



**T.C.  
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**KARVAKROL, TİMOL VE KÜMİNALDEHİTİN *Escherichia coli*'YE KARŞI SİNERJİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE  
ETİN MİKROBİYOLOJİK RAF ÖMRÜ ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FATMANUR PAMUK**

**DANIŞMAN**

**Dr. Öğretim Üyesi FATMA ŞAHMURAT**

**AKSARAY, 2022**

Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 192324001 numaralı Yüksek Lisans öğrencisi Fatmanur PAMUK tarafından hazırlanan “**KARVAKROL, TİMOL VE KÜMİNALDEHİTİN *Escherichia coli*'YE KARŞI SİNERJİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE ETİN MİKROBİYOLOJİK RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

**Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Fatma ŞAHMURAT**

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

**Üye: Dr. Öğretim Üyesi Deniz KOÇAN**

Aksaray Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

**Üye: Dr. Öğretim Üyesi Serpil YALIM KAYA**

Mersin Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.....

Tez Savunma Tarihi:01/07/2022

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Mehmet Ali HINIS

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## DOĞRULUK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, akademik kurallara ve bilimsel etik, ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın yazdığımı, yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, çalışmamda kullandığım verilerin orijinallliğini ve her türlü intihalden uzak olduğunu beyan ederim.

Enstitü tarafından belli bir zamana bağlı olmaksızın, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

**İmza**

**Fatmanur PAMUK**

## TEŞEKKÜR

Eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, desteklerini esirgemeyen, tecrübeleriyle bana yön veren, çalışmamı gerçekleştirmemde önderlik edip sabırla, titizlikle kontrol eden, maddi ve manevi her konuda destekleyen başta danışman hocam sayın Dr. Öğretim Üyesi Fatma ŞAHMURAT'a ve deneyimlerini, bilgilerini esirgemeyen, mikrobiyolojik alanda yol gösteren sayın Dr. Öğretim Üyesi Deniz KOÇAN hocama içten teşekkür ederim.

Tüm olumsuzluklara rağmen pes etmememi sağlayan ve hep yanımda olan canım arkadaşım hemşire Tuğçe IRMAK' a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda hissettiğim, hayatımın her döneminde maddi – manevi desteklerini ve sevgilerini esirgemeyen; başarı ya da başarısızlığımda hep yanımda olan; kendileriyle gurur ve onur duyduğum çok değerli anneme, babama ve kardeşime çok teşekkür ederim.

Fatmanur PAMUK  
AKSARAY, 2022

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                               |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| TEŞEKKÜR .....                                                                                                | iv   |
| ÖZET.....                                                                                                     | vi   |
| ABSTRACT .....                                                                                                | vii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                                         | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                                       | ix   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....                                                                                 | x    |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                | 1    |
| 2. LİTERATÜR TARAMASI .....                                                                                   | 3    |
| 2.1 <i>Escherichia coli</i> .....                                                                             | 3    |
| 2.2 Et ve <i>E.coli</i> ilişkisi .....                                                                        | 6    |
| 2.3 Uçucu Yağlar.....                                                                                         | 9    |
| 2.3.1 Kekik ( <i>Thymus vulgaris</i> ) .....                                                                  | 16   |
| 2.3.2 Kimyon ( <i>Cuminum cyminum</i> ).....                                                                  | 19   |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....                                                                                    | 22   |
| 3.1 Materyal.....                                                                                             | 22   |
| 3.1.1 Doğal antimikrobiyeller .....                                                                           | 22   |
| 3.1.2 Kullanılan mikroorganizma .....                                                                         | 22   |
| 3.1.3 Kullanılan besiyerleri ve çözeltiler .....                                                              | 22   |
| 3.2 Yöntem .....                                                                                              | 23   |
| 3.2.1 Mikroorganizmanın aktifleştirilmesi .....                                                               | 23   |
| 3.2.2 Antimikrobiyel stok emülsiyonların hazırlanması.....                                                    | 23   |
| 3.2.3 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) belirlenmesi..... | 24   |
| 3.2.4 Antimikrobiyellerin sinerjik etkilerinin belirlenmesi .....                                             | 25   |
| 3.2.5 Antimikrobiyellerin çiğ kıyma üzerinde <i>E.coli</i> 'ye etkisi.....                                    | 26   |
| 3.2.6 Bakteri sayımı .....                                                                                    | 28   |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....                                                                       | 29   |
| 4.1 Antimikrobiyellerin MİK ve MBK Değerlerinin Sonuçları .....                                               | 29   |
| 4.1.1 Antimikrobiyellerin tekli uygulamaları .....                                                            | 29   |
| 4.2.1 Karvakrol-küminaldehit.....                                                                             | 30   |
| 4.2.2 Timol-karvakrol .....                                                                                   | 31   |
| 4.2.3 Timol-küminaldehit .....                                                                                | 32   |
| 4.2.4 Karvakrol-küminaldehit-timol .....                                                                      | 33   |
| 4.3 Antimikrobiyellerin Kıyma Üzerinde <i>E.coli</i> 'ye Etkilerinin Sonucu.....                              | 34   |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....                                                                                     | 36   |
| KAYNAKLAR .....                                                                                               | 38   |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                                                 | 46   |

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

# KARVAKROL, TİMOL VE KÜMİNALDEHİTİN *Escherichia coli*'YE KARŞI ANTİBAKTERİYEL VE SİNERJİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE ETİN MİKROBİYOLOJİK RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Fatmanur PAMUK

Aksaray Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Fatma ŞAHMURAT

## ÖZET

Bu çalışmada, gıdalarda doğal antimikrobiyel kullanım potansiyeli taşıyan timol, karvakrol ve küminaldehitin *Escherichia coli* ATCC 25922 karşı antimikrobiyel etkileri in vitro olarak makrodilüsyon yöntemiyle minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) belirlenmesi ile incelenmiştir. Aynı zamanda antimikrobiyellerin ikili ve üçlü kombinasyonlarında sinerjik etkileri dama tahtası yöntemiyle Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyon (FİK) indeksinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Antimikrobiyeller tek başlarına, ikili ve üçlü kombinasyon halinde MİK değerlerinde, önceden *Escherichia coli* ATCC 25922 inokule edilmiş çiğ kıymaya eklenmiş ve buzdolabı koşullarında 1, 7 ve 14. günlerde canlı mikroorganizma sayısı tespit edilmiştir.

Timolün, karvakrolün ve küminaldehitin tek başlarına *E.coli* ATCC 25922 bakteri üzerine MİK değerleri sırasıyla 150ppm, 300ppm ve 300ppm olarak bulunmuştur. MBK değerleri de MİK değerleri ile aynı sonucu vermiştir. MBK/MİK oranı  $< 4$  olduğu için timol, karvakrol ve küminaldehit *E.coli* ATCC 25922 karşı bakterisit (%99.99'unu öldürebilir etkiye sahiptir) özellik gösterdiği belirlenmiştir.

İkili kombinasyonlarda FİK değerleri; karvakrol-küminaldehit için 0,625, timol-karvakrol için 0,625 ve timol-küminaldehit için 1 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre karvakrol-küminaldehit ve timol-karvakrol ikili kombinasyonlarının sinerjik etki gösterdiği ( $FİK < 1$ ) ancak timol-küminaldehit kombinasyonlarının birbirlerinin etkilerini arttırıcı ya da azaltıcı herhangi bir etkide bulunmadıkları sonucu çıkarılmıştır ( $FİK = 1$ ). Timol-karvakrol-küminaldehit üçlü kombinasyonun ise FİK değeri 0,75 bulunmuş ve sinerjik etkide olduğu tespit edilmiştir.

Kıyma üzerine yapılan raf ömrü çalışmasında antimikrobiyellerin MİK değerlerinin gıda ortamında yeterli olmadığı ve daha yüksek dozlara gereksinim olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *E.coli*, Karvakrol, Timol, Küminaldehit, Sinerjik Etki, Doğal Antimikrobiyeller.

Haziran, 2022; 46 sayfa

## M.Sc. THESIS

# DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL AND SYNERGIC EFFECTS OF CARVACROL, THYMOL AND CUMINALDEHYDE AGAINST *Escherichia coli* AND INVESTIGATION OF THEIR EFFECTS ON THE MICROBIOLOGICAL SHELF LIFE OF MEAT

Fatmanur PAMUK

Aksaray University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Asst. Prof. Fatma ŞAHMURAT, PhD

## ABSTRACT

In this study, the antimicrobial effects of thymol, carvacrol and cuminaldehyde, which have the potential to be used as natural antimicrobials in foods, against *Escherichia coli* ATCC 25922 were investigated in vitro by determining the minimum inhibition concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) by macrodilution method. Also, the synergistic effects of antimicrobials in double and triple combinations were determined by calculating the Fractional Inhibition Concentration (FIC) index using the checkerboard method. Antimicrobials alone, in double and triple combination, were added at MIC values to the raw ground beef pre-inoculated with *Escherichia coli* ATCC 25922 and the number of microorganisms was determined on the 1st, 7th and 14th days under refrigerator conditions.

The MIC values of thymol, carvacrol and cuminaldehyde alone on *E.coli* ATCC 25922 bacteria were found to be 150ppm, 300ppm and 300ppm, respectively. MBK values have the same result as MIC values. Since MBK/MIC ratio is  $< 4$ , it was determined that thymol, carvacrol and cuminaldehyde showed bactericidal properties (it can kill 99.99%) against *E.coli* ATCC 25922.

FIC values in duble combinations; 0,625 for carvacrol-cuminaldehyde, 0,625 for thymol-carvacrol and 1 for thymol-cuminaldehyde. According to these results, it was concluded that carvacrol-cuminaldehyde and thymol-carvacrol dual combinations showed a synergistic effect ( $FIC < 1$ ), but thymol-cuminaldehyde combinations did not have any effect on increasing or decreasing the effects of each other ( $FIC = 1$ ). The FIC value of thymol-carvacrol-cuminaldehyde triple combination was found to be 0,75 and it was found to have a synergistic effect. In the shelf life study on ground beef, it was determined that the MIC values of antimicrobials were not sufficient in the food environment and higher doses were needed.

**Keywords:** *E.coli*, Carvacrol, Thymol, Cuminldehyde, Synergistic Effect, Natural Antimicrobials.

**Haziran, 2022; 46 sayfa**

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2. 1. Yaygın kullanılan bitkiler, elde edildikleri bitkinin bölümleri, içerdikleri aktif bileşenler ve etkileri .....                                                                                                                                                                                         | 11 |
| Şekil 2. 2. Timolün kimyasal yapısı.....                                                                                                                                                                                                                                                                            | 17 |
| Şekil 2. 3. Karvakrolün kimyasal yapısı .....                                                                                                                                                                                                                                                                       | 17 |
| Şekil 3. 1. Bandelin Sonopuls HD 2200 Ultrasonikasyon Cihazı.....                                                                                                                                                                                                                                                   | 23 |
| Şekil 3. 2. <i>E.coli</i> üremesinin olup olmadığının gözle muayenesi.....                                                                                                                                                                                                                                          | 25 |
| Şekil 3. 3. Üç boyutlu dama tahtası tekniğinin temsili görüntüsüdür. Her antimikrobiyelin konsantrasyonu ok yönüne doğru azalmaktadır.....                                                                                                                                                                          | 26 |
| Şekil 3. 4. İki boyutlu dama tahtası tekniğinin temsili görüntüsüdür. Her antimikrobiyelin konsantrasyonu ok yönüne doğru azalmaktadır.....                                                                                                                                                                         | 26 |
| Şekil 3. 5. Kullanılan çiğ et.....                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 27 |
| Şekil 3. 6. Plastik şişelere konulan örnekler .....                                                                                                                                                                                                                                                                 | 27 |
| Şekil4. 1. Pozitif kontrol (örnek 2) ve antimikrobiyel uygulanan örneklerde (örnek 3: karvakrol, örnek 4: timol, örnek 5: küminaldehit, örnek 6:karvakrol+timol, örnek 7: karvakrol+küminaldehit, örnek 8: timol+küminaldehit, örnek 9: karvakrol+timol+küminaldehit) bakteri sayısının günlere göre değişimi ..... | 34 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3. 1. Antimikrobiyellerin MİK ve MBK çalışması için deney tasarımı .....                                                                                           | 24 |
| Çizelge 3. 2. Çiğ Kıyma örneklerine eklenen stok antimikrobiyel çözeltilerinin konsantrasyonları ve <i>E.coli</i> emülsiyonunun içerdiği canlı mikroorganizma sayısı ..... | 28 |
| Çizelge 3. 3. Çiğ Kıyma örneklerinin karışım oranları.....                                                                                                                 | 28 |
| Çizelge 4. 1. Deney sonucunda antimikrobiyellerin MİK ve MBK değerleri.....                                                                                                | 29 |
| Çizelge 4. 2. Karvakrol ve küminaldehitin kombine MİK ve MBK değerleri .....                                                                                               | 30 |
| Çizelge 4. 3. Timol ve karvakrolün kombine MİK ve MBK değerleri.....                                                                                                       | 31 |
| Çizelge 4. 4. Timol ve küminaldehitin kombine MİK ve MBK değerleri.....                                                                                                    | 32 |
| Çizelge 4. 5. Timol, karvakrol ve küminaldehitin kombine MİK ve MBK değerleri                                                                                              | 33 |
| Çizelge 4. 6. Antimikrobiyellerin etkisi için One Way ANOVA tablosu .....                                                                                                  | 34 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR

|                      |                                             |
|----------------------|---------------------------------------------|
| <b>ADP</b>           | Adenozin Difosfat                           |
| <b>ATP</b>           | Adenozin Trifosfat                          |
| <b>ATCC</b>          | American Type Culture Collection            |
| <b>DEEC</b>          | Difüze Yapışan <i>E.coli</i>                |
| <b>DNA</b>           | Deoksiriboz Nükleik Asit                    |
| <b><i>E.coli</i></b> | <i>Escherichia coli</i>                     |
| <b>EAEC</b>          | Enteroagregjik                              |
| <b>EHEC</b>          | Enterohemorajenik                           |
| <b>EIEC</b>          | Enteroinvaziv                               |
| <b>EPEC</b>          | Enteropatojenik                             |
| <b>ETEC</b>          | Enterotoksijenik                            |
| <b>FİK</b>           | Franksiyonel İnhibitör Konsantrasyonu       |
| <b>LPS</b>           | Lipopolisakkarit                            |
| <b>MBK</b>           | Minimum Bakterisidal Konsantrasyon          |
| <b>MHB</b>           | Mueller Hinton Broth                        |
| <b>MİK</b>           | Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu           |
| <b>PCA</b>           | Plate Count Agar                            |
| <b>PPM</b>           | Parts Per Million (Milyonda Bir Birim)      |
| <b>spp</b>           | Türleri                                     |
| <b>TSA</b>           | Tryptic Soy Agar                            |
| <b>TSB</b>           | Tryptic Soy Broth                           |
| <b>kHz</b>           | Kilo Hertz                                  |
| <b>kob/ml</b>        | Bir Mililitre Başına Koloni Oluşturan Birim |
| <b>µl</b>            | Mikrolitre                                  |
| <b>µm</b>            | Mikrometre                                  |
| <b>ml</b>            | Mililitre                                   |
| <b>pH</b>            | Potansiyel Hidrojen                         |
| <b>°C</b>            | Santigrat                                   |
| <b>W</b>             | Watt                                        |

## 1. GİRİŞ

Et ve et ürünleri, yapısında bulunan vitaminler, yağlar, mineraller gibi yararlı bileşikleri içerdiğinden eski zamanlardan beri insanlar tarafından tüketilen temel besinlerdendir. Teknolojinin artmasıyla ve tüketicilerin bilinçlenmesiyle günümüzde et ve et ürünlerine talep artmıştır (Geniş, 2014). Et, büyükbaş, küçükbaş, kümes hayvanları ve balık gibi gruplara ayrılarak tüketilir (Erdoğan, 2020). Etin teknolojik işlemlerden geçirilmesiyle lezzeti ve aroması arttırılarak birçok et ürünleri elde edilebilir. Bunların başında sucuk, salam, pastırma gibi ürünler sayılabilir (Erdoğrul ve Ergün, 2005). İyi yetişmiş hayvanlardan elde edilen etlerin iç kısmının mikroorganizma içermediği için steril olduğu kabul edilir. Ancak kesim, parçalama ya da yüzme işlemi sırasında mikroorganizmalar ete bulaşarak kontaminasyon gerçekleşir (Acar ve Çiftçioğlu, 1997).

Et ve et ürünlerinde patojen mikroorganizma olarak en çok *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* bulunabilir. Ette fekal koliform ve *E.coli* varlığı, sanitasyon işleminin yetersizliğini ve kontaminasyon varlığını gösterir (Öztürk, 2007). *E.coli* Biyotip I gıdadan insana geçtiğinde ishale ve idrar yolu enfeksiyonuna neden olur (Albarrı, 2018). EHEC grubu *E.coli* ise böbrek yetmezliği ve felç ile sonuçlanabilir (Öztürk, 2007). Aynı zamanda dışkı ile bulaşmış suların ya da gıdaların tüketilmesi de bu mikroorganizmanın insanlara bulaşması için bir yoldur (Hassan Mohamed, 2018). Hijyenik koşullarda saklanmayan ürünlerin kemirgenler tarafından kirletilmesiyle de bulaşma gerçekleşebilir (Özkaya ve Cömert, 2008).

