

Esansiyel Yağların Çiğ Köftede *Salmonella*'nın İnaktivasyonu Üzerine Etkileri *

Mehmet ÇALICIOĞLU
Abdullah DİKİCİ

² Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi, Besin
Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

Bu çalışma bazı esansiyel yağların, Türkiye'de yaygın tüketimi olan ve çiğ kıyma içeren bir ürün olan çiğ köftede *Salmonella*'nın yaşamı üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapıldı. Çiğ köfte bir lokanta tarafından hazırlandı, yüksek seviyede ($6.50 \log_{10}$ kob/g) 5 *Salmonella* suşunun karışımıyla inoküle edildi ve daha sonra 6 gruba ayrıldı. Ağırlığının %1.8(v/w)'i oranında I.gruba serum fizyolojik (kontrol), II. gruba carvone, III. gruba cineole, IV. gruba eugenol, V. gruba linalool ve VI. gruba limonen ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Sonra çiğ köfteler 4°C'de 3 saat muhafazaya edildi. Esansiyel yağların uygulanmasından 30 dk ve 3 saat sonra her gruptan alınan çift seri örneklerde XLD agarda *Salmonella* sayıları tespit edildi. Çalışmada, örnekleme zamanına bağlı olmaksızın, kontrol ve limonen grubu hariç bütün gruplarda *Salmonella* sayıları istatistiksel önemde ($P<0.05$) azaldı. Kontrol, carvone, cineole, eugenol, linalool ve limonen gruplarında *Salmonella* sayıları sırasıyla 6.43, 4.77, 5.33, <1.0, 3.90 ve 6.34 \log_{10} kob/g olarak bulundu. Eugenol uygulanan örneklerde patojen sayısı uygulamadan 30 dk sonra bile tespit edilebilir seviyenin ($<1.0 \log_{10}$ kob/g) altına düştü. Ancak, canlı *Salmonella* hücreleri zenginleştirme yoluyla izole edilebildi. İkinci bir deneyde ise, eugenolün minimum antimikrobiyel etki seviyesini belirlemek için çiğ köfte *Salmonella* ile inoküle edildikten sonra 5 gruba ayrıldı. I. grup kontrol olmak (%) üzere, II. gruba %0.5, III. gruba %1.0, IV. gruba %1.5 ve V.gruba %1.8 oranında eugenol ilave edildi. Uygulamadan 1 saat sonra gruplardan alınan çift seri örneklerde patojen sayısı tespit edildi. %1.8, %1.5, %1.0 ve %0.5 oranlarında eugenol uygulanan çiğ köfte örneklerinde patojen sayısı sırasıyla <1.0, 2.60, 3.78 ve 5.45 \log_{10} kob/g, kontrol grubunda ise 6.31 \log_{10} kob/g olarak tespit edildi. Bu çalışmada esansiyel yağların, özellikle eugenolün, duyu etkileri bakımından değerlendirildikten sonra, çiğ köfte gibi üretiminde bakteriyel aşama bulunmayan gıdalarda *Salmonella*'nın nontermal inaktivasyonu için kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Esansiyel yağlar, *Salmonella*, antimikrobiyel, çiğ köfte.

