktan sonra kalan yedi gruba %0.05 oranında sırasıyla ZYE, PRP, GUY, PUY, BUY, ZYE+GUY+BUY karışımı ve PRP+GUY+BUY karışımı eklenmiştir. Hazırlanan köfte karışımı 50±0.5 g tartularak gruplara ayrılmış, ardından elle yassılaştırılarak şekil verilmiş ve ızgarada pişirilmiştir.

Duyusal analiz

Köftelerde pişirme sonrası duyusal değerlendirme, havalandırılmış ve ışıklandırılmış bir odada onbir kişilik bir panelist grubu ile gerçekleştirilmiştir. Panelistlere örnekler rastgele sıralama yapılarak sunulmuş, değerlendirme esnasında bir önceki örneğin ağızda kalan tadını gidermek amacıyla su içilmesi ve ekmek yenmesi gerektiği bildirilmiştir. Duyusal analizde panelistler pişmiş örneklerin kalite özelliklerindeki farklılıkları renk, görünüş, koku, tat, tekstür ve genel beğeni kriterleri üzerinden değerlendirmişlerdir. Değerlendirme için 9'lu hedonik skala tercih edilmiştir (İlhan, 2010). Buna göre, renk: hoşta gider tipik köfte rengi; görünüş: köfte bütünlüğü, parçalanmama durumu; koku: tipik köfte kokusu; tat: tipik köfte tadı; tekstür: köftede sertlik, yapışkanlık ve çiğnenabilirlik

durumu ve genel beğeni: tüm kriterler dikkate alınarak yapılan değerlendirme olmak üzere köfteler 1-9 arasında puanlanmıştır. Bu puanlama, 1: tüketilemez; 2: çok kötü; 3: kötü; 4: biraz kötü; 5: ne iyi ne kötü; 6: biraz iyi 7: iyi 8: çok iyi 9: oldukça iyi şeklinde yapılmıştır.

İstatiksel Analiz

Araştırma sonucunda elde edilen sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi IBM SPSS Statistics 24.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Grup ortalamaları arasındaki farkın anlamlılığı tek yönlü Varyans Analiz Tekniği (ANOVA) ile araştırılmıştır. Anlamlı farklılık olduğu durumlarda farklılıkların hangi gruplardan kaynaklandığı LSD (Asgari Önemli Fark) testi ile araştırılmıştır ($P<0.05$).

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

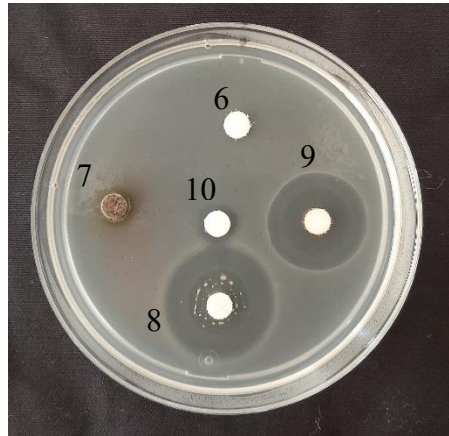
Antibakteriyel Etki; Birinci Aşama

Materyallerin *E. coli* O157:H7, *S. Enteritidis*, *E. coli* Biyotip 1, *L. monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı tek başlarına ve kombinasyon halinde gösterdikleri antibakteriyel etkiler sonucunda ölçülen inhibisyon zonları çizelge 1'de ve örnek olmak üzere *E. coli* O157:H7'ye karşı

antibakteriyel etkileri sonucunda ölçülen inhibisyon zonları şekil 1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1 incelendiğinde en yüksek antibakteriyel etkinin 33.04 mm zon çapı ile inhibisyonun en yüksek olduğu değerin tek başına GUY'nın *S. aureus* üzerindeki etkisi olduğu ve yine GUY'nın, tek başına *E. coli* Tip 1 üzerinde 29.77 mm zon çapı ile ikinci sırada olduğu görülmektedir. Tek başına GUY, *E. coli* O157 ve *L. monocytogenes* üzerinde de etki göstermiş, ancak, *S. Enteritidis* üzerine etki yapamamıştır. Tek başına ZYE ve PUY sadece *S. aureus* üzerinde etkili olmuştur.

Bu çalışmada test bakterilerinin Gram reaksiyonlarının kullanılan materyale karşı önemli olmadığı bulunmuştur. Literatürde Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin bitkisel ekstraktlardan ve propolisten farklı şekillerde etkilendikleri ya da bakterilerin Gram reaksiyonlarının önemli olmadığı şeklinde farklı bulgular mevcuttur (Tolosa ve Canizares, 2002; Markin vd., 2003; Burt, 2004; Schelz ve ark, 2006; Pereira vd., 2007; Kırbaslar ve ark., 2009; Korukluoğlu vd., 2010; Temiz vd., 2011; Wagh, 2013, Geraci ve ark., 2016; Gökmen vd., 2016; Değirmencioğlu vd., 2019 Deng ve ark., 2020).