Etin kontaminasyonunu önlemek için hijyene ve sanitasyona önem verilmelidir. Personellere uygun kıyafetler giydirilmeli, ağız, saç ve eller kapatılmalıdır (Geçer, 2016). Personellere belli aralıklarla eğitim verilerek bu konunun önemi belirtilmelidir. Kesimhaneler, kullanılan alet ve ekipmanlar belli aralıklarla temizlenmeli ve haşerelere karşı önlem alınmalıdır.

Ete doğal bileşikler ekleyerek de korumak mümkündür ve gelişen teknoloji ile birlikte tüketicilerin doğal ürünlere talebi artmıştır. Bu sebeple son yıllarda araştırmalar bu doğrultuda ilerlemektedir. Ülkemiz kekik açısından zengindir

(Görece, 2019). Kekiğin yapısında bulunan timol ve karvakrol, mikroorganizmaların hücre zarına zarar vererek hücre içi maddelerin dışarı sızmasına neden olurlar ve mikroorganizmayı öldürürler (Özdemir Özbek, 2019). Kekiğin aktif bileşeni olan bu uçucu yağ bileşenleri, *E.coli*, *C. perfringens* gibi özellikle gram negatiflere karşı antimikrobiyel etki gösterirler (Kahraman, 2007) Karvakrol ve timol hidrofobik oldukları için Gram negatif bakterilere karşı daha fazla inhibisyon etkiye sahiptirler (Özdemir Özbek, 2019). Kimyon ise yemeklere lezzet vermek ve ilaç olarak kullanılabilir (Keskin ve Baydar, 2016). Kimyonun aktif bileşenlerinden biri küminaldehitir (Thippeswamy ve Naidu, 2005).

Bu araştırmanın amacı; gıdalarda doğal antimikrobiyel olarak kullanım potansiyeli olan kekiğin aktif bileşenleri, karvakrol ve timol ile kimyonun aktif bileşeni, küminaldehitin tek başlarına ve ikili/üçlü kombinasyonlar halinde, etin bozulmasına neden olan ve tüketicinin sağlığını büyük ölçüde etkileyen *E.coli* bakterisine karşı etkilerini belirlemektir.

Çalışma üç aşamalı olarak planlanmış, ilk aşamada makro dilüsyon yöntemiyle antimikrobiyellerin *E.coli* ATCC 25922' ye karşı etkileri minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) belirlenmesiyle incelenmiştir. Ardından antimikrobiyallerin ikili ve üçlü kombinasyonlarında sinerjik etkileri dama tahtası yöntemiyle Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyon (FİK) indeksinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Son olarakta etin raf ömrüne etkisinin belirlenmesi için tespit edilen MİK değerlerinde antimikrobiyeller önceden kontamine edilmiş kıyma örneklerine eklenmiş ve 1, 7 ve 14. günlerde mikroorganizma sayımı yapılmıştır.

## 2. LİTERATÜR TARAMASI

### 2.1 *Escherichia coli*

Gıdaları bozan başlıca etmenler biyolojik etkenlerdir (Özkaya ve Cömert, 2008). Biyolojik etkenlerin başında koliform bakteriler (*E.coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae* gibi) *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* gelir (Öztürk, 2007). *Escherichia coli*, genellikle en çok çalışılan patojen bakteridir (Turgut, 2021).

*E.coli*'nin boyu 2-6 µm, eni 1,0-1,5 µm, düz, basil şeklinde, gram negatif olan, yavaş ya da hiç hareket etmeyen, Enterobacteriaceae familyasına ait bir bakteridir (Arık, 2019). Aynı zaman da katalaz pozitif, sporsuz, fakultatif anaerobdur (Öztürk, 2007). En iyi 37°C'de ve pH 7-7,2 aralığında üreyen mezofilik bakterilerdir ve ayrıca glikoz, trehaloz, ksiloz ve laktozu fermente ederek karbon kaynağı olarak asetatı kullanırlar (Arık, 2019). Genel besi yerlerinde kolayca üreyebilirler. Sıvı besi yerinde homojen şekilde bulanıklık varsa ürediği anlaşılır. Optimum üreme sıcaklığı 37°C olsa da 20-44°C sıcaklık aralığında üreyebilirler (Aslan, 2015). Koloniler genellikle 24 saat inkübasyon sonunda hızlıca gelişir ve aynı zamanda *E.coli* laktozdan asit ve gaz oluşturarak fermente edebildiği için koliform üyeleri içine girer (Hassan Mohamed, 2018). Laktoz içeren katı besi yerinde (MacConkey vb.) kırmızı ya da koyu pembe renkte ve S şeklinde koloniler görülür (Aslan, 2015). Patojenik formları altı gruba ayrılır. Bunlar; enterotoksijenik (ETEC), enteropatojenik (EPEC), enterohemorajik (EHEC), enteroagregik (EAEC), enteroinvaziv (EIEC) ve difüze yapışan *Escherichia coli* (DAEC)'dir (Gündoğdu, 2020). En zararlı formu ise *E.coli* O157:H7'dir (Turgut, 2021).

EPEC, *E.coli* suşları arasında ishal ile ilişkilendirilen ilk suştur (Aslan, 2015). Fakir ve gelişmekte olan ülkelerde ve aynı zamanda altı aylıktan küçük bebeklerde ishallere neden olur (Nataro ve Kaper, 1998). İnsanlarda sulu ishale ya da kusma ile birlikte şiddetli ishale neden olabilirler. Ateş yok denilecek kadar azdır ya da hiç görülmez (Aslan, 2015).

EIEC, bu suşla ilgili bilgiler sınırlıdır ancak shigellosis benzeri dizanteriye sebep olduğu kanıtlanmıştır. Doğu Avrupa, Amerika ve Güneydoğu Asya'da ishallere bağlı gıda kaynaklı salgınlara neden olduğu kanıtlanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde

oldukça az görülür (Aslan, 2015). İnsanlar arasında bulaşma az görülür. Mukuslu ve kanlı ishal, karın ağrısı, ateş belirtileridir (Aslan, 2015).

ETEC, ısıya dirençli *E.coli* suşlarından. Gelişmekte olan ülkelerde ve çocuklar arasında oldukça fazla görülür. Aynı zamanda buna turist ishali de denir (Aslan, 2015). Anne sütünü yeni bırakmış bebeklerde görülür ve büyüdükçe hastalık da azalır. Yetişkin insanlarda koleraya benzer belirtiler gösterir. Belirtileri sulu diyare, dehidrasyon ve kusmadır. Bu suşun bulaşmasında kontamine sular ve gıdalar önem taşır (Aslan, 2015).

EAEC, gelişmekte olan ülkelere ve çocuklarda ishale neden olur. Hafif ateş ve ishal belirtileridir. Bebeklerde büyüme geriliğine neden olur (Aslan, 2015).

EHEC, gelişmiş ülkelere görülen *E.coli* suşudur. En fazla beş yaş altı çocuklarda ve sıcak mevsimlerde görülür. Az pişmiş et ürünlerinden, sudan, pastörize edilmemiş süt ve meyve sularından, pişmemiş sebze ve meyvelerden bulaşma olabilir. İnsandan insana bulaşma olasılığı yüksektir. Çevresel etkilere çok dayanıklıdır (Aslan, 2015).

*E.coli*'yi ilk defa Alman Bakteriyolog ve çocuk doktoru olan Theodor Escherich 1885 yılında bir çocuğun dışkılarından izole etmiştir (Arık, 2019), (Albarrı, 2018), (Geçer, 2016). İlk adı *Bacterium coli* olan mikroorganizma daha sonra 1919 yılında *E.coli* adını almıştır ve *E.coli* ile ilgili birçok araştırmalar yapılmıştır (Arık, 2019), (Kahraman, 2020). 1930 yılına gelindiğinde Kauffman tarafından yapılan araştırmada *E.coli*'nin 700'den fazla sero tipinin varlığı kanıtlanmıştır (Nataro ve Kaper, 1998). 1945 yılında ise bakımevinde çocuklarda ishal salgının başlamasıyla bağırsak patojeni olan *E.coli* (Enteropatojenik, EPEC) suşları tanımlanmıştır. 1950 yılına kadar insan ve hayvanların bağırsağının doğal florasında bulunduğu ve patojen olmayan bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir (Kurul, 2014). 1969'da Ortadoğu'da bulunan İngiliz askerlerinde ishal salgınının artmasıyla ETEC (Enterotoksijenik) suşları tanımlanmıştır. Yine bu yıllarda Japonya'da ve Brezilya'da EIEC (Enteroinvaziv) suşları bulunmuştur (Riordan vd., 2000). 1982 yılında ABD'de meydana gelen iki salgında da 47 vaka görülerek ilk kez *E.coli* O157:H7 serotipi bulunmuş ve birçok ülkelere buna benzer salgınlar ortaya çıkmıştır. Diğer *E.coli*lere benzemediği için ve aniden ortaya çıktığı için bu serotipe 'muhtemel laboratuvar kaçkını bir bakteri' tanımı yapılmıştır (Aslan, 2015). 1986 yılında yapılan

araştırmalarda içme sularında kalite kriteri olarak *E.coli*, dıřkđ kaynaklı kirlenmeyi gösteren bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir (Kaplan, 2017). Hayvanların dışkısında, sıcak su kaynaklarının kenarlarında bulunabilir (Arık, 2019). Aynı zamanda memelilerin bağırsaklarının normal florasında bulunan *E.coli* türleri de vardır ve bağırsakta K<sub>2</sub> vitamini üreterek konakçıya yarar sağılayabilir (Albarrı, 2018). Ancak bağırsakta sayđlarının artmasıyla enfeksiyonlar oluşur (Aslan, 2015). *E.coli* dışkıda  $\geq 10^8$  kob/g bulunmuştur (Balpetek, 2009).

*E.coli* patojenleri temelde iki gruba ayrılmıştır; ekstraintestinal patojen ve enterik patojendir (Albarrı, 2018). Enterik patojen memelilerde ishale neden olurken ekstraintestinal patojen ise idrar yolu enfeksiyonlarına, menenjit ve sepsise neden olur (Albarrı, 2018).

Tedavi edilmezlerse böbrek yetmezliğı ve felç ile sonuçlanabilir (ztrk, 2007). İçme suyunun ya da yiyeceklerin dıřkđ ile kontaminasyonu insanlar için çok önemli bir bulaşma kaynağıdır (Hassan Mohamed, 2018).

Yapılan bir çalışmada kuyu suyunda, kıymada, hindi, sosis, deniz ürünlerinde ve evsel sularda *E.coli*'nin bulunma oranları sırasıyla %48, %45, %35,5, %30, %8,3 ve %0'dır (Badri vd., 2009). Aynı zamanda et ürünlerinde kasaplarda (%65), bakkal (%40) ve marketlere (%20) göre daha fazla *E.coli* olduğı belirlenmiştir(Hassan Mohamed, 2018). Et rnekleri üzerinde yapılan bir çalışmada toplamda *E.coli* %95 oranında bulunmuştur. Bu oranın ise %100'n sığır eti, %93,3'n tavuk eti ve %90'ını hindi eti oluşturmuştur (Adwan vd., 2015). Ari Suleiman Mustafa (2014), Kuzey Irak'taki tavuk etlerinde *E.coli* O157:H7 varlığını araştırmıştır. Kasaba (50) ve çiftliklerden (50) alınan toplam 100 tavuğun göğüs etlerinden çalışma yapılmıştır. 100 örnekten dört tanesinde *E.coli* O157:H7'e rastlanmıştır ve bu dört etin de hepsi kasabadan alınan etlerdir (Mustafa, 2014). 2018 yılında yapılan başka bir araştırmada ise Afyonkarahisar'dan alınan 50 tane sığır eti üzerinde *Salmonella* ve *E.coli* O157:H7 bakterilerine bakılmış, 50 tane sığır etinden 7 tanesinde *E.coli*, 1 tanesinde *E.coli* O157:H7, 5 tanesinde *Salmonella* varlığı tespit edilmiştir (Telekoğlu, 2019). 2009 yılında C. Dontorou ve arkadaşlarının Yunanistan'da yaptığı çalışmada Yunanistan'dan pastörize edilmemiş inek, koyun ve keçi sütünden altı yüz numune, çiğ kıyma, pişmemiş dondurulmuş dana etinden hamburger köftesi, sandviçler (hindi jambonu içeren mayonezli ve marul ile karışık sebzeli), taze Yunan domuz sosisi ve

Yunan kokoreçleri için uygun domuz bağırsaklarında *E.coli* O157:H7 araştırılmıştır. Sonuçta 100 tane koyun örneğinden 1 tanesinde (%1), 75 tane taze sosislerin 1 tanesinde (%1,3) ve 50 tane kokoreç için hazırlanan domuz bağırsağının 1 tanesinde (%2) *E.coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Dontorou vd., 2003).

## 2.2 Et ve *E.coli* İlişkisi

Et, koyun, keçi, dana gibi hayvanların yenilebilen iskelet kaslarıdır. Et ürünleri ise pişmemiş etlerin çeşitli baharatlarla ve katkı maddeleriyle harmanlanarak birçok teknolojik işlemlerden geçirildikten sonra ortaya çıkan üründür (Yavaş, 2015). Et ve et ürünleri gerek aroması ile gerekse içerdiği temel bileşenleri ile insanlar için vazgeçilmez bir gıdadır. Ancak içerdiği protein, yağ, su, vitamin ve mineraller ile mikroorganizmaların da hızlı gelişmesini sağlayan ortamı hazırlarlar. Etlerde indikatör olarak çoğunlukla *Enterobacteriaceae*, koliform ve *E.coli* miktarları önemlidir (Yavaş, 2015).

Et ve et ürünleri çok fazla protein, esansiyel aminoasitler, B grubu vitamin, mineral ve diğer maddeleri içerdiğinden çok önemli bir besin kaynağıdır (Pateiro vd., 2021). Ancak hayvansal kaynaklı bu gıdalar, patojen mikroorganizmalar için uygun besi yeri ortamı sağlayarak daha hızlı ve kolay gelişebilirler (Özkaya ve Cömert, 2008). *E.coli* domuz, sığır, koyun vb. etleri ve özellikle kıyma haline getirilen et ürünlerinde çok sık rastlanır (Sezgin, 2013). Etlerin hayvanların dışkıyla temas etmesi ile ya da hayvanların yüzülmesi sırasında deriden ete geçmesi yoluyla bulaşabilir (Gündoğdu, 2020). Özellikle günümüzde hazır ve yarı hazır ürünler olan hamburger, kıyma, sucuk gibi ürünlere talep artmıştır (Sezgin, 2013). Ancak bu ürünler taşıma sırasında kolayca bozulup insan sağlığını tehdit edebilir (Sezgin, 2013). Aynı zamanda havadaki tozlarla da etler kontamine olabilir. Bu yüzeysel kontaminasyondur. Etler parçalanır ve diğer işlemler yapılırsa mikroorganizmalar etin içine girerek mikrobiyel yükü artırır (Yavaş, 2015).

Tavuk etleri, yüksek protein, düşük yağ ve doymamış yağ asitleri barındırdığı için besin değeri yüksektir. Bu nedenle tavuk etleri daha çok pazarlanır ve restoranlarda satılır. Böylece tüketici talebine göre tavuk etleri satışında büyük oranda artış olmuştur (Yavaş, 2015). Ancak uygun şartlarda üretilmezlerse *Salmonella spp.*,

*Enterobacter spp.*, *E.coli*, *Listeria monocytogenes* gibi mikroorganizmalar bulaşıp tüketici sağlığını olumsuz etkiler (Tang vd., 2009).

Balık etlerinde de yüksek oranda protein bulunur. Aynı zamanda vitamin ve mineral açısından da zengindir (Yavaş, 2015). Balıkların eti nõtüre yakın olması, iç organlarının çıkarılmaması ve kanının iyi akıtılmaması nedeniyle hemen bozulabilen bir gıdadır (Yavaş, 2015). Sıcak sularda yaşayan balıklarda genel olarak, *Micrococcus*, *Corynebacterium* ve *Bacillus* gibi Gram pozitif bakteriler görülürken, soğuk sularda yaşayan balıklarda *Moraxella*, *Vibrio* ve *Flavobacterium* gibi Gram negatif bakteriler görülür. Ilık sularda yaşayanlarda ise *Pseudomonas* türlerine rastlanır (Stammen vd., 1989).

