

T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BIYOLOJİ ANABİLİM DALI

LEVREK *Dicentrarchus labrax* L. VE ÇİPURA *Sparus aurata* L. BALIKLARINDAN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERE KARŞI ÜZERLİK *Peganum harmala* L.,
MUSKAT *Myristica fragrans* Houtt. VE KARANFİL
Syzygium aromaticum L. BİTKİ EKSTRELERİNİN
ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BALIK RAF
ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DUYGU KIRAÇ

HAZİRAN 2021

MUĞLA

**T.C.
MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**LEVREK *Dicentrarchus labrax* L. VE ÇİPURA *Sparus
aurata* L. BALIKLARINDAN İZOLE EDİLEN
BAKTERİLERE KARŞI ÜZERLİK *Peganum harmala* L.,
MUSKAT *Myristica fragrans* Houtt. VE KARANFİL
Syzygium aromaticum L. BİTKİ EKSTRELERİNİN
ANTİBAKTERİYEL VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BALIK RAF
ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DUYGU KIRAÇ

HAZİRAN 2021

MUĞLA

MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ ONAYI

DUYGU KIRAC tarafından hazırlanan **Levrek *Dicentrarchus labrax* L. ve çipura *Sparus aurata* L. balıklarından izole edilen bakterilere karşı üzerlik *Peganum harmala* L., muskat *Myristica fragrans* Houtt. ve karanfil *Syzygium aromaticum* L. bitki ekstrelerinin antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması ve balık raf ömrü üzerine etkileri başlıklı tezinin **28/06/2021** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans derecesi için gerekli şartları sağladığı oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.**

TEZ SINAV JÜRİSİ

Doç. Dr. Daniela GIANNETTO (Danışman)

İmza:

Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Prof. Dr. Ali Serhan TARKAN (Üye)

İmza:

Su Ürünleri Anabilim Dalı, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Dr. Öğr. Üyesi Sevan AĞDAMAR (Üye)

İmza:

Gökçeada Uygulamalı Bilimler Y.O., Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi,
Gökçeada/Çanakkale

ANA BİLİM DALI BAŞKANLIĞI ONAYI

Prof. Dr. Hasan Sungur CİVELEK

İmza:

Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Doç. Dr. Daniela GIANNETTO

İmza:

Danışman, Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Muğla

Savunma Tarihi: 28/06/2021

Tez çalışmalarım sırasında elde ettiğim ve sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgelerin tarafımdan bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde edildiğini; akademik ve bilimsel etik kurallarına uygun olduğunu beyan ederim. Ayrıca, akademik ve bilimsel etik kuralları gereği bu tez çalışması sırasında elde edilmemiş başkalarına ait tüm orijinal bilgi ve sonuçlara atıf yapıldığını da beyan ederim.

Duygu KIRAÇ

28/06/2021

ÖZET

**LEVREK *Dicentrarchus labrax* L. VE ÇİPURA *Sparus aurata* L.
BALIKLARINDAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERE KARŞI ÜZERLİK
Peganum harmala L., MUSKAT *Myristica fragrans* Houtt. VE KARANFİL
Syzygium aromaticum L. BİTKİ EKSTRELERİNİN ANTİBAKTERİYEL VE
ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BALIK RAF
ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Duygu KIRAÇ

Yüksek Lisans Tezi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Daniela GIANNETTO

Haziran 2021, 72 sayfa

Son yıllarda nüfusun giderek artmasıyla birlikte besin ve protein ihtiyacını karşılayabilmek adına su ürünleri yetiştiriciliğine verilen önemin artırılması amaçlanmaktadır. Balık yetiştiriciliğinde artan üretime paralel olarak hastalık problemleri sıklıkla yaşanmaktadır. Yüksek stoklama yoğunluğu, bakteriyel hastalıkların yaygın olarak görülmesine neden olmaktadır. Eğer tedavi yapılmazsa; balık ölümlerinden, büyümenin yavaşlamasından dolayı büyük ekonomik kayıplar olabilmektedir. Bu nedenle balık yetiştiriciliğinde hastalıklara karşı etkin ve doğal tedavi yöntemlerinin belirlenmesi önemlidir.

Ege Bölgesi'nde deniz balıkları yetiştiriciliğinde ve ticaretinde çipura (*Sparus aurata* L. 1758) ve levrek (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) en çok tercih edilen balıktır. Çipura, Sparidae familyasına ait bentik bir balık türüdür. Levrek ise Moronidae familyasına aittir. Her iki balık türü de gerek lezzeti gerekse besinsel değerinin yüksek olması nedeni ile tercih edilmektedir.

Su ürünleri yetiştiriciliği, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından Dünya'da en hızlı büyüyen gıda üretim sektörü olarak belirlenmiştir. Bizim de ihracatını yapmış

olduğumuz su ürünlerinin %27 kadarını karşılayan çipura ve yaklaşık olarak %37 kadarını karşılayan levrek balığına talebin giderek artmasından dolayı depolama kapasiteleri de artmaktadır. Bu da raf ömürlerini uzatmak amacıyla sentetik antimikrobiyal ajanların kullanımına dikkat çekmektedir. Fakat sentetiklerin kullanımı çevreye ve diğer organizmalara zarar vermekle birlikte bakterilerin direnç geliştirmesine sebep olmaktadır. Ayrıca bu ajanların kalıntıları insan sağlığı için de önem arz etmektedir. Raf ömürlerini uzatmak amacı ile daha doğal olan, tıbbi olarak da kullanılabilen bitkilere yönelim giderek artmaktadır. Genel olarak gökkuşağı alabalığı, sazangiller ve levrek balıkları üzerinde raf ömrünü uzatmak amacıyla farklı bitki ekstreleri ile çalışılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak çipura ve levrek balığına olan önemin bu kadar artmasının yanında yeterli sayıda deneysel çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada, 3 farklı bitkinin (üzerlik; *Peganum harmala* L., muskat; *Myristica fragrans* Houtt., karanfil; *Syzygium aromaticum* L.) ekstrelerinin çipura ve levrek balığından izole edilen bakterilere karşı antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri ile bitki ekstrelerinin balıkların raf ömrüne etkisi belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara dayanarak, kullanılmış olan 3 bitkinin antibakteriyel ve antioksidan olarak kullanımının raf ömrüne olumlu olarak etki gösterdiği görülmüştür. Sonraki çalışmalar için bu bitkilerin farklı konsantrasyonlarda ve diğer organizmalara karşı antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerine ve gıda sektöründe kullanımlarına yönelik daha detaylı çalışmalar önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Çipura, Levrek, Üzerlik, Muskat, Karanfil, Antibakteriyel Aktivite, Antioksidan Aktivite, Raf Ömrü

ABSTRACT

**INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT
ACTIVITIES OF WILD RUE *Peganum harmala* L., NUTMEG TREE *Myristica
fragrans* Houtt. AND CLOVE *Syzygium aromaticum* L.'S PLANTS EXTRACTS
AGAINST BACTERIA ISOLATED FROM SEA BASS (*Dicentrarchus labrax*
L.) AND SEA BREAM (*Sparus aurata* L.) FISH AND THEIR EFFECTS ON
FISH SHELF LIFE.**

Duygu KIRAÇ

Master Thesis (M.Sc.)

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biological

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Daniela GIANNETTO

June 2021, 72 pages

World population growing has emphasised the importance of aquaculture as an alternative tool to meet the increasing nutritional and protein needs. Unfortunately, diseases are frequently experienced in parallel with the increasing production in fish farming due to high stocking density. An unappropriated treatment can cause large economic losses due to fish deaths and slowing growth. For this reason, it is important to determine effective and natural treatment methods against diseases in fish farming. Sea bream (*Sparus aurata* L. 1758) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) are the most preferred fish in fish farming and trade in the Aegean Region. Sea bream is a benthic fish species belonging to the Sparidae family. Sea bass belongs to the Moronidae family. Both types of fish are preferred because of their taste and high nutritional value. Aquaculture has been determined as the fastest growing food production sector in the world by the Food and Agriculture Organization (FAO). Storage capacities are also increasing due to the increasing demand for sea bream, which covers 27% of the seafood we export, and sea bass, which meets approximately 37%. This draws attention to the use of synthetic antimicrobial agents to extend their shelf life. However, the use of synthetics can cause bacteria resistance as well as harming the environment and organisms. In addition, the residues of these agents can

also be dangerous for human health. In order to extend their shelf life, the trend towards more natural and medicinal plants is increasing. In general, different plant extracts have been studied on rainbow trout, carp and sea bass in order to extend their shelf life and successful results have been obtained. However, there are not enough experimental studies besides the increase in importance to bream and sea bass fish.

In this study, the antibacterial and antioxidant activities of extracts of 3 different plants (wild rue *Peganum harmala* L., Nutmeg tree *Myristica fragrans* Houtt. and Clove *Syzygium aromaticum* L.) against bacteria isolated from sea bream and sea bass and the effect of these plant extracts on the shelf life of fish will be determined.

On the basis of the obtained results, the 3 plants extract gave antibacterial and antioxidant positive effects on the fillet shelf life.

More detailed studies on antioxidant and antimicrobial activities of these plants against other organisms at different concentrations and their use in the food industry are recommended for future studies.

Keywords: Sea Bass, Sea Bream, Wild Rue, Nutmeg Tree, Clove, Antibacteria Activities, Antioxidant Activities, Shelf Life.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam boyunca bana her konuda destek olan, kendimi geliştirmem için beni destekleyen değerli danışmanım Doç. Dr. Daniela GIANNETTO'ya sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmalarında yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Gülten ÖKMEN ve Mikrobiyal Biyoteknoloji laboratuvarı arkadaşlarımdan Biyolog İrem ÇAMUR'a, Biyolog Rıdvan TEKİN'e, Biyolog Kutbettin ARSLAN'a, Araş. Gör. Dr. Şükrü Serter ÇATAV'a teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca, her anımda yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini benden bir an bile esirgemeyen babam Koca KIRAÇ, annem Gülüşan BİLİCİ ve kız kardeşim Gamze Eda KIRAÇ'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel araştırma Projesi (BAP 20/111/04/1/6. 2020-2021) tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı ilgili kuruma teşekkürlerimi sunuyorum.

Aileme ithafen...



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	VI
İÇİNDEKİLER	IX
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
1.1. Literatür Özeti	3
1.2. Balıklar	11
1.2.1. Çipura (<i>Sparus aurata</i> L. 1758)	11
1.2.2. Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i> Linnaeus, 1758)	12
1.3. Bitkiler	14
1.3.1. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	14
1.3.2. Muskat (<i>Myristica fragrans</i> Houtt.)	16
1.3.3. Üzerlik (<i>Peganum harmala</i> L.)	17
2.1. MALZEME	20
2.1.1. Balıklar	20
2.1.2. Organizmalar	20
2.1.3. Bitkiler	21
2.2. YÖNTEM	21
2.2.1. Bitki örneklerinin ve özütlerinin hazırlanması	21
2.2.2. Balık örneklerin hazırlanması	22
2.2.3. Bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu	22
2.2.4. In vitro antibakteriyel aktivitenin saptanması	23
2.2.5. Minimum inhibitör konsantrasyonunun saptanması (MİK)	23
2.2.6. Enzimatik olmayan antioksidan aktivitenin saptanması	23
2.2.7. Balık filetolarının bitki ekstraktlarına daldırılması	24
2.2.8. Paketleme ve depolama	24
2.2.9. Balıklarda raf ömrü ve kalite kriterlerinin belirlenmesi	25
2.2.9.1. pH ölçümü	25
2.2.9.2. Mikrobiyolojik Analizler	25
2.2.9.3. Tiyoarbitürik asit reaktif maddelerinin tayini	25
3.1. Mikroorganizmaların identifikasyonu	27
3.2. In vitro antibakteriyel aktivitenin saptanması	31
3.3. Minimum inhibitör konsantrasyonunun saptanması (MİK)	36
3.4. Enzimatik olmayan antioksidan aktivitenin saptanması	37

3.5. pH Ölçümü	39
3.6. Mikrobiyolojik analizler.....	39
3.7. MDA Analizi.....	43
KAYNAKÇA	62
ÖZGEÇMİŞ.....	71



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Levrek ve çipura boy-ağırlık ortalamaları	22
Çizelge 2. Balıktan izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonu sonuçları	30
Çizelge 4. Bitki ekstrelerinin balıktan izole edilen bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri	36
Çizelge 5. Bitki ekstrelerinin minimum inhibitör konsantrasyonları (µg/ml)	37
Çizelge 6. Bitki ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri (300 mg/ml).....	38
Çizelge 7. Çipura pH değerleri.....	39
Çizelge 8. Levrek pH değerleri	39
Çizelge 9. Çipura filetolarındaki toplam laktik asit bakteri sayıları	40
Çizelge 10. Çipura filetolarındaki toplam aerobik bakteri sayıları	41
Çizelge 11. Çipura filetolarındaki toplam psikrofilik bakteri sayıları	41
Çizelge 12. Levrek filetolarındaki toplam laktik asit bakteri sayıları.....	42
Çizelge 13. Levrek filetolarındaki toplam aerobik bakteri sayıları.....	42
Çizelge 14. Levrek filetolarındaki toplam psikrofilik bakteri sayıları.....	43
Çizelge 15. 0. gün çipura Tukey Post-Hoc testi.....	44
Çizelge 16. 0. gün levrek Tukey Post-Hoc testi.....	44
Çizelge 17. 5. gün çipura Tukey Post-Hoc testi.....	45
Çizelge 18. 5. gün levrek Tukey Post-Hoc testi.....	45
Çizelge 19. 10. gün çipura Tukey Post-Hoc testi.....	46
Çizelge 20. 10. gün levrek Tukey Post-Hoc testi.....	47
Çizelge 21. 15. gün çipura Tukey Post-Hoc testi.....	48
Çizelge 22. 15. gün levrek Tukey Post-Hoc testi.....	48
Çizelge 23. Kontrol Tukey Post-Hoc testi.....	49
Çizelge 24. Üzerlik su Tukey Post-Hoc testi.....	50
Çizelge 25. Üzerlik metanol Tukey Post-Hoc testi	51
Çizelge 26. Muskat su Tukey Post-Hoc testi.....	52
Çizelge 27. Muskat etanol Tukey Post-Hoc testi.....	53
Çizelge 28. Karanfil su Tukey Post-Hoc testi	55
Çizelge 29. Karanfil etanol Tukey Post-Hoc testi	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. <i>Sparus aurata</i> (çipura)	11
Şekil 2. <i>Dicentrarchus labrax</i> (levrek)	12
Şekil 3. <i>Syzygium aromaticum</i> (Karanfil).....	14
Şekil 4. <i>Myristica fragrans</i> (Muskat)	16
Şekil 5. <i>Peganum harmala</i> (Üzerlik).....	17
Şekil 6. Balık örnekleri: çipura ve levrek	20
Şekil 7. Stoklanmış olan bakteri örnekleri.....	21
Şekil 8. Ç1 ve Ç2 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu.....	27
Şekil 9. Ç3 ve Ç4 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu.....	28
Şekil 10. Ç5 ve Ç6 kültürlerin Gram boyama reaksiyonu.....	28
Şekil 11. L1 ve L2 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu.....	28
Şekil 12. L3 ve L4 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu.....	29
Şekil 13. L5 ve L6 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu.....	29
Şekil 14. L7 ve L8 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu.....	29
Şekil 15. Çipura ve levrek için disk difüzyon plakları.....	34
Şekil 16. Çipura disk difüzyon plakları.....	34
Şekil 17. Levrek disk difüzyon plakları	35
Şekil 18. Bitkilerin DPPH süpürme aktiviteleri.....	38
Şekil 19. MDA 0. günde filetolara uygulanan bitki ekstraktları ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları.....	43
Şekil 20. MDA 5. günde filetolara uygulanan bitki ekstraktları ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları.....	44
Şekil 21. MDA 10. günde filetolara uygulanan bitki ekstraktları ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları.....	46
Şekil 22. MDA 15. günde filetolara uygulanan bitki ekstraktları ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları.....	47
Şekil 23. MDA kontrol grubunda günler arasındaki MANOVA sonuçları	49
Şekil 24. MDA üzerlik su ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları.....	50
Şekil 25. MDA üzerlik metanol ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları.....	51
Şekil 26. MDA muskat su ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları	52
Şekil 27. MDA muskat etanol ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları	53
Şekil 28. MDA karanfil su ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları	54
Şekil 29. MDA karanfil etanol ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları	55

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Derece santigrat
ppm	Milyonda bir birim
v/w	Hacimde Ağırlıkça Yüzde
µg	Mikrogram
g	Gram
ml	Mililitre
m	Metre
cm	Santimetre
DPPH	Difenil Pikril Hidrazin
TCA	Trikloroasetik Asit
TBA	Tiyobarbitürik asit
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
MDA	Malonaldehit
EO	Esansiyel Yağlar
IUCN	Dünya Doğa ve Doğal Kaynakları Koruma Birliği

1. GİRİŞ

Günümüzde nüfusun hızla artmasıyla birlikte gerek dünyada gerekse Türkiye’de balık üretimine olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Fiziksel ve biyolojik koşulların giderek bozulması, avlanma giderlerindeki artışlar vb. sebeplerden dolayı son yıllarda kültür balıkçılığına olan eğilim de artış göstermiştir (Gür 2013).