Şekil 1. Bitki materyallerinin ikili kombinasyonlarının bazılarının *E. coli* O157:H7'ye karşı antibakteriyel etkileri sonucunda ölçülen inhibisyon zonları

Figure 1. Some double combinations's inhibitory effect against to *E. coli* O157:H7

6: PRP+PUY; 7: PRP+BUY; 8: GUY+PUY; 9: GUY+BUY; 10: PUY+BUY.

Lejantlar için bakınız Çizelge 1.

6: PRP+PUY; 7: PRP+BUY; 8: GUY+PUY; 9: GUY+BUY; 10: PUY+BUY.

For legends, see table 1.

Çizelge 1. Materyalin antibakteriyel etkisi; Birinci değerlendirme
Table 1. Antibacterial effect of material; First evaluation

Materyal* Material	Zon çapı (mm)** Zone diameter (mm)**				
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>E. coli</i> Tip 1	<i>S. aureus</i>	<i>L.</i> <i>monocytogenes</i>
Kombinasyonsuz / No combination					
ZYE	6.00	6.00	6.00	10.21	6.00
PRP	6.00	6.00	6.00	12.69	15.61
GUY	10.36	6.00	29.77	33.04	18.55
PUY	6.00	6.00	6.00	7.79	6.00
BUY	13.12	10.49	11.13	13.04	6.00
İkili kombinasyon / Double combination					
ZYE+PRP	6.00	6.00	6.00	12.43	9.85
ZYE+GUY	6.00	19.01	6.00	24.30	10.14
ZYE+PUY	6.00	6.00	6.00	12.05	6.00
ZYE+BUY	11.33	10.11	6.00	10.73	6.00
PRP+GUY	6.00	13.21	6.00	21.87	12.75
PRP+PUY	6.00	6.00	6.00	14.45	6.00
PRP+BUY	6.00	6.00	6.00	12.7	13.18
GUY+PUY	28.20	6.00	6.00	6.00	12.37
GUY+BUY	23.96	9.79	21.47	6.00	12.57
PUY+BUY	9.54	8.26	9.33	6.00	6.00
Üçlü kombinasyon / Triple combination					
ZYE+PRP+GUY	21.23	6.00	9.97	21.29	12.11
ZYE+PRP+PUY	9.01	6.00	6.00	12.11	10.56
ZYE+PRP+BUY	10.66	6.00	6.00	10.29	8.65
PRP+GUY+PUY	18.87	6.00	6.00	18.11	8.33
PRP+GUY+BUY	29.39	6.00	6.00	20.43	12.27
ZYE+GUY+PUY	20.66	6.00	13.45	22.26	6.00
PRP+PUY+BUY	9.58	6.00	6.00	12.74	12.24
GUY+PUY+BUY	25.94	9.76	18.92	20.79	10.42
ZYE+GUY+BUY	24.78	8.05	20.79	30.7	9.65
ZYE+PUY +BUY	10.46	9.20	6.00	16.24	6.00
Dörtlü kombinasyon / Combination of four					
ZYE+PRP+GUY+PUY	22.14	13.05	6.00	16.76	12.36
ZYE+PRP+GUY+BUY	22.71	16.33	15.14	14.96	14.11
PRP+GUY+ PUY+BUY	18.44	14.77	6.00	18.92	15.8
ZYE+GUY+PUY +BUY	16.03	12.85	6.00	17.52	6.00
ZYE+PRP+PUY +BUY	6.00	9.94	6.00	11.93	12.42
Beşli kombinasyon / Combination of five					
ZYE+PRP+GUY+ PUY +BUY	15.94	15.28	6.00	17.16	6.00

*ZYE: Zeytin yaprağı ekstresi, PRP: propolis, GUY: greyfurt uçucu yağı, PUY: portakal kabuğu uçucu yağı, BUY: biberiye uçucu yağı

*ZYE: Olive leaf extract, PRP: propolis, GUY: grapefruit essential oil, PUY: orange peel essential oil, BUY: rosemary essential oil