2013 yılında yapılan çalışmada, Aydın ilinde satılan kıyma ve hamburger köfteleri üzerinde *E.coli* O157:H7 bakterisi araştırılmış ve toplamda 80 ürünün 22'sinin *E.coli* pozitif olduğu görülmüştür (Sezgin, 2013). 2018 yılında yapılan başka bir araştırmada ise Afyonkarahisar'dan alınan 50 tane sığır eti üzerinde *Salmonella* ve *E.coli* O157:H7 bakterilerine bakılmış, 50 tane sığır etinden 7 tanesinde *E.coli*, 1 tanesinde *E.coli* O157:H7, 5 tanesinde *Salmonella* varlığı tespit edilmiştir (Telekoğlu, 2019). Bu araştırmalar sonucunda piyasada satılan etlerde insan sağlığı açısından tehlike arz eden bakterilerin bulunma olasılığının yüksek olduğu görülmektedir.

Et ve et ürünlerinden patojen mikroorganizmalar çeşitli yollarla tüketiciye geçebilir ve birçok hastalıklara neden olunabilir (Özkaya ve Cömert, 2008). Kesim için gelen etlerde gerekli önlemler alınmazsa mikroorganizmalar gelişebilir. Bunun sonucunda kalite ve ekonomik kayıplar ortaya çıkabilir, halkın sağlığı tehlikeye girebilir. Hijyen kurallarına göre kesilmiş karkasların koliform ve psikotrof mikroorganizma yükü  $10-10^2$  cm'yi geçmemektedir. Karkasların başlangıç mikroorganizma yükü uygun olmalıdır ki et kısa sürede bozulup insan sağlığını tehlikeye atmasın. Etin yüzeyinde mikroorganizma yükü en fazla  $10^6$  kob/g olmalıdır. Bu değerden yüksek olursa etin bozulduğu kanısına varılır. Mikroorganizmaların gelişmesini durdurmak için et ve et ürünleri buzdolabında muhafaza edilmelidir ( $\leq 5^\circ\text{C}$ ). Fakültatif anaerobik olan *Serratia*, *Hafnia*, *Proteus* ve *Enterobacter* türleri gıdada gelişirken aminoasitleri parçalarlar ve kötü kokuya yol açan amonyak, merkaptanlar, amin ve metilsülfid

 retirler. Amin ve amonyag n ortaya çıkmasıyla etin pH değeri alkaliye döner (Balpetek, 2009).

Etlerde bulunan yüksek oranda toplam mezofilik aerobik mikroorganizma sayısı, gıdanın kalitesinin düşük olduğunu ve raf ömrünün kısa olduğunu gösterir (Eisel vd., 1997). Gıda da bulunan koliform ve *E.coli*, et işleme sırasında sanitasyon yapılmadığını ve fekal kontaminasyona uğradığını gösterir (Eisel vd., 1997).

*E.coli* kontaminasyonunu önlemek için ürünün hammaddesinden işleme ve hazırlama aşamalarında hijyene ve sanitasyona önem verilmelidir (Temelli, 2002). Yeteri kadar pişirilmemiş ürünler hazırlanma aşamasında personelden ya da kullanılan ekipmanlardan kontamine olabilir (Geçer, 2016). Personellere uygun elbiseler giydirerek, eldivenler taktırarak, sa  ve ağızlar kapattırılarak ve eğitimler verilerek kontaminasyonlar  nlenebilir (Geçer, 2016). Kesimhanelerde fekal ve çapraz kontaminasyonlara dikkat edilmelidir (Karch, 2001). Etin kesimden hemen sonra 7 C altında depolanarak mikroorganizma üremesi  nlenebilir (McCabe-Sellers ve Beattie, 2004). Günümüzde etler parçalanarak ya da kıyma haline getirilerek t keticiiye sunulmaktadır (Yavaş, 2015). Kıyma, tüketiciler tarafından daha çok tercih edilir (Yavaş, 2015). Karkaslar parçalanırken ya da kıyma haline gelirken yüzeydeki mikroorganizmalar etin birçok yerine kolayca bulaşabilir.  r ne yeteri kadar ısıl işlem uygulanmazsa bu mikroorganizma risk oluşturarak t keticiiyi olumsuz etkiler. Et ve et ürünlerine 70 C üzerinde ısıl işlem uygulanmalıdır. Böylece mikroorganizmalar durdurulabilir (Geçer, 2016). Pişmiş  r n ile çiğ ürün birbiriyle temas etmemelidir ( zkaya ve Cömert, 2008). Temas ederse çiğ üründeki mikroorganizmalar pişmiş ürüne geçerek çapraz kontaminasyona neden olur ve buda tüketicileri olumsuz etkiler ( zkaya ve Cömert, 2008). Ayrıca  r nler kemirgen ve haşerelerin ulaşamayacağı şekilde korunmalıdır ( zkaya ve Cömert, 2008).

Macedo ve Van Der Sand (2018), bir sığır kesimhanesinin işleme/soğutma kısmında bulunan mikroorganizmaları izole ederek tanımlamıştır (Macedo ve Van Der Sand, 2018). İşlemler sonucunda 580 tane bakteri bulunmuş ve bunların 168'i *Staphylococcus aureus*, 123'  *Escherichia coli*, 79'u *Corynebacterium vitarumem* geriye kalan mikroorganizmalar ise *Bacillus spp.* *Corynebacterium spp.* ve *Enterobacteriaceae* familyasına ait olduğu tespit edilmiştir. Ortamda dışkı ve sığır derilerinde bulunan bakterilerin baskın olduğu kanıtlanmıştır. Ancak en fazla

kontamine alanının numune alma yeri ile işleme/soğutma kısmındaki masalar olduğunu görmüşlerdir (Macedo ve Van Der Sand, 2018).

1998 yılında Birleşik Krallık'ta, 1400 tane et ve et ürünleri imalathanesinde 2330 çiğ hazır et, 2192 pişmiş et ve 4635 çevreden örnekler incelenmiştir (Little ve De Louvois, 1998). 1400 tesisin beşinde, 2330 çiğ et ürününden üç tanesinde, çiğ et hazırlama alanı ve pişmiş ürünler için kullanılan alet ve ekipmanlarda *E.coli* O157:H7 tespit edilmiştir (Little ve De Louvois, 1998). 2192 pişmiş etin yedisi kabul edilemez mikrobiyolojik kalitede olduğu ve 352'sinin ise yetersiz kalitede olduğu belirtilmiştir (Little ve De Louvois, 1998).

2000 yılında küçük bir mezbahada yapılan bir çalışmada, 25 tane koyun karkası mikroorganizma açısından incelenmiştir (Gill vd., 2000). Her karkasın üzerinden rastgele bölgeler seçilerek sürüntü (swab) örneği alınmış ve toplam aerobik, koliform ve *E. coli*'ye bakılmıştır. Karkastaki koliformların çoğunun *E.coli* olduğu görülmüştür (Gill vd., 2000).

Tüm bu araştırmalar *E.coli*'nin et ve et ürünlerinde hem hijyen hem de fekal kontaminasyon indikatörü olarak ne kadar önemli olduğunu kanıtlamıştır. Bu yüzden gıdaların güvenliğinde ve hijyeninde indikatör mikroorganizma olarak kullanılır (Balpetek, 2009).

Günümüzde tüketiciler yapay ya da kimyasal koruyucuları gıdalarda talep etmemektedirler (Calo vd., 2015). Son yıllarda yapay koruyuculardan çok doğal koruyucuların araştırılıp kullanılması gündemdedir ve bitkisel kaynaklı uçucu yağlar ve türevleri koruyucu madde olarak kullanılabilir (Calo et al., 2015; Pateiro et al., 2021). Uçucu yağların, başta *Salmonella Typhumirum*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Campylobacter*, *S.aureus* olmak üzere gıda patojenlerine karşı aktiviteleri araştırılmıştır (Calo vd., 2015).

### **2.3 Uçucu Yağlar**

Günümüzde tüketiciler yapay ya da kimyasal koruyucuların yerine daha doğal katkı maddelerini tercih etmektedirler. Bu noktada uçucu yağlar koruyucu madde olarak tercih edilebilir (Calo vd., 2015). Günümüzde yapay koruyuculardan daha çok doğal koruyucular araştırılmaktadır (Pateiro vd., 2021). Uçucu yağlar başta *Salmonella*

*typhumirum*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Campylobacter*, *S.aureus* olmak üzere birçok mikroorganizma üzerinde araştırmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam edilmektedir (Calo vd., 2015).

Uçucu yağlar bitkilerin sap, çiçek, yaprak gibi kısımlarından elde edilir (Pateiro vd., 2021). Bu yağlar antiseptik, antiparazitik, antifungal, antiviral, antibakteriyel, antioksidan ve insektisidaldır. Yağda ve organik çözücülerde çözünürler. Aromatik ve alifatik asit esterleri ve fenolik bileşikleri olan terpenoidlerden türetildikleri için farklı bitki parçaları ve farklı bitki türleri arasında değişiklik gösterir (Chouhan vd., 2017). Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan ama nadir de olsa kristalleşebilen, genellikle renksiz, uçucu, kokuları kuvvetli maddelerdir (Bülbül, 2016). Çeşitli isimlerle adlandırılırlar; oda sıcaklığında kolayca uçabildiklerinden uçucu yağ, eterik yağ ya da güzel kokularından dolayı aromatik yağlar denilebilir (Bülbül, 2016). Ayrıca elde edildiği bitkinin adını alarak da isimlendirilir. Örneğin; hindistan cevizi yağı (Varoğlu, 2000). Esansiyel yağların yapısında temelde dört grup vardır; terpenler, aromatik maddeler, düz zincirli hidrokarbonlar, azot ve kükürt taşıyan karbonlar (Bülbül, 2016). Oldukça karmaşık yapıda olan bu yağlar, çeşitli konsantrasyonlarda genellikle 20 ila 60 bileşenlerden oluşur. Esansiyel yağlar, konsantrasyonlarında yüksek oranlarda bulunan iki veya üç bileşenlerle karakterize edilirler (Chouhan vd., 2017). Örneğin; kekiğin yapısında en çok timol ve karvakrol vardır ve bu iki bileşen tarafından karakterize edilirler (şekil 2.1). Çeşitli bitkilerden çıkarılan 3000'e yakın esansiyel yağlar vardır ve bunların 300'e yakını ticari öneme sahip yağlardır. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) birçok esansiyel yağı güvenli (Generally Recognized as Safe (GRAS)) kabul etmiştir (Yılmaz, 2019).

**Çizelge 2.1.** Yaygın kullanılan bitkiler, elde edildikleri bitkinin bölümleri, içerdikleri aktif bileşenler ve etkileri (Bayaz, 2013).

| Bitki Adı        | Kullanılan Kısımları | İçerdiği Aktif Madde | Etki Özellikleri             |
|------------------|----------------------|----------------------|------------------------------|
| <b>Karanfil</b>  | Çiçek                | Öjenol               | İştah arttırıcı, antiseptik  |
| <b>Kimyon</b>    | Tohum                | Küminaldehit         | Sindirim uyarıcı             |
| <b>Tarçın</b>    | Kabuk                | Sinnamaldehit        | İştah arttırıcı, antiseptik  |
| <b>Anason</b>    | Tohum                | Anatol               | Sindirim uyarıcı             |
| <b>Biberiye</b>  | Yaprak               | Sineol               | Sindirim uyarıcı, antiseptik |
| <b>Nane</b>      | Yaprak               | Mentol               | İştah arttırıcı, antiseptik  |
| <b>Maydonoz</b>  | Yaprak               | Apiol                | İştah arttırıcı, antiseptik  |
| <b>Kekik</b>     | Tüm Bitki            | Timol, Karvakrol     | Antiseptik, antioksidan      |
| <b>Zencefil</b>  | Rhizoma              | Zingerole            | Sindirim uyarıcı             |
| <b>Kişniş</b>    | Yaprak/Tohum         | Linalol              | İştah arttırıcı              |
| <b>Karabiber</b> | Meyve                | Piperin              | Sindirim uyarıcı             |
| <b>Adaçayı</b>   | Yaprak               | Sineol               | Sindirim uyarıcı, antiseptik |
| <b>Sarımsak</b>  | Soğan                | Allisin              | Sindirim uyarıcı, antiseptik |
| <b>Defne</b>     | Yaprak               | Sineole              | İştah arttırıcı, antiseptik  |

Bitkilerin uçucu yağları üretmedeki amaçları üzerinde birçok araştırmalar yapılmıştır. Araştırmacılar birden fazla neden bulmuşlardır. Kokusu kötü olan esansiyel yağların itici kuvvette, kokusu güzel olan esansiyel yağların çekici kuvvete sahip olduğu ve böylece böcekleri çekerek tozlaşmayı kolaylaştırdığı düşünülmektedir. Diğer bir düşünce ise esansiyel yağlar buharlaşma anında bitkilerden ısıyı çekerek bitkiyi serinletir ve böylece aşırı sıcak, kurak bölgelerde bitkiler yaşamını sürdürebilir (Bülbül, 2016).

Esansiyel yağların kırılma indeksleri yüksek, optikçe aktiftirler ve sudan hafiftirler. Oksijen ve ışık reçinelenmesine neden olduğu için ağzı kapalı ve koyu renkli şişelerde ya da şişenin ışık görmeyeceği şekilde örtülmesiyle buzdolabında depolanabilir (Özdemir Özbek, 2019).

Uçucu yağların kullanıldığı birçok alan vardır. Aromaterapide çok eski yıllardan beri kullanılmaktadır. Örneğin; adaçayı, mikroorganizmaları öldürür ve yaraları iyileştirir. Biberiye yağı, sakinleştirici olarak ve saç bakımlarında kullanılır. Defne yağı, soğuk algınlıkları önler. Kekik yağı, üst solunum yolu enfeksiyonlarında kullanılır. Bit, uyuz, bağırsak parazitleri üzerinde kekik esansiyel yağı içinde yer alan karvakrol etkilidir. Bu yüzden kozmetik ürünlerinde şampuan, sabun, deterjanlarda vb. kullanılabilirler (Bülbül, 2016). Zirai mücadelede ve hayvanların sağlığını ve performansını arttırmak için yemlere konularak kullanılır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Gıdalarda ise kek, pasta gibi yiyeceklerde ve içeceklerde aroma vermesi için kullanılır. Aynı zamanda antimikrobiyel özelliklerinden dolayı gıdalarda doğal ve kalıntı bırakmayan koruyucu katkı maddesi olarak kullanılabilirler (Bülbül, 2016). Tüketiciler iyi bir şekilde beslenmek isterken sağlığa da yararlı olmasını ister. Ancak yapay koruyucuların sağlıklı olup olmadığı tam bilinmemektedir. Uçucu yağlar ise hem doğaldır, insan sağlığı için tüketimi son derece güvenilirdir hem de antimikrobiyel özellik göstererek gıdaların raf ömrünü artırır. Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri bitki çeşidine, mikroorganizma çeşidine ve miktarına, substrat kompozisyonuna, gıdaların üretim ve saklama koşullarına bağlı olarak değişebilir. Tek başlarına etkileri daha azken birden fazla uçucu yağ kullanımında sinerjik etki gösterdikleri kanıtlanmıştır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Uçucu yağlar üç ayrı kategoride incelenir.

A. Koku ve Tatlarına Göre Sınıflandırma: Aşırı kokulu ve tadı güzel olanlar, kokusu olup acı olanlar ve yine kokusu olup aşırı acı olmak üzere sınıflandırılmışlardır.

B. Farmakolojik ve Terapik Sınıflandırma: Bu esansiyel yağlar tıbbi amaçlı kullanılırlar ve son zamanlarda insanlar tarafından oldukça rağbet görmektedir.

C. Yer Aldıkları Bitkilere Göre Sınıflandırma: Esansiyel yağlar içerisinde yer aldıkları bitkinin yaşadığı ortama göre miktarında ve kalitesinde farklılıklar oluşabilir. Ancak alkoller, ketonlar, fenollar gibi oksijen içeren bileşikler esansiyel yağların tümünde bulunur (Sayın, 2019).

Uçucu yağların antimikrobiyel özelliklerinin incelenmesi 19. yüzyıl sonlarında başlamış olup 20. yüzyılda çalışmalar artmıştır. Bu çalışmalar sonucunda birçok bitkilerin antimikrobiyel özellikte oldukları kanıtlanmıştır. Ancak tam olarak antimikrobiyel mekanizmaları açıklanamasa da araştırmacılar çeşitli hipotezler ortaya koymuşlardır. Bunların başında esansiyel yağların hidrofilik ya da lipofilik özellikte olmalarıdır (Sayın, 2019).

Uçucu yağlar, mikroorganizmalar üzerinde bakterisit ya da bakteristatik etki gösterirler (Pateiro vd., 2021). Uçucu yağların, belki de en önemli özellikleri hidrofobik olmalarıdır. Bu özellik, bakterilerin mitokondrilerinde hücre zarlarında yer alan lipitlerle bölünmesini sağlayarak hücre yapılarını bozar. Zar, daha geçirgen hale gelir. Böylece, hücrelerde molekül ve iyonlar sızmaya başlar ve bakteri hücresi ölür (Chouhan vd., 2017).