Effects of Essential Oils on Inactivation of *Salmonella* in Çiğ Köfte

This study was undertaken to investigate the effects of selected essential oils on viability of *Salmonella* in çiğ köfte, a commonly consumed snake food in Turkey containing raw ground beef. Çiğ köfte was prepared by a local restaurant, inoculated with high levels of 5-strain mixture of *Salmonella* ($6.50 \log_{10}$ cfu/g), and then divided into 6 groups. Each group was treated with 1.8% levels of normal saline (control), carvone, cineole, eugenol, linalool, or limonen. Treated batches were stored at 4°C for 3h. Duplicate samples were taken from each group 30min and 3h after treatment for enumeration of *Salmonella* using XLD agar. Results indicated that regardless of the sampling interval, the numbers of *Salmonella* were significantly reduced in all treatments except in control and limonen treated samples. *Salmonella* numbers were reduced to 6.43, 4.77, 5.33, <1.0, 3.90 and 6.34 \log_{10} cfu/g in control, carvone, cineole, eugenol, linalool, and limonen groups, respectively. The numbers of pathogen were decreased below of the detection limit even, after 30min in eugenol treated samples. In a second experiment, a batch of çiğ köfte was inoculated with *Salmonella* ($6.45 \log_{10}$ cfu/g) and divided into 5 groups for treatments with eugenol at the levels of 1.8%(v/w), 1.5%, 1.0%, 0.5% or remained untreated (control). The pathogen was enumerated from duplicate samples 1h after treatment. Results indicated that pathogen numbers were decreased to <1.0, 2.60, 3.78 and 5.45 \log_{10} cfu/g in çiğ köfte samples treated with 1.8%,1.5%,1.0% and 0.5% eugenol, respectively and to 6.31 \log_{10} cfu/g in control. These results revealed that essential oils, especially eugenol, may be used for non-thermal inactivation of *Salmonella* in foods that do not have an actual bactericidal step in such as çiğ köfte, after evaluation of their potential sensory effects.

Key Words: Essential oils, *Salmonella*, antimicrobial, çiğ köfte.

Giriş

Ülkemizde, özellikle de Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yaygın olarak tüketilen çiğ köfte halk sağlığını tehdit eden mikrobiyolojik riskler taşımaktadır (1-5). Bu risklerin en önemlilerinden biri gıda kaynaklı gastroenteritlerin en yaygın nedeni olan *Salmonella*'dır.

Geliş Tarihi : 08.09.2008
Kabul Tarihi : 15.09.2008

Yazışma Adresi
Correspondence

Mehmet ÇALICIOĞLU
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Besin Hijyeni ve Teknolojisi
Anabilim Dalı,
23119
Elazığ-TÜRKİYE
mcalicioglu@firat.edu.tr

* I. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 29 Eylül-1 Ekim 2004 Ankara

Çiğ köftenin güvenliği, kullanılan kıyma ve diğer katkı maddelerinin hijyenik kalitelere bağlıdır. Kıymanın, fazla sayıda aerob genel canlı, koliform, stafilkok ve fekal streptokok mikroorganizmaları içerdiği ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehlike oluşturabileceği bilinmektedir. *Salmonella*'nin, ülkemizde kıymalarda bulunma oranı %2-5 arasındadır (6-8). Ayrıca çiğ köfte yapımında kullanılan baharatların da yeterli mikrobiyolojik kaliteye sahip olmadığı ve kullanıldıkları ürünün bozulmasında bir ölçüde etkin rol oynayabilecekleri belirtilmektedir. Küplülü ve ark. (9), Ankara'da satışa sunulan çiğ köfteler üzerine yaptıkları bir çalışmada, incelenen çiğ köfte örneklerinin mikrobiyolojik kalitelerinin kötü olduğunu ve bunların halk sağlığı açısından risk oluşturabileceklerini saptamışlardır. Uzunlu (4), *S. enteritidis* inoküle edilmiş çiğ köfte örneklerinde yaptığı bir çalışmada, hammaddede bulunan mikroorganizma sayılarının, çiğ köftenin farklı muhafaza sıcaklık ve süreleri içerisinde önemli ölçüde değişmeden canlı kaldıklarını ifade etmiştir. Yine İlarıslan (10) tarafından yapılan bir çalışmada, hiçbir ısı işleme tabi olmadan hazırlanan ve tüketilen çiğ köftenin *Escherichia coli* O157:H7 yönünden riskli olduğu ve hijyenik koşullara gerek seyyar satıcılarda, gerekse lokantalarda yeterince uyulmadığı tespit edilmiştir. Arslan ve ark.'nin (1), Elazığ piyasasından topladıkları 45 adet çiğ köfte örneğinde yaptıkları bir çalışmada da, örneklerin %6.6'sında 10^5 - 10^6 /g arasında koagülaz pozitif *S. aureus*, sırasıyla %55.5'inde koliform, %15.5'inde ise fekal streptokok 10^5 - 10^6 /g arasında saptamışlardır. Tüm bu çalışmalar, çiğ köftenin halk sağlığı açısından riskli bir gıda olduğunu ortaya koymasına rağmen, literatürde çiğ köftenin mikrobiyolojik güvenliğini arttırmaya yönelik çalışmalara rastlanmamıştır. Çiğ köftenin mikrobiyel güvenliğini artırılmasında, katı hijyen uygulamalarının yanında antimikrobiyel gıda katkı maddelerinin de kullanılması gerekmektedir. Esansiyel yağlar, doğal kaynaklı olmaları, kendilerine özgü lezzet ve aromaları ve geniş bioaktivite profiline sahip olmaları nedeniyle bu amaçla çiğ köftede kullanılabilecek önemli alternatiflerdir (11-14). Bu maddelerin insan sağlığı açısından, antikanserijen etkiyi (11, 12) de kapsayan çok sayıda olumlu biyolojik aktivitelere sahip oldukları ortaya konmuştur (13). Et ürünlerinde antimikrobiyel olarak, tek yada diğer antimikrobiyellerle kombinasyon halinde kullanıldığında eugenol'un bozulmaya neden olan bakteriler üzerine etkili olduğu rapor edilmiştir (14). Sonuç olarak bu çalışmanın amacı, ön çalışmalar sonucu antimikrobiyel özellikleri nedeniyle seçilmiş bitkisel kaynaklı esansiyel yağ izolatlarının, deneysel olarak *Salmonella* ile kontamine edilmiş çiğ köftede, patojenin yaşamı üzerine olan etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