**Ölçülen inhibisyon zon çaplarına 6 mm'lik disk çapı dâhildir

** The measured inhibition zone diameters include 6 mm disc diameters

Tek tekerrürlü olarak yapılan bu aşamada asıl beklenen etkinin, kombinasyonlardaki sinerjik etki olmasıdır. Ancak, beklenenden çok farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, *E. coli* O157:H7 üzerine ZYE ve PRP etkili değilken ZYE+PRP ikili kombinasyonu da etkili olmamıştır. Bu bakteri üzerine tek başına GUY 10.36 mm zon çapı etki gösterirken ZYE+GUY kombinasyonu etkisiz olmuştur. Bir diğer deyişle bu kombinasyonda ZYE, GUY'nın baskılayıcı etkisini ortadan kaldırmıştır. Tersine olarak yine *E. coli* O157:H7 üzerine tek başına GUY 10.36 mm ve PUY 6.00 mm (etkisiz) zon çapı vermiş iken GUY+PUY kombinasyonu 28.20 mm inhibisyon zonu ile net bir sinerjetik etki göstermiştir. Benzer sinerjetik etki GUY+BUY kombinasyonunda da görülmektedir.

Oldukça dikkat çekici olmak üzere *S. aureus* üzerine en yüksek inhibisyon zonu veren GUY'nın, PUY ile kombinasyonunda inhibisyon etkisinin ortadan kalkmasıdır. Benzer sonuçlar

GUY+BUY ve PUY+BUY kombinasyonlarında da alınmıştır.

Benzer beklenmedik sonuçlar, üçlü, dörtlü ve beşli kombinasyonlarda da alınmıştır. Çizelge 1 incelendiğinde farklı bakterilerin, farklı inhibitörlerden, farklı kombinasyonlarda farklı etkilendiği görülmektedir.

Yine çizelge 1 incelendiğinde genel olarak *E. coli* Tip 1'in tüm denemelerde en dirençli ve *S. aureus*'un en duyarlı bakteri olduğu görülmektedir.

Toplam Fenolik Madde Miktarı

Spektrofotometrik analiz ile Folin-Ciocalteu (FC) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen ZYE, BUY, PUY, GUY ve PRP'in gallik asit standart alınarak 0, 50, 100, 150, 200, 250 ve 500 mg/L derişimlerde çizilen kurveyle elde edilen toplam fenolik madde miktarının sonuçları çizelge 2'de verilmiştir. PRP, kullanılan yöntemle yanıt vermemiştir.

Çizelge 2. Materyallerinin toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/L)

Table 2. Total phenolic content of material (mg GAE/L)

Materyal Material	ZYE	BUY	PUY	GUY	PRP
Toplam Fenolik Madde Miktarı Total phenolic content	543.0	618.0	310.8	641.9	0.0

Lejantlar için bakınız Çizelge 1.

For legends, see Table 1.

Çizelge 2'den görüldüğü gibi, fenolik madde en yüksek materyal 641.9 mg GAE/L ile GUY'dır. GUY'nı 618.0 mg GAE/L ile BUY izlemektedir. BUY antibakteriyel etki açısından da tek başına etkili olmuştur. Ancak, fenolik madde açısından üçüncü sırada yer alan ZYE, PUY ile birlikte tek başına en zayıf antibakteriyel etki gösteren iki materyalden birisi olması dikkat çekicidir. Bu araştırmanın bulguları, fenolik madde içeriği ile antibakteriyel etki arasında yüksek bir korelasyon olduğunu kanıtlamamaktadır.

Başka araştırmaların fenolik bileşik miktarları ve antimikrobiyel aktivite bulguları da kendi içlerinde tam uyumlu değildir. Bu uyumsuzluk, bitki çeşidi, bitkinin yetiştirildiği bölge, mevsimsel farklılıklar, ekstraksiyon yöntemi, toplam fenolik madde

miktarı, fenolik bileşim, kullanılan mikroorganizmaların tür ve suş farklılıkları gibi çeşitli sebeplerden kaynaklanabilmektedir. Fenolik maddelerin antimikrobiyel aktivitelerini proteinler, lipitler, tuzlar, pH ve sıcaklık gibi çeşitli faktörler de etkilemektedir (Sağdıç 2003).

Antibakteriyel Etki; İkinci Aşama

Tek başlarına ve kombinasyonlar halinde 5 test bakterisine karşı inhibisyon etkiler, fenolik madde içeriği ile birlikte değerlendirilerek köftede tek başlarına 5 materyal ile PRP+GUY+BUY ve ZYE+GUY+BUY olmak üzere 2 kombinasyon denenmesine karar verilmiş ve devamında 3 tekerrürlü olmak üzere inhibisyon etki kontrol edilmiştir. Bulgular çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 3. Materyalin antibakteriyel etkisi; İkinci değerlendirme*
Table 3. Antibacterial effect of material; Second evaluation*