Diğer bir özellik ise esansiyel yağlarda bulunan terpenler, enzimleri olumsuz etkileyen ve lipitte çözünen bir ajandır. Terpenler zar üzerindeki vezikül proton translokasyonuna, daha sonra ADP fosforilasyonuna müdahale ederek eşleşmeyi engelleyici olarak hareket edebilmektedir. Fenolik alkol veya aldehitler gibi fonksiyonel gruplar, özel terpenoidler, membranda üretim faaliyetleriyle ilgili örneğin ATP sentezi ile ilgili enzim proteinlerini bozmaktadır. Bu özelliği ile hücre solunumunu da etkilemektedir (Kalemba ve Kunicka, 2005).

Uçucu yağların gıdalar üzerindeki etkisi besiyerindeki etkisine göre daha azdır. Bu yüzden gıdalardaki antimikrobiyel etki, uçucu yağın miktarına ve gıdanın bileşimine bağlıdır. Antimikrobiyel etkiyi arttırmak için gıdaya çok miktarda uçucu yağ konulursa ürünün tadı bozabilir. Ancak mikroorganizmaların gelişmesini inhibe ettiği için gıdaya uygun dozlarda uçucu yağ konulup doğal koruyucu olarak kullanılabilir (Özen, 2008). Ayrıca bu amaçla birden fazla uçucu yağ kullanılarak sinerjik etki yapmaları sağlanarak gıdaların raf ömrü arttırılabilir.

Uçucu yağların etkisi mikroorganizma çeşidine göre değişir. Bunun iki nedeni vardır; birincisi esansiyel yağların kimyasal yapılarının farklı olması, ikincisi mikroorganizmaların hücre duvarı ve zarının değişkenlik göstermesidir (Sayın, 2019).

Gram negatif bakterilere kıyasla Gram pozitif bakterilerin esansiyel yağlara daha duyarlı olduğu iyi bilinmektedir. Bunun nedeni, Gram negatif bakterilerin lipopolisakkarit (LPS) açısından zengin, sert ve çok daha karmaşık bir dış zara sahip olmasıdır. Gram pozitif bakterilerde ise küçük antimikrobiyel moleküllere direnecek kadar yoğun, kalın olmayan bir peptidoglikan duvarı ile çevrili olmasından dolayı hücre zarına geçiş kolaydır. Kısacası uçucu yağlar, hücre üzerinde şu etkileri gösterebilir; zar geçirgenliğini değiştirir, hücre yıkımına ve böylece elektrolit sızıntısına neden olur. Bu da proteinler, şekerler, ATP ve DNA gibi hayati önem taşıyan hücre içi bileşiklerin kaybına neden olur. Bununla birlikte enerji (ATP) üretimini ve enzimleri inhibe eder (Chouhan vd., 2017).

Dorman ve Deans (2000), karabiber, karanfil, sardunya, hindistan cevizi ve kekik esansiyel yağlarının 25 farklı bakteri cinslerine karşı antibakteriyel etkisini araştırmış ve sonuçta esansiyel yağların tüm bakterilere karşı inhibitör etki gösterdiklerini kanıtlamışlardır (Dorman ve Deans, 2000).

Basile ve arkadaşları (2006), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhi* ve *Proteus vulgaris* üzerinde esansiyel yağ kullanarak araştırma yapmışlardır. Deney sonucunda esansiyel yağın tüm mikroorganizmaların gelişimini durdurduğu ve sadece *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde öldürücü etkide olduğu bulunmuştur (Basile vd., 2006).

Funda Özen (2008), çiğ Tekirdağ köftesinde limon, sarımsak, kekik ve biberiye yağlarının *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, Koliform grubu canlı bakteri, maya ve küflere karşı etkilerini araştırmıştır. Deney sonucunda bu yağların mikroorganizmaları öldürmediği ancak buzdolabı şartlarında gelişmelerini durdurduğu gözlenmiştir (Özen, 2008).

K.D Vu ve arkadaşları (2011), kırmızı kekik ve kekik özünün çileklerden izole edilen küflere ve toplam floraya karşı kuvvetli antimikrobiyel etki gösterdiğini ve nanenin düşük antimikrobiyel özellik gösterdiğini bulmuşlardır. Ayrıca çileğin raf ömrü üzerinde olumlu etki gösterdiği kanıtlanmıştır (Vu vd., 2011).

Tehmina Anjum ve arkadaşı (2012), turunçgillerde maviküf hastalığına neden olan *Penicillium italicum*'a karşı kimyon, karanfil ve tarçın kabuğundan elde edilen uçucu

yağların antifungal etkilerini incelemişlerdir. Kimyon ve karanfilin küfleri inhibe ettiği ancak tarçının küf gelişimini tamamen engellemediği belirtilmiştir (Anjum ve Akhtar, 2012).

Pradnya S. Chavan ve arkadaşları (2014), şarabın bozulmasına neden olan doğal maya florasına karşı karvakrol ve timolün antimikrobiyel etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak şaraplarda koruyucu olarak kullanılan potasyum metabisülfitten daha etkili olduklarını anlaşılmıştır. Karvakrol ve timolün, mayaların hücre zarını hasara uğratarak hücre içi maddelerin dışarı sızmasına neden olduklarını ve böylece bu yağların doğal koruyucu olarak kullanılabilir olduklarını ispatlamışlardır (Chavan ve Tupe, 2014).

Castillo ve arkadaşları (2014), karvakrol, timol ve ticari balmumu ile limonlar üzerinde kaplama yaparak depolama sırasında limonlarda gelişen toplam bakteri ve küf miktarlarında azalma olduğunu görmüşlerdir (Castillo vd., 2014).

Bülbül (2016), Erzurum ili ve çevresinde yetişen bazı bitkilerin *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus fecalis*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Bacillus cereus* ve *Candida albicans* mikroorganizmaları üzerine antibakteriyel özelliklerini incelemiştir. Araştırma sonucunda esansiyel yağlara en duyarlısı *Streptococcus pyogenes*, en dayanıklı türler ise *Pseudomonas aeruginosa* ve *Listeria monocytogenes* olarak bulunmuştur.

2019 yılında Kılıç, kekik, mürver otu, katran yoncası, aslanpençesi, ak üçgül, sığırkuyruğu, pisikulağı, yabani nane, engerekotu, nane, sarı kantaron, yara otu, papatya, kandil çiçeği, tül kuşkonmaz, ısırgan, andızotu, sarı orman gülü ve maviyemiş bitkilerinin uçucu yağlarının antibakteriyel, antifungal ve antioksidan etkilerini incelemiştir. Deney sonucunda kekiğin en yüksek toplam fenolik madde ve kandil çiçeğinin ise en düşük toplam fenolik madde içerdiğini bulmuştur. En yüksek antioksidan kapasite kekikte bulunurken en düşük antioksidan kuşkonmaz esansiyel yağında bulunmuştur. *S. aureus*, *E. coli*, *M.luteus* ve *L.monocytogenes*'e karşı en yüksek inhibisyon etkiyi kekik göstermiştir. *Trichothecium roseum* küfü üzerinde hiçbir esansiyel yağın antifungal etkisinin olmadığı, *Phomopsis spp.* küfü üzerinde ise tüm uçucu yağların antifungal etkisi olduğu görülmüştür. *Cladosporium sp.* küfü

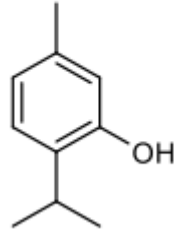
üzerinde ise en yüksek antifungal etkiyi kekik esansiyel yağının gösterdiği bulunmuştur (Kılıç, 2019).

Bilgenur Harmanşah (2020), sazan balıklarının solungaçlarında bulunan parazitler üzerine nane, limon ve çay ağacı yağlarının anti parazit özelliklerini incelemiştir. Deney sonucunda bu yağların parazitler üzerinde yüzde yüz öldürücü etki gösterdiği kanıtlanmıştır. Ayrıca en etkili uçucu yağın çay ağacı yağı olduğu ve en etkisiz yağın ise nane yağı olduğu görülmüştür (Harmanşa Yılmaz, 2020).

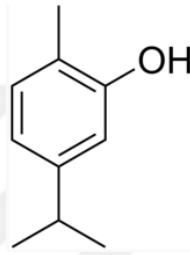
### 2.3.1 Kekik (*Thymus vulgaris*)

Kekik, sağlık açısından çok önemli bir bitki olmakla birlikte ihraç ettiğimiz bir üründür. Ülkemiz dünyadaki kekik ticaretinin %70'ni oluşturur. Ülkemizde kekik, Lamiaceae familyasına aittir ve uçucu yağları karvakrol ve timoldür. İhraç edilen kekik türlerinden İzmir kekiği (*Origanum onites* L.) en çok paya sahip bitkidir. Ege ve Akdeniz'den toplanan kekikler; İzmir kekiği (*Origanum onites* L.), beyaz kekik (*Origanum majorana*), sütçüler kekiğidir (*Origanum minutiflorum*) (Görece, 2019).

Karvakrol ve timol, Lamiaceae familyasına ait kekiğin aromatik uçucu yağının en önemli bileşenleridir (Ataş, 2019). Kekik yapısında %60 karvakrol ve %40 timol vardır (Kahraman, 2007). Karvakrol (5-izopropil-2-metilfenol) ve timol (2-izopropil-5-metilfenol), monoterpenik fenollerin izomerik üyeleridir. Bunlar nötr suda çözünmezler ama alkollerde ve organik çözücülerde çözünürler (Friedman, 2014). Bu iki uçucu yağ bileşeni, Mısırlıların yaşadığı dönemde mumyalarda bakteriyel bozulmayı önlemek için ve birinci dünya savaşında ise yaraları temizlemek için antiseptik olarak kullanılmıştır (Ay, 2013). Karvakrol ve timolün çoğu ürünlerde kullanımı FDA (Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından onaylanmıştır. Bu gıdalar unlu mamuller, dondurulmuş süt ürünleri, baharat çeşnisi, sakızlar, alkollü ve alkolsüz içecekler, jelatinli pudingler ve şekerlerdir (De Vincenzi vd., 2004). Aromatik halka yapılarından dolayı hidrofobiktirler ve fenolik OH grubu da hidrofilik özellik kazandırır. Karvakrol ve timolün de antimikrobiyel özellikleri hidrofobik olmalarından kaynaklanır. Hücre zarına zarar vererek proton, fosfat ve potasyum hücre membranından sızar ve hücre ölür (Ben Arfa vd., 2006).



**Şekil 2.1.** Timolün kimyasal yapısı.



**Şekil 2.2.** Karvakrolün kimyasal yapısı.

Kekikte bulunan bu uçucu yağ bileşenleri, *E.coli*, *S.aureus*, *C. perfringens*, *S.typhimurium*, *P.vulgaris*, *P.membranea* gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyel etki gösterirler (Kahraman, 2007).

Kekiğin esansiyel bileşiği olan karvakrol ve timol, ilk önce bakterilerin hücre duvarlarına etki ederek hücre zarının deformasyonuna neden olurlar. Böylece hücre içinde yer alan organeller dışarı sızarak hücre ölür. Hasar sırasıyla şu şekilde meydana gelir; hücre duvarı ve hücre zarı hasara uğrar, sitoplazma koagüle olur ve zar proteini hasar görür ve en sonunda hücre hareket edemez hale gelir. Ayrıca yağ çözücülük özellikleri nedeniyle yağ molekül zincirlerine girerek hücre zarını kolayca hasara uğratırlar ve hücre içi organellerin daha hızlı dışarı çıkmasına neden olurlar. Bu nedenle bu uçucu yağlar, domuz üretim çiftliklerinde antibiyotiklerin yerine kullanılabilir (Özdemir Özbek, 2019).

Ayrıca timolün antimikrobiyel özelliği nedeniyle insanlarda daha çok ağızda bulunan bakterilere karşı kullanılan ilaçlarda bulunduğu için ağız ve diş sağlığında kullanılır (Kaya, 2007).

Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri fonksiyonel grupların yerleri ile ilgilidir. Timol ve karvakrolün antimikrobiyel özellikleri birbirine benzese de Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere etkileri farklıdır (Lambert vd., 2013). Karvakrol ve timolün antimikrobiyel etkileri fenolik terpenoidlerin hidroksil grubuna ve farklı bakteriler üzerindeki antimikrobiyel aktivitelerinin seviyesini belirleyen delokalize elektronların varlığına bağlıdır (Ultee vd., 2002). Helander ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (1998), timol ve karvakrolün lipopolisakkaritleri serbest bırakarak ve duyarlaştırarak *Escherichia coli* O157: H7 ve *Salmonella typhimurium* mikroorganizmaların hücre zarına hasar verdiği kanıtlanmıştır (Helander vd., 1998). Karvakrol ve timol, diğer uçucu yağlara göre Gram negatif bakterilerde lipopolisakkarit salıcı özellikleri daha fazladır (Özdemir Özbek, 2019).

Karvakrolün bir diğer etki mekanizması ise proton değiştirici özelliğidir. Hidroksil protonu ile potasyum iyonunun yerlerini değiştirerek, zarın pH değerinin bozulmasına ve buna bağlı olarak elektrik potansiyelinin dağılmasına neden olur. Böylelikle hücre içinde adenosin trifosfat (ATP) havuzlarının azalmasına ve tükenmesine neden olur. Potasyum kaybına bağlı olarak enzimlerin çalışma mekanizması, ozmotik basınç dengesi ve hücre içi pH değerleri bozulur. Bakteri bunu engellemek için iyon pompalar ancak bunun için çok miktarda enerji sarf eder ve bakteri enerji kaybından dolayı gelişemez (Ultee vd., 2002). Her ikisi de bu etkilerinden dolayı *E.coli*, *S. aureus*, *B. cereus* dahil birçok bakteriye karşı antibakteriyeldir (Trombetta vd., 2005).

Timol ve karvakrol antioksidan özelliğe sahiptirler. Yanishlieva ve arkadaşları (1999), timol ve karvakrol içeren domuz yağını ve Ayçiçek yağını antioksidan yönünden incelemişlerdir. Deney sonucunda, ortam sıcaklığında timolün karvakrolden daha etkili bir antioksidan olduğunu ve ortamda bulundukları yağa bağlı olarak antioksidan etki mekanizmalarının farklı olduklarını bulmuşlardır (Yanishlieva vd., 1999).

Wu ve arkadaşları (2012), karvakrol yüklenmiş nano yapılar ile karvakrol olmayan kontrol grubunu *E.coli* üzerinde denemişlerdir. Deneyin sonucunda karvakrolün *E.coli* konsantrasyonunu azalttığı gözlenmiştir (Wu vd., 2012).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, karvakrolün antimikrobiyel etkinliğinin yüksek sıcaklıkta, uzun depolama süresinde ve düşük pH'da arttığı belirtilmektedir. Gıdaların yağ içeriği ve kompleksliği arttıkça karvakrolün antimikrobiyel etkinliğinin azaldığı belirtilmiştir (Ay, 2013).

Wang ve arkadaşları (2017), timolün hücre zarına etki edebilmesi için yüksek konsantrasyonda olması gerektiğini bildirmiştir. Ayrıca bakterinin DNA yapısını değiştirdiğini de gözlemlemişlerdir (Wang vd., 2017).

Timolün yüksek dozları insanlarda toksisiteye neden olabileceğinden dolayı düşük dozlarda kullanılması tercih edilmektedir. Bu yüzden diğer antimikrobiyellerle birlikte kullanılarak gıdada uygulanma miktarları düşürülebilir (Aksoy, 2019).

Antimikrobiyel aktivite belirlemede genellikle difüzyon ve dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır (Özdemir Özbek, 2019).

### **2.3.2 Kimyon (*Cuminum cyminum*)**

Kimyon aromatik olduğundan baharat olarak yemeklerde kullanılır. Ayrıca geleneksel tıpta gaz, hazımsızlık, şişkinlik giderici ve ishal önleyici olarak ilaç yerine kullanılabilir. Kimyonun tohumları Hindistan'da köri tozuna karıştırılarak yemeklere lezzet verilir. Kimyon (*Cuminum cyminum*), Apaiaceae familyasına ait olan ve dünyanın pek çok yerinde yetişen bir bitkidir (Thippeswamy ve Naidu, 2005). Ülkemizde ise dış ticari değeri en yüksek olan bitkilerden biridir (Keskin ve Baydar, 2016). Kimyonun uçucu yağ bileşenlerinin en başında küminaldehit ve daha sonra simen ve terpenoidler gelir. Kimyon, antioksidan, antimikrobiyel, tümör önleyici etkisi vardır (Thippeswamy ve Naidu, 2005).