Üç tarafımızın denizlerle çevrili olmasına rağmen, su ürünleri tüketimi bakımından oldukça geride olan ülkemizde son yıllarda balık tüketiminde hızlı bir artış görülmüştür. Ülkemizde özellikle az kılçıklı ve lezzetli ete sahip olmasından dolayı tercih edilen çipura (*Sparus aurata* L.) ve levrek (*Dicentrarchus labrax* L.) balığının üretimi giderek artmaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu’ndan (TÜİK 2020) elde edilen son verilere göre çipura üretiminde, Türkiye genelinde son 5 yılda yaklaşık olarak 47 bin ton; levrek üretiminde ise yaklaşık olarak 63 bin ton artış olmuştur. Bu artışın büyük çoğunluğunu İzmir ve Muğla illeri karşılamakta ve levrek ile çipura ticareti de en çok bu iki ilde yapılmaktadır. Denizlerde yetiştiriciliği yapılan önemli iller arasında birinci sırada %42.8 ile Muğla ili gelmektedir. 2019 yılında yaklaşık olarak 99730 ton çipura ve 137419 ton levrek üretilmiştir. Aynı zamanda ihracatı yapılan 1025617723 \$ değerindeki 200226 ton su ürünlerinin yaklaşık %27’ sini çipura, %37’ sini levrek karşılamaktadır (TÜİK 2020).

Balık yetiştiriciliğinde artan üretimle birlikte hastalıkların sıklıkla yaşandığı görülmektedir. Yüksek stoklama yoğunluğu, bakteriyel hastalıkların yaygın olarak görülmesine neden olmaktadır. Bu hastalıkların tedavileri yapılmadığında; balık ölümlerinden ve büyümenin yavaşlamasından dolayı büyük ekonomik kayıplar olabilmektedir. Bu sebeple balık yetiştiriciliğinde hastalıklara karşı doğal ve etkin tedavi yöntemlerinin belirlenmesi önemlidir. Balık ve diğer deniz ürünleri, temelde mikrobiyolojik nedenlerden dolayı oldukça çabuk bozulan gıda ürünleridir (Ekici ve ark. 2011; Hassoun ve Çoban, 2017).

Ayrıca su ürünleri yetiştiriciliğinde bulaşıcı hastalıkların görülme sıklığının artmasına bağlı olarak bu hastalıklar için sentetik antimikrobiyal ajanların kullanılması çevre için zararlı olmakla birlikte, hedef olmayan organizmaların etkilenmesi ve dirençli bakterilerin ortaya çıktığı görülmektedir (Türker ve ark. 2009).

Ticari açıdan değer kazanan çipuranın da diğer balıklarda olduğu gibi tavsiye edilen tüketim süresi oldukça kısadır. Çünkü balıklar ölümden sonra mikroorganizmalar için uygun bir ortam haline gelmektedir. Mikroorganizmaların birikimi balık etinde tazelik kaybına, ardından ise bozulma olarak tanımlanan bir süreçten oluşmaktadır (Barat ve ark. 2013). Balık etinin bozulması çoğunlukla yağ içeren kısımlarda görülür. Çipura balığının yağındaki doymamış yağ asitlerinin oranı yaklaşık %70'tir. Bu yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu balık etindeki bozulmanın ana sebebi olan tiyobarbitürik asit (TBA) açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan TBA nedeni ile okside olmuş ürünlerde acımsı bir tat ve sarı – kahverengi renk değişimi görülmektedir (Liu ve ark. 2011; Kuzgun 2014). Bu nedenle, balık kalitesindeki düşüşü geciktirmek, balıkların raf ömrünü uzatmak, mikroorganizmaların büyümesini engellemek ve yağ oksidasyonunu azaltmak amacı ile farklı saklama koşullarına başvurulmaktadır (Barat ve ark. 2013). Gıda endüstrisinde gıda muhafaza sürelerini artırabilmek için bitki ekstraktlarının kullanımının gün geçtikçe yoğunlaştığı görülmektedir. Gıda endüstrisinde kullanılan doğal antimikrobiyal etkili bitkilerin, diğer birçok antimikrobiyallere göre son derece güvenli olduğu bilinmektedir. Bu bitkilerden uygun yöntemle elde edilebilecek ekstraktlar gıda muhafazasında bir aroma-lezzet bileşeni olmanın yanında antimikrobiyal etki de göstermektedirler. Doğal olmaları ve kalıntı sorununa yol açmamaları nedeniyle bitkilerin ve baharatların, özellikle organik gıda üretiminde önemli bir antimikrobiyal olarak değer bulacağı görülmektedir. Uçucu yağlar ve tıbbi aromatik bitkiler; hazır yiyeceklere ilave edildiğinde gösterdikleri antimikrobiyal etki ile yiyeceklerin depolanma süresini arttırdığı birçok çalışmada görülmüştür (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2013).

Balıkların yenilebilir malzemelerle özellikle de uçucu yağlarla kaplanması, yiyecek kalitesini arttırmada ve raf ömrünü uzatmada etkili bir yöntem olarak tercih edilmektedir. Birçok çalışma protein, polisakkarit ve yağ içeren malzemelerden yapılmış yenilebilir kaplamaların raf ömrünü uzatmaya ve balık kalitesini korumaya

yardımcı olduğunu göstermiştir (Liu ve ark. 2011). Çeşitli balıkların raf ömrünü uzatmak için farklı bitki ekstraktları ile çalışmalar yapılmıştır.

1.1.Literatür Özeti

Yanishlieva ve Marinova (2001) 40 °C’ de muhafaza etmiş oldukları uskumru balığına uygulanmış 0.5 oranındaki kurutulmuş kekiğin antioksidan etkinliğinin % 0.5, kurutulmuş biberiye ve 200 ppm butil hidroksitoluene eş değer olduğunu ortaya koymuşlardır.

Roura ve ark. (2005) yaptıkları araştırmada, on ayrı bitkiden (okaliptüs (*Eucalyptus* sp.), hint defnesi (*Melaleuca* sp.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), bahçe nanesi (*Mentha x piperita*), gül (*Rosa* sp.), karanfil (*Syzygium aromaticum* (L.), limon (*Citrus x limon* L.), kekik (*Origanum vulgare* L.), çam (*Pinus* sp.), fesleğen (*Ocimum basilicum*)) elde etmiş oldukları uçucu yağları farklı *Escherichia coli* O157:H7 suşlarına karşı kullanarak antimikrobiyal aktiviteyi araştırmışlar ve en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip uçucu yağın karanfil yağı olduğunu belirlemişlerdir.

Goulas ve ark. (2007) yapılan başka bir çalışmada ise tercih edilen % 0.8’ lik kekik yağı, modifiye edilmiş atmosfer paketleme (MAP) ve hafif tuzlama kombinasyonu, deniz altında bulunan çipura filetolarının raf ömrünü 17 gün uzatmıştır.

Kenar (2009) biberiye ve adaçayı (*Salvia officinalis* L.) elde ettiği ekstraktları sardalye (*Sardina pilchardus* Walbaum, 1792) balığına uygulamıştır. Yapılan çalışma sonucunda biberiye ve adaçayı ekstresi ile kaplanan ve vakumda paketlenen sardalyenin raf ömrü 7 gün uzamıştır. Ancak adaçayı ekstresinin kontrol grubuna göre daha yüksek TBA sayısına sahip olması adaçayının bu uygulama için uygun olmadığını gösterirken, biberiye ekstresinin lipid oksidasyonunu engelleyerek sardalyede kullanılabileceğini göstermiştir.

Ekici ve ark. (2011) çalışmalarında kekik, limon otu (*Melissa officinalis* L. oleum), karabaş (*Lavandulae romanae* L. oleum), biberiye ve zencefil (*Zingiber officinale* Roscoe) uçucu yağlarını ve balıklardan izole edilen bakteriyel patojenlerden; *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio alginolyticus*, *Flavobacterium psychrophilum* ve *Lactococcus garvieae* üzerinde in vitro ortamda

antibakteriyal etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada kullanmış oldukları kekik ve melissa uçucu yağlarının diğer bitkisel yağlara oranla daha güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği ve kekik yağının spektrumu geniş bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Bitkiler ve uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi bitkinin çeşidine, konsantrasyonuna, mikroorganizmanon türüne, gıdanın üretim ve depolama koşullarına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Bakteri ve küflere karşı antimikrobiyal etki gösteren uçucu yağlar mercanköşk (*Origanum majorana* L.), kekik, adaçayı, biberiye, karanfil, çörekotu (*Nigella* sp.), sarımsak (*Allium sativus* L.) ve soğan (*Allium cepa* L.)'a aittir. Maya ve mantarların inhibe olmasını sağlayan yağların özellikle fenol, aldehit ve alkoller bakımından yüksek içerikli olması gerekmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2013).

Patır ve ark. (2015) gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)) karanfil uygulaması ile raf ömrünü uzatmaya yönelik bir çalışma yapmışlardır. Karanfil uygulamasının *Lactobacillus* üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Mutlu ve Bilgin (2016) ise çalışmalarında zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağı ve yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.) ekstresi uygulanmış ve sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalığı filetoalarını buzdolabında ($4\pm1^{\circ}\text{C}$) muhafaza edip; kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal değışimleri incelemişlerdir. Uygulanan bitki ekstratlarının raf ömrü üzerine olumlu etki gösterdiğini, özellikle zeytin yaprağı ekstraktının bu konuda kayda değer olduğunu tespit etmişlerdir.

Yapıcı ve ark. (2015)'nın yaptığı bir çalışmada, Muğla iline özgü olan endemik sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.) ürünlerinin ekstresi yapılarak sığla yağı elde edilmiş ve bu yağın kültür levreğinin kalitesi ve raf ömrü açısından doğal bir koruyucu etkisi olduğu tespit edilmiştir.

Görmez ve Diler (2017) yapmış oldukları çalışmada, yayla kekiğı (*Origanum minutiflorum* L.), pelin otu (*Artemisia absinthium* L.) ve orman hanımelişi (*Lonicera periclymenum* L.) bitkilerinden elde etmiş oldukları uçucu yağları balıklarda görülen *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri* ve *Lactococcus garvieae* patojenlerine karşı in vitro olarak antibakteriyel etkisini disk difüzyon yöntemi ile tespit etmişlerdir. Disk difüzyon testi sonuçlarına göre, *L. periclymenum* bitkisinden elde edilen uçucu yağ

dışında, diğer bitkilerden elde edilen uçucu yağların *A. hydrophila*, *Y. ruckeri* ve *L. garvieae*'ye karşı güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Metin ve ark. (2017) karanfil, bahçe nanesi ve lavanta (*Lavandula hybrida*) uçucu yağlarının; *Aeromonas sobria*, *A. salmonicida achromogenes*, *A. caviae*, *A. hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *V. ordalli*, *V. alginolyticus*, *Yersinia ruckeri*, *Flavobacterium psychrophilum*, *Lactococcus garvieae* ve *Vagococcus salmoninarum* balık patojenlerine karşı in vitro olarak antibakteriyel etkilerini araştırmış ve sonuç olarak da karanfil uçucu yağının güçlü antibakteriyel etki gösterdiğini, nane ve lavanta yağının ise orta derecede etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Yıldırım ve Türker (2018) yapmış oldukları çalışmada 24 bitkiyi çalışmışlardır. Bunlar; lavanta çiçeği (*Lavandula angustifolia*), karabaş otu (*Lavandula stoechas* L.), bahçe nanesi, fesleğen, mercanköşk, tıbbi kekik (*Thymus vulgaris* L.), biberiye), karabaş kekik (*Thymbra spicata* L.), adaçayı, defne (*Laurus nobilis* L.)(), tarçın (*Cinnamomum verum* L.), ıtır (*Pelargonium graveolens* L'Hér.), karabiber (*Piper nigrum* L.), verbena (*Aloysia citriodora* Paláu), zencefil, kişniş (*Coriandrum sativum* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), maydanoz (*Petroselinum sativum* L.), anason (*Pimpinella anisum* L.), *Helichrysum plicatum*, civanperçemi (*Achillea millefolium* L.), pelin otu (*Artemisia absinthium* L.), *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, ve karanfil bitkileri olup, bu bitkilerin uçucu yağları 7 çeşit balık patojenine (*Aeromonas hydrophila*, *A. salmonicida*, *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri*, *Enterococcus faecalis*, *Lactococcus garvieae* ve *Streptococcus agalactiae*) karşı antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Uçucu yağların, disk difüzyon yöntemiyle elde edilen antibakteriyel aktivite sonuçları, tüm patojenlere karşı kuvvetli aktiviteleri olduğunu gözlemlemişlerdir. Yirmi dört uçucu yağ arasından çoğunlukla yedi uçucu yağ (*T. spicata*, *T. vulgaris*, *L. nobilis*, *C. verum*, *H. plicatum* ve *A. citriodora*) tüm balık patojenlerine karşı iyi antibakteriyel aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Baba (2018) portakal (*Citrus sinensis* (L.)) kabuğundan elde edilen uçucu yağın uygulanan farklı konsantrasyonlarda (% 1, 2.5, 5, 7.5 ve 10), bakteriyel balık patojenlerinden; *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Listonella anguillarum*, *Vagococcus salmoninarum* ve *Vibrio alginolyticus*'a karşı in vitro antibakteriyel etkisi belirlemişlerdir. Portakal kabuğundan elde edilen uçucu yağın en etkili olduğu patojenin *L. anguillarum* olduğu ve sırasıyla *Y. ruckeri*, *V.*

alginolyticus, *V. salmoninarum*, *A. hydrophila* ve *L. garvieae*' nın takip ettiği tespit edilmiştir.