Materyal / Material	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>E. coli</i> Biyotip 1	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Kontrol / Control	6.00±0.00 ^c	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d	6.00±0.00 ^d
ZYE	6.00±0.00 ^c	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^d	10.85±0.32 ^{cd}	6.00±0.00 ^d
PRP	6.00±0.00 ^c	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^d	12.94±0.53 ^{bcd}	16.07±0.28 ^{ab}
GUY	9.62±0.41 ^{bc}	6.00±0.00 ^b	29.45±0.43 ^a	32.34±1.20 ^a	18.38±0.71 ^a
PUY	6.00±0.00 ^c	6.00±0.00 ^b	6.00±0.00 ^d	7.26±0.63 ^d	6.00±0.00 ^d
BUY	15.39±0.67 ^{ab}	10.89±0.66 ^a	11.17±0.23 ^{bc}	12.60±0.27 ^{bcd}	6.00±0.00 ^d
PRP+GUY+BUY	28.98±0.20 ^a	6.63±0.63 ^b	7.66±0.33 ^{cd}	19.73±0.57 ^{abc}	11.35±0.46 ^{bc}
ZYE+GUY+BUY	24.28±0.32 ^a	8.68±0.56 ^{ab}	20.62±0.16 ^{ab}	29.26±1.10 ^{ab}	9.21±0.61 ^{cd}

*Ortalama ± standart hata

^{a-b-c} : Sütunlar içerisinde farklı harfleri taşıyan örnek ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($P < 0.05$).

**Ölçülen inhibisyon zon çaplarına 6 mm'lik disk çapı dâhildir

Lejantlar için bakınız Çizelge 1.

* Mean ± standard error

^{a-b-c} : Mean values with different lowercase superscripts indicate statistical differences between columns ($P < 0.05$).

** The measured inhibition zone diameters include 6 mm disc diameters

For legends, see Table 1.

Çizelge 3'ten izleneceği gibi tek başına GUY'nın *S. aureus* ve *E. coli* Biyotip 1'e karşı inhibisyon etkisinin en yüksek etkiler olduğu, genelde denenen materyale karşı en yüksek direnç gösteren *E. coli* O157:H7 serotipinin, üçlü kombinasyonlardan ciddi şekilde etkilendiği görülmektedir. 3 tekerrürlü yapılan bu deneme ile tek tekerrürlü yapılan ilk deneme sonuçları

(çizelge 1) beraberce incelendiğinde sonuçların birbirlerine çok benzer olduğu görülmektedir.

Duyusal Analiz

%0.5 oranında farklı materyaller ve kombinasyonları ile hazırlanan köftelerin kalite özelliklerindeki farklılıklar 11 panelist tarafından renk, görünüş, koku, tat, tekstür ve genel beğeni kriterleri üzerinden belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Farklı materyaller ve kombinasyonları ile formüle edilen köftelerin duyusal değerlendirme puanları (n=11)*

Table 4. Sensory evaluation scores of meatballs formulated with different materials and combinations (n=11)*

Köfte / Meatball	Renk / Color	Görünüş / Appearance	Koku / Odor	Tat / Taste	Tekstür / Texture	Genel Beğeni / Overall acceptance
Kontrol / Control	7.63±0.30 ^a	7.54±0.24 ^a	7.45±0.31 ^a	7.45±0.38 ^a	7.36±0.36 ^a	7.18±0.50 ^a
ZYE	7.27±0.27 ^a	7.00±0.30 ^a	6.72±0.40 ^a	6.63±0.41 ^a	6.72±0.35 ^a	6.54±0.45 ^a
PRP	7.45±0.28 ^a	6.90±0.28 ^a	5.63±0.33 ^{ab}	5.45±0.43 ^{ab}	6.18±0.37 ^a	5.18±0.55 ^{ab}
GUY	7.45±0.31 ^a	7.27±0.27 ^a	4.90±0.51 ^{bc}	3.81±0.55 ^{bc}	6.00±0.48 ^a	4.18±0.35 ^{bc}
PUY	7.45±0.24 ^a	7.00±0.23 ^a	5.72±0.38 ^{ab}	4.54±0.45 ^{ab}	6.27±0.42 ^a	5.00±0.38 ^{ab}
BUY	7.45±0.36 ^a	7.18±0.18 ^a	5.45±0.51 ^{ab}	3.72±0.58 ^{bc}	6.27±0.44 ^a	4.45±0.54 ^{bc}
PRP+GUY+BUY	7.00±0.35 ^a	6.36±0.30 ^a	3.81±0.48 ^c	2.54±0.51 ^c	5.45±0.45 ^a	3.27±0.38 ^c
ZYE+GUY+BUY	6.90±0.34 ^a	6.72±0.33 ^a	3.63±0.45 ^c	2.36±0.54 ^c	6.09±0.41 ^a	3.00±0.38 ^c

*Ortalama±standart hata

^{a-b-c} : Sütunlar içerisinde farklı harfleri taşıyan örnek ortalamaları arasındaki fark, istatistik olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Lejantlar için bakınız Çizelge 1.