Shetty ve arkadaşlarının 1994'te yaptığı çalışmada *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium chrysogenum*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida utilis* mikroorganizmalar üzerine küminaldehitin etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta Gram negatif bakteriler arasında küminaldehite en duyarlı *E.coli* iken en dayanıklı ise *Pseudomonas aeruginosa* olmuştur. Gram pozitifler arasında küminaldehite en dirençli olanı ise *Staphylococcus aureus* bakterisi olduğu bulunmuştur. Maya ve

küflerin ise bakterilere göre küminaldehite daha duyarlı olduğu gözlenmiştir. Küfler arasında en duyarlı *Penicillium chrysogenum*, en dayanıklısı *Aspergillus parasiticus* olmuştur (Shetty vd., 1994).

Yapılan başka bir çalışmada, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* mikroorganizmalara karşı kimyonun büyük bir antimikrobiyel etki gösterdiği kaydedilmiştir (Ceylan ve Fung, 2004).

Ağaoğlu ve arkadaşları (2007), kimyon, tarçın, karanfil, öğütülmüş kırmızıbiber, rezene ve anason gibi bazı baharatın antimikrobiyel etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada kimyonun, *Staphylococcus aureus*, *E. faecalis*, *M. smegmatis*, *M. Luteus* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı inhibitör etkide olduğu ancak *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* bakterilerine karşı herhangi bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Kimyonun önemli bir antimikrobiyel olduğunu ve gıdalarda doğal koruyucu madde olarak kullanılmasında herhangi bir sakınca olmadığını bildirmişlerdir (Ağaoğlu vd., 2007).

Başka bir çalışmada ise kimyon, tarçın ve karanfilden elde edilen uçucu yağların *Penicillium italicum*'a karşı antifungal etkilerini araştırmışlardır. Kimyonun ve karanfilin bu küfe karşı inhibisyon etkide olduğunu bildirmişlerdir. Tarçının ise bu küfe karşı hiçbir etkide bulunmadığını gözlemlemişlerdir (Anjum ve Akhtar, 2012).

Haşimi (2014), kimyon ve anasonlarda bulunan esansiyel yağın Gram negatif, ve Gram pozitif bakteriler ile mayalar üzerine etkisini araştırmıştır. Araştırmanın sonucunda anasonun etkisinin düşük olduğu, kimyonun ise orta seviyede etki gösterdiği görülmüştür. Ayrıca kimyonun anasona göre daha fazla antioksidan özellik gösterdiği bildirilmiştir (Haşimi vd., 2014).

Diğer bir deneyde ise tarçın, kimyon ve kekik uçucu yağlarının bulunduğu yenilebilir filmle kaplanmış taze kırmızı etin depolama boyunca bu yağların antimikrobiyel etkileri araştırılmıştır. Antimikrobiyel aktivitesi en yüksek kekik uçucu yağlarında gözlemlenmiştir. Araştırma sonucunda, her üç uçucu yağın da toplam canlı bakteri sayısını önemli miktarda azaltmış olduğu belirtilmiştir (Badr, 2014).

2016 yılında yapılan bir deneyde, kekik ve kimyon içeren peynirin depolama süresi boyunca *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhi* mikroorganizma gelişmesi incelenmiş ve en çok baharatı bulunduran peynirde küfmaya gelişimi olmadığı bildirilmiştir. Kekiğin ve kimyonun mikroorganizmaları öldürücü değil de durdurucu etkide olduğu sonucuna varılmıştır (Devranbay, 2016).

Xu ve arkadaşları (2021), yer fıstığına eklenen kimyon esansiyel yağının *Aspergillus flavus* gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmanın sonucunda kimyonda bulunan küminaldehitin *A. flavus*'un hücre zarına etki ettiği ve hücre zarında bulunan ergestrolü azaltarak küfün ölümüne neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca küminaldehitin antiaflatoksijenik olduğunu da aktarmışlardır (Xu vd., 2021)



### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Doğal antimikrobiyeller**

Bu araştırmada kullanılan karvakrol %98 saflıkta, timol %98,5 saflıkta ve küminaldehit %98 saflıkta Sigma Aldrich firmasından sağlanmıştır. Her analiz öncesi ultrasonik homojenizasyonla 10.000 ppm’lik stok emülsiyonlar hazırlanmış ve gereken seyreltmeler bu stok emülsiyonlardan alınan yeterli miktarın besiyeri ya da örnekle karıştırılmasıyla yapılmıştır. Stok emülsiyonların hazırlanışı yöntemler kısmında anlatılmıştır.

##### **3.1.2 Kullanılan mikroorganizma**

Çalışmada Aksaray Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonunda bulunan *E.coli* ATCC 25922 suşu kullanılmıştır.

##### **3.1.3 Kullanılan besiyerleri ve çözeltiler**

Araştırmada mikroorganizmanın canlandırma ve saklanması için Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck) ve Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck), mikroorganizma sayımı için Plate Count Agar (PCA) (Merck), minimum inhibasyon konsantrasyonunun belirlenmesi için de Mueller Hinton Broth (MHB) (Merck) kullanılmıştır. Ayrıca *E.coli*’nin bulanıklığını ayarlamak için 0,5 MC Farland standardı Klinik Mikrobiyoloji İşlemleri El Kitabı’nda verilen prosedüre göre hazırlanmıştır (Leber, 2016). Bakteri dilüsyonlarının hazırlanması için serum fizyolojik ve peptonlu su kullanılmıştır.

Antimikrobiyel emülsiyonlarının hazırlanmasında emülsifiyer olarak Tween 80 (Sigma) ve steril saf su kullanılmıştır.

##### **3.1.4 Kullanılan Et**

Çalışmada dana eti kullanılmış olup yerel bir kasaptan kesimden üç gün sonra satın alınmıştır. Bütün halde üç kilogramlık bir parça olarak alınan et vakit kaybetmeden buzdolabına kaldırılmış ve analizler ertesi gün gerçekleştirilmiştir.

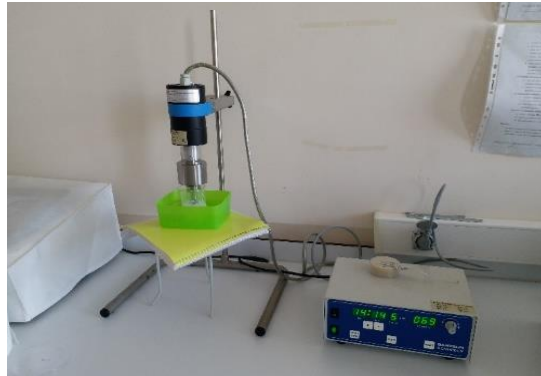
### 3.2 Yöntem

#### 3.2.1 Mikroorganizmanın aktifleştirilmesi

*E.coli* ATCC 25922 suşu, gliserol içinde dondurucuda saklanan stok kültürden 100µl alınarak Tryptic Soy Broth (TSB) içerisine inoküle edilmiş ve 37°C’de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. İnkübasyon sonunda bu tüplerden Tryptic Soy Agar’a (TSA) sürme yapılarak tek koloni düşürülmüş ve bu koloniler analizlerde kullanılmıştır.

#### 3.2.2 Antimikrobiyel stok emülsiyonların hazırlanması

Antimikrobiyellerin stok emülsiyonları, Ghosh ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olan mikro emülsiyon hazırlama yöntemi modifiye edilerek uygulanmıştır. (Ghosh vd., 2012). Antimikrobiyellerin stok emülsiyonları, su içinde yağ emülsiyonu olarak hazırlanmış, yağ faz antimikrobiyelden oluşurken su fazı yağ fazının iki katı kadar Tween 80’in su ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Antimikrobiyellerin kullanılacak miktarı 50 ml’lik hacimdeki emülsiyonda 10.000 ppm konsantrasyon sağlayacak şekilde hesaplanmıştır. Su fazında antimikrobiyellerin iki katı kadar Tween 80 manyetik karıştırıcıda 10 dakika kadar karıştırılmış, üzerine antimikrobiyeller eklenerek 15 dakika daha manyetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edilmiştir. Hazırlanan bu kaba emülsiyon Bandelin Sonopuls marka HD 2200 model (200 W/20kHz) ultrasonikasyon cihazında 15 dakika boyunca %70 güç, 5 saniyelik pulslarla homojenize edilmiştir ( Şekil 3.1). Böylelikle antimikrobiyellerin Tween 80 içerisine enkapsüle olup sıvı fazda homojen dağılması sağlanmıştır.



Şekil 3. 1. Bandelin Sonopuls HD 2200 Ultrasonikasyon cihazı.

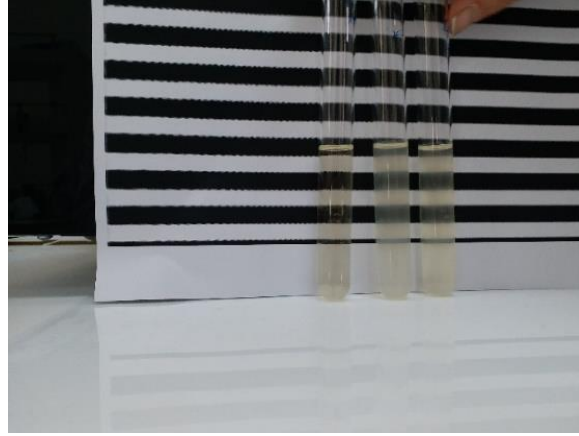
### 3.2.3 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonun (MBK) belirlenmesi

MİK değerlerinin belirlenmesi için Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi tarafından oluşturulan makrodilüsyon yöntemi küçük değişikliklerle kullanılarak belirlenmiştir(Coyle, 2005). Antimikrobiyellerin 1200-75 ppm arasında (Çizelge 3.1) iki katlı dilüsyonları Mueller-Hinton Broth (MHB) içerisinde hazırlanmış, her bir tüpe, Mc Farland standarttı ile karşılaştırılarak serum fizyolojik içerisinde hazırlanan *E.coli* süspansiyonu  $10^7$  kob/ml başlangıç inokülasyonu olacak şekilde eklenmiştir. Deneyler iki paralel olarak yapılmıştır. Negatif kontrol olarak *E.coli* içermeyen, pozitif kontrol olarak da antimikrobiyel içermeyen ancak *E.coli* içeren MHB tüpleri kullanılmıştır. Tüplerin son hacmi 10 mL olacak şekilde besiyeri, mikroorganizma ve antimikrobiyeller eklenmiştir. Hazırlanan inoküle edilmiş besiyerleri 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmış, süre sonunda üreme olan tüpler bulanıklığın gözlenmesiyle tespit edilmiştir (Şekil 3.2). Bulanıklık görülmeyen en düşük antimikrobiyel konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 3.1.** Antimikrobiyellerin MİK ve MBK çalışması için deney tasarımı.

|                        | A      | B      | C      | D      | E      |
|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Antimikrobiyel (ppm)   | 1200   | 600    | 300    | 150    | 75     |
| <i>E.coli</i> (kob/mL) | $10^7$ | $10^7$ | $10^7$ | $10^7$ | $10^7$ |
| Toplam Sıvı Hacmi (mL) | 10     | 10     | 10     | 10     | 10     |

MBK değerlerinin belirlenmesi için; MİK belirlenen her bir tüpten 100 µL Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerine yayma yöntemiyle ekim yapılarak 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu üreme olmayan petrilere MBK değeri olan en düşük antimikrobiyel konsantrasyonu belirlenmiştir.

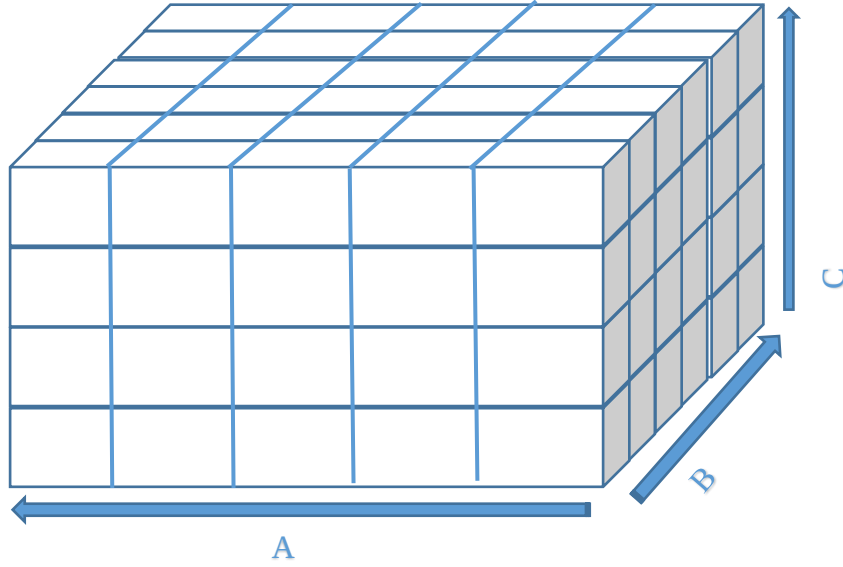


**Şekil 3.2.** *E.coli* üremesinin olup olmadığının gözle muayenesi.

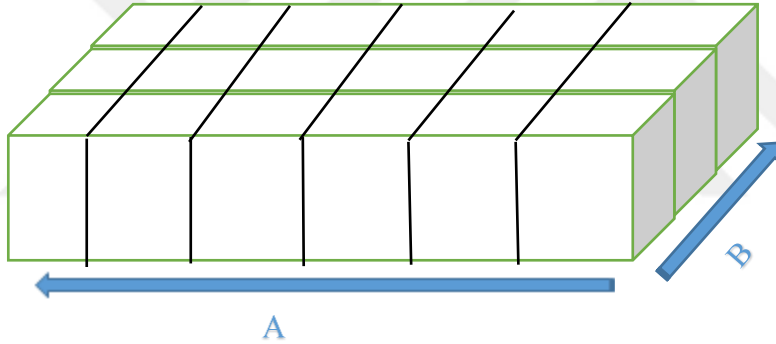
#### **3.2.4 Antimikrobiyellerin sinerjik etkilerinin belirlenmesi**

İki ve üç boyutlu Dama Tahtası Makrodülsiyon Yöntemi kullanılarak karvakrol, timol ve küminaldehitin ikili ve üçlü kombinasyonlarının sinerjik etkileri belirlenmiştir (Şekil 3.3 ve Şekil 3.4). Kullanılan antimikrobiyeller MİK değerinin iki katından başlayarak iki katlı seri dilüsyonlarla beş kez seyreltilmiştir. Dilüsyon oranına ön çalışmalarla karar verilmiştir. Her bir tüpün son hacmi 10 mL olacak şekilde 1 mL 0.5 Mc Farland standartı ( $10^8$  kob/ml) ile ayarlanmış *E.coli* ATCC 25922 süspansiyonu eklenerek mikroorganizma yükünün  $10^7$  kob/ml olması sağlanmıştır. Tüpler  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve her bir tüpün negatif kontrolüyle karşılaştırılarak tüplerde üreme olup olmadığı göz muayenesi ile tespit edilmiştir. Üreme olmayan ve en düşük antimikrobiyel konsantrasyonuna sahip olan tüplerdeki antimikrobiyel konsantrasyon değerleri Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyon (FİK) indeksinin hesaplanmasında kullanılmıştır. FİK değeri bize antimikrobiyellerin sinerjik, antagonistik ya da hiçbir etkide bulunmadıkları sonucunu verir.

İkili kombinasyonda FİK değeri, bir antimikrobiyelin kombinasyon MİK değerinin tek başına MİK değerine oranının (A) ve diğer antimikrobiyelin kombinasyon MİK değerinin tek başına MİK değerine oranının (B) toplanmasıyla bulunur (3.2.a). Üçlü kombinasyonda FİK değeri ise üç antimikrobiyelin (A, B, C) kombinasyon MİK değerlerinin tek başlarına MİK değerlerine oranlarının toplamına eşittir (3.2.b).



**Şekil 3.3.** Üç boyutlu dama tahtası tekniğinin temsili görüntüsüdür. Her antimikrobiyelin konsantrasyonu ok yönüne doğru azalmaktadır.