Özay ve ark. (2018)' nın geofit bitkisi olan siklamen (*Cyclamen* sp.)' in türlerinden *C. cilicium* Boiss. & Heldr., *C. pseudibericum* Hildebr. ve *C. hederifolium* Aiton kullanılarak etanol ekstraktı ile hazırlanmış, antibakteriyel aktivitesi in vitro yöntemle beş balık patojenine (*Vagococcus salmoninarum*, *Staphylococcus epidermidis*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Yersinia ruckeri*) karşı belirlenmiştir. Yumrulardan elde edilen etanollü ekstrelerin test edilen tüm bakterilere karşı *V. anguillarum* hariç antibakteriyel aktivite sergilediği görülmüştür. Sonuç olarak bu çalışmada, test edilen siklamen türlerinin su ürünleri yetiştiriciliğinde görülen patojen bakteriler üzerinde *V. anguillarum* hariç orta düzeyde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

Balık parazitine *Hexamita inflata* karşı lavanta yağının, balıklarda görülen enfeksiyonlara karşı ise kekik yağının etkili olduğu bildirilmektedir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Kerimoğlu ve ark. (2015) defne ve fesleğen uçucu yağlarının sous-vide levrek filetolarındaki tazeliğe olan etkisini araştırmışlardır. Sous-vide tekniği ile pişirilmiş olan filetolar bir kontrol grubu, bir grup defne yağı, bir grup ise fesleğen yağı eklenerek 3 gruba ayrılarak incelemişlerdir. Muamele edilmiş olan uçucu yağların erken aşamalarda olumlu sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

Dolea ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada konsantrasyonları %0.05 olarak ıspanyol kekiği (*Thymus zygis* L.), tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) ve kekik uçucu yağlarını; atlantik somonu (*Salmo salar* L.) ve dört farklı deniz yosunu (*Laminaria ochroleuca* Bachelot de la Pylaie, 1824, *Undaria pinnatifida*, *Himanthalia elongata*, *Gelidium sesquipedale*) kullanılarak hazırlanmış burgerler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. %0.05 (v/w) olarak kullanılan ıspanyol kekiği ve kekik esansiyal yağının raf ömrünü uzatması için duyuşal analizlerden ödün verilerek daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılması gerektiği sonucunu gözlemlemişlerdir. Tarçın ise duyuşal analizler açısından kabul edilebilir bulunmadığı için deneyin ilerleyen çalışmalarında kullanılmamıştır.

Khalafalla ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada kekik (% 0.5) ve biberiye (% 1.5) ekstrelerinin Nil tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) filetoları üzerinde raf ömrüne

etkisini araştırmışlar. Elde etmiş oldukları sonuçlar, kekik ekstraktının güçlü bir antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve raf ömrünü uzattığı; biberiyenin ise antioksidan aktivitesinin olduğunu fakat antimikrobiyal aktivitesinin düşük olmasından dolayı farklı bir antimikrobiyal ajanla birlikte kullanılabileceği yönünde olmuştur.

Hassoun ve Çoban (2017) yapmış oldukları derlemeye göre balık ve deniz ürünlerinde kekik, biberiye, defne, adaçayı, tarçın, karanfil ve fesleğen en çok kullanılan antimikrobiyal ve antioksidan ajanlar olmuştur. Uçucu yağ olarak kekik ve biberiyenin sık kullanımına rastlamışlardır. Bitkilerin uçucu yağlarının balıkların yağlılık oranlarıyla ilişkili olduğuna da yer verilmiştir. Her uçucu yağ her balıkta aynı etkiyi göstermemektedir. Aynı zamanda kullanılacak olan yağın konsantrasyonunun önemi de vurgulanmıştır. Sonuç olarak birçok bitkinin uçucu yağlarının (kekik, biberiye, adaçayı, karanfil, defne, kimyon ve fesleğen) farklı konsantrasyonlarda kullanıldığında ve konsantrasyon yükseldikçe de koruyuculuğu arttırdığına dikkat çekmişlerdir. Yapmış oldukları derlemede sentetik ajanlar yerine doğal ürünlerin kullanımının önemini vurgulamışlardır.

Altinelataman ve ark. (2018) karahindiba (*Taraxacum officinale* G.), ısırganotu (*Urticia dioica* L.) ve eşek gevreği (*Sonchus asper* L.) ekstraktları kullanılarak buzdolabı koşullarında saklanan levrek filetolarının raf ömrünü uzatmayı amaçlamışlardır. Yapmış oldukları çalışma sonucunda ekstrakte edilmiş örneklerin mikrobiyolojik gelişimi geciktirmesi üzerinde olumlu sonuçlar gözlemlemişlerdir. Isırgan, karahindiba ve eşek gevreği gibi bazı bitkilerin, kaliteyi korumak ve raf ömrü kalitesini yükseltmek için deniz işlenmesinde koruyucu olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Olatunde ve Benjakul (2018) deniz ürünlerinde raf ömrünü uzatabilmek amacıyla doğal koruyucuların kullanımı hakkında yapmış oldukları derlemede; bitki ekstraktlarının bitkinin kök, gövde, yaprak, kabuk, tohum, meyve, çiçek gibi organlarından hazırlanabileceği ve bu özütlerin kalitesinin toprak, iklim, coğrafi koşullar gibi sebeplerde değişebileceğine değinilmiştir. Allyl isothiocyanate (AITC) kullanımının çipura filetolarının raf ömrünü uzattığı bildirilmiştir. Doğal ürünlerin kullanımının ucuz ve kolay erişilebilir olduğu, bundan dolayı doğal ürünlere yönelimin kaliteyi korumak ve raf ömrünü için kullanılabileceğine değinilmiştir.

Kekin ve ark. (2019) levrek balığı üzerinde tütüleme ve marine işlemlerinin raf ömrüne etkisi konusunda deneysel çalışmalar yapmışlardır. Raf ömrünün uzatılması amacıyla organoleptik, kimyasal ve mikrobiyolojik parametreler araştırılmıştır. Sonuçlarda duyu analizin önemine değinilmiştir. Yapmış oldukları deneysel çalışmalar sonucunda tütüleme ve marine işlemlerinin bakteri büyümesi üzerine önleyici etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Uçak (2019) zenginleştirilmiş jelatin filmlere konsantre sarımsak kabuğu ekstresi (GPE) ekleyerek gökkuşağı alabalığı filetolarında raf ömrünün incelenmesine yönelik deneysel çalışmalar yapmıştır. Kontrol numuneleri ile karşılaştırıldığında, sarılmış numunelerde lipid oksidasyonunun geciktiği görülmüştür. Çalışmanın sonuçlarına göre, GPE'nin jelatin filme dahil edilmesi hem antimikrobiyal hem de antioksidatif özellikleri arttırabileceği görülmüştür. GPE ile zenginleştirilmiş jelatin filmler, gökkuşağı alabalığı filetosunun depolanması sırasında verimli olduğu gözlemlenmiştir. Sarımsak kabuğu ekstraktı mikrobiyolojik bozulmanın gecikmesinde olumlu bir sonuç olarak görülmüştür. Konsantre sarımsak kabuğu özütü (GPE), bakteriyel büyümeyi engellemiş, GPE ile zenginleştirilmiş jelatin film uygulaması filetoların raf ömrünü 5 gün uzatmıştır. Böylece, GPE'nin etkili bir antioksidan olabileceği ve jelatin bazlı yenilebilir filmlerde antimikrobiyal ajan ve balıkların raf ömrünün uzatılması için kullanılabileceği açıklanmıştır.

Saleem ve ark. (2019) karabalık (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822) burger ve filetoları üzerine kekik ve biberiye uçucu yağlarını ekstrakte edip -18 °C'de dondurularak depolanmış ve üzerinde çeşitli analizler (mikrobiyolojik, antioksidan, TBA, vb.) yapmışlardır. Yapmış oldukları deneysel çalışmaların sonucunda uçucu yağların eklenmesi antioksidan ve antimikrobiyal olarak ürün kalitesi ve raf ömrü üzerinde olumlu bir etki göstermiştir.

Mei ve ark. (2019) doğal koruyucular ile balıklarda raf ömrünü uzatılması üzerine bir derleme yapmışlardır. Bitki kaynaklı bileşiklerden; esansiyel yağlar (EO), bitki özleri ve natural wood smoke (sekoya, siyah ceviz, hickory, huş ağacı, beyaz meşe, titrek kavak, kestane, ve kiraz gibi bitkiler) *A. hydrophila* ve *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal özellikleri değerlendirmiş; antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin yüksek olduğundan bahsedilmiştir. Levrekte fesleğen yaprağı esansının raf ömrünü uzattığına

dair veriler mevcuttur. Çipurada kekik esansiyel yağının toplam aerobik bakteri sayısını azalttığına değinilmiştir.

Giannakourou ve ark. (2019) yapmış oldukları çalışmada balık filetolarının 37°C’de farklı ozmotik davranışların raf ömrü üzerindeki etkisini gözlemlemişlerdir. Ozmotik uygulamanın mikrobiyal büyümeyi durdurarak raf ömrünü arttırdığını göstermişlerdir. Aynı zamanda lipit oksidasyonunu hızlandırmıştır. Isparta gülü (*Rosa damascena* Mill.) uygulanmış filetoların raf ömürleri uygulanmayanlara göre 4 kat arttığını gözlemlemişlerdir.

Yıldız (2019)’ ın yapmış olduğu çalışmada farklı konsantrasyonlarda (%0.5 ve %1) uygulamış oldukları turuncgil kabuk yağlarının (limon, portakal ve bergamot (*Citrus bergamia* Risso & Poit.)) gökkuşağı alabalığı filetolarının raf ömrü üzerine etkileri araştırmışlardır. Balık örneklerinin mikrobiyolojik (toplam aerobik mezofilik bakteri, toplam psikrofil bakteri, laktik asit bakterileri, Enterobacteriaceae) kimyasal (pH, toplam uçucu bazik azotu, thiobarbitürik asit reaktif maddeler) ve duyuşsal (renk, koku, lezzet, genel kabul edilebilirlik) özellikleri incelenmişlerdir. Depolama süresi boyunca mikrobiyolojik ve kimyasal özellikler açısından kontrol grubu ile uygulama grupları arasında önemli değişiklikler tespit ettiklerini göstermişlerdir.

Khemir ve ark. (2020) kitosan kullanarak mikropartikül kaplanmış çipura balığının vakumlu ambalajlardaki raf ömrünün belirlenmesine yönelik bir takım deneysel çalışmalar yapmışlardır. Kitosan mikropartikül kaplamasının antimikrobiyal ve antioksidan özellikte olduğunu gözlemlemişlerdir. %0.5 kitosan kaplamasının raf ömrünü iki kat artırdığını ve 12 güne kadar artış görüldüğünü gözlemlemişlerdir.

Othmen ve ark. (2020) yapmış oldukları çalışmada keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) ekstrelerini kullanarak çipurada görülen bakteriler (*Vibrio harveyi*, *Vibrio anguillarum* ve *Photobacterium damsela*) üzerinde olumlu sonuçlar elde etmişlerdir. Bugüne kadar çoğunlukla gökkuşağı alabalığı, levrek ve kefal balıklarının raf ömrünü uzatmak için bitki ekstraktları ile deneysel çalışmalar yapılmış ve başarılı sonuçlanmıştır. Ancak üretimi ve tüketimi hızlı bir şekilde artan çipura ve levrek balığının raf ömrünü uzatmak için yeterli sayıda deneysel çalışma yapılmamıştır.

Bu çalışmada, 3 farklı bitkinin (üzerlik *Peganum harmala* L., muskat *Myristica fragrans* Houtt., karanfil *Syzygium aromaticum* L.) ekstraktlarının çipura ve levrek

balığından izole edilen bakterilere karşı antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri ile bitki ekstraterinin balıkların raf ömrüne etkisi belirlenmiştir.

Bu çalışma ile üzerlik ve muskat bitkileri balıklar üzerinde ilk defa kullanılacak ve literatüre katkı sağlanacaktır.



1.2.Balıklar

1.2.1. Çipura (*Sparus aurata* L. 1758)

Âlem: Animalia

Şube: Chordata

Sınıf: Actinopterygii

Takım: Perciformes

Familya: Sparidae

Cins: *Sparus*

Tür: *Sparus aurata*



Şekil 1. *Sparus aurata* (çipura)

Genellikle Akdeniz’de yayılım gösteren bir balık türüdür. Büyük Britanya'dan Senegal'e kadar Doğu Atlantik kıyılarında bulunduğu bilinmekte olup Karadeniz'de daha nadirdir. Sırt yüksekliği fazla olup lateralden yassılaşmış simetrik bir yapıya sahiptir. Baş iri, burun küt ve ağız terminal konumlu ve düzdür. Rengi gümüşü gri olup; genellikle vücudun yanlarında koyu renkli uzunlamasına çizgiler, sırt yüzgeci üzerinde koyu bir bant, çatal ve siyah kenarlı kuyruk yüzgeci vardır (Colloca ve Cerasi, 2021; Froese ve Pauly, 2021).

Çipura özellikle Avrupa Kıtası’nda iyi bilinen, Akdeniz’e kıyısı olan bütün ülkelerde önemle üzerinde durulan ve Türkiye su ürünleri sektöründe de son derece önemli bir balık türüdür (Doğankaya, 2010).

Genellikle subtropikal, tropikal ve ılıman kuşaklarda yayılış gösteren çipura kıyı lagünleri ve nehir ağzı alanları gibi deniz ve acı su ortamlarında, deniz otu yataklarında ve kumlu diplerde dağılım gösterir (Colloca ve Cerasi, 2021; Doğankaya, 2010). Esas olarak midye ve istiridye gibi kabuklu deniz hayvanlarıyla beslenirlerken, nadiren otçul olarak beslendiği de görülmektedir (Colloca ve Cerasi, 2021; Froese ve Pauly, 2021). Larva döneminde zooplanktonu tercih ederler. Yazın sığ sularda (0.5-9 m) bulunmalarına karşın kışın daha derin (35-40 m) sulara göç ederler. Özellikle iki yaş ve üzerindeki bireyler daha derinlere inebilmektedir. 6°C’den 32°C’ye kadar su sıcaklıklarında yaşayabilir. Ancak optimal büyüme sıcaklığı 22-25°C’dir. 3°C’nin altında ve 34°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda yaşayamazlar. 7-10°C su sıcaklığında ise

büyüme tamamen durur. Çipura için tuzluluk alt sınırı ‰5, üst sınırı ise ‰50 olarak belirlenmiştir (Doğankaya, 2010). Bu tür baskı altında hermafrodit davranış gösterebilmektedir. Ülkemizde ekonomik açıdan su ürünleri yetiştiriciliğinde önemli balık türlerindendir (Colloca ve Cerasi, 2021; Froese ve Pauly, 2021).

Anatomik yapı bakımından bakılacak olursa vücudun yüksek ve yandan basık olduğu görülür. Pelvik yüzgeçte beşten fazla ışınlı olduğu görülür. Sırt yüzgeci ise önde ve sert ışınlıdır. Vücut baş kısmına kadar pul ile örtülü olup pulları serttir. Yan çizgi belirgin şekilde oluşmuştur. Ağız ve diş yapısı sert olup kabuklu canlıları bile kırabilecek güçtedir. Doğal ortamda yumurtlama 5-25 m derinlikte olur ve bir balık bir üreme mevsiminde 500 bin ile 1 milyon arası yumurta verebilir. Yumurtlama sıcaklığı ortalama 14-19°C civarında olup üreme dönemi Akdeniz’de Aralık ayına denk gelmektedir (Doğankaya, 2010).

1.2.2. Levrek (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758)

Âlem: Animalia

Şube: Chordata

Sınıf: Acinopterygii

Takım: Perciformes

Familiya: Moronidae

Cins: *Dicentrarchus* Gill, 1860

Tür: *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)



Şekil 2. *Dicentrarchus labrax* (levrek)

Levrek tüm Akdeniz ve Karadeniz sahillerinde, Atlantik Okyanusu’nda kuzeyde 60° kuzey enlemi (Norveç) ile 30° güney enlemi (Fas) arasında sahil kesimlerinde yayılım gösterir. Levrek doğada, yalnızca Alboran Denizi’nde bir arada bulunan, Atlantik ve Akdeniz popülasyonları olmak üzere genetik olarak birbirinden farklı iki popülasyona ayrılır. Bu durum Almeria-Oran hattında ayrılan popülasyonlara sahip birçok balık türünde de benzer şekilde gözlenir (Şamlı, 2019).