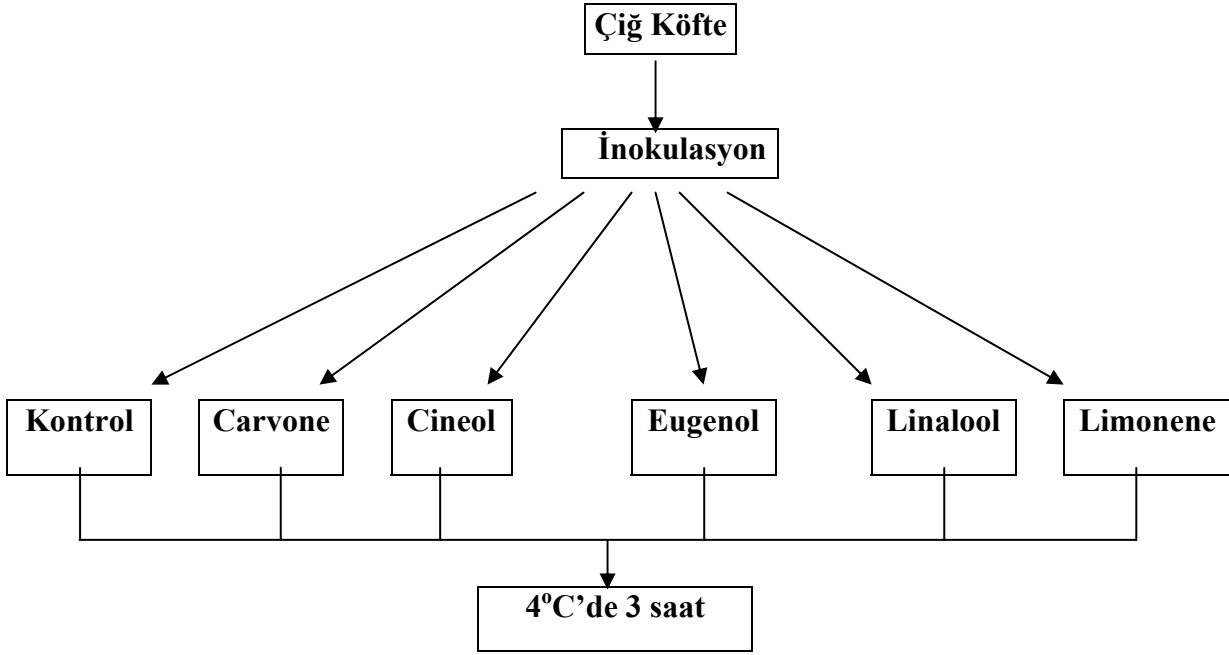
Materyal olarak bir lokantadan müşteriler için hazırlanan taze çiğ köfteler kullanıldı. Esansiyel yağlar ise çiğ köfte içerisine belirli oranlarda direk olarak eklendi. Her bir tekrür için, 1050 g çiğ köfte kullanıldı.