* Mean ± standard error

^{a-b-c} : Mean values with different lowercase superscripts indicate statistical differences between columns ($P < 0.05$).

For legends, see table 1.

Çizelge 4 incelendiğinde, kontrol (hiçbir deneme materyali eklenmemiş) köftenin dahi 9 tam puan üzerinden 8 ve altında olduğu görölmektedir. Bu düşük puanlama, muhtemelen köfte yapımında kullanılan ticari köfte harcının panelistler tarafından benimsenmemesinden kaynaklanmaktadır.

Yapılan duysal değerlendirmede köfteler arasında renk, görünüş ve tekstür açısından fark görölmemiş, ancak koku ve tattaki farklar genel beğeniye de yansımıştır. Kontrol dâhil 8 köfte arasında koku, tat ve genel beğeni puanı en düşük olan köfteler sırasıyla ZYE+GUY+BUY ve PRP+GUY+BUY olmuştur. Bir diğer deyiş ile panelistler, kombinasyonlu köfteleri beğenmemişlerdir.

Bu çalışmadaki en beklenmedik sonuç, test bakterilerine karşı inhibisyon etki ile duysal test sonuçları arasındaki uyumsuzluktur. Örneğin tekli kombinasyonlar içinde GUY, *S. Enteritidis* dışındaki test bakterilerine karşı kuvvetli inhibitör etki yaparken, duysal değerlendirmesinde en düşük genel beğeni almıştır.

Gökmen ve arkadaşları (2016), farklı oranlarda zeytin yaprağı ekstraktının köfteye eklenmesinin duysal yönden herhangi bir olumsuzluk oluşturmadığını bildirmişlerdir. Duysal analiz sonucunda kontrol grubuna koku, tat, tekstür ve genel beğeni parametrelerinde en yakın örneğin ZYE içeren köfte olması bu sonucu doğrulamıştır.

Yıldız (2019), farklı konsantrasyonlardaki limon, portakal ve bergamot gibi turunçgil kabuk yağlarının gökkuşadı alabalığı filetolarına eklenmesinin duysal yönden etkisini incelemiştir. Kullanılan uçucu yağlar arasında en çok bergamot uçucu yağı eklenmiş gökkuşadı alabalığı filetosunun beğenildiği, genel anlamda uçucu yağların balıkta alışılmadık bir lezzet ve koku oluşturmasından kaynaklı genel kabul edilebilirlik açısından tercihin düşük olduğunu bildirmiştir. Gerçekleştirilen duysal analiz sonucunda uçucu yağların özelliklerinin daha baskın olmasından kaynaklı ZYE içeren köftelerin kontrol örneğine daha yakın bulunduğu düşünölmektedir.

Gök ve Bor (2012), zeytin yaprağı, yaban mersini ve hünnap ekstraktlarının köfteye eklenmesinin duysal yönden değerlendirilmesi sonucunda, en çok yaban mersini ekstresi içeren köftelerin beğenildiğini fakat ekstraktların genel kabul edilebilirlik açısından herhangi bir olumsuzluk oluşturmadığını bildirmişlerdir.

İlhan (2010), biberiye uçucu yağını dana kırıntı etinin farklı oranlarda kullanılmasıyla formüle edilen hamburger köftelerine eklemiştir. Çalışmanın duysal analizinde biberiye uçucu yağının yüksek puan almadığını ve bunun nedeni olarak da biberiyenin keskin ve belirgin aromaya sahip olması ile et ve et ürünlerinde biberiye kullanımının Türk mutfağında yaygın olmamasına bağlı olduğunu bildirmiştir. Yapılan çalışmada da biberiye koku, tat ve genel beğeni değerlendirmelerinde düşük puan almıştır.

SONUÇ

Bu çalışmada elde edilen inhibisyon etki, literatürdeki kimi bulgularla örtüşürken kimileri ile örtüşmemiştir. Bunun nedeni literatür verileri arasındaki farklılardan kaynaklanmaktadır. Literatürdeki her bulgu, kendi içinde doğrudur, ancak denemelerde kullanılan ekstraktlar ve uçucu yağların elde edildiği bitkisel materyalden kaynaklanan muhtemel fitokimyasal farklılıklardan gelmektedir. Örneğin, portakal uçucu yağı elde etmek için kullanılan portakalın yetiştirildiği coğrafya, iklim koşulları, gübreleme ve sulama, çeşit farklılıkları vb. faktörlerin uçucu yağ bileşimine etkili olacağı açıktır ve bu farklılıklar propolis için de geçerlidir. Bu durum gerek bitkisel gerek hayvansal tüm tarımsal üretimde geçerlidir. Her ne kadar salça üretiminde olduğu gibi standart kalitede ürün elde etmek için çiftçi ile yapılan sözleşmeli ekim ile standart kalitede domates elde edilebilse de tarıma dayalı sanayilerde bu standart kalitenin her zaman sağlanması mümkün değildir. Basit bir örnekle, mikrobiyolojide kullanılan agarlı besiyerlerinin bileşimi ISO tarafından tanımlanırken agar dışında tüm bileşenlerin derişimi çok kesin iken agar derişimi, agarın jelleşme gücüne bağlı olarak 9-18 g/L gibi oldukça farklı bir sınırdadır. Literatürde farklı sonuçların bir

diğer önemli nedeni de test bakterilerinin suş farklılığıdır.