Vücudu lateralden hafif yassılaşmış olan levreğin derisi ktenoid pullarla kaplı olup sikloid pullar, ense ve yanaklar üzerindedir. Operkulumda gri-siyah leke olduğu görülür. Preoperkulum ve operkulum üzerinde sert diken ışınlar görülür. Dorsalde koyu gri-esmer, ventralde beyaz renklidir. Göz kemiğinin üzerinde siyah lekeler görülmektedir. Geniş ağıza sahip olup, dişler dilde ve damakta bulunur. Renkleri vücut bölgelerinde farklılıklar gösterip; sırt kısmında koyu griesmer, yanlarda gümüşü, karın bölgesinde beyazdır. Ergin bireylerinde ise sırt kısmı lekesiz koyu renkte olurken, genç bireylerde bazen siyah lekeler görülebilir (Özgöray ve Akçay, 2009).

Levreğin ortalama boyunun 50 cm olduğu görülürken 1 m'ye kadar uzayabilir. Ağırlığı ise 12 kg'a kadar çıkabilir. Levrekler 5-28°C arası sularda yaşarlar, 12-14°C arasında yumurta bırakırlar. Optimum büyüme sıcaklığının ise 20-23°C olduğu bilinmektedir. Levreklerin tuzluluk değişimlerine karşı dayanıklı oldukları bilinir ve ‰3 tuzluluktan ‰50 tuzluluğa kadar yayılım gösterirken, tatlı sularda büyüyebilir fakat üreyemezler. (Özgöray ve Akçay, 2009).

Kendilerini predatör (avcı) baskısından korumak amacıyla zaman zaman yumuşak toprak zeminli sularda tehlikenin geçmesi için 30-60 sn kadar yumuşak toprağa gömerler. Bazen sert kuyruk hareketi ile bentoz üzerinde ani yüzme hareketi yaptıkları bilinmektedir, bu hareketin nedeni ise üzerinde bulunabilecek bazı ektoparazitlerden (dış parazit) kurtulmak amacının yanı sıra zeminde saklanmış besin olan krustase bireylerini saklandıkları yerden çıkartmak için yapılan bir harekettir. Euriterm bir tür olmasından dolayı ılık ve soğuk alanlarda bulunmaktadır. Yaz aylarında kıyı sularına ve nehir ağızlarına girerler, ancak daha soğuk havalarda kıyıya göç ederler ve kuzeyde kış aylarında derin sularda bulunurlar (Froese ve Pauly, 2021). Küçük balıklar, karidesler, yengeçler, kalamarlar ve yumuşakçalar da dahil olmak üzere çok geniş bir beslenme skalasına sahip balık türüdür. Füme olarak çoğunlukla taze veya dondurulmuş şekilde pazarlanmaktadır (Bagni, 2021). IUCN Kırmızı Liste durumu 'en az endişe edilen' olarak değerlendirilmiştir.

1.3.Bitkiler

1.3.1. Karanfil (*Syzygium aromaticum* L.)

Âlem: Plantae

Şube: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)

Takım: Myrtales

Familya: Myrtaceae

Cins: *Syzygium*

Tür: *Syzygium aromaticum*



Şekil 3. *Syzygium aromaticum* (karanfil)

Karanfil olarak da bilinen *Syzygium aromaticum*, Endonezya'nın Maluku adalarına özgü, ancak son zamanlarda dünyanın farklı yerlerinde yetiştirilen Myrtaceae familyasına ait kuru bir çiçek tomurcuğudur (Cortés-Rojas, 2014; Batiha, 2020). Konik veya piramidal bir gölgelik ve grimsi bir kabuk ile 6-15 m boyunda büyüyen orta boy, dallı, tüysüz, yaprak dökmeyen bir ağaçtır (Lim, 2014). Yapraklar karşılıklıdır ve çapraz çizgili, koriaceae ve parlaktır, alt yüzeyinde çok sayıda yağ bezi ile ince bir şekilde noktalanmış ve 4 cm uzunluğunda yaprak sapları üzerinde taşınmıştır. Lamina oval-mızrak şeklinde, 10 cm uzunluğunda ve 5 cm genişliğindedir; tüm kenar boşluğu, akut apeks ve sivrilmiş bir taban ile basit ve gençken pembemsi-bronz, yaşla birlikte kireç yeşiline döner. Çiçek tomurcukları soluk sarımsı-yeşil olup yeşile döner ve hasat için hazır olduklarında parlak kırmızı bir renge dönüşürler (Lim, 2014). Karanfil bitkisi, 12 metre yüksekliğe ulaşabilen bir yayılım göstermektedir (Bhowmik, 2012). Karanfil ağacı yaprak ve tomurcuklardan (ağacın ticari kısmı) oluşur ve çiçekli tomurcuk üretimi ekimden dört yıl sonra başlar. Daha sonra elle veya çiçeklenme öncesi aşamada doğal bir fitohormon kullanılarak toplanırlar (Cortés-Rojas, 2014).

Karanfil, birçok faydalı amacı olan aromatik bir bitkidir. Karanfilin aroması hoş baharatlıdır ve çekmece ve dolapların güzel kokmasını sağlamak için kullanılabilir (Bhowmik, 2012).

Karanfil, karanfil yağı ve oleoresin ticari ürünlerdir. Endonezya'nın Molucca Adası'na özgüdür. Karanfil üreten başlıca ülkeler Endonezya, Tanzanya, Sri Lanka, Madagaskar ve sınırlı bir ölçekte Hindistan'dır. Hindistan'da Kerala, Tamilnadu, Karnataka, Andaman ve Nicobar Adası'nda 1735 hektarlık bir alanda yetiştirilmektedir (Thankumari, 1994). Karanfil Brezilya'nın, kuzeydoğu bölgesinde bulunan Bahia eyaletinde Valença, Ituberá, Taperoá, Camamu ve Nilo Peçanha bölgelerinde de yetiştirilir ve burada yaklaşık 8000 hektar yetiştirilirken, yılda yaklaşık 2500 ton karanfil üretilir (Oliveira, 2007; Oliveira, 2009).

Boğucu tatlı aromatik aroması ve güçlü esansiyel yağ bileşikleri ile karanfil, yüzlerce yıldır yiyecekler için besleyici bir baharat ve çeşitli sağlık sorunlarına çare olarak kullanılmaktadır. 2000 yılı aşkın bir süredir hem Hint hem de Çin geleneksel tıbbı, karanfil çiçekleri ve karanfil yağından geniş ölçüde yararlanmıştır (Bhowmik, 2012). Karanfil, flavonoidler, hidroksibenzoik asitler, hidroksisinamik asitler ve hidroksifenil propens gibi fenolik bileşiklerin başlıca bitkisel kaynaklarından birini temsil eder (Cortés-Rojas, 2014). Karanfil çiçek tomurcuklarında %18'e varan oranda uçucu yağ bulunur. Karanfilin uçucu yağında %2.1'e varan konsantrasyonlarda bulunan bir diğer önemli bileşik α -humulen'dir (Jirovetz, 2006).

Tıpta gaz giderici ve uyarıcı olarak çok değerlidirler ve doğal bir antelmintik oldukları söylenir. Avrupa ve Asya'da kullanılır ve Endonezya'da yerel olarak kretek olarak bilinen bir tür sigarada ve Batı'da ara sıra kahve barlarında kenevir ile karıştırılarak kenevir spliffleri oluşturulur. Son birkaç yılda, bilimsel araştırmalarda kullanılmak üzere balıkçılık yönetimi ve avlanma prosedürü için balıkları sakinleştirmek amacıyla etkili bir anestezi olarak kabul edilmiştir (Prince, 2000; Srivastava, 2003).

Karanfil, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle yüzyıllardır gıda koruyucu ve şifalı bitkiler olarak kullanılmaktadır. Günümüzde birçok rapor baharat bitkilerinin antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antikarsinojenik özelliklerini doğrulamaktadır. Özellikle karanfil, diğer baharatlar arasında öne çıkan güçlü antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle dikkatleri üzerine çekmiştir (Shan ve ark. 2005).

1.3.2. Muskat (*Myristica fragrans* Houtt.)

Alem: Plantae

Şube: Angiosperms

Sınıf: Magnoliids

Takım: Magnoliales

Familya: Myristicaceae

Cins: *Myristica*

Tür: *Myristica fragrans*



Şekil 4. *Myristica fragrans*
(muskat)

Muskat, Myristicaceae familyasına ait bir ağaç baharatıdır. Muskat ve topuz olmak üzere iki ayrı ve farklı baharat üretilir (Haldankar ve Rangwala, 2009). Muskat, meyvenin içindeki tohum çekirdeğidir ve topuz, çekirdek üzerindeki etli kırmızı, ağ benzeri deri kaplamadır (aril). Genellikle 5 ila 13 metre yüksekliğe, bazen de 20 metreye kadar büyüyen, yayılan aromatik yaprak dökmeyen bir ağaçtır. Sivri koyu yeşil yapraklar, dallar boyunca dönüşümlü olarak düzenlenir ve yaklaşık 1 cm uzunluğunda yaprak sapları üzerinde taşınır. Üst yaprak yüzeyleri parlaktır. Çiçekler genellikle tek cinsiyetlidir; bazen erkek ve dişi çiçekler aynı ağaçta bulunur. Çiçekler uçuk sarı, mumsu, etli ve çan şeklindedir. Meyveler etli, sarkık, sarı, pürüzsüz, 6 ila 9 cm uzunluğundadır. Olgunlaştığında, sulu sarı meyve kabuğu, kırmızı bir aril (topuz) ile çevrili morumsu-kahverengi, parlak bir tohum (muskat) ortaya çıkaran 2 valfe ayrılır. Tohumlar (muskat) büyük ölçüde oval (2 ila 3 cm uzunluğunda), sert, etli, beyazımsıdır ve kırmızı-kahverengi damarlarla çaprazlanmıştır. Aril (topuz) taze iken parlak kırmızı olup, kurduğunda kırılğan ve sarımsı-kahverengi bir renk alır (Jaiswal ve ark., 2009).

Muskat, aşırı kuru mevsimi olmayan, ıslak ve nemli bir iklime ihtiyaç duyar. 24-29°C yıllık sıcaklık aralığında, % 75-90 nem oranı ile yetişir. 2-3 ay kurak dönem ve 1500-3000 mm yağış aralığına sahip bölgelerde yetiştirilebilir. Ağaç, kısmi gölgeli ve killi-tınlı toprakları, kumlu-tınlı ve humus içeriği yüksek kırmızı lateritleri tercih eder. Muskat hem kuru hem de su birikintisi olan ortamları sevmez (Haldankar ve Rangwala, 2009).

Muskat, Endonezya'nın popüler baharatlarından biridir. Ortalama dünya muskat üretimi 10.000-12.000 ton/yıl'dır. Endonezya ve Granada sırasıyla %75 ve %20 ile üretime hakimdir. Kuzey Sulawesi, Endonezya'daki en büyük muskat üreticilerinden biridir. Özellikle Doğu Hindistan muskat ticaretinde iyi bilinen Siau ve Sangihe'den elde edilir. Kuzey Sulawesi oldukça aromatik muskat üretir (Assa ve ark., 2014).

Hindistan'da muskat ekimi öncelikle Kerala, Karnataka ve Tamil Nadu ile sınırlıdır. Thrissur ve Ernakulam ilçeleri, eyaletin ana muskat üreten bölgeleridir (Adharsh ve ark., 2021).

Küçük muskat aromatik, uyarıcı, narkotik, gaz giderici, afrodizyak, hipolipidemik, antitrombotik, anti-trombosit, antifungal, antidisenterik, anti-inflamatuar aktivitelere sahiptir. Hamilelikte mide ağrısı, romatizma ve kusmaya çare olarak kullanılır. İki bileşiğin, miristisin ve elemisin'in varlığı, genellikle zehirlenme ve muskatın halüsinojenik etkisi ile ilişkilidir, safrolün kanserojen olduğundan şüphelenilmektedir (Shulgin, 1966; Jukic ve ark. 2006).

Muskat uçucu yağı, harici olarak romatizma için ve dahili olarak bir gaz giderici olarak kullanılır (Oliver-Bever, 1983). Çorbalarda doğum sonrası ilaç olarak da kullanılır (Iwu, 1993).

1.3.3. Üzerlik (*Peganum harmala* L.)

Âlem: Plantae

Şube: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)

Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)

Takım: Rosales

Familiya: Nitrariaceae

Cins: *Peganum*

Tür: *Peganum. harmala* L.



Şekil 5. *Peganum harmala* (üzerlik)

Peganum harmala L., yabani olarak yetişen çiçekli bir bitkidir (Kuhn ve Winston, 2000; Lamchouri ve ark., 1999). Çok yıllık, otsu bir step bitkisi olan üzerlik Orta Anadolu'da çok yaygın olarak bulunur ve kırsal kesim halkı tarafından iyi tanınan 30-50 cm büyüklüğünde kümeler oluşturan bir bitkidir. Çok parçalı yapraklara sahip ve

bu parçalar lineardır; çiçekler 4-5 cm büyüklükte tek tek, beyaz renkli; meyva nohut büyüklüğünde çok tohumlu, lokulusit bir kapsüldür (Tanker ve ark., 1998). Üzerlik doğu Akdeniz bölgesine özgü yarı kurak koşullarda, bozkır bölgelerinde ve kumlu topraklarda kendiliğinden yetişebilir ve önemli bir tıbbi bitki olarak kabul edilir (Frison ve ark. 2008; Sheahan ve Chase 2000). Tohumların hipotermik ve halüsinojenik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Kuhn ve Winston, 2000; Lamchouri ve ark., 1999).

Bitki İran, Orta Asya, Kuzey Afrika ve Orta Doğu'da yaygın olarak dağılmakta ve tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Frison ve ark. 2008; Sheahan ve Chase, 2000). Bitki Orta Asya'da ortaya çıkmış ancak şimdi Afrika, Orta Doğu, Hindistan, Güney Amerika, Meksika ve Güney ABD'de yabancı olarak yetişmektedir (Kartal ve ark., 2003). Amerika ve Avustralya'da da tanıtılmıştır. Kurutulmuş kapsüller – diğer malzemelerle karıştırılarak – İranlılar arasında “nazara” karşı bir tılsım olarak yakılır (Frison ve ark. 2008). Bu bitki İran'da “Espand”, Kuzey Afrika'da “Harmel” ve Amerika Birleşik Devletleri'nde “Afrika üzerliği”, “Meksika üzerliği” veya “Türkiye üzerliği” olarak bilinir (Asgarpanah ve Ramezanloo, 2012). *P. harmala*'nın tohumları, meyveleri, kökü ve kabuğu gibi çeşitli kısımları İran ve diğer ülkelerde uzun süredir halk ilacı olarak kullanılmaktadır (Moloudizargari ve ark. 2012).

Harmal, harmin gibi alkaloitler içeren üzerlik tohumundaki bu alkaloitler santral sinir sistemi stimulantıdır. Aynı zamanda zehirli bir bitki olan üzerliğin meyve ve tohumları halk arasında tütsü olarak yakılır, ayrıca meyvelerden hazırlanan nazarlıklara birçok evin duvarında rastlanmaktadır. Tohum testasından elde edilen kırmızı renkli boyanın tekstilde kullanımına rastlanmaktadır (Tanker ve ark., 1998).

Üzerliğin tohumları Türkiye'de yabancı olarak yetişen ve halk hekimliğinde antihemoroidal, helmisid ve merkezi sinir sistemi uyarıcı ajan olarak kullanılan yaygın bir türdür (Baytop, 1999; Küsmenoğlu, 1996). Üzerlik Türkiye'de tohumları yakarak kötü ruhları uzaklaştırmak için ritüel arınma amacıyla kullanılmıştır. Yörede üzerlik olarak bilinen ve Türk halılarındaki boyalarda kullanılan, geleneksel olarak Türk Kırmızısı olarak bilinen zengin renkli tekstil boyasının kaynağıdır (Baytop, 1999).