**Şekil 3.4.** İki boyutlu dama tahtası tekniğinin temsili görüntüsüdür. Her antimikrobiyelin konsantrasyonu ok yönüne doğru azalmaktadır.

$$FİK_{AB} = \frac{MİK_{A \text{ kombinasyon}}}{MİK_{A \text{ tek}}} + \frac{MİK_{B \text{ kombinasyon}}}{MİK_{B \text{ tek}}} \quad (3.2. a)$$

$$FİK_{ABC} = \frac{MİK_{A \text{ kombinasyon}}}{MİK_{A \text{ tek}}} + \frac{MİK_{B \text{ kombinasyon}}}{MİK_{B \text{ tek}}} + \frac{MİK_{C \text{ kombinasyon}}}{MİK_{C \text{ tek}}} \quad (3.2. b)$$

### 3.2.5 Antimikrobiyellerin çiğ kıyma üzerinde *E.coli*'ye etkisi

Çiğ Kıyma örneklerinde *E.coli* üzerine karvakrol, timol ve küminaldehitin etkisi tek başlarına ve ikili/üçlü kombinasyonlarında MİK değerlerinde kullanılarak makrodülsiyon yöntemiyle belirlenmiştir. Bu amaçla antimikrobiyellerin tek kullanıldığı üç set, ikili kombinasyonlarının kullanıldığı üç set, üçlü kombinasyonunun kullanıldığı bir set ve pozitif ve negatif kontrollerin kullanıldığı

iki set çiğ kıyma örneği hazırlanmıştır. Parça halindeki çiğ etin (Şekil 3.5) dış kısımları steril bıçak yardımıyla aseptik koşullarda temizlenmiş ve yine parçaları 85°C’de 15 dakika etüvde steril edilmiş olan kıyma makinesi (Arnica Promeat 2000 W) ile kıyma haline getirilmiştir. Çapraz kontaminasyona uğramayan yeni kesilmiş etin steril olduğu kabul edilmektedir. Çalışmaya başlamadan önce bu çiğ kıyma örneğinden de PCA besi yerine bir ile on arası dilüsyonlardan yayma yöntemiyle sayım için alınmıştır. 37°C’de 24 saatlik inkübasyon sonunda sayılabilir üreme gözlenmemiştir. 9 örnek için iki paralel ve iki tekrür olarak deney planı yapılmıştır. Stomacher poşetlerde çiğ kıyma, *E.coli* ve antimikrobiyeller aşağıdaki Çizelge 3.2’de ve 3.3’de verilen miktarlarda karıştırılmıştır. Serum fizyolojik içerisinde hazırlanan  $9,2 \pm 1,7 \times 10^7$  kob/mL *E.coli* içeren süspansiyonundan negatif kontrol hariç her bir çiğ kıyma setine  $\approx 10^6$  kob/g *E.coli* olacak şekilde inokülasyon yapılmıştır. Çiğ kıyma örnekleri toplam 70 gram olarak hazırlanmış, üç dakika boyunca stomacherda karıştırılmıştır. Steril 50 ml’lik falcon tüplere 10 gram hazırlanan örneklerden tartılarak 1, 7 ve 14. gün analizleri için buzdolabında depolanmıştır (Şekil 3.6).



**Şekil 3.5.** Kullanılan çiğ et.



**Şekil 3.6.** Plastik şişelere (falcon) konulan örnekler.

**Çizelge 3.2.** Çiğ kıyma örneklerine eklenen stok antimikrobiyel çözeltilerinin konsantrasyonları ve *E.coli* emülsiyonunun içerdiği canlı mikroorganizma sayısı.

| No | Örnek Adı                    | Antimikrobiyel stok (ppm) |       |              | <i>E. coli</i><br>(kob/mL)<br>solüsyonu |
|----|------------------------------|---------------------------|-------|--------------|-----------------------------------------|
|    |                              | Karvakrol                 | Timol | Küminaldehit |                                         |
| 1  | Negatif kontrol              | 0                         | 0     | 0            | 0                                       |
| 2  | Pozitif Kontrol              | 0                         | 0     | 0            | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |
| 3  | Karvakrol                    | 3000                      | 0     | 0            | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |
| 4  | Timol                        | 0                         | 1500  | 0            | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |
| 5  | Küminaldehit                 | 0                         | 0     | 3000         | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |
| 6  | Karvakrol-Timol              | 1500                      | 187,5 | 0            | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |
| 7  | Karvakrol-Küminaldehit       | 1500                      | 0     | 375          | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |
| 8  | Timol-Küminaldehit           | 0                         | 750   | 1500         | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |
| 9  | Karvakrol-Timol-Küminaldehit | 1500                      | 187,5 | 375          | $9,2\pm 1,7\times 10^7$                 |

**Çizelge 3.3.** Çiğ kıyma örneklerinin karışım oranları.

| No | Örnek Adı                    | Çiğ Kıyma<br>(g) | <i>E. coli</i><br>(mL) | Antimikrobiyel<br>(mL) | Steril su<br>(mL) |
|----|------------------------------|------------------|------------------------|------------------------|-------------------|
| 1  | Negatif kontrol              | 56               | 0                      | 0                      | 14                |
| 2  | Pozitif Kontrol              | 56               | 7                      | 0                      | 7                 |
| 3  | Karvakrol                    | 56               | 7                      | 7                      | 0                 |
| 4  | Timol                        | 56               | 7                      | 7                      | 0                 |
| 5  | Küminaldehit                 | 56               | 7                      | 7                      | 0                 |
| 6  | Karvakrol-Timol              | 56               | 7                      | 7                      | 0                 |
| 7  | Karvakrol-Küminaldehit       | 56               | 7                      | 7                      | 0                 |
| 8  | Timol-Küminaldehit           | 56               | 7                      | 7                      | 0                 |
| 9  | Karvakrol-Timol-Küminaldehit | 56               | 7                      | 7                      | 0                 |

### 3.2.6 Bakteri sayımı

1, 7 ve 14. günlerde rastgele örnekler seçilerek stomacher poşetlere alınmış, üzerlerine 90 ml steril peptonlu su eklenerek bir dakika boyunca stomacherda karıştırılmıştır. Serum fizyolojik içerisinde seri dilüsyonlar hazırlanarak Plate Count Agar (PCA) besiyerine aktarılıp yayma kültürel sayım yöntemiyle ekim yapılmış ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda koloni sayımı yapılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1 Antimikrobiyellerin MİK ve MBK Değerlerinin Sonuçları

#### 4.1.1 Antimikrobiyellerin tekli uygulamaları

MİK değeri, gözle görülür üremenin olmadığı en düşük antimikrobiyel derişimdir. Makrodilüsyon yöntemiyle karvakrol, timol ve küminaldehitin *E.coli* ATCC 25922'ye karşı MİK değerleri ve en düşük öldürücü doz olan MBK değerleri belirlenerek Çizelge 4.1'de verilmiştir. Her bir antimikrobiyel için MBK/MİK oranı 1'dir ve bu değer dörtten küçük olduğu için karvakrol, timol ve küminaldehit *E.coli* ATCC 25922'e karşı bakterisidal etkiye sahiptir (Davis, 2018).

**Çizelge 4. 1.** Deney sonucunda antimikrobiyellerin MİK ve MBK değerleri.

|              | MİK(ppm) | MBK(ppm) |
|--------------|----------|----------|
| Timol        | 150      | 150      |
| Karvakrol    | 300      | 300      |
| Küminaldehit | 300      | 300      |

El Atki ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, karvakrolün *E.coli* ATCC 25922 karşı MİK değeri 156 ppm olarak bulunmuştur (El Atki vd., 2020). Hacimce %0.5 oranında Tween 80 ile enkapsüle edilerek hazırlanan karvakrol nanoemülsiyonunun ve karvakrolün karşılaştırıldığı bir çalışmada *Escherichia coli* PTCC1339 karşı MİK değerleri hem nanoemülsiyon hem de tek başına karvakrol için değişmemiş, 250 ppm olarak bulunmuştur. Aynı zamanda bu çalışmada yine MBK değeri MİK değerleri ile eşit bulunmuştur (Mazarei ve Rafati, 2019). İdrar yolu enfeksiyonu geçiren bir hastanın karın boşluğundan toplanan sıvıdan izole edilen *E.coli*'ye karşı karvakrolün antimikrobiyel olarak etki mekanizmasının incelendiği bir çalışmada MİK değeri 450 ppm bulunmuştur (Khan vd., 2017). Başka bir çalışmada pektin-aljinat matriksi ile enkapsüle edilen karvakrolün ve serbest karvakrolün *E.coli* K12'ye karşı MİK değerleri 250 ppm bulunmuştur (Sun vd., 2019). Guarda ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, karvakrolün patojen olmayan *E.coli* 0157:H7 suşuna karşı MİK değerini 375 ppm olarak bulmuşlardır (Guarda vd., 2011). Rui Song ve arkadaşları karvakrolün *E.coli*'e karşı etkisini incelemişlerdir. MİK değerini broth makro dilüsyon yöntemi ile 400 ppm bulmuşlardır (Pei vd., 2009). Bu çalışmada

karvakrolün *E.coli* ATCC 25922'ye karşı MİK edgeri 300 ppm olarak bulunmuştur ve daha önceki çalışmalar incelendiğinde bulunan değerin makul olduğu söylenebilir.

Yapılan bir çalışmada, timolün *E.coli* ATCC 25922 karşı MİK değeri 78 ppm olarak bulunmuştur (El Atki vd., 2020). Diğer bir çalışmada, timolün patojen olmayan *E.coli* 0157:H7 mikroorganizmasına karşı MİK değeri 250 ppm olarak bulunmuştur (Guarda vd., 2011). Ma ve arkadaşları, timolün mikrodilüsyon yöntemiyle TSB besiyeri kullanılarak *E.coli* 0157:H7 ATCC 43895 suşuna karşı MİK ve MBK değerlerini 93.8 ppm olarak bulmuşlardır (Ma vd., 2013). Başka bir çalışmada, timolün *E.coli* 113-3D mikroorganizmasına karşı antimikrobiyel etkisi araştırılmış ve broth makro dilüsyon yöntemiyle MİK değeri 400 ppm olarak bulmuşlardır (Pei vd., 2009). Yine timol için bu çalışmada 150 ppm olarak belirlenen MİK değeri literatürde farklı antimikrobiyel testler ve farklı suşlara karşı belirlenen değerler arasında kalmaktadır.

Küminaldehit için yapılan bir çalışmada, klinik izolatlar olan *E.coli* 042 ve *E.coli*-R karşı MİK değerleri sırasıyla 1500 ve 12 ppm olarak bulunmuştur (Monteiro-Neto vd., 2020). Shetty ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, kimyonun maya, küf, Gram negatif bakteriler ve Gram pozitif bakteriler üzerindeki antimikrobiyel etkilerini belirlemişler ve MİK değerlerini bulmuşlardır. Küminaldehitin *E.coli* bakterisi üzerindeki MİK değerini 750 ppm olarak bulmuşlardır (Shetty vd., 1994). Diğer bir çalışmada, küminaldehitin *E.coli* üzerindeki antimikrobiyel etkisini belirlemek için MİK değerini hesaplamışlar ve 750 ppm bulmuşlardır (Hernández-Ochoa vd., 2014). Küminaldehit ile ilgili klinik çalışmalar olsa da gıda patojenlerine karşı küminaldehit henüz çalışılmamıştır. Bu çalışma küminaldehitin *E.coli*'ye karşı antimikrobiyel etkisinin belirlendiği ilk çalışmadır ve *E.coli* ATCC 25922'ye karşı küminaldehitin tek başına MİK değeri 300 ppm olarak tespit edilmiştir.

## **4.2 Antimikrobiyellerin Sinerjik Etkilerinin Sonucu**

### **4.2.1 Karvakrol-küminaldehit**

Karvakrol çizelge 4.2' de gösterildiği gibi sütunlarda 300-18,75 ppm arasında soldan sağa doğru azalan şekilde, küminaldehit ise satırlarda 600-37,5 ppm arasında yukarıdan aşağıya azalan şekilde kombine edilerek, kombinasyonların *E.coli* ATCC

25922'ye etkileri incelenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda üreme (bulanıklık) gözlenen kombinasyonlar V, gözle görülür üremenin olmadığı kombinasyonlar ise X ile işaretlenmiştir. Üreme olmayan ve en düşük FİK değerinin elde edildiği antimikrobiyel konsantrasyonuna sahip olan tüplerdeki antimikrobiyel konsantrasyonları belirlenmiştir.

**Çizelge 4. 2.** Karvakrol ve küminaldehitin kombine MİK ve MBK değerleri.

|              | Karvakrol |          |         |           |            |
|--------------|-----------|----------|---------|-----------|------------|
| Küminaldehit | A:300ppm  | B:150ppm | C:75ppm | D:37,5ppm | E:18,75ppm |
| 1:600ppm     | X         | X        | X       | X         | X          |
| 2:300ppm     | X         | X        | X       | X         | X          |
| 3:150ppm     | X         | X        | V       | V         | V          |
| 4:75ppm      | X         | X        | V       | V         | V          |
| 5:37,5ppm    | X         | X        | V       | V         | V          |

V:Koloni gelişimi VAR

X: Koloni gelişimi YOK

Tabloda verilen sonuçlara göre MİK<sub>karv-kombinasyonu</sub> 150 ppm, MİK<sub>kümin-kombinasyonu</sub> 37,5 ppm bulunmuştur. Burada FİK değeri, satırda ve sütunda bakteri gelişimini önleyen en düşük antimikrobiyel konsantrasyon değeri kullanılarak hesaplanmıştır. FİK değerine göre antimikrobiyel kombinasyonlarının etkileşim değerlendirmesi şöyle yapılmaktadır. FİK değeri <1 ise sinerjik, FİK=1 ise etkisiz ve FİK>1 ise antagonisttir.

$$FİK_{karvakrol,küminaldehit} = \frac{150}{300} + \frac{37,5}{300} = 0,625 \quad (4.2. a)$$

FİK<sub>karvakrol,küminaldehit</sub> değeri 1'den küçük olduğundan karvakrol ve küminaldehitin *E.coli* üzerindeki kombine etkilerinin sinerjik etki gösterdiklerini söyleyebiliriz.

#### 4.2.2 Timol-karvakrol

Karvakrol çizelge 4.3' de gösterildiği gibi sütunlarda 300-18,75 ppm arasında soldan sağa doğru azalan şekilde, timol ise satırlarda 300-18,75 ppm arasında yukarıdan aşağıya azalan şekilde kombine edilerek, kombinasyonların *E.coli* ATCC 25922'ye etkileri incelenmiştir.

**Çizelge 4. 3.** Karvakrol ve timolün kombine MİK ve MBK değerleri.

|            | Karvakrol |          |         |           |            |
|------------|-----------|----------|---------|-----------|------------|
| Timol      | A:300ppm  | B:150ppm | C:75ppm | D:37,5ppm | E:18,75ppm |
| 1:300ppm   | X         | X        | X       | X         | X          |
| 2:150ppm   | X         | X        | X       | X         | X          |
| 3:75ppm    | X         | X        | X       | V         | V          |
| 4:37,5ppm  | X         | X        | V       | V         | V          |
| 5:18,75ppm | X         | X        | V       | V         | V          |

Tabloda verilen sonuçlara göre  $MİK_{\text{karvakrol/kom. 150 ppm}}$ ,  $MİK_{\text{timol/kom. 18,75 ppm}}$  bulunmuştur.

$$FİK_{\text{timol,karvakrol}} = \frac{150}{300} + \frac{18,75}{150} = 0,625 \quad (4.2. b)$$

$FİK_{\text{karvakrol,timol}}$  değeri 1'den küçük olduğundan karvakrol ve timolün *E.coli* üzerindeki kombine etkilerinin sinerjik etki gösterdiklerini söyleyebiliriz.

#### 4.2.3 Timol-küminaldehit

Timol çizelge 4.4' de gösterildiği gibi sütunlarda 300-18,75 ppm arasında soldan sağa doğru azalan şekilde, küminaldehit ise satırlarda 600-37,5 ppm arasında yukarıdan aşağıya azalan şekilde kombine edilerek, kombinasyonların *E.coli ATCC 25922*'ye etkileri incelenmiştir.

**Çizelge 4. 4.** Timol ve küminaldehitin kombine MİK ve MBK değerleri.

|              | Timol    |          |         |           |           |
|--------------|----------|----------|---------|-----------|-----------|
| Küminaldehit | A:300ppm | B:150ppm | C:75ppm | D:37,5ppm | E:18,7ppm |
| 1:600ppm     | X        | X        | X       | X         | X         |
| 2: 300ppm    | X        | X        | X       | X         | X         |
| 3: 150ppm    | X        | X        | X       | V         | V         |
| 4: 75ppm     | X        | X        | V       | V         | V         |
| 5: 37,5ppm   | X        | X        | V       | V         | V         |

Tabloda verilen sonuçlara göre  $MİK_{\text{timol,kom. 75 ppm}}$ ,  $MİK_{\text{küminaldehit,kom. 150 ppm}}$  bulunmuştur.

$$FİK_{timol,küminaldehit} = \frac{75}{150} + \frac{150}{300} = 1 \quad (4.2. c)$$

$FİK_{timol/küminaldehit}$  değeri 1'e eşit olduğundan küminaldehit ve timol kombinasyonunun *E.coli* üzerinde sinerjik bir etki göstermediği yorumu yapılabilir.

#### 4.2.4 Karvakrol-küminaldehit-timol

Üçlü kombinasyonun iki boyutlu düzlemde gösterimi zor olduğu için, timol sabit tutularak (150ppm, 75ppm, 37,5ppm ve 18,75ppm) karvakrol sütunlarda 150-37,5ppm arasında soldan sağa doğru azalan şekilde, küminaldehit ise satırlarda 150-37,5ppm arasında yukarıdan aşağıya azalan şekilde kombine edilmiştir. Çizelge 4.5' de timol 18,75ppm' de sabit iken karvakrol ve küminaldehitin değişen konsantrasyonlarında *E.coli* ATCC 25922'ye karşı üçlü etkileri incelenmiştir. Aynı tablo timolün diğer konsantrasyonlarında da yapılmış fakat en düşük  $FİK$  değerinin hesaplandığı kombinasyon bu tabloda olduğu için diğerleri eklenmemiştir.