Bu araştırmanın ana hedefi, ticari köfte harcına katılacak çeşitli ekstraktlar ve uçucu yağlar ve propolis ile hazırlanacak köftelerin, pişirilmeden önce buzdolabı sıcaklığında raf ömrünün uzatılması olması iken bu hedefe ulaşamamış ve raf ömrü denemeleri yapılmasından vazgeçilmiştir. Bunun temel nedeni, inhibisyon etki ile duyuşal değerlendirme arasında yeterli ilişki görülmemiş olmasıdır.

Genel kabul görüldüğü şekliyle, bitkisel ekstraktlar ve uçucu yağların antimikrobiyel etkisi, fenoliklerin derişimi ile ilişkilidir. Bu çalışmada bu genel görüşü destekleyen sonuçlar alınmamıştır.

Yine bu çalışmada beklenen sinerjik etki her kombinasyonda görülmediği gibi bazı kombinasyonlarda tersine sonuçlar da alınmıştır. Devamında, literatürde verilen Gram pozitif ve negatif bakterilere karşı inhibisyon etkide bir uyum görülmemiştir.

Bu çalışmanın hedefleri arasında Türk damak tadına uygun bir ticari köfte harcı hazırlamak yoktur. Daha öncesinde de Türk damak tadına uyan peynir ve sucuk gibi ürünlerde duyuşal analizler yapılmıştır. Öncelikle Türk damak tadına uygun herhangi bir gıdanın olmadığı ve olamayacağı kabul edilmelidir. Türkiye gibi doğusu ve batısı ile güneyi ve kuzeyi gibi çok farklı coğrafyaya ve dolayısıyla çok farklı beslenme alışkanlıklarına sahip bir toplumda, reklam dayatmaları sonucunda ABD kaynaklı hamburger ve gazlı içeceğin tek ortak kabul gören beslenme çeşidi olduğu muhtemelen söylenebilmektedir.

Hal böyle iken bu çalışmada da yapılan duyuşal analizlerin de Türk damak tadına yönelik bir genel bulgusu olamamaktadır. Nitekim kontrol olarak panelistlere sunulan köftenin genel değerlendirme puanı 9'lu hedonik skalada 7 puan almıştır. Ancak, elde edilen bulgular reddedilmemekte ve küçümsenmemektedir. Tam tersine olarak bu konu üzerine üniversite-sanayi iş birliğinin önemine dikkat çekilmektedir.

Bu makalede elde edilen tüm olumsuz bulgular açık bir şekilde sunulmuştur. Tarafımızın değerlendirme bakışı altında bu çalışma, başarısız olarak değerlendirilmemekte hatta daha sonra yapılacak benzer çalışmalara yol gösterici olduğu için çok başarılı olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçlarının değerlendirilmesi sonunda ileride yapılacak benzer çalışmalar için şunlar önerilmektedir:

Tüm tarımsal üretim ürünü her türlü ekstrakt ve uçucu yağların antimikrobiyel etkisinin araştırılacağı çalışmalarda hedef öncelikle belirlenmelidir. Hedef, gıda sanayisinde katkı olarak değerlendirmek ise her şeyden önce genel tüketici kabulü olmalıdır.

Fenoliklerin derişimi ile antimikrobiyel etki arasındaki korelasyon ciddi bir şekilde araştırılmalıdır.

Konu, sadece bireysel küçük araştırmalar yerine multidisipliner ölçüde üniversiteler, kamu araştırma kuruluşları ve sanayi ile ortak büyük bir proje kapsamında araştırılmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar, bu çalışmada başka kişi ya da kurum ve kuruluşlar ile bir çıkar çatışması olmadığını bildirmektedirler.

YAZAR KATKILARI

Kadir Halkman, araştırmanın planlamasını yapmış, Gülten Kolcuoğlu laboratuvar çalışmalarını gerçekleştirmiştir. Yazarlar, makaleyi beraberce yayına hazırlamışlardır.

KAYNAKLAR

Anonim. (2003). Arıcılık- Arı Tutkalı (Propolis) Standardı. TS 12910. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonim. (2013). Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği. Tebliğ No: 2013/12.