Akdeniz, Orta Sahra, Orta Doğu, Hindistan, Pakistan, Güney Avustralya ve Batı Birleşik Devletler, geleneksel tıpta kanser, depresyon, halüsinasyonlar, leishmaniasis, iltihaplanma, sıtma gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisi için ve bir emmenagog ve düşük yapıcı olarak kullanılmıştır (Asgarpanah ve Ramezanloo, 2012; Chen ve ark., 2005; Bremner ve ark., 2009).

Ayrıca üzerlik Ortadoğu'da bir entheojen olarak kullanılmıştır. Tohumlar yaklaşık %2 ila %6 alkaloid içerir ve harmal tohumlarının aktif alkaloitleri, harmine ve harmalin, *P. harmala*'nın tohumlarından izole edilmiştir (El-Saad, 1980). Monoamin oksidaz inhibisyonu (Grosso ve Gawienowski, 1976) gösteren ve Parkinson hastalığını tedavi etmek için psikoaktif bir ilaç olarak kullanılan bu b-karbolin alkaloitlerinin yaygın kullanımı dışında (Sanchez-Ramos, 1991; Airaksinen ve Kari, 1981) anti-bakteriyel aktivite gibi çeşitli biyoaktiviteler sergilemişlerdir (Airaksinen ve Kari, 1981; Al-Shamma ve ark., 1981). İnsan kanser hücre hatlarına karşı sitotoksikite (Berrougui ve ark. 2005), antitümöral aktivite (Chen ve ark., 2005; Wang ve Xie, 1999), anti-oksidan aktivite (Liu ve Zhao, 2005), enzim inhibisyonu (Sobhani ve ark., 2002), immünomodülatör özellikler (Bian ve ark., 1987), sıçan aortunda vazodilatör aktivite göstermiştir (Berrougui ve ark., 2006; Shi ve ark., 2001).

Üzerlik tohumları Fas geleneksel tıbbında toz, kaynatma, maserasyon veya infüzyon olarak ateş, ishal, kürtaj ve deri altı tümörleri için kullanılmış ve yaygın olarak acılı olaylara (romatizmal ağrı, ağrılı eklem ve bağırsak ağrısı) bir çare olarak kullanılmaktadır (Bellahhdar, 1997).

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. MALZEME

2.1.1. Balıklar

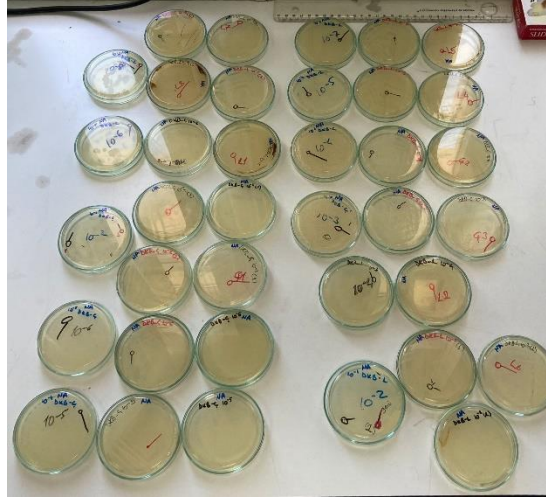
Bu tez çalışmasında 2 adet balık türü kullanılmıştır. Bunlar *Sparus aurata* L. 1758 (çipura) ve *Dicentrarchus labrax* L. 1758 (levrek) balıkları olup, balık halinden temin edilen taze ve ölü olarak ticari olarak temin edilecektir. Balıkların boyu ve ağırlıkları 28-30 cm ve 300-400 gram civarındır.



Şekil 6. Balık örnekleri: Çipura ve levrek

2.1.2. Organizmalar

Bu çalışmada kullanılacak bakteriler taze balıklardan izole edilmiştir. Farklı renk ve morfolojide olan bakteriler çalışma için kullanılmış olup, bu bakterileri tanımlamak için yapılan biyokimyasal testler geleneksel yöntemlerle Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Mikrobiyal Biyoteknoloji Laboratuvarında uygulanmış, identifikasyonları Doç. Dr. Gülten Ökmen ve ekibi tarafından sağlanmıştır. Bakterilerin identifikasyonları için çeşitli biyokimyasal özellikleri belirlenerek teşhisleri yapılmıştır. Tüm izole edilen bakteri kültürleri 37°C’de 24 saat nutrient agar (Merck) ortamında geliştirilmiştir.



Şekil 7. Stoklanmış bakteri örnekleri

2.1.3. Bitkiler

Bu çalışmada Nitrariaceae familyasından üzerlik (*Peganum harmala* L.), Myristicaceae familyasından muskat (*Myristica fragrans* Houtt.) ve Myrtaceae familyasından karanfil (*Syzygium aromaticum* L.) etnobotanik özelliklerine dayanarak seçilmiş olup ticari olarak temin edilmiştir. Bitkilerin identifikasyonları Davis (1978)' e göre kullanılarak yapılmıştır.

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Bitki örneklerinin ve özütlerinin hazırlanması

Bitki örnekleri 2-3 kez akan suda ve bir kez de steril damıtık suda yıkanmıştır. Bitkiler havada kurutulup blender yardımıyla toz haline getirildikten sonra tüm materyaller örneklerin hazırlanmasına kadar oda sıcaklığında depolanmıştır. Örnekler analiz için ihtiyaç duyulana kadar 4°C' de saklanmıştır. Havada kurutulmuş ve toz haline getirilecek olan örnekler etanol, metanol ve su ile maserasyon tekniği kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Organik çözücülerde bulunan özütler uçurulduktan sonra her biri kendi çözücüsü içinde küçük steril opak şişeler içerisinde kullanılabilecek şekilde buzdolabı

şartlarında (4°C’ de) saklanmıştır. Bitki ekstralarının verimleri ise kayıt altına alınmıştır.

2.2.2. Balık örneklerin hazırlanması

Muğla-Milas balık halinden ticari olarak temin edilen, yaklaşık aynı boy ve ağırlığa sahip olan taze çipura ve levrek balıkları soğuk zincir şartlarında yaklaşık 2 saat içerisinde Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Laboratuvarı’na ulaştırılmıştır.

Çizelge 1. Levrek ve çipura örneklerinin boy-ağırlık ortalamaları

	Levrek	Çipura
Boy	29.5 ± 0.5 cm	28.0 ± 1.0 cm
Ağırlık	320.2 ± 0.5g	378.1 ± 0.6 g

Aynı gün içinde balıklar işleme alınarak, ilk olarak boy ve ağırlık ölçümleri yapılmış, steril bir ortamda fileto haline getirilerek et verimi hesaplanmıştır. Bu tez çalışması kapsamında balık filetolarında 3 işlem gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler şunlardır:

- 1- Laboratuvara gelen balık örneklerinden 1 g kas dokusu alınarak seri dilüsyonları hazırlanmış ve öncelikle toplam bakteri sayıları belirlenerek ve kayıt altına alınmıştır.
- 2- Steril nutrient agar besiyerine seri dilüsyonlardan ekimler yapılarak ve farklı pigmentler ile morfolojik özelliklere sahip kolonilerden alınarak steril nutrient agar besiyerlerine pasajlar yapılmıştır. 37°C’ de 24 saat inkübe edilen örneklerden seri pasajlamalar yapılarak saf kültürler elde edilmiştir.
- 3- Balık filetoları bitki ekstraları ile muamele edilmiştir.

2.2.3. Bakterilerin izolasyonu ve identifikasyonu

Sayım işlemlerinden sonra, besiyeri üzerinde gelişen farklı renk ve morfolojik özelliklere sahip koloniler seçilmiş ve seri pasajlama yapılarak izolasyonları

sağlanmıştır. İdentifikasyon yapılcaya kadar nutrient agar yatık besiyerlerinde stoklanarak 4 °C’de saklanmıştır.

Saflaştırılmış kültürlerin identifikasyonları için uygulanan biyokimyasal testler; gram boyama, spor boyama, asit fast boyama, katalaz üretimi (%3 H₂O₂) üretimi ve seçici besiyerinde gelişmedir (MacConkey agar, TSI agar vb.).

2.2.4. In vitro antibakteriyel aktivitenin saptanması

In vitro antibakteriyel aktivitenin saptanması Kirby-Bauer (1966) metodu kullanılarak yapılmıştır. Bitki örneklerinin etanol, metanol ve sulu ekstraktları (300 mg/ml) disk difüzyon yöntemi ile izole edilmiş bakterilere karşı test edilmiştir. Bakteri kültürleri Mueller-Hinton agar plakları üzerinde (MHA, Merck), 24 saat süre ile 37°C’de inkübe edilmiş ve kültürlerin turbiditesi 0.5 Mc Farland’a ayarlanmıştır. İnkübasyon sonrasında oluşan inhibisyon zonları mm cinsinden kayıt altına alınmıştır. Pozitif kontrol olarak standart antibiyotiklerden kloramfenikol ticari olarak temin edilerek kullanılmıştır.

2.2.5. Minimum inhibitör konsantrasyonunun saptanması (MİK)

Çalışmada bir diğer antibakteriyel aktivite testi olarak bitki özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyonları belirlenmiştir. MİK, inkübasyon sonrası gelişimi inhibe eden en düşük konsantrasyon olarak ele alınmıştır. Sıvı dilüsyon yöntemi CLSI standartlarında tanımlandığı şeklinde denenmiş (CLSI, 2003; CLSI, 2006) ve bu testte her bir özütün final konsantrasyonları 13000; 6500; 3250; 1625; 812,5 µg/ml olacak şekilde ayarlanmıştır.

2.2.6. Enzimatik olmayan antioksidan aktivitenin saptanması

DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl), kırmızı renkli (517 nm’de maksimum absorbans) kararlı bir serbest radikaldir; serbest radikaller temizlenmişse, DPPH sarı renk üretecektir. Bu karakteristik özellik, serbest radikal süpürme aktivitesini değerlendirmek için kullanılır. DPPH radikali, hidrojen verebilen ve indirgenebilen bir

antioksidan bileşik ile reaksiyona girer. Bir antioksidan tarafından etkilendiğinde DPPH difenil-pikril hidrazine dönüştürülür. Bu da mor rengin açık sarı renge dönüştürülmesiyle tanımlanabilir (Vangoori ve ark. 2019).

Bu çalışmalarda serbest radikal olarak 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH) kullanılmıştır. Çalışmada DPPH, bitki ekstralarının serbest radikal süpürme aktivitesini belirlemek için kullanılmıştır. 0.1 ml bitki ekstresi 0.1 mM metanol DPPH solüsyonunun 2.9 ml' sine eklenmiş ve 30 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra ekstrenin absorbansı spektrofotometre kullanılarak 515 nm'de ölçülmüştür. Metanollü DPPH solüsyonu kontrol, metanol ise kör olarak kullanılmıştır. Troloks ise referans antioksidan olarak kullanılmıştır. DPPH süpürme kapasitesi formülünden yararlanılarak hesaplanmış ve (%) cinsinden verilmiştir (Brand-Williams, 1995).

2.2.7. Balık filetolarının bitki ekstralarına daldırılması

Balık filetolarının bitki ekstralarına daldırılmasında, antibakteriyel ve/veya antioksidan aktiviteleri gruplama tüm ekstraların yüksek aktivite göstermesi üzerine hepsi için hazırlanmıştır. Tartımı ve verimi hesaplanmış balık fileto etleri 7 gruba ayrılarak ve steril cam beherlere yerleştirilmiştir:

1. grup kontrol olacak ve hiç işlem uygulanmamıştır (K);
2. gruba karanfil su ekstresi (300 ppm) uygulanmıştır (KSE);
3. gruba karanfil etanol ekstresi (300 ppm) uygulanmıştır (KEE);
4. gruba muskat su ekstresi (300 ppm) uygulanmıştır (MSE);
5. gruba muskat etanol ekstresi (300 ppm) uygulanmıştır (MEE);
6. gruba üzerlik su ekstresi (300 ppm) uygulanmıştır (ÜSE);
7. gruba üzerlik metanol ekstresi (300 ppm) uygulanmıştır (ÜME).

2.2.8. Paketleme ve depolama

Bitki özleri ile muamele edilmiş balık fileto örnekleri etiketlenerek ve steril edilmiş cam kavanozlara yerleştirilerek paketlenmiştir. Daha sonra buzdolabının içinde 4°C'de

saklanmıştır. Muamele edilen balık grupları mikrobiyolojik, pH ve TBA analizlerine tabi tutulduktan sonra değerlendirilmiştir. Numuneler periyodik olarak her 5 günde bir analize [0. (uygulamadan sonra 2 saat içinde), 5., 10., 15. Günde] alınmıştır.

2.2.9. Balıklarda raf ömrü ve kalite kriterlerinin belirlenmesi

2.2.9.1. pH ölçümü

Balıkların raf ömrünü ve kalite kriterlerini belirleme de kullanılan testlerden biri pH'tır. Bunun için numunelerin pH'ı bir AOAC yöntemine göre ölçülmüştür (Association of Official Analytical Chemists, 1990). 1 g numune (her gruptan), 9 ml distile su ile homojenize edilerek; pH, pH metre cihazı ile ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

2.2.9.2. Mikrobiyolojik Analizler

- Balık filetolarından mikrobiyolojik analizler için, 1 g örnek tartılarak; steril fizyolojik tuzlu su (9 ml) içine ilave edilmiş ve homojen hale getirilmiştir. Elde edilen 10^{-1} (1/10)' lik dilüsyondan diğer desimal dilisyonlar hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan nutrient agar besiyerine ekimleri yapılarak inkübasyona bırakıldı (37°C ' de 24 saat süre) ve inkübasyon süresi sonunda koloni sayımları yapılmıştır (cfu/ml).
- Ayrıca toplam aerobik bakteri (TAB) ile toplam psikrofilik bakteri (TPB) sayımları da yapılmıştır. Toplam aerobik bakteri grubu 30°C 'de 3 gün, psikrofilik grup ise 7°C 'de 7 gün inkübe edilmiştir.
- Laktik asit bakterilerinin (LAB) sayımı için MRS agar kullanılmış ve ekimi yapılan plaklar $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 2 gün inkübe edildikten sonra değerlendirilmiştir (cfu/ml).

2.2.9.3. Tiobarbitürik asit reaktif maddelerinin tayini

3-karbon bileşiği malonaldehit (MDA), oksitlenmiş ve çoklu doymamış lipid içeriğinin önemli bir bozunma ürünüdür. Malonaldehit-tiobarbutirik asit (TBA) kompleksinin spektrofotometrik tespiti, gıda ve biyolojik dokularda lipid oksidasyonunu ölçmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Yöntemin temel prensibi, 1 molekül malonaldehit ile 2 molekül TBA'nın reaksiyona girerek spektrofotometrik

olarak ölçülebilen pembe bir pigment malonaldehit-TBA kompleksi oluşturmaktadır (Tokur ve ark.,2006).

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBA-RS), Esterbauer ve Cheeseman (1990)'a göre 2 g doku örneği proteini çöktürmek için 4 ml trikloroasetik asit (%10'luk TCA) ile ezilerek ependorf tüplere mikropipet yardımıyla aktarıldı. Çözelti 6000 rpm santrifüjlemeden sonra oluşan süpernatantın bir kısmı tüplere alınarak 10 dakika kaynar su banyosunda eşit hacimde 2 ml TBA (%0,67) ile reaksiyona sokuldu. Kör olarak 2 ml TCA, 2 ml TBA konularak, soğumuş olan tüpler absorban 532 nm'de okundu ve MDA konsantrasyonu 153.000 değerine göre hesaplandı.