**Çizelge 4. 5.** Timol, karvakrol ve küminaldehitin kombine  $MİK$  ve MBK değerleri.

| Timol        | 18,75 ppm |        |          |
|--------------|-----------|--------|----------|
|              | Karvakrol |        |          |
| Küminaldehit | 150 ppm   | 75 ppm | 37,5 ppm |
| 150 ppm      | X         | V      | V        |
| 75 ppm       | X         | V      | V        |
| 37,5 ppm     | X         | V      | V        |

Tabloda verilere göre  $MİK_{timol/kom.18,75 \text{ ppm}}$ ,  $MİK_{karvakrol/kom. 150 \text{ ppm}}$  ve  $MİK_{küminaldehit/kom. 37,5 \text{ ppm}}$  olarak bulunmuştur.

$$FİK_{timol,karvakrol,küminaldehit} = \frac{18,75}{150} + \frac{150}{300} + \frac{37,5}{300} = 0,75 \quad (4.2. d)$$

Denkleme göre  $FİK$  değeri 1'den küçük olduğundan bu üç antimikrobiyellerin *E.coli* üzerinde sinerjik etki gösterdikleri sonucuna varılmıştır.

Rui Song ve arkadaşları öjenol, sinnamaldehit, timol, karvakrol ve bunların kombinasyonlarının *E.coli*'e karşı etkilerini ayrı ayrı incelemişlerdir. Sinerjik etkilerini dama tahtası metodunu uygulayarak bulmuşlardır. Son olarak da  $FİK$  değerlerini hesaplamışlardır. Timol-karvakrolün sinerjik etkilerinin  $MİK$  değerleri

için timol 200 ppm ve karvakrol 100 ppm olarak bulmuşlardır. FİK değerlerini ise 0,75 olarak bulmuşlardır (Pei vd., 2009).

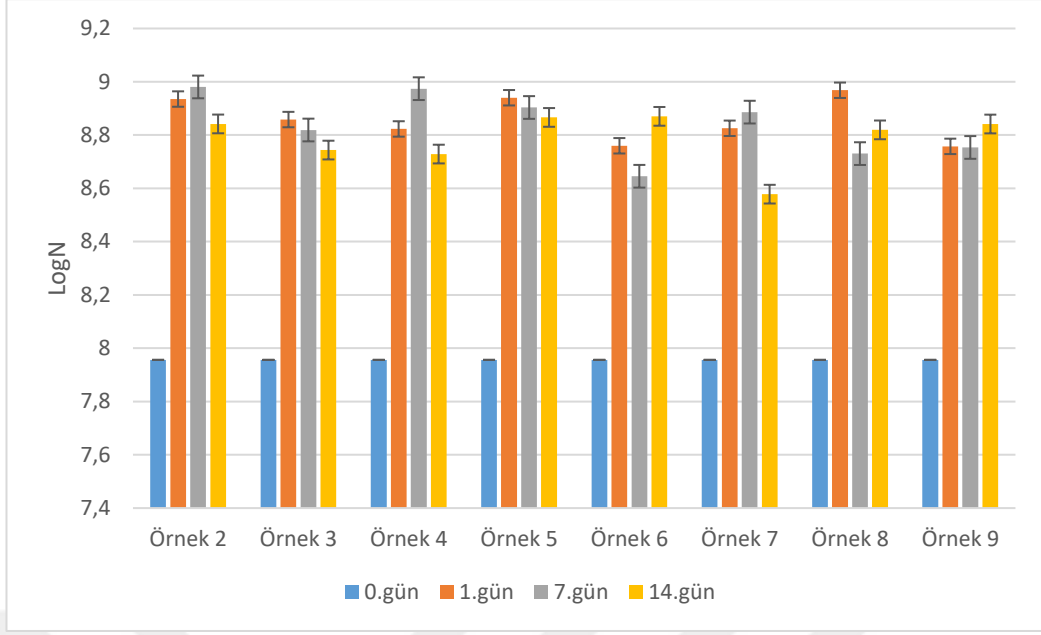
Bu üç bileşen için hiçbir gıda potajenine karşı sinerji çalışması literatürde bulunmadığından karşılaştırma yapılamamaktadır. Bu özelliği ile de çalışma literatüre katkı sağlamaktadır.

#### 4.3 Antimikrobiyellerin Kıyma Üzerinde *E.coli*'ye Etkilerinin Sonucu

Belirlenen MİK değerlerinde kullanılan antimikrobiyellerin tek başlarına ve ikili-üçlü kombinasyonları ile çiğ kıyma örneklerinde *E.coli* ATCC 25922 üzerine depolama boyunca 1, 7 ve 14. günlerde etkileri incelenmiştir. İstatistiksel olarak antimikrobiyellerin ne tek başlarına ne de kombinasyonlarının çiğ kıymada *E.coli* düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ) (Çizelge 4.6). MİK değerlerinde kullanılan antimikrobiyel dozlarının gerçek gıda ortamında yeterli olmadığı düşünülmektedir. Negatif kontrollerde sayım yapılan depolama günlerinin hiçbirinde tespit edilebilir koloni gelişimi görülmemiştir. Pozitif kontrollerde ve antimikrobiyel içeren örneklerde başlangıç yükü 8 log olarak tespit edilmiş, 14. gün sonunda tüm örneklerde 0,6-0,9 log olacak şekilde artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

**Çizelge 4. 6.** Antimikrobiyellerin etkisi için One Way ANOVA tablosu.

|               | Kareler<br>Toplamı | df (serbestlik<br>derecesi) | Kareler<br>Ortalaması | F     | p     |
|---------------|--------------------|-----------------------------|-----------------------|-------|-------|
| Gruplar Arası | 0,118              | 7                           | 0,017                 | 0,096 | 0,998 |
| Grup İçi      | 9,850              | 56                          | 0,176                 |       |       |
| Toplam        | 9,968              | 63                          |                       |       |       |



**Şekil 4.1.** Pozitif kontrol (örnek 2) ve antimikrobiyel uygulanan örneklerde (örnek 3: karvakrol, örnek 4: timol, örnek 5: küminaldehit, örnek 6: karvakrol+timol, örnek 7: karvakrol+küminaldehit, örnek 8: timol+küminaldehit, örnek 9: karvakrol+timol+küminaldehit) bakteri sayısının günlere göre değişimi.

Ma arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, monokaprin ve karvakrolün tavuk etinde *E.coli* O157:H7 'ye karşı MİK değerlerinde uygulanan miktarının inhibisyon sağlamadığını belirlemişlerdir. Bu durumun bizim çalışmamızda olduğu gibi MİK değerinin gerçek gıda ortamında yetersiz kaldığını göstermektedir. Gıdanın kompleks yapısının antimikrobiyelin etkisini engellediği düşünülmektedir. Antimikrobiyellerin MİK değerinden daha yüksek dozlarının hem tek başlarına hem de kombinasyon içinde kullanıldığı çalışmalara gerek duyulmaktadır (Ma vd., 2022).

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan deney sonucunda timolün, karvakrol ve küminaldehitte göre *E.coli* ATCC 25922 suşuna daha fazla antimikrobiyel etki gösterdiği bulunmuştur. İkili kombinasyonun sinerjik etkilerinde timol-küminaldehitin *E.coli* ATCC 25922 bakterisine karşı sinerjik bir etkide bulunmadığı ancak timol-karvakrol, karvakrol-küminaldehit ve üçlü kombinasyonlarının sinerjik etki gösterdiği görülmüştür. Gıda uygulaması olarak çiğ kıymada yapılan çalışmada antimikrobiyeller in vitro etkinlik çalışmasında belirlenen MİK değerlerinde çiğ kıyma örneklerine eklenmiş ve *E.coli* ATCC 25922'e karşı  $p < 0,05$ 'de etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Besiyeri ortamında gerçekleştirilen antimikrobiyel etkinlik testi sonucunda bulunan etkin doz gıdanın karmaşık yapısında aynı etkinliği göstermemekte ve daha yüksek dozlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmayla küminaldehit ilk kez antimikrobiyel olarak bir gıda maddesinde denenmiştir. Karvakrol ile aynı MİK değerine sahip olan küminaldehitin gıda patojenlerine karşı alternatif bir doğal antimikrobiyel olarak değerlendirilebileceği gösterilmiştir. Aynı zamanda güçlü aroma ve koku özellikleri sebebiyle kullanımları kısıtlı olan bu doğal antimikrobiyellerin birlikte kullanımları durumunda sinerjik etkileri sebebiyle daha düşük derişimlerde kullanımı ile duyuşal özelliklere olan olumsuz etkilerinin azaltılma potansiyelinin olduğı söylenebilir.

Et uygulamasında, MİK dozlarında kullanımlarının mikroorganizma sayısında istatistiksel olarak önemli bir değışime neden olmadığı bulunmuştur. Etin karmaşık yapısından kaynaklı olarak tespit edilen MİK değerlerinin gıda ortamında yeterli olmadığı ve daha yüksek dozlara gereksinim olduğı tespit edilmiştir. Gıda ortamında daha yüksek dozlarda denemelerin yapılması önerilmektedir.

Çalışma için kullandığımız doğal antimikrobiyellerin doz miktarları da göz ardı edilmemelidir. Geçmişte yapılan çalışmalar sonucunda kesin bir yargıya varılmasa da yüksek dozlarda kullanılan antimikrobiyellerin memeliler üzerinde toksik etki gösterebileceğı düşünölmektedir. Bu konu üzerinde Stammati ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (1999), bitki uçucu yağları olan sinnamaldehit, karvakrol, timol ve S(+)-karvon doğal antimikrobiyellerini seçerek mikrobiyel ve memeli in vitro üzerinde toksisitelerine bakmışlardır. Yapılan araştırma sonunda gıdalarda bu antimikrobiyellerin düşük dozlarda bulunması gerektiğı, aksi takdirde insanlara zarar verdiğini düşünmektedirler. Bu nedenle doğal antimikrobiyellerin toksikolojik

özelliklerinin bilinmesi önemlidir. Ancak bu konu hakkında sınırlı çalışmalar mevcuttur (Stammati vd., 1999).

Uygulanan test sistemlerinde timol ve karvakrolün genotoksik potansiyelinin çok zayıf olduğu sonucuna varılabilir, ancak DNA seviyesindeki etki olasılıkları, karvakrol için göz ardı edilemez. Sonuçlara göre bu antimikrobiyeller in vivo olarak anlamlı bir etki göstermezlerken in vitro olarak hafif, orta seviyede toksisiteye neden olduğu kanısına varılmıştır (Stammati vd., 1999).

Çalışmada kullanılan karvakrol ve timol gıdalarda antimikrobiyel etkileri açısından sıkça araştırılmış ancak küminaldehitin gıda antimikrobiyeli olarak kullanımı konusunda literatürde çalışma tespit edilmemiştir. Bu bakımdan çalışmamız öncülük edecektir. Aynı zamanda karvakrol, timol ve küminaldehitin birlikte kullanımları durumunda gösterdikleri antimikrobiyel etki konusunda da bu çalışmanın ilk olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Acar, M. S. ve Çiftçioğlu, G., 1997. Kasaplık Hayvan Etleri ve Tavuk Etinden Yapılan Döner Kebapların Mikrobiyolojik Kalitesi Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- Adwan, G. M., Alqarem, B. R. ve Adwan, K. M., 2015. Prevalence Of Foodborne Pathogens In Meat Samples In Palestine, International Food Research Journal, 22, 5, 1806–1812.
- Ağaoğlu, S., Dostbil, N. ve Alemdar, S., 2007. Antimicrobial Activity Of Some Spices Used In The Meat Industry. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 51, 1, 53–57.
- Aksoy, C. S., 2019. Evaluation Of Thymol And Carvacrol As Efflux Pumps Inhibitors In Staphylococcus aureus, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Temel ve Uygulamalı Bilimler Enstitüsü, İstanbul.
- Albarrı, O., 2018. Gıda Kaynaklı ve Klinik Örneklerden İzole Edilen E.coli de Siderofor Genlerinin Oluşumunun Araştırılması ve PFGE Yöntemi ile Escherichia coli Genotipik İlişkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Anjum, T. ve Akhtar, N., 2012. Antifungal Activity Of Essential Oils Extracted From Clove, Cumin And Cinnamon Against Blue Mold Disease On Citrus Fruit. International Conference on Applied Life Sciences, 321–326.
- Arık, Y., 2019. Escherichia coli ( E.coli ) Bakterisinin Kekik Yağı ve Biyosüpfektan Kullanımı ile Antibiyotik Etkinliğinin Artırılmasının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Mersin.
- Aslan, S., 2015. Sığır ve İshalli İnsan Dışkıları ile Bazı Gıdalarda Escherichia coli O157:H7 ve stx1 / stx2 Gen Varlığının Araştırılması, Vol. 3, Issue 7, Doktora Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Afyon.
- Ataş, B., 2019. Assessment of Carvacrol As a Bacterial Efflux Pump Inhibitor, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Lisansüstü Çalışmalar Uygulamalı Bilimler Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, İstanbul.
- Ay, Z., 2013. Nisin, Karvakrol ve Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)'ın Salmonella Enterica Serotip Typhimurium' a Karşı Kombine Antimikrobiyal Etkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Badri, S., Filliol, I., Carle, I., Hassar, M., Fassouane, A. ve Cohen, N., 2009. Prevalence Of Virulence Genes In Escherichia coli Isolated From Food In Casablanca (Morocco), Food Control, 20, 6, 560–564.

- Balpetek, D., 2009. Bazı Et Ürünlerinde E.coli 0157: H7 Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin ve Hijyeni Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya.
- Basile, A., Senatore, F., Gargano, R., Sorbo, S., Del Pezzo, M., Lavitola, A., Ritieni, A., Bruno, M., Spatuzzi, D., Rigano, D. ve Vuotto, M. L., 2006. Antibacterial And Antioxidant Activities In Sideritis Italica (Miller) Greuter Et Burdet Essential Oils, *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 2, 240–248.
- Bayaz Mehmet, 2013. Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri, *Akademik Gıda Dergisi*, 12, 3, 45-53.
- Ben Arfa, A., Combes, S., Preziosi-Belloy, L., Gontard, N. ve Chalier, P., 2006. Antimicrobial Activity Of Carvacrol Related To Its Chemical Structure, *Letters in Applied Microbiology*, 43, 2, 149–154.
- Bülbül, L. E., 2016. Erzurum’da Yetişen Bazı Bitki Türlerinin Uçucu Yağlarının Bileşenleri, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O’Bryan, C. A., ve Ricke, S. C., 2015. Essential Oils As Antimicrobials In Food Systems - A Review, *Food Control*, 54, 111–119.
- Castillo, S., Pérez-Alfonso, C. O., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M. ve Valero, D., 2014. The Essential Oils Thymol And Carvacrol Applied In The Packing Lines Avoid Lemon Spoilage And Maintain Quality During Storage, *Food Control*, 35, 1, 132–136.
- Ceylan, E. ve Fung, D. Y. C., 2004. Antimicrobial Activity Of Spices, *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology*, 12, 1, 1–55.
- Chavan, P. S. ve Tupe, S. G., 2014. Antifungal Activity And Mechanism Of Action Of Carvacrol And Thymol Against Vineyard And Wine Spoilage Yeasts, *Food Control*, 46, 115–120.
- Chouhan, S., Sharma, K. ve Guleria, S., 2017. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils-Present Status and Future Perspectives, *Medicines*, 4, 3, 58.
- Coyle, B. M., 2005. Manual Of Antimicrobial Susceptibility Testing, I. D. Rankin, USA, 53–62.
- Davis, J. L., 2018. Pharmacologic Principles, *Equine Internal Medicine: Fourth Edition*, USA, 79–137.
- De Vincenzi, M., Stamatii, A., De Vincenzi, A. ve Silano, M., 2004. Constituents Of Aromatic Plants: Carvacrol. *Fitoterapia*, 75, 7–8, 801–804.
- Devranbay, Ş., 2016. Kekikli Kimyonlu Beyaz Peynir Üretimi, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.
- Dontorou, C., Papadopoulou, C., Filioussis, G., Economou, V., Apostolou, I., Zakkas, G., Salamoura, A., Kansouzidou, A. ve Levidiotou, S., (2003). Isolation Of Escherichia coli O157:H7 From Foods In Greece, *International Journal of Food Microbiology*, 82, 3, 273–279.