1. İnokulumun hazırlanması: Refik Saydam Hıfzı Sıhha Enstitüsü kültür koleksiyonundan temin edilen 5 farklı *Salmonella* suşu (RSKK 95091, 96046, 19, 91, 92), ayrı ayrı 10 ml'lik nutrient besi yerinde 35°C de 24 saat çoğaltıldı ve santrifüje supernatant uzaklaştırılıp peletler steril serum fizyolojik ile yıkandı. Tekrar santrifüj edildi ve daha sonra tüm peletler %0.1 peptonlu suda süspansiyon haline birleştirilerek 17 ml'ye tamamlandı. Bu karışımdaki patojen yoğunluğu 10^9 kob/ml olarak belirlendi.

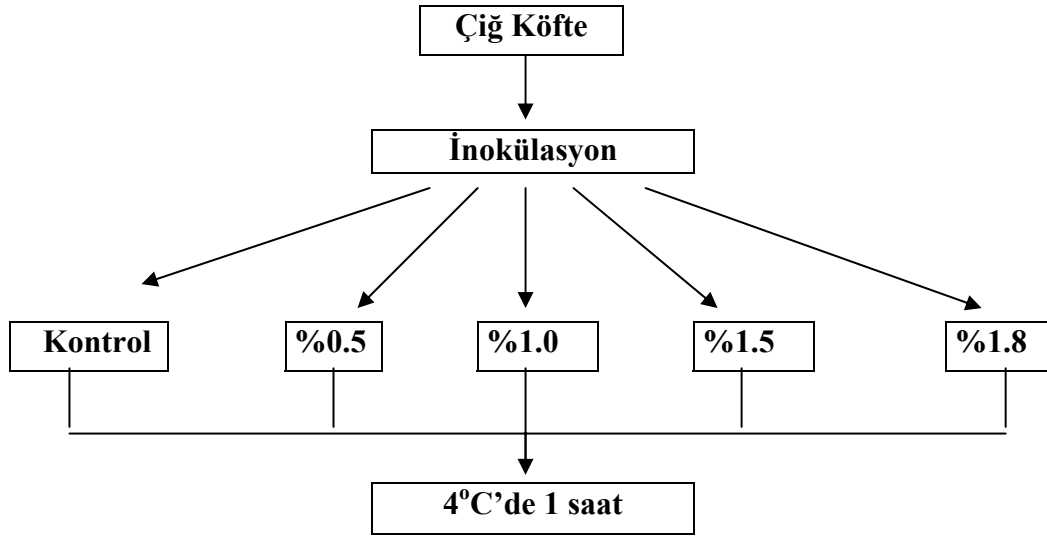
2. Çiğ köftenin inokulasyonu ve esansiyel yağların uygulanması: Deneysel dizaynı gösteren akış şeması Şekil 1' de verilmiştir. İnokulasyondan önce numuneden tuz, pH ve *Salmonella* analizleri için örnekler alındı. Kalan miktara *Salmonella* mix kültürü ilave edildi ve karıştırıldı. İnokulasyon seviyesini belirlemek için alınan 25'şer g'lık iki örnekten sonra kalan 900 g'lık çiğ köfte, 6 eşit gruba ayrıldı. Ağırlığının %1.8(v/w)'i oranında, I.gruba steril serum fizyolojik (kontrol), II. gruba carvone (Sigma-Aldrich), III. gruba cineole (Merck), IV. gruba eugenol (Merck), V. gruba linalool (Merck) ve VI. gruba limonen (Merck) ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Esansiyel yağlar kullanılmadan önce filtrasyonla (0.2 mikron) sterilize edildi. Örnek alınmadan önce çiğ köfteler 15 dk oda sıcaklığında bekletildi ve daha sonra 4°C'de 3 saat muhafaza edildi. Esansiyel yağların uygulanmasından 30 dk ve 3 saat sonra her gruptan alınan çift seri örneklerde XLD agar ekim yapıldı.