2.2.10. İstatistiksel analizler

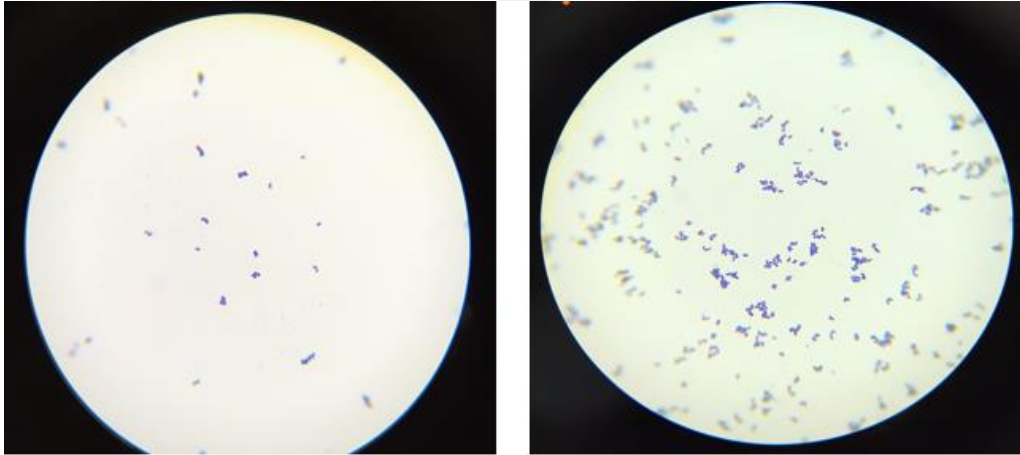
Çalışılacak her bağımlı veya bağımsız değişken için örneklemeler sonucunda elde edilecek veri gruplarının ortalama, medyan, mod ve standart sapma gibi temel istatistiksel anlamlılıkları STATISTICA 10 istatistiksel program ile kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen veriler “Multivariate Varyans Analizi (MANOVA)” testi kullanılarak farklı grupları arasında karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir. MANOVA sonrası her tür için bitkiler arası farkın olması durumunda, farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğunu tespit etmek için “Tukey Post-Hoc Testi” kullanılmıştır. Yapılmış olan bu testlerin güven aralığı $p < 0.05$ şeklindedir. Tüm bulgular farklı tipte grafikler çizilerek ifade edilmiş ve elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

3. BULGULAR VE İRDELEME

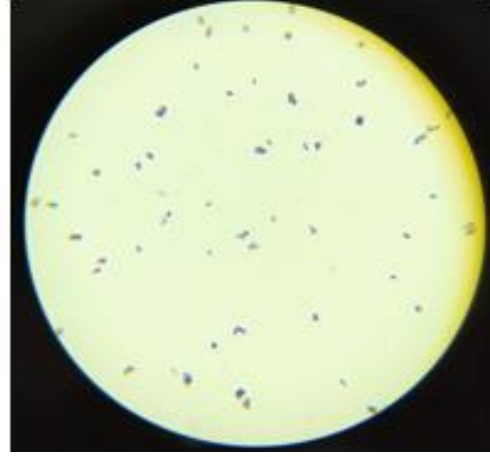
3.1.Mikroorganizmaların identifikasyonu

Saflaştırılan kültürler, identifikasyonları yapıp türleri belirlenene kadar, olası karışıklığın önüne geçmek için çipuradan izole edilenler Ç1, Ç2, Ç3, Ç4, Ç5 ve Ç6; levrekten izole edilenler ise L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7 ve L8 şeklinde kodlanmıştır. Saflaştırılan kültürlerin identifikasyonu morfolojik ve biyokimyasal testler uygulanarak yapılmıştır. Uygulanan testler; gram boyama, spor boyama, asit fast boyama, katalaz üretimi (%3 H₂O₂) üretimi ve seçici besiyerinde gelişmedir (MacConkey agar, TSI agar vb.).

Kültürlerin gram boyama sonuçları aşağıdaki gibidir (Şekil 8-14):



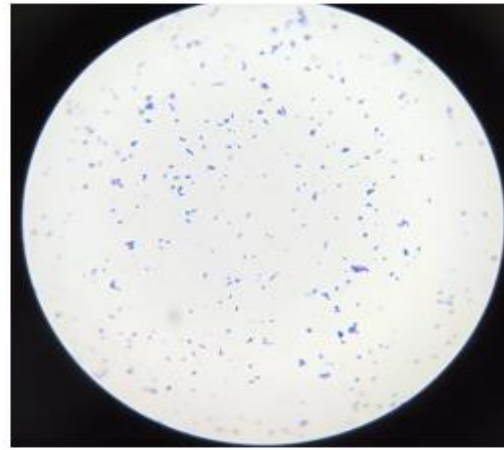
Şekil 8. Ç1 ve Ç2 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu



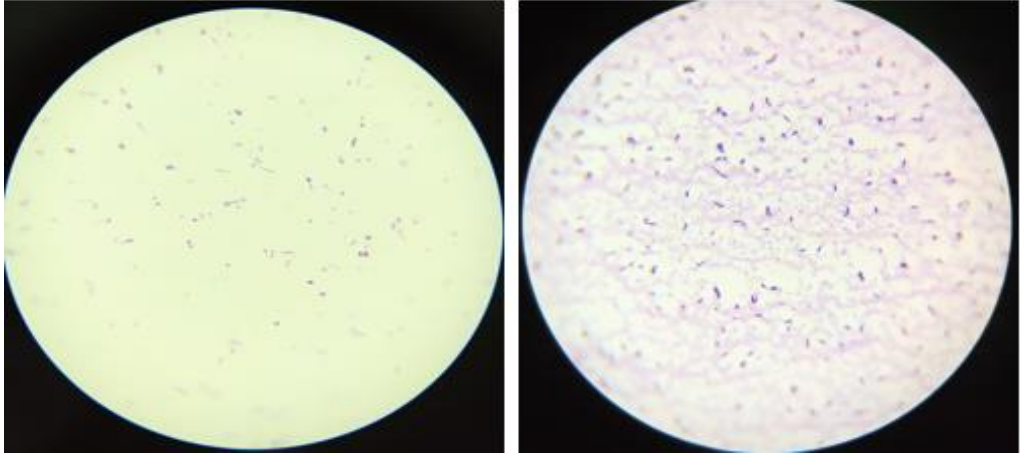
Şekil 9. Ç3 ve Ç4 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu



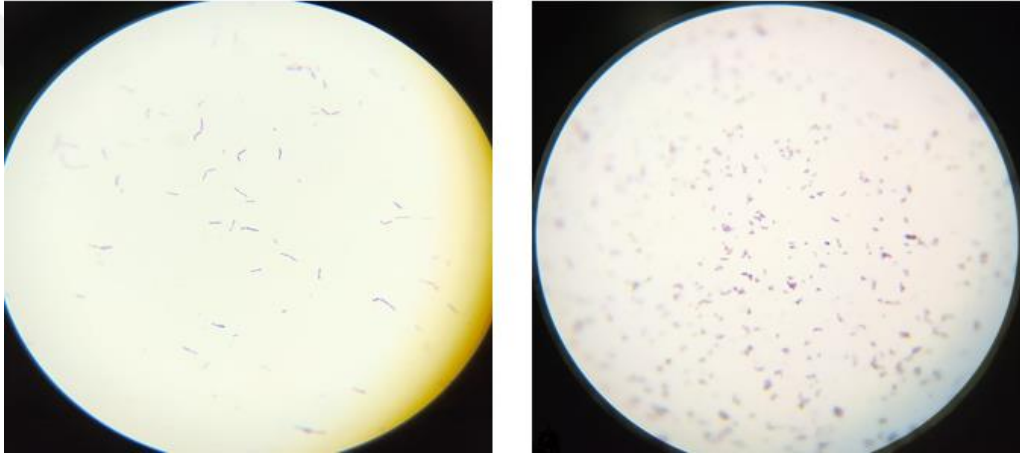
Şekil 10. Ç5 ve Ç6 kültürlerin Gram boyama reaksiyonu



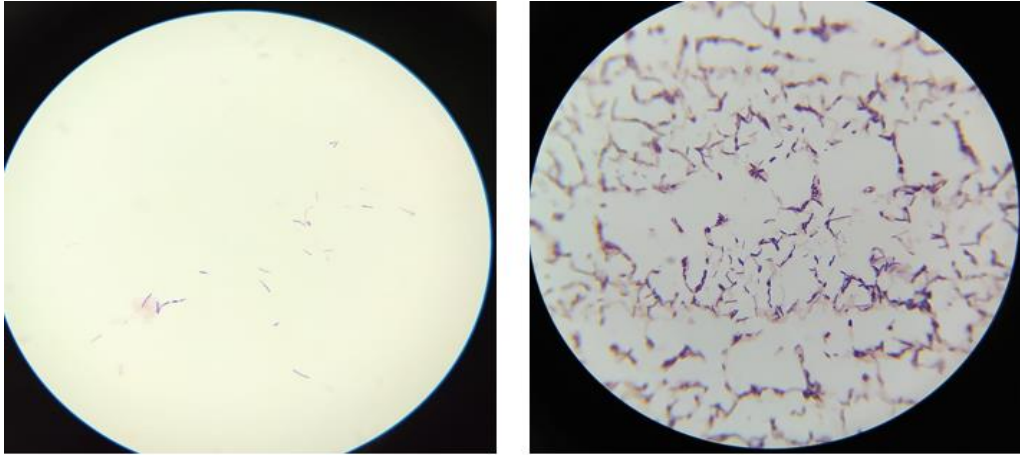
Şekil 11. L1 ve L2 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu



Şekil 12. L3 ve L4 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu



Şekil 13. L5 ve L6 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu



Şekil 14. L7 ve L8 kültürlerinin Gram boyama reaksiyonu

Kültürlerin morfolojik ve biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak yapılan identifikasyon test sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Balıktan izole edilen mikroorganizmaların identifikasyonu sonuçları

Kod	Gram	Morfolojisi	Spor Boyama	Asit-Fast Boya	Katalaz	NA	TSI	MSA	Maltoz	Navobiyosin
L1	-	Streptococci	nt	nt	+	nt	Nt	Nt	Gliserol+ G -; A+	Nt
									Gliserol - G -; A+	
L2	+	Streptococci	nt	nt	+	nt	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	22
L3	+	Basil	+	+	-	-	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	Nt
L4	+	Basil	+	-	-	-	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	Nt
L5	+	Diplobasil	+	-	+	-	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	Nt
L6	+	Cocci	nt	nt	-	nt	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	22
L7	+	Basil	+	-	+	-	Glukoz-; G-	+(sarı)	nt	Nt
L8	+	Basil	-	-	+	-	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	Nt
Ç1	+	Diplococci	nt	nt	-	nt	Glukoz+; G-	-(pembe)	nt	23
Ç2	+	Tetracocci	nt	nt	+	nt	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	26
Ç3	+	Tetracocci	nt	nt	+	nt	Glukoz+; G-	+(sarı)	nt	22
Ç4	+	Diplococci	nt	nt	+	nt	Glukoz-; G-	-(pembe)	nt	30
Ç5	+	Cocci	nt	nt	+	nt	Glukoz-; G-	+(sarı)	nt	30
Ç6	+	Cocci	nt	nt	-	nt	Glukoz-; G-	+(sarı)	nt	22

nt: test edilmedi, G: gaz üretimi, A: asit üretimi, MSA: Mannitol Salt Agar, NA: nişasta agar

Yapılan bu testlerin sonucunda, mikroorganizmaların cinsleri belirlenmiş ve Çizelge 3’de verilmiştir. Buna göre çipura kültürlerinin %66.6’sı *Staphylococcus*, %16.6’sını *Streptococcus*, %16.6’sını ise *Enterococcus* cinslerine ait olduğu görülmüştür. Levrek kültürlerinin %50’sini *Bacillus*, %12.5’ini *Neisseria*, %12.5’ini *Staphylococcus*, %12.5’ini *Enterococcus*, %12.5’ini *Corynebacterium* cinsine ait olduğu görülmüştür.

Çizelge 3. Balıktan izole edilen kültürlerin identifikasyon sonuçları

Levrek		Çipura	
Mikroorganizma	Kod	Mikroorganizma	Kod
<i>Neisseria</i> sp.	L1	<i>Streptococcus</i> sp.	Ç1
<i>Staphylococcus aureus</i>	L2	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ç2
<i>Bacillus</i> sp.	L3	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ç3
<i>Bacillus</i> sp.	L4	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Ç4
<i>Bacillus</i> sp.	L5	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ç5
<i>Enterococcus</i> sp.	L6	<i>Enterococcus</i> sp.	Ç6
<i>Bacillus</i> sp.	L7		
<i>Corynebacterium</i> sp.	L8		

3.2. *In vitro* antibakteriyel aktivitenin saptanması

In vitro antibakteriyel aktivitenin saptanması, Kirby-Bauer (1966) metodu kullanılarak yapılmıştır. Bitki örneklerinin etanol, metanol ve sulu ekstraktları (300 mg/ml) disk difüzyon yöntemi ile test bakterilerine karşı denenmiş olup, pozitif kontrol olarak standart antibiyotiklerden kloramfenikol kullanılmıştır. Elde edilen ölçümler mm cinsinden Çizelge 4’de verilmiştir. Etanol, metanol ve su çözücülerini ise negatif kontrol olarak uygulanmış ve test bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitesi olmadığı saptanmıştır. Elde edilen zon çaplarından 7-14 mm zon çapı zayıf antimikrobiyel etkiyi, 15-20 mm arası zon çapı orta düzey antimikrobiyel etkiyi, 20 mm üzeri zon çapı ise güçlü antimikrobiyel etkiyi belirtmektedir.

Bu çalışma sonuçlarına bakıldığında antibiyotiğin (Chlorophenicol) en yüksek inhibisyon zonu *Staphylococcus epidermidis* Ç4 bakterisine karşı 36 mm olmuştur. Bunun dışında *Staphylococcus aureus* Ç5 bakterisine karşı 34 mm; *Enterococcus* sp. L6, *Staphylococcus aureus* Ç2 ve *Enterococcus* sp. Ç6 bakterilerine karşı 32 mm; *Staphylococcus aureus* L2 ve *Streptococcus* sp. Ç1 bakterilerine karşı 31 mm; *Staphylococcus aureus* Ç3 bakterisine karşı 30 mm; *Neisseria* sp. L1 bakterisine karşı 28 mm; *Bacillus* sp. L4 ve *Bacillus* sp. L5 bakterilerine karşı 23 mm; *Bacillus* sp. L3 bakterisine karşı 22 mm; *Corynebacterium* sp L8 bakterisine karşı ise 20 mm inhibisyon zonu tespit edilmiştir. *Bacillus* sp. L7 bakterisine karşı inhibisyon zonu olmadığı gözlemlenmiştir.

Muskat su ekstresinin yalnızca *Staphylococcus aureus* L2 bakterisine karşı 7 mm inhibisyon zonu gösterdiği belirlenmiştir. Diğer bakterilere karşı hiçbir inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir.

Muskat etanol ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *Staphylococcus aureus* Ç2 bakterisine karşı 13 mm olduğu tespit edilmiştir. Bunun dışında muskat etanol ekstresi *Streptococcus* sp. Ç1 bakterisine karşı 11 mm, *Bacillus* sp. L5 bakterisine karşı 10 mm ve *Corynebacterium* sp L8 bakterisine karşı 8 mm inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. *Bacillus* sp. L7 bakterisine karşı inhibisyon zonu görülmemiştir.