Ataman, P., Halkman A. K., Akpınar, M. (2019). Gıda Güvenliği, Gıda Mikrobiyolojisi. Halkman, A. K. (ed), Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd., 427-442, Ankara.

- Bakkali, F., Averbek, S., Averbek, D., Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils- A review. *Food Chem Toxicol*, 46, 446-475, doi: 10.1016/j.fct.2007.09.106
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 45(4), 493-496, doi: 10.1093/ajcp/45.4_ts.493
- Bora, H., Kamle, M., Mahato, D. K., Tiwari, P., Kumar, P. (2020). Citrus Essential Oils (CEOs) and their applications in food: An Overview. *Plants*, 9(3), 1-25, doi: 10.3390/plants9030357
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods: A review. *Int J Food Microbiol*, 94, 223-253, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- Ceylan, E., Fung, D. Y. C. (2004). Antimicrobial activity of spices. *J Rapid Meth Ant Mic*, 12, 1-55.
- Değirmencioglu, H. T., Güzelmeriç, E., Yüksel, P. I., Kırmızıbekmez, H., Deniz, İ., Yeşilada, E. (2019). A new type of Anatolian propolis: Evaluation of its chemical composition, activity profile and botanical origin. *Chem & Biodivers*, 16(12), 1-32, doi: 10.1002/cbdv.201900492
- Deng, W., Liu K., Cao, S., Sun, J., Zhong, B., Chun, J. (2020). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation. *Molecules*, 25, 217, doi: 10.3390/molecules25010217
- Dikmetaş, D. N., Konuşur, G., İngök, A. M., Gülsünoğlu, Z., Güler, F. K. (2019). Portakal (*Citrus sinensis*) kabuğundan elde edilen hidrosol/esansiyel yağların antibakteriyel ve antioksidan özellikleri. *Düzce Üniv Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7, 274-283.
- Garrido, G., Chou, W. H., Vega, C., Goity, L., Valdés, M. (2019). Influence of extraction methods on fatty acid composition, total phenolic content and antioxidant capacity of Citrus seed oils from the Atacama Desert, Chile. *J Pharm & Pharmacog Res*, 7(6), 389-407.
- Geraci, A., Di Stefano, V., Di Martino, E., Schillaci, D., Schicchi, R. (2016). Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. *Nat Prod Res*, 1-7, doi: 10.1080/14786419.2016.1219860
- González-Mas, M. C., Rambla, J. L., López-Gresa, M. P., Blázquez, M. A., Granell, A. (2019). Volatile compounds in citrus essential oils: a comprehensive review. *Front Plant Sci*, 10, 1-18, doi: 10.3389/fpls.2019.00012
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y., Haruenkit, R., Lojek, A., Ciz, M., Caspi, A., Libman, I., Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. *Food Chem*, 74, 309-315.
- Gök, V., Bor, Y. (2012). Effect of olive leaf, blueberry and *Zizyphus jujuba* extracts on the quality and shelf life of meatball during storage. *J Food Agric Env*, 10(2), 190-195.
- Gökmen, M., Akkaya, L., Kara, R., Gök, V., Önen, A., Ektik, N. (2016). Zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin köftelerde *S. Typhimurium*, *E. coli O157* ve *S. aureus* gelişimi üzerine etkisi, *Akademik Gıda*, 14(1), 28-32.
- Gyawali, R., Hayek, S. A., Ibrahim, S. A. (2015). Plant extracts as antimicrobials in food products: mechanisms of action, extraction methods, and applications, Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality. Taylor, T. M. (eds), *Woodhead Publishing is an imprint of Elsevier*, 49-68, doi: 10.1016/B978-1-78242-034-7.00003-7
- Hylgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol*, 3, 1-24, doi: 10.3389/fmicb.2012.00012
- İlhan, E. (2010). Farklı oranlarda dana kıvrıtı eti ile formüle edilmiş hamburger köftelerinde biberiye ekstraktı ilavesinin depolama stabilitesi üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 68, Ankara.
- Kapilan, R. (2015). Determination of antibacterial activity of some important spices. *Int J Res-Granthaalayah*, 3(10), 57-64, doi: 10.29121/granthaalayah.v3.i10.2015.2932