3. Örneklerin alınması ve analizi: Her gruptan 0. ve 3. saatlerde 25 g'lık 2'şer örnek alındı. Her örnek 225 ml steril peptonlu suda 2 dk homojenize edildikten sonra 1/10'luk düzende $1/10^8$ 'e kadar seyreltilerek, her dilüsyondan çift seri XLD agar (Acumedia) plaklarına 0.1 ml yüzey yayma yöntemi ile ekimler yapıldı ve 35°C' de 24 saat inkübe edildi (16). Sayım yapılan plaklardan tesadüfen seçilen 3 koloni, polyvalent *Salmonella* antiserumu ile (Serobact, Eurobio) "O" antijenin varlığına bakılarak doğrulandı. Bu sayım tekniğinin duyarlılık seviyesi 10 kob/g' olduğu için, patojen seviyesinin duyarlılık derecesinin altına düştüğü durumlarda sırasıyla 35°C' de 24 saat %0.1 peptonlu suda ve daha sonra 42°C'de 24 saat Rappaport-Vassiliadis (Merck) ve Tetrathionate Broth (Oxoid) besi yerlerinde zenginleştirmeye tabi tutuldu (16).

4. Eugenolün minimum antimikrobiyel etki seviyesinin belirlenmesi: Bu amaçla, çiğ köfte *Salmonella* ile inoküle edildikten sonra 5 gruba ayrıldı. I. grup kontrol olmak üzere %0, II. gruba %0.5, III. gruba %1.0, IV. gruba %1.5 ve V.gruba %1.8 oranında eugenol ilave edildi. Uygulamadan 1 saat sonra gruplardan alınan 3'er örnekten patojen sayısı tespit edildi. Akış şeması şekil 2' de verilmiştir.



Şekil 1: *Salmonella* inokulasyonu ve farklı esansiyel yağların çiğ köfteye ilave edilmesi



Şekil 2: *Salmonella* inokulasyonu ve eugenolün çiğ köfteye ilave edilmesi

5. Diğer analizler: Çiğ köftelerin tuz oranı Mohr yöntemi (15) ile, 3 saatlik bekletmeden sonra gruplardan 1'er örnek alınarak, pH'sı (EDT. GP 353) ve su aktivitesi (Testo 650) belirlendi.

6. Deneysel dizayn ve verilerin istatistiksel analizi: Deneyler 1'er hafta arayla 3 tekrardan oluştu.

Log₁₀ kob/g'a çevrilen veriler "tekerrür sayısı x örnekleme zamanı x test grupları x her test grubundan bir seferde alınan örnek sayısı" olacak şekilde 3x4x6x3 faktöryel dizayna uygun olarak fix etkiler ve değişkenler arası interaksiyonlar yönünden varians analizine tabi tutuldu. General Linear Models (GLM) prosedürlerine göre, en düşük kareler ortalamaları Fisher's Least significant