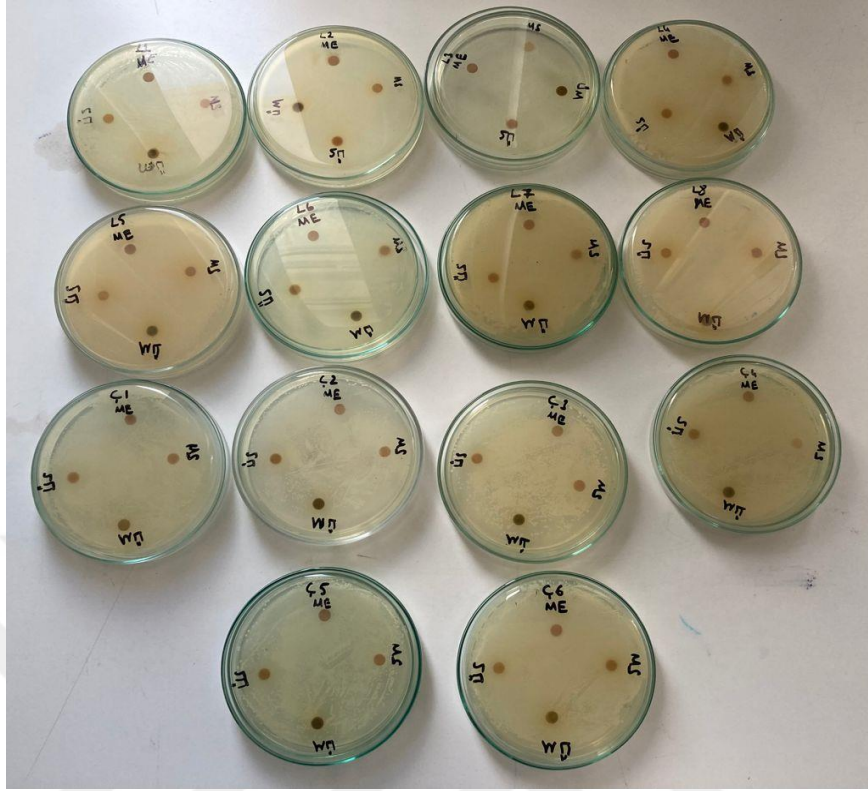
Üzerlik metanol ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *Enterococcus* sp. L6 bakterisine karşı 14 mm iken *Staphylococcus aureus* Ç2 bakterisine karşı ise 13 mm inhibisyon zonu göstermiştir. Üzerlik metanol ekstresi için diğer bakterilere karşı inhibisyon zonu gözlenmemiştir.

Üzerlik su ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *Enterococcus* sp. L6 bakterisine karşı 24 mm iken; *Staphylococcus aureus* Ç2 bakterisine karşı 18 mm, *Neisseria* sp. L1 ve *Staphylococcus aureus* Ç3 bakterilerine karşı 16 mm, *Streptococcus* sp. Ç1 bakterisine karşı 15 mm, *Staphylococcus aureus* Ç5 bakterisine karşı 12 mm ve son olarak *Staphylococcus epidermidis* Ç4 bakterisine karşı 10 mm inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. *Bacillus* sp. L7 bakterisine karşı inhibisyon zonu gözlemlenmemiştir.

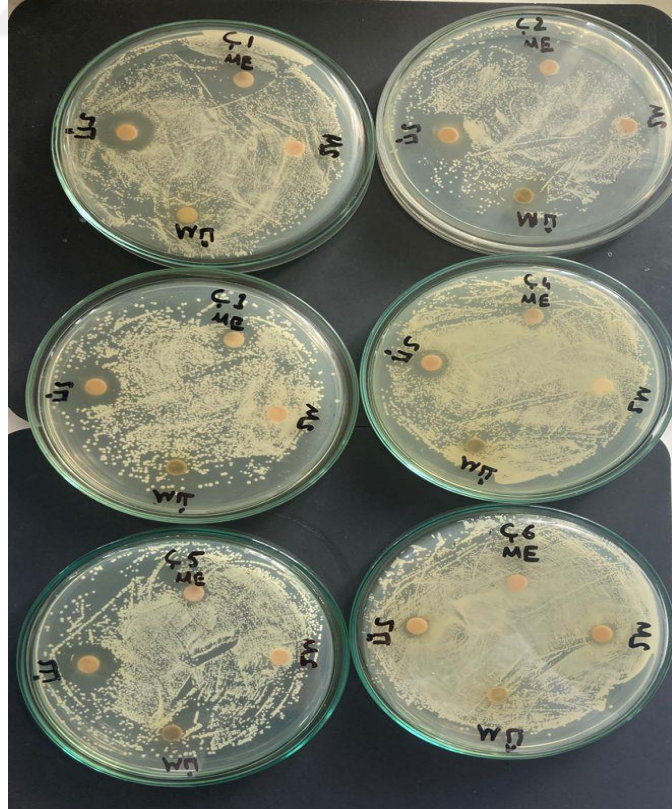
Karanfil etanol ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *Staphylococcus aureus* L2 bakterisine karşı 30 mm olarak tespit edilmiş olup; *Staphylococcus epidermidis* Ç4

bakterisine karşı 26 mm inhibisyon zonu, *Streptococcus* sp. Ç1 bakterisine karşı 24 mm inhibisyon zonu; *Staphylococcus aureus* Ç2 bakterisine karşı 22 mm zon çapı; *Staphylococcus aureus* Ç3 bakterisine karşı 21 mm inhibisyon zonu; *Staphylococcus aureus* Ç5 bakterisine karşı 20 mm inhibisyon zonu; *Enterococcus* sp. L6 ve *Enterococcus* sp. Ç6 bakterilerine karşı 18 mm inhibisyon zonu; *Neisseria* sp. L1 bakterisine karşı 13 mm inhibisyon zonu; *Bacillus* sp. L5 bakterine karşı 9 mm inhibisyon zonu; son olarak *Bacillus* sp. L3, *Bacillus* sp. L4 ve *Corynebacterium* sp L8 bakterilerine karşı 8 mm inhibisyon zonu gözlemlenmiştir. *Bacillus* sp. L7 bakterisine karşı inhibisyon zonu tespit edilmemiştir.

Karanfil su ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *Staphylococcus epidermidis* Ç4 bakterisine karşı 35 mm olarak tespit edilmiştir. *Staphylococcus epidermidis* Ç4 bakterisine karşı inhibisyon zonu 34 mm, *Staphylococcus aureus* L2 bakterisine karşı inhibisyon zonu 33 mm, *Staphylococcus aureus* Ç5 bakterisine karşı inhibisyon zonu 30 mm, *Enterococcus* sp. Ç6 bakterisine karşı inhibisyon zonu 26 mm, *Staphylococcus aureus* Ç3 bakterisine karşı inhibisyon zonu 25 mm; *Neisseria* sp. L1, *Enterococcus* sp. L6 ve *Staphylococcus aureus* Ç2 bakterilerine karşı inhibisyon zonu 24mm, *Bacillus* sp. L3 ve *Bacillus* sp. L5 bakterilerine karşı inhibisyon zonu 10 mm; *Corynebacterium* sp L8 bakterisine karşı inhibisyon zonu 7 mm olarak gözlemlenmiştir. *Bacillus* sp. L4 ve *Bacillus* sp. L7 bakterisine karşı inhibisyon zonu tespit edilmemiştir (Çizelge 4).



Şekil 15. Çipura ve levrek örnekleri disk difüzyon plakları



Şekil 16. Çipura disk difüzyon plakları



Şekil 17. Levrek disk difüzyon plakları

Çizelge 4. Bitki ekstralarının balıktan izole edilen bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteleri

		Bitki Ekstreleri						
		Ant	MEE	MSE	ÜME	ÜSE	KEE	KSE
Bakteriler	L1	28	7	-	-	16	13	24
	L2	31	-	7	-	-	30	33
	L3	22	-	-	-	-	8	10
	L4	23	-	-	-	-	8	-
	L5	23	10	-	-	-	9	10
	L6	32	-	-	14	24	18	24
	L7	-	-	-	-	-	-	-
	L8	20	8	-	-	-	8	7
	Ç1	31	11	-	-	15	24	35
	Ç2	32	13	-	13	18	22	24
	Ç3	30	-	-	-	16	21	25
	Ç4	36	-	-	-	10	26	34
	Ç5	34	-	-	-	12	20	30
	Ç6	32	-	-	-	-	18	26

Ant: Antibiyotik (Chlorophenicol) KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

3.3. Minimum inhibitör konsantrasyonunun saptanması (MİK)

Çalışmada bir diğer antibakteriyel aktivite testi olarak bitki özütlerinin minimum inhibitör konsantrasyonları belirlenmiştir. Sıvı dilüsyon yöntemi, CLSI standartlarında tanımlandığı şekilde denenmiş ve bu testte her bir özütün final konsantrasyonları 13000; 6500; 3250; 1625; 812,5 µg/ml olacak şekilde ayarlanmıştır (CLSI, 2003; CLSI, 2006). Elde edilen sonuçlar Çizelge 5’te verilmiştir.

Bu çalışmada, izole edilen 14 bakteriye karşı antibakteriyel aktivite çalışılmış ve antimikrobiyal aktivite gösteren bitki ekstralarına “minimum inhibitör konsantrasyonu” testi uygulanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler dikkate alındığında; en düşük MİK değerinin 1625 µg/ml ile *Syzygium aromaticum* L. sulu ekstresinden L8, Ç1, Ç2 ve Ç4 (*Corynebacterium* sp., *Streptococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*)’e karşı elde edildiği gözlenmiştir. En yüksek MİK değeri ise 13000 µg/ml olarak saptanmıştır.

Peganum harmala L. sulu ekstresinin en düşük MİK değeri, 3250 µg/ml ile *Enterococcus* sp. L6 bakterisine karşı elde edilmiştir (Çizelge 5.).

Çizelge 5. Bitki ekstralarının minimum inhibitör konsantrasyonları (µg/ml)

BAKTERİ	BİTKİ EKSTRELERİ					
	<i>Peganum harmala</i> L.		<i>Myristica fragrans</i> Houtt.		<i>Syzygium aromaticum</i> L.	
	SE	ME	SE	EE	SE	EE
L1	13000	TE	TE	13000	6500	-
L2	TE	TE	13000	TE	3250	-
L3	TE	TE	TE	TE	3250	-
L4	TE	TE	TE	TE	TE	13000
L5	TE	TE	TE	-	3250	13000
L6	3250	13000	TE	TE	3250	6500
L7	TE	TE	TE	TE	TE	TE
L8	TE	TE	TE	-	1625	-
Ç1	6500	TE	TE	13000	1625	-
Ç2	6500	-	TE	-	1625	-
Ç3	6500	TE	TE	TE	-	1300
Ç4	13000	TE	TE	TE	1625	-
Ç5	6500	TE	TE	TE	6500	-
Ç6	TE	TE	TE	TE	3250	-
(TE): Test Edilmedi, (SE): Su Ekstresi, (ME): Metanol Ekstresi, (EE): Etanol Ekstresi, (-): Denenen tüm konsantrasyonlarda üreme var						

3.4. Enzimatik olmayan antioksidan aktivitenin saptanması

Antioksidan aktivite çalışmalarında, serbest radikal olarak DPPH kullanılmış ve bitki ekstralarının DPPH süpürme kapasitesi formülünden yararlanılarak hesaplanmış ve (%) cinsinden, troloks eşdeğeri ise mM troloks/g kuru ağırlık cinsinden verilmiştir (Çizelge 6, Şekil 14).

Antioksidan aktivite çalışmalarının verileri incelendiğinde ise;

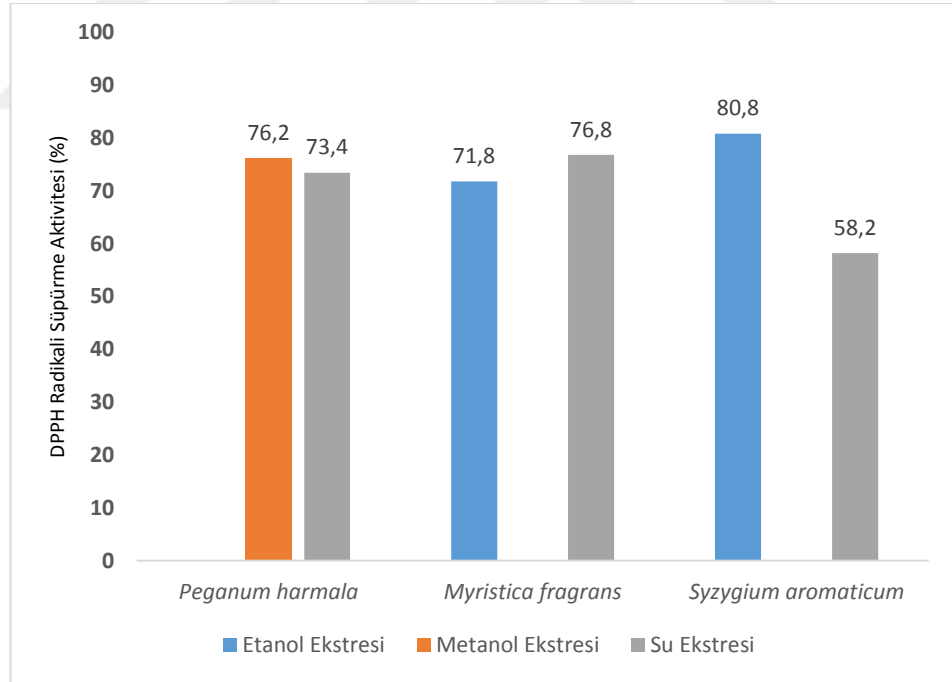
- *Peganum harmala*'nın sulu ekstresi %73.4, metanol ekstresi ise %76.2 radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (Şekil 14).

- *Myristica fragrans*'ın sulu ekstrede radikal süpürme yüzdesi %76.8 iken etanol ekstresinde bu oran %71.8 olmuştur (Şekil 14).
- *Syzygium aromaticum*'un ise radikal süpürme aktivitesi sulu ekstrede %58.2 iken, etanol ekstresinde %80.8 olarak bulunmuştur (Şekil 14).

Çizelge 6. Bitki ekstralarının antioksidan aktiviteleri (300 mg/ml)

BİTKİLER	Etanol Ekstesi		Metanol Ekstresi		Su Ekstresi	
	İnhibisyon (%)	TE (nM)	İnhibisyon (%)	TE (nM)	İnhibisyon (%)	TE (nM)
<i>Peganum harmala</i> L.			76.2	2.0	73.4	1.9
<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	71.8	1.9			76.8	2.0
<i>Syzygium aromaticum</i> L.	80.8	2.1			58.2	1.5

TE: Troloks eşdeğeri (mM/g DW) DW: Kuru ağırlık



Şekil 18. Bitkilerin DPPH süpürme aktiviteleri

3.5. pH Ölçümü

Çalışmada balık filetolarına *Peganum harmala*, *Myristica fragrans* ve *Syzygium aromaticum* bitkilerinin sulu, etanollü ve metanollü ekstreleri muamele edilerek, raf ömrüne etkileri pH ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarına bakılarak karar verilmiştir. Filetolar başlangıç, 5, 10 ve 15. günler takip edilerek bu çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan ilki filetolardaki pH değişimlerinin takibidir. Çipura ve levrek için veriler Çizelge 7-8 ‘deki gibidir.

Çizelge 7. Çipura pH değerleri

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	MEE	MSE	ÜME
0. GÜN	6.72	6	6.08	5.57	6.72	6.8	6.5
5. GÜN	5.5	4.5	4	5	4.5	5.5	6
10. GÜN	6.5	4.5	5	6.5	6.5	6	6
15. GÜN	7	6	5.5	6.5	6	6	6.5

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

Çizelge 8. Levrek pH değerleri

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	MEE	MSE	ÜME
0. GÜN	6	6	5	5.5	6.5	5.5	5
5. GÜN	6.7	6	6.2	6	5.5	6	6.5
10. GÜN	5.7	4.8	4.3	5.8	4.4	5.3	4.3
15. GÜN	6.1	4.9	4.9	4.7	5.9	4.7	4.7

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

3.6. Mikrobiyolojik analizler

Filetolara uygulanan bitki ekstrelerinde 15 günlük çalışma sonucu bakılan bir diğer parametre ise mikrobiyolojik analizdir. Filetolar başlangıç, 5, 10 ve 15. günlerde mikrobiyolojik analizlere tabi tutulmuştur. Bunlar toplam laktik asit bakterileri, toplam

aerobik bakteri sayısı ve toplam psikrofil bakteri sayısıdır. Bu çalışmalardan elde edilen verilerde farklı sonuçlar tespit edilmiştir.