- Dorman, H. J. D. ve Deans, S. G., 2000. Antimicrobial Agents From Plants: Antibacterial Activity Of Plant Volatile Oils, *Journal of Applied Microbiology*, 88, 2, 308–316.
- Eisel, W. G., Linton, R. H. ve Muriana, P. M., 1997. A Survey Of Microbial Levels For Incoming Raw Beef, Environmental Sources, And Ground Beef In A Red Meat Processing Plant, *Food Microbiology*, 14, 3, 273–282.
- El Atki, Y., Aouam, I., Taroq, A., El Kamari, F., Timinouni, M., Lyoussi, B. ve Abdellaoui, A., 2020. Antibacterial Effect Of Combination Of Cinnamon Essential Oil And Thymol, Carvacrol, Eugenol, Or Geraniol, *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 9, 1, 104–109.
- Erdoğan, S., 2020. Aydın Bölgesinde Satışa Sunulan Et ve Et Ürünlerinde *Campylobacter jejuni* ve *Listeria Monocytogenes* Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Aydın.
- Erdoğrul, Ö. ve Ergün, Ö., 2005. Kahramanmaraş Piyasasında Tüketilen Sucukların Bazı Fiziksel, Kimyasal, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özellikleri, 31, 1.
- Faydaoğlu, E. ve Sürücüoğlu, M. S., 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri Ve Kullanım Olanakları, *EÜFBED - Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6, 2, 233–265.
- Friedman, M., 2014. Chemistry And Multibeneficial Bioactivities Of Carvacrol (4-Isopropyl-2-Methylphenol), A Component Of Essential Oils Produced By Aromatic Plants And Spices, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 31, 7652–7670.
- Geçer, A., 2016. Kanatlı Kesimi Aşamalarında *E. coli* O157:H7 Varlığının IMS ve PCR Yöntemleri İle İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Kayseri.
- Geniş, B., 2014. Çiğ Et ve Et Ürünlerinden Bakteriyosinogenik Koagülaz-Negatif Stafilokokların ve Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Starter Kültür Olarak Kullanım Potansiyellerinin Belirlenmesi, Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- Ghosh, V., Mukherjee, A. ve Chandrasekaran, N., 2012. Mustard Oil Microemulsion Formulation And Evaluation Of Bactericidal Activity, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4, 4, 497–500.
- Gill, C. O., Bryant, J. ve Brereton, D. A., 2000. Microbiological Conditions Of Sheep Carcasses From Conventional Or Inverted Dressing Processes, *Journal of Food Protection*, 63, 9, 1291–1294.
- Görece, E., 2019. Organik ve Geleneksel Kekik Yetiştiriciliğinde Bitki Besin Elementlerinin ve Uçucu Yağlarının Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Bilimler Anabilim Dalı, Manisa.

- Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J. ve Galotto, M. J., 2011. The Antimicrobial Activity Of Microencapsulated Thymol And Carvacrol, International Journal of Food Microbiology, 146, 2, 144–150.
- Gündoğdu, E., 2020. Kereviz Tohumu Yağı ve Kereviz Tozunun Sous Vide Paketlenmiş Kıymada *Escherichia coli* O157:H7'nin Isıl Direncine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Sakarya.
- Harmanşay Yılmaz, B., 2020. Bazı Bitkisel Kaynaklı Uçucu Yağların Sazan Balıklarında ( *Cyprinus carpio* ) Görülen Monogenean Parazitler Üzerindeki Antiparazitik Etkisinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Ankara.
- Haşimi, N., Tolan, V., Kizil, S. ve Kiliç, E., 2014. Determination of essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of anise (*Pimpinella anisum* L.) and cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds, Tarım Bilimleri Dergisi, 20, 1, 19–26.
- Hassan Mohamed, M., 2018. Gıda Kaynaklı ve Klinik Örneklerden İzole Edilen *Escherichia coli* Suşlarında Ototransporter Proteinlerin Oluşumunun Araştırılması ve Filogenetik İlişkilerinin PFGE İle Tespiti, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Adana.
- Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M. ve Von Wright, A., 1998. Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 9, 3590–3595.
- Hernández-Ochoa, L., Aguirre-Prieto, Y. B., Nevárez-Moorillón, G. V., Gutierrez-Mendez, N. ve Salas-Muñoz, E., 2014. Use Of Essential Oils And Extracts From Spices In Meat Protection, Journal of Food Science and Technology, 51, 5, 957–963.
- K.R. Badr, Zahra S. Ahmed ve M.S. ElGamal, 2014. Evaluation Of The Antimicrobial Action Of Whey Protein Edible Films Incorporated With Cinnamon, Cumin And Thyme Against Spoilage Flora Of Fresh Beef, International Journal of Agricultural Research, 9, 242-250.
- Kahraman, T., 2020. Gıda Güvenliği ve Hijyeni, İstanbul Üniversitesi, Açık ve Uzaktan Eğitim Fakültesi, Laborant ve Veteriner Sağlık Önlisans Programı, İstanbul.
- Kahraman, Z., 2007. Bitkisel Yem Katkı Maddelerinin Yumurta Tavuğu Yemlerinde Kullanımı, Tavukçuluk Araştırma Dergisi, 8, 34-41.
- Kalemba, D. ve Kunicka, A., 2005. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils, Current Medicinal Chemistry, 10, 10, 813–829.
- Kaplan, E. S., 2017. Isparta İli Çevresindeki Su Kaynaklarında *Escherichia coli* Düzeyinin ve Patotiplerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.

- Karch, H. ve Bielaszewska, M. (2001). Sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 strains: epidemiology, phenotypic and molecular characteristics, and microbiological diagnosis, *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 6, 2043-2049.
- Kaya, M., 2007. Bazı Monoterpen ve Uçucu Yağların, Hücre Çoğalması ve Apoptozis Üzerine Etkilerinin Memeli Hücre Kültürleriyle Araştırılması Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
- Keskin, S. ve Baydar, H., 2016. Umbelliferae Familyasından Bazı Önemli Kültür Türlerinin Isparta Ekolojik Koşullarında Tarımsal ve Teknolojik Özelliklerinin Belirlenmesi, *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20, 1, 133-141.
- Khan, I., Bahuguna, A., Kumar, P., Bajpai, V. K. ve Kang, S. C., 2017. Antimicrobial Potential Of Carvacrol Against Uropathogenic *Escherichia coli* Via Membrane Disruption, Depolarization, And Reactive Oxygen Species Generation, *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-9.
- Kılıç, Ö., 2019. Bazı Bitkilerde Uçucu Yağların Biyoaktif ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ordu.
- Kurul, A., 2014. Bursa Yöresinde Satışa Sunulan Kanatlı Etlerinde *Salmonella* spp. ve *E.coli* O:157 H:7 Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Aydın.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J. ve Nychas, G. J., 2013. A Study Of The Minimum Inhibitory Concentration And Mode Of Action Of Oregano Essential Oil, Thymol and Carvacrol, 33, 1, 21-23.
- Leber, L. A., 2016. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. In *Clinical Microbiology Procedures Handbook*, 5, 20, 1, 1-5, 20, 3, 10.
- Little, C. L. ve De Louvois, J., 1998. The Microbiological Examination Of Butchery Products And Butchers' premises In The United Kingdom, *Journal of Applied Microbiology*, 85, 1, 177-186.
- Ma, M., Zhao, J., Yan, X., Zeng, Z., Wan, D., Yu, P., Xia, J., Zhang, G. ve Gong, D., 2022. Synergistic Effects Of Monocaprin And Carvacrol Against *Escherichia coli* O157:H7 And *Salmonella Typhimurium* In Chicken Meat Preservation. *FoodControl*, 132, 108480.
- Ma, Q., Davidson, P. M. ve Zhong, Q., 2013. Antimicrobial Properties Of Lauric Arginate Alone Or In Combination With Essential Oils In Tryptic Soy Broth And 2% Reduced Fat Milk. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 1, 77-84.
- Macedo, N. T. S. ve Van Der Sand, S. T., 2018. Characterization Of Microorganisms Present In A Slaughterhouse And Beef Processing/Chilling Environment. *Acta Scientiae Veterinariae*, 33, 2, 139.

- Mazarei, Z. ve Rafati, H., 2019. Nanoemulsification Of Satureja Khuzestanica Essential Oil And Pure Carvacrol; Comparison Of Physicochemical Properties And Antimicrobial Activity Against Food Pathogens, *Lwt*, 100, 328–334.
- McCabe-Sellers, B. J. ve Beattie, S. E., 2004. Food safety: Emerging Trends In Foodborne Illness Surveillance And Prevention, *Journal of the American Dietetic Association*, 104, 11, 1708–1717.
- Monteiro-Neto, V., de Souza, C. D., Gonzaga, L. F., da Silveira, B. C., Sousa, N. C. F., Pontes, J. P., Santos, D. M., Martins, W. C., Pessoa, J. F. V., Carvalho Júnior, A. R., Almeida, V. S. S., de Oliveira, N. M. T., de Araújo, T. S., Maria-Ferreira, D., Mendes, S. J. F., Ferro, T. A. F. ve Fernandes, E. S., 2020. Cuminaldehyde Potentiates The Antimicrobial Actions Of Ciprofloxacin Against *Staphylococcus aureus* And *Escherichia coli*, *PLoS One*, 15, 5, 1–14.
- Mustafa, A. S., 2014. Kuzey Irak'ta Üretilen Tavuk Etlerinde E.coli O157:H7 İzolasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı, Kahramanmaraş.
- Nataro, J. P. ve Kaper, J. B., 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*, *Nippon Rinsho, Japanese Journal of Clinical Medicine*, 68 Suppl 6, 1, 203–207.
- Özdemir Özbek, Ç., 2019. Bazı Baharatlardaki Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonları ve Antimikrobiyal Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- Özen, F., 2008. Bitkisel Ekstrakt Kullanımının Tekirdağ Köftesinin Mikrobiyolojik ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Özkaya, F. D. ve Cömert, M., 2008. Gıda Zehirlenmelerinde Etken Faktörler, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65, 3, 149-158.
- Öztürk, U., 2007. Antalya'da Tüketime Sunulan Kıyma ve Kırmızı Et Preparatlarının Mikrobiyolojik Kalitesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknolojisi (Vet.) Anabilim Dalı, Konya.
- Pateiro, M., Munekata, P. E. S., Sant'Ana, A. S., Domínguez, R., Rodríguez-Lázaro, D. ve Lorenzo, J. M., 2021. Application Of Essential Oils As Antimicrobial Agents Against Spoilage And Pathogenic Microorganisms In Meat Products, *International Journal of Food Microbiology*, 337.
- Pei, R. S., Zhou, F., Ji, B. P. ve Xu, J., 2009. Evaluation Of Combined Antibacterial Effects Of Eugenol, Cinnamaldehyde, Thymol And Carvacrol Against *E. coli* With An Improved Method, *Journal of Food Science*, 74, 7.
- Riordan, D. C. R., Duffy, G., Sheridan, J. J., Whiting, R. C., Blair, I. S. ve McDowell, D. A., 2000. Effects Of Acid Adaptation, Product pH, And Heating On Survival Of *Escherichia coli* O157:H7 In Pepperoni, *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 4, 1726–1729.

- Sayın, A. Ü., 2019. Bazı Bitki Uçucu Yağlarının Antibakteriyel Etkilerinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Nevşehir.
- Sezgin, E., 2013. Aydın'da Tüketime Sunulan Kıyma ve Hamburger Köftelerde *Escherichia coli* O157:H7 Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimi Enstitüsü, Besin Hijyeni ve Teknoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- Shetty, R. S., Singhal, R. S. ve Kulkarni, P. R., 1994. Antimicrobial Properties Of Cumin, *World Journal of Microbiology ve Biotechnology*, 10, 2, 232–233.
- Stammati, A., Bonsi, P., Zucco, F., Moezelaar, R., Alakomi, H. L. ve Von Wright, A., 1999. Toxicity Of Selected Plant Volatiles In Microbial And Mammalian Short-Term Assays, *Food and Chemical Toxicology*, 37, 8, 813–823.
- Stammen, K., Gerdes, D. ve Caporaso, F., 1989. Food Science and Nutrition Modified Atmosphere Packaging of Seafood, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37–41.
- Sun, X., Cameron, R. G. ve Bai, J., 2019. Microencapsulation And Antimicrobial Activity Of Carvacrol In A Pectin-Alginate Matrix, *Food Hydrocolloids*, 92, 69–73.
- Tang, J. Y. H., Mohamad Ghazali, F., Saleha, A. A., Nishibuchi, M. ve Son, R., 2009. Comparison Of Thermophilic *Campylobacter* spp. Occurrence In Two Types Of Retail Chicken Samples, *International Food Research Journal*, 16, 3, 277–288.
- Telekoğlu, M. Ç., 2019. Piyasada Satılan Etlerde *Salmonella* spp. ve *E. coli* O157:H7 Varlığının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.
- Temelli, S., 2002. Gıda Zehirlenmesine Neden Olan *E. coli* O157:H7 ve Önemi, *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 21, 133–138.
- Thippeswamy, N. B. ve Naidu, K. A., 2005. Antioxidant Potency Of Cumin Varieties-Cumin, Black Cumin And Bitter Cumin-On Antioxidant Systems, *European Food Research and Technology*, 220, 5–6, 472–476.
- Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., Saija, A., Mazzanti, G. ve Bisignano, G., 2005. Mechanisms Of Antibacterial Action Of Three Monoterpenes, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49, 6, 2474–2478.
- Turgut, N., 2021. Gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 Yaygınlığının Riskleri ve Kontrolü, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi, 101–114.
- Ultee, A., Bennik, M. H. J. ve Moezelaar, R., 2002. The Phenolic Hydroxyl Group Of Carvacrol Is Essential For Action Against The Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*, *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 4, 1561–1568.

- Varoğlu, L., 2000. Vıtex Agnus-Castus Bitkisinden Elde Edilen Uçucu Yağın Kompozisyonu, Özütleme Verimine Etki Eden Parametreler ve Bölgesel Farklılıkların Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü Anabilim Dalı, İzmir.
- Vu, K. D., Hollingsworth, R. G., Leroux, E., Salmieri, S. ve Lacroix, M., 2011. Development Of Edible Bioactive Coating Based On Modified Chitosan For Increasing The Shelf Life Of Strawberries, Food Research International, 44, 1, 198–203.
- Wang, L. H., Zhang, Z. H., Zeng, X. A., Gong, D. M. ve Wang, M. S., 2017. Combination Of Microbiological, Spectroscopic And Molecular Docking Techniques To Study The Antibacterial Mechanism Of Thymol Against Staphylococcus Aureus: Membrane Damage And Genomic DNA Binding, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 409, 6, 1615–1625.
- Wu, Y., Luo, Y. ve Wang, Q., 2012. Antioxidant And Antimicrobial Properties Of Essential Oils Encapsulated In Zein Nanoparticles Prepared By Liquid-Liquid Dispersion Method, LWT - Food Science and Technology, 48, 2, 283–290.
- Xu, D., Wei, M., Peng, S., Mo, H., Huang, L., Yao, L. ve Hu, L., 2021. Cuminaldehyde In Cumin Essential Oils Prevents The Growth And Aflatoxin B1 Biosynthesis Of Aspergillus Flavus In Peanuts, Food Control, 125, October 2020, 107985.
- Yanishlieva, N. V., Marinova, E. M., Gordon, M. H. ve Raneva, V. G., 1999. Antioxidant Activity And Mechanism Of Action Of Thymol And Carvacrol In Two Lipid Systems, Food Chemistry, 64, 1, 59–66.
- Yavaş, E. S., 2015. Gıdalardan İzole Edilen Enterobacteriaceae Türlerinin Amino Asit Dekarboksilaz Aktivitesi Biyofilm Oluşumu ve Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Yılmaz, F., 2019. Uçucu Yağların Çilekte (Fragaria x Ananassa Duch.) Hasat Sonrası Depolama Süresi ve Kalite Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi, Bahçe Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Anabilim Dalı, Kocaeli.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı** : Fatmanur PAMUK

### EĞİTİM BİLGİLERİ (Kurum ve Yıl)

**Lisans** : Erciyes Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü,  
2013-2018

**Yüksek Lisans** : Aksaray Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim  
Dalı, 2019-

### MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLERİ

1. Antalya Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü 2016/ Yaz Stajı
2. İlci Tarım ve Hayvancılık Biyogaz Enerji Üretim San. ve Tic. A.Ş Kırşehir  
2017/ Yaz stajı
3. Erciyes Üniversitesi Safiye Çıkrıkçıoğlu Meslek Yüksekokulu Kayseri 2017/  
Yaz Stajı

### TEZDEN ÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER

#### Kongrelerde Sunulan Sunumlar

1. Yüksek Hidrostatik Basınç ve Karvakrolün Gıda Patojenlerine Birlikte Etkisinin  
Değerlendirilmesi/2. Uluslararası Göbeklitepe Bilimsel Çalışmalar ve İnovasyon  
Kongresi 20-21 Mart 2021/ŞANLIURFA
2. Karvakrol ve Timolün Et ve Et Ürünleri İçin Risk Taşıyan Patojenlere Birlikte  
Etkilerinin Değerlendirilmesi/3. Uluslararası Mühendislik ve Mimarlık Kongresi 28-  
29 Mayıs 2022/DİYARBAKIR