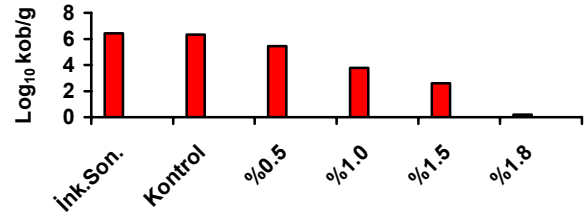
difference (LSD) testi kullanılarak ayrıştırıldı ve bunda istatistiksel önem seviyesi %5 olarak kabul edildi. Su aktivitesi ve pH değerlerinde sadece standart sapma değerleri hesaplandı. Verilerin analizi, Statistical Analysis System (versiyon 6.1, SAS Institute Inc., Cary, North Caroline USA) kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Deneylerde kullanılan çiğ köftelerde *Salmonella*'ya rastlanmadı. Ortalama tuz oranı %2.86±0.56 olarak bulundu. Esansiyel yağların etkileri Tablo 1'de verilmiştir. İnokülasyon sonrası ortalama 6.50 log₁₀ kob/g seviyesindeki *Salmonella*, muhafaza süresine bağlı olmaksızın kontrol ve limonen grubu hariç diğer gruplarda istatistiksel önemde azaldı. Eugenol içeren grupta ise *Salmonella* sayısı direkt ekim yöntemiyle tespit edilebilir seviyenin (1.0 log₁₀ kob/g) altına düştü. Ancak zenginleştirme yöntemiyle *Salmonella* hücreleri izole edilmiştir. *Salmonella* üzerine etkinlik derecesine göre sırasıyla eugenol, linalool, carvone, cineole ve limonen etkili oldu. Esansiyel yağ ilavesi çiğ köftedeki pH ve a_w

değerlerini önemli derecede değiştirmediği gözlemlendi (Tablo 2).

Şekil 3'de ise, farklı düzeylerde eklenen eugenolun *Salmonella* üzerine inaktivasyonu verilmiştir. *Salmonella* sayısında, %0.5 oranında eugenol içeren grup hariç, diğer gruplarda istatistiksel (p ≤ 0.05) bakımdan önemli bir azalma saptandı. %0.5 eugenol içeren grupta 0.85 log₁₀ kob/g azalmaya, %1.8 oranında eugenol içeren grupta ise ≥ 6.30 log₁₀ kob/g azalmaya neden oldu.



Şekil 3: Eugenolün çiğ köftede *Salmonella*'nın inaktivasyonu üzerine etkisi (N=3, n=2)

Tablo 1. Esansiyel yağların çiğ köfteye inoküle edilmiş olan *Salmonella* populasyonu üzerine etkisi (log₁₀ kob/g, ± standart sapma, N=3, n=2).

Örneklem zamanı	Deney Grupları					
	Kontrol	Carvone	Cineole	Eugenol	Linalol	Limonen
İnokülasyon sonrası	6.50±0.29 ^{Az}	6.50±0.29 ^{Az}	6.50±0.29 ^{Az}	6.50±0.29 ^{Az}	6.50±0.29 ^{Az}	6.50±0.29 ^{Az}
Esansiyel yağlar eklendikten sonra (0. saat)	6.43 ±0.36 ^{Az}	4.77 ±0.52 ^{Cy}	5.33 ±0.34 ^{By}	≤ 1.00 ^{Ey}	3.90±0.17 ^{Dy}	6.34 ±0.34 ^{Az}
3. saat	6.42±0.35 ^{Az}	4.69±0.42 ^{Cy}	5.58±0.35 ^{By}	≤ 1.00 ^{Ey}	3.96±0.32 ^{Dy}	6.25±0.23 ^{Az}

ABCDE: Aynı sırada yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).

zy: Aynı sütunda yer alan ortalamalardan farklı üst simgeyi taşıyanlar istatistiksel bakımdan farklıdır (P<0.05).

Tablo 2. *Salmonella* ile inoküle edildikten sonra esansiyel yağlarla muamele edilen çiğ köfte örneklerinin ortalama pH ve a_w değerleri (log₁₀ kob/g ± standart sapma, n=3) .