Çalışmada balık halinden temin edilen Çipura ve levrek balıklarına bitki ekstrelerinin etkisi incelenmiş olup, bunun için toplam laktik asit bakteri sayımı, toplam aerobik bakteri sayımı ve toplam psikrofilik bakteri sayımları yapılmıştır. Kontrol grubuna ise hiçbir bitki ekstresi uygulanmamıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler dikkate alındığında farklı sonuçlar saptanmıştır (Çizelge 9-14).

Çipura ile yapılan çalışmalarda karanfil, üzerlik ve muskat bitkilerinin su ve etanol ekstreleri uygulanmıştır. Ancak üzerlik bitkisinin etanol ekstresinden yeterli verim sağlanamadığı için metanol ekstreleri ile çalışma yürütülmüştür. Çalışma verileri dikkate alındığında tüm bitki ekstrelerinde kontrol grubu da dahil hiçbir uygulamada ilk 10 günde herhangi bir bakteri kültürünün gelişmediği saptanmıştır. Diğer 15. gün çalışmalarında ise kontrol ve karanfil su ekstresinin uygulandığı filetolarda laktik asit bakterilerinin geliştiği gözlenmiştir. Ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında karanfil uygulanan filetolarda daha düşük sayıda laktik asit bakterisi tespit edilmiştir. Diğer uygulamaların hiçbirinde 15. günün sonuna kadar laktik asit bakterilerinin gelişimi gözlenmemiştir (Çizelge 9).

Çizelge 9. Çipura filetolarındaki toplam laktik asit bakteri sayıları

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	ÜME	MSE	MEE
0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
15	1400	300+	0	0	0	0	0

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

Bir diğer çalışma ise, çipura filetolarındaki toplam aerobik bakteri sayımıdır. Bu çalışmadan elde edilen veriler incelendiğinde ise, kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm filetolarda başlangıç gününden itibaren (0. gün) toplam aerobik bakteri sayısında artış belirlenmiştir. 15. günün sonunda ise tüm filetolarda sayılamayacak kadar çok (300+) toplam aerobik bakterinin geliştiği saptanmıştır. Sadece karanfil etanol

ekstresinin 10 ve 15. günlerin sonunda toplam aerobik bakteri sayısının sıfıra kadar düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 10).

Çizelge 10. Çipura filetolarındaki toplam aerobik bakteri sayıları

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	ÜME	MSE	MEE
0	44000	28400	107000	17200	9400	16900	2400
5	300+	300+	18000	300+	18000	300+	300+
10	300+	300+	0	300+	300+	300+	300+
15	300+	300+	0	300+	800	300+	9800

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

Bir diğer çalışma ise çipura filetolarına uygulanan bitki ekstralarının toplam psikrofilik bakteri sayısı üzerine etkisi olmuştur. Bu çalışma sonuçları incelendiğinde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre, karanfil etanol ekstresinin tüm uygulama günlerinde psikrofilik bakteri sayısını inhibe ettiği saptanmıştır. Diğer uygulamalarda ise 0. günde az olan psikrofilik bakteri sayısının zamana bağlı olarak arttığı saptanmıştır (Çizelge 11).

Çizelge 11. Çipura filetolarındaki toplam psikrofilik bakteri sayıları

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	ÜME	MSE	MEE
0	6200	26100	0	2900	4500	12000	3400
5	300+	300+	0	300+	400	300+	300+
10	300+	300+	0	300+	300+	300+	300+
15	300+	300+	0	300+	2300	300+	300+

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

Bir diğer çalışma ise levrek filetolarına uygulanan bitki ekstralarının toplam laktik asit bakteri sayısı üzerine etkisi olmuştur. Bu çalışma sonuçları incelendiğinde benzer sonuçlar elde edilmiştir, karanfil su ekstresi hariç. Bu çalışmaya göre, tüm filetolarda uygulanan bitki ekstralarında ilk 10 günde hiçbir toplam laktik asit bakteri sayısı saptanmaz iken, sadece karanfil su ekstresinin uygulandığı filetolarda 15. gün sonunda çok sayıda (300+) toplam laktik bakteri sayısı belirlenmiştir. Diğer tüm uygulamalarda

ise 15. günün sonunda bile toplam laktik asit bakteri sayısı saptanmamıştır (Çizelge 12).

Çizelge 12. Levrek filetolarındaki toplam laktik asit bakteri sayıları

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	ÜME	MSE	MEE
0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0	0
15	0	300+	0	0	0	0	0

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

Levrek filetolarındaki toplam aerobik bakteri sayılarına ait çalışmaya bakıldığında ise, karanfil etanol ekstresinin tüm uygulama günlerinde toplam aerobik bakteri sayısını inhibe ettiği saptanmıştır. Ancak kontrol, karanfil su, üzerlik su, üzerlik metanol ve muskat su ekstrlerinde çok sayıda (300+) toplam aerobik bakteri sayısı belirlenmiştir. Muskat etanol ekstresinde ise 5. günün sonunda çok sayıda toplam aerobik bakteri saptanmıştır (Çizelge13).

Çizelge 13. Levrek filetolarındaki toplam aerobik bakteri sayıları

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	ÜME	MSE	MEE
0	94000	400	0	62000	19700	62000	0
5	300+	300+	0	300+	300+	300+	39000
10	300+	300+	0	300+	300+	300+	0
15	300+	300+	0	300+	300+	300+	0

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

Levrekte psikrofil bakteri sayılarına bakıldığında ise çalışmadan farklı sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre, karanfil etanol ve muskat etanol ekstrleri hariç tüm uygulamalarda toplam psikrofilik bakteri belirlenmiş olup, bunlar çok sayıda (300+) bulunmuştur. Karanfil etanol ekstresinde başlangıç gününde (0. gün) bakteri sayımı yapılırken, diğer günlerde toplam psikrofilik bakterilerin inhibe olduğu gözlenmiştir. Muskat etanol ekstresinde ise 5. günde toplam psikrofilik bakteri sayısının arttığı belirlenmiştir (Çizelge 14).

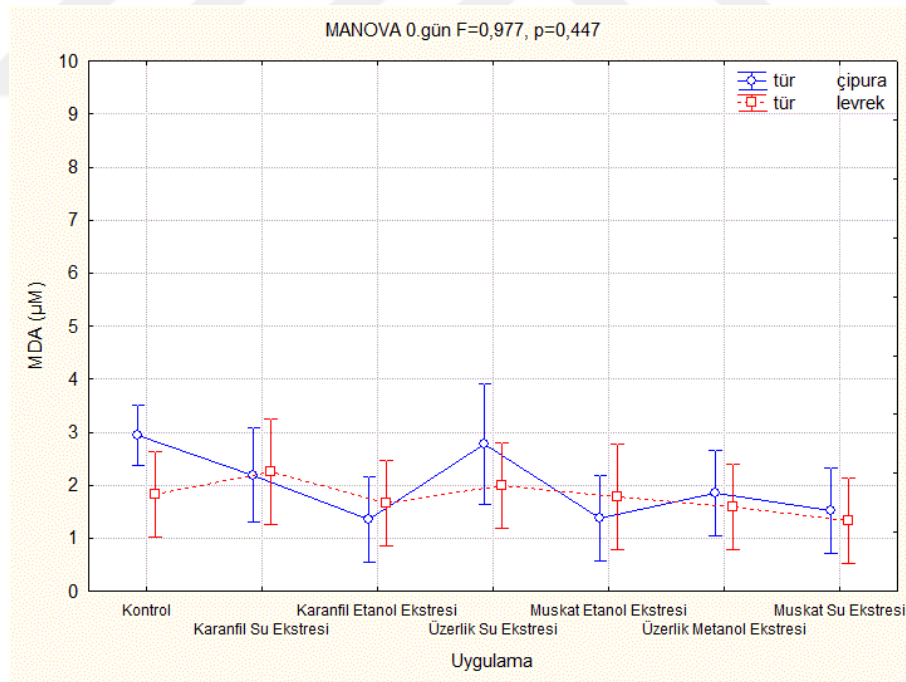
Çizelge 14. Levrek filetolarındaki toplam psikrofilik bakteri sayıları

Ekstreler Gün	Kontrol	KSE	KEE	ÜSE	ÜME	MSE	MEE
0	66000	11600	4000	79000	1200	47000	0
5	300+	300+	0	300+	5500	300+	41000
10	300+	300+	0	300+	300+	300+	0
15	300+	300+	0	300+	300+	300+	0

KSE: Karanfil su ekstresi, KEE: Karanfil etanol ekstresi, ÜSE: Üzerlik Su Ekstresi, ÜME: Üzerlik Metanol Ekstresi, MSE: Muskat Su Ekstresi, MEE: Muskat Etanol Ekstresi

3.7.MDA Analizi

Elde edilen veriler, STATISTICA 10 istatistiksel programı ile Multivariate Varyans Analizi (MANOVA) testi kullanılarak, analizlerin yapıldığı her gün için 7 farklı grup arasında karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir. MDA 0. gün MANOVA testine göre uygulamalar arasında istatistiksel fark bulunmamıştır ($F=0.977$; $p>0.05$).



Şekil 19. MDA 0. günde filetolara uygulanan bitki ekstraları ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları

Tukey Post Hoc testi kullanıldığında hem levrek hem de çipura farklı uygulamalardan çıkan MDA ortalama değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$) (Çizelge 15, Çizelge 16).

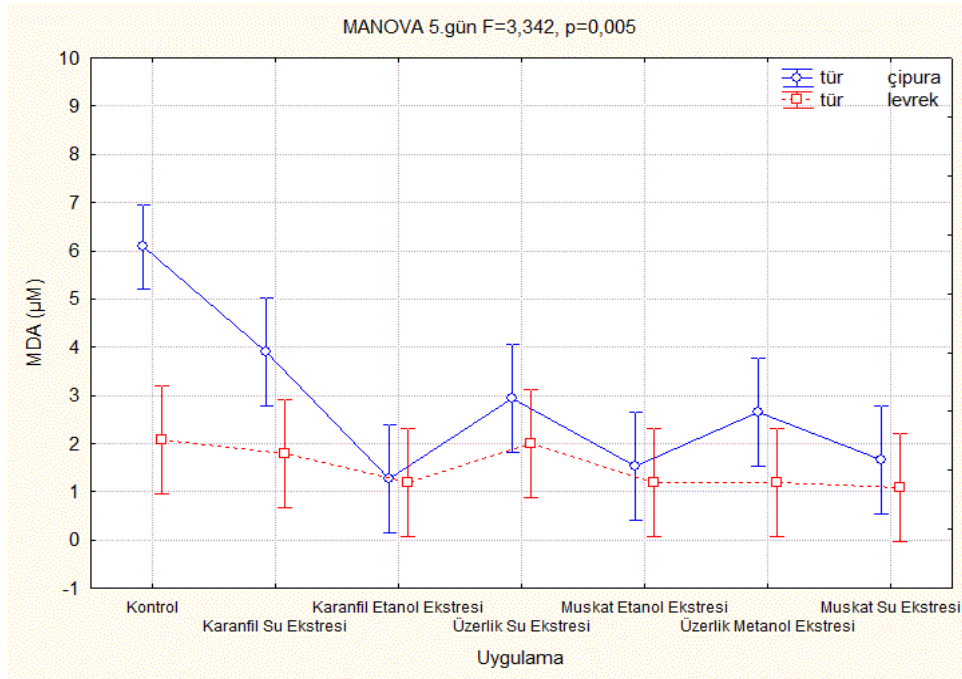
Çizelge 15. 0. gün çipura Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	0.975					
Karanfil Etanol	0.101	0.979				
Üzerlik Su	1.000	1.000	0.746			
Muskat Etanol	0.113	0.984	1.000	0.766		
Üzerlik Metanol	0.633	1.000	1.000	0.988	1.000	
Muskat Su	0.213	0.997	1.000	0.872	1.000	1.000

Çizelge 16. 0. gün levrek Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	1.000					
Karanfil Etanol	1.000	1.000				
Üzerlik Su	1.000	1.000	1.000			
Muskat Etanol	1.000	1.000	1.000	1.000		
Üzerlik Metanol	1.000	0.999	1.000	1.000	1.000	
Muskat Su	1.000	0.970	1.000	0.996	1.000	1.000

MDA 5. gün MANOVA testine göre uygulamalar arasında istatistiksel farklılık tespit edilmiştir ($F= 3.342$; $p < 0.05$).



Şekil 20. MDA 5. günde filetolara uygulanan bitki ekstraktları ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları

Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, sadece kontrol çipura grubu (karanfil su çipura grubu hariç $p=0.144$) ve diğer uygulama grupları arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p< 0.001$) (Çizelge 17). Levrekte uygulama gruplarına bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$) (Çizelge 18).

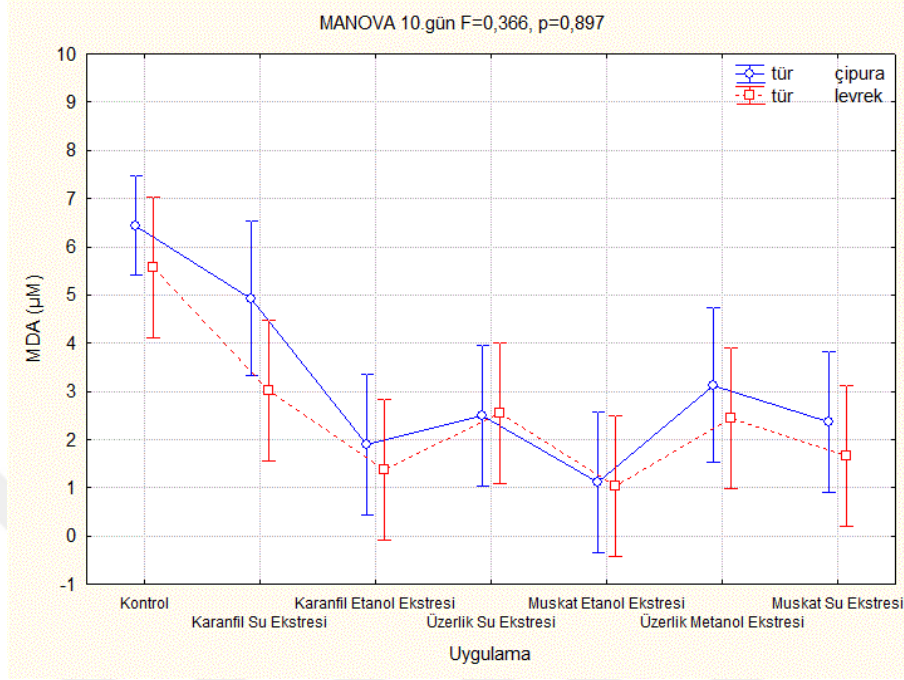
Çizelge 17. 5. gün çipura Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	0.144					
Karanfil Etanol	<0.001	0.077				
Üzerlik Su	<0.001	0.993	0.716			
Muskat Etanol	<0.001	0.166	1.000	0.889		
Üzerlik Metanol	<0.001	0.947	0.897	1.000	0.977	
Muskat Su	<0.001	0.233	1.000	0.942	1.000	0.992

Çizelge 18. 5. gün levrek Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	1.000					
Karanfil Etanol	0.997	1.000				
Üzerlik Su	1.000	1.000	0.999			
Muskat Etanol	0.997	1.000	1.000	0.999		
Üzerlik Metanol	0.994	1.000	1.000	0.999	1.000	
Muskat Su	0.992	1.000	1.000	0.997	1.000	1.000

MDA 10. Gün MANOVA testine göre, uygulamalar arasında istatistiksel fark yoktur ($F=0.366$; $p>0.05$).



Şekil 21. MDA 10. günde filetolara uygulanan bitki ekstreleri ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları

Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, çipura kontrol grubu ile karanfil etanol ve muskat etanol uygulaması arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı bir fark vardır ($p<0.001$). Çipura kontrol ile muskat su uygulama grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0.05$). Çipura kontrol grubu ile karanfil su ve üzerlik