- Kırbaşlar, F. G., Tavman, A., Dülger, B., Türker, G. (2009). Antimicrobial activity of Turkish Citrus Peel Oils. *Pak J Bot*, 41(6), 3207-3212.
- Kırpık, M. (2005). Çukurova bölgesi kıraç ve taban arazi koşullarında yetiştirilen biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) çeşitlerinin verim ve kalitesi üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, 112, Adana.
- Korukluoğlu, M., Şahan, Y., Yiğit, A., Özer, E. T., Gücer, Ş. (2010). Antibacterial activity and chemical constitutions of *Olea europaea* L. leaf extracts. *J Food Process Preservation*, 34, 383-396, doi: 10.1111/j.1745-4549.2008.00318.x
- Luciardi, M. C., Blázquez, M. A., Alberto, M. R., Cartagena, E., Arena, M. E. (2019). Grapefruit essential oils inhibit quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Sci Technol Int*, 26(3), 231–241, doi: 10.1177/1082013219883465
- Markin, D., Duek, L., Berdicevsky, I. (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses*, 46, 132–136, doi: 10.1046/j.1439-0507.2003.00859.x
- Mendonca, A., Jackson-Davis, A., Moutiq, R., Thomas-Popo, E. (2018). Use of Natural Antimicrobials of Plant Origin to Improve the Microbiological Safety of Foods, Food and Feed Safety Systems and Analysis. Ricke, S. C., Atungulu, G. G., Rainwater, C. E., Park, S. H. (eds), *Academic Press is an imprint of Elsevier*, 249-272.
- Moisa, C., Copolovici, L., Pop, G., Lupitu, A., Ciutina, V., Copolovici D. (2018). Essential oil composition, total phenolic content, and antioxidant activity- Determined from leaves, flowers and stems of *Origanum Vulgare* L. Var. *Aureum*. *Sciendo*, 555-561, doi: 10.2478/alife-2018-0087
- Özdemir, H., Soyer, A., Tağı, Ş., Turan, M. (2014). Nar kabuğu ekstraktının antimikrobiyel ve antioksidan aktivitesinin köfte kalitesine etkisi. *GIDA*, 39(6), 355-362, doi: 10.15237/gida.GD14052
- Pereira, A. P., Ferreira, I. C. F. R., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., Pereira, J. A. (2007). Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) leaves. *Molecules*, 12, 1153-1162, doi: 10.3390/12051153
- Perricone, M., Arace, E., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., Bevilacqua, A. (2015). Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Front Microbiol*, 6, 1-7, doi: 10.3389/fmicb.2015.00076
- Pobiega, K., Kraśniewska, K., Gniewosz, M. (2019). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – A review. *Trends Food Sci Technol*, 83, 53-62, doi: 10.1016/j.tifs.2018.11.007
- Raut, J. S., Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Products*, 62, 250-264, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.05.055
- Ríos, J. L., Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol*, 100, 80–84, doi: 10.1016/j.jep.2005.04.025
- Sağdıç, O. (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm-Wiss Technol*, 36, 467-473, doi: 10.1016/S0023-6438(03)00037-9
- Sales, A. J., Pashazadeh, M. (2020). Study of chemical composition and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus Officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *Int J Life Sci Biotechnol* 3(1), 62-69, doi: 10.38001/ijlsb.693371
- Schelz, Z., Molnar, J., Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*, 77, 279-285, doi: 10.1016/j.fitote.2006.03.013
- Smith, R. (2019). A Review on the antimicrobial activity of propolis and its synergy with other antimicrobial compounds. *Med Clin Res*, 4(5), 1-8.
- Soares de Arruda, V. A., Vieria dos Santos, A., Sampaio, D. F., Araújo, E. S., Peixoto, A. L., Estevinho, L. M., Almeida-Muradian, L. B. (2020). Brazilian bee pollen: phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *J Apic Res*, 1-9, doi: 10.1080/00218839.2020.1840854

Solorzano-Santos, F., Miranda-Novales, M. G. (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol*, 23, 136-141, doi: 10.1016/j.copbio.2011.08.005

Temiz, A., Őener, A., Tüylü, A. Ö., Sorkun, K., Salih, B. (2011). Antibacterial activity of bee propolis samples from different geographical regions of Turkey against two foodborne pathogens, *Salmonella* Enteritidis and *Listeria monocytogenes*. *Turk J Biol*, 35, 503-511, doi: 10.3906/biy-0908-22

Thielmann, J., Kohnen, S., Hauser, C. (2017). Antimicrobial activity of *Olea europaea* Linné extracts and their applicability as natural food preservative agents. *Int J Food Microbiol*, 251, 48-66, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.019

Tolosa, L., Canizares, E. (2002). Obtención, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de Campeche. *Ars Pharmaceutica*, 43:1-2, 187-204.

Wagh, V. D. (2013). Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv Pharmacol Sci*, 1-11, doi: 10.1155/2013/308249

Yıldız, P. O. (2019). Turunçgil kabuk yağlarının gökkuşuğı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının raf ömrü üzerine etkileri. *J Limnol and Freshw Fish Res*, 5(1), 17-26, doi: 10.17216/LimnoFish.423440