	Deney Grupları					
	Kontrol	Carvone	Cineole	Eugenol	Linalol	Limonen
pH ^a	4.88 ± 0.16	4.92 ± 0.14	4.89 ± 0.13	4.93 ± 0.13	4.94 ± 0.11	4.94 ± 0.12
a _w ^a	0.875±0.021	0.873±0.019	0.906±0.021	0.877±0.020	0.883±0.013	0.881±0.016

a : pH ve a_w değerleri çiğ köfteler 4°C' de 3 saat tutulduktan sonra belirlenmiştir

Tartışma

Çiğ köfte, *Salmonella* için bakteriyostatik bir ortama sahiptir (4). Bu patojen, sayısında önemli bir azalma meydana gelmeksizin, uzun bir süre (24 saat) çiğ köftede canlılığını devam ettirebilmektedir. Tüketici sağlığını tehdit edebilecek bu riskin önlenmesi yada minimize edilmesi için, *Salmonella*'nın yaşamı üzerine hızlı etkiye sahip antimikrobiyel katkı maddelerinden yararlanılabilir. Bu çalışmada, GRAS statüsünde olan eugenol, linalool, carvone ve cineolun çiğ köftede *Salmonella*'yı inaktive etmek için kullanılabilecekleri ortaya konmuştur. Kim ve ark. (17), çok sayıda esansiyel yağın sıvı besi yerinde *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium ve *Vibrio vulnificus*'un yaşamı üzerinde etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacıların elde ettiği sonuçlar, 250 µg/ml konsantrasyonda bakterisidal etkisi yönünden carvacrol en etkili bulunurken, limonene ve linalool en az etkili bulunmuştur. Eugenol ise orta derecede etkili bulunmuştur. Gıdalarda yapılan çalışmaların çoğunluğunu, değişik bitkilerin ham ekstraktlarından elde edilen karışım halindeki yağlar (nane yağı, hardal yağı, biberiye yağı vb.) oluşturmaktadır (18). Bu çalışmaların sonucunda elde edilen antimikrobiyel etkinin, karışım halindeki yağı oluşturan hangi spesifik madde yada maddelerden kaynaklandığı bilinmemektedir. Ayrıca, bu ham

ekstraktlarda toksik maddelerin de bulunabileceğinden, gıdalara karışım halindeki ham ekstraktlar yerine, antimikrobiyel etkisi bilinen spesifik esansiyel yağların ilavesi daha güvenilirdir. Nitekim, *L. monocytogenes* ile inoküle edilmiş dilimlenmiş-rosto sığır etinin yüzeyine, eugenol sürülerek uygulandığında (0.1ml/25 dilim) bu patojenin sayısında azalmaya neden olduğu ortaya konmuştur (19). Benzer sonuçları ısı işlemi görmüş tavuk göğüs etlerinde de ortaya konmuş ve eugenolün yüzeyde oluşturduğu antilisterial etkiden yararlanılabileceği ifade edilmiştir (20). Bu çalışmamızda, esansiyel yağlardan eugenolün %1.8 oranında kullanıldığında *Salmonella* sayısında 6.0 log₁₀ kob/g' in üzerinde bir azalmaya neden olması, bu maddenin ısı işlem uygulanmayan gıda işleme teknolojileri için etkili bir alternatif antimikrobiyel katkı maddesi olarak düşünülebileceğini göstermektedir. Bu esansiyel yağların güçlü aromaya sahip olmalarından dolayı, çiğ köftede kullanımları tavsiye edilmeden önce, ürünün duyuusal nitelikleri üzerine olan etkisi araştırılmalıdır.

Teşekkür

Bu çalışma Fırat Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Fonundan desteklenmiştir (proje No: 949). Deneyde kullanılan çiğ köftayı sağladıkları için Öz Urfa Lahmacun ve Çiğ köfte Salonları sahibi Celal - İbrahim BURCUK'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

1. Arslan A, Güven A, Saltan S ve Patır B. Elazığ'da tüketime sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg. 1992; 6(1,2):13-17.
2. Pekel Ç. ve ark. Çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi. 1. Bölgesel Öğrenci Gıda Sempozyumu, Çukurova Üniv., Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana 17-18 Nisan 2003.
3. Sağun E, Alisharlı M, Durmaz H. Farklı sıcaklıklarda muhafazanın çiğ köftede *Staphylococcus aureus*'un gelişimi ve enterotoksin üretimi üzerine etkisi. Turk J Vet. Anim. Sci. 2003;27: 839-845.
4. Uzunlu S. Çiğ köftenin mikrobiyolojik kalitesi ve farklı muhafaza sıcaklık ve sürelerindeki mikrobiyal değişimin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Antalya, Akdeniz Üniv., Fen Bil. Enst., 2002.
5. Pehlivanlar S, Şireli UT. Enterotoksijenik *Bacillus cereus*'ün çiğ köftede enterotoksin oluşturma yeteneğinin belirlenmesi. Fırat Üniv. Sağlık Bil. Derg. 2004;18(1): 45-50.
6. Erol İ. Ankara'da tüketime sunulan kıymalarda *Salmonella*'ların varlığı ve serotip dağılımı. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 1999;23: 321-325.
7. Gökalp HY, Yetim H, Karacam H. Some saprophytic and pathogenic bacteria levels of ground beef sold in Erzurum, Turkey. In: Proceeding of 2nd World Congress of Foodborne Infections and Intoxications. Berlin, 1982, 310-313.
8. Sarıgöl C. Elazığ'da tüketilen kıymalarda *Clostridium* ve *Enterobacteriaceae* grubu mikroorganizmaların varlığı üzerinde araştırmalar. Fırat Üniv. Vet. Fak. Dergisi. 1982; 7: 179-186.
9. Küplülü Ö, Sarımehtemioğlu B ve Oral N. The microbiological quality of çiğ köfte sold in Ankara. Turk J Vet. Anim. Sci. 2003; 27: 325-329.
10. İlarıslan N. İstanbul ilinde satışı sunulan çiğ köftelerin mikrobiyolojik kalitesi üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans tezi, Edirne, Trakya Üniv., Fen Bil. Enst. 2002.
11. Crowell PL, Kennan WS and Haag JD. Chemoprevention of mammary carcinogenesis by hydroxylated derivatives of d-limonene. Carcinogenesis. 1992;13(7): 1261-1264.
12. Crowell PL. Monoterpenes in breast cancer chemoprevention. Breast Cancer Research and Treatment. 1997;46: 191-197.
13. Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 2003;10: 813-829.
14. Blaszyk M, Holley R. Interaction of monolaurin, eugenol and sodium citrate on growth of common meat spoilage and pathogenic organisms. Int. J. Food. Microbiol. 1998; 39:175-183.
15. Tolgay Z, Tetik İ. *Muhtasar gıda kontrolü ve analizleri kılavuzu*. Ege Matbaası, Ankara, 1964.
16. Calicioglu M., Sofos JN, Samelis J, Kendall PA, and Smith G.C. Effect of acid adaptation on inactivation of *Salmonella* during drying and storage of beef jerky treated with marinades. Int. J. Food Microbiol. 2003; 89: 51-65.

17. Kim J, Marshall MR and Wei C. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. J. Agric. Food Chem. 1995; 43: 2839-2845.
18. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food-a review. Inter. J. Food Microbiol. 2004; 94:223-254.
19. Hao YY, Brackett RE and Doyle MP. Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila* by plant extracts in refrigerated cooked beef. J. Food Protect. 1998; 61: 307-312.
20. Hao YY, Brackett RE and Doyle MP. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated cooked poultry. Food Microbiol. 1998;15: 367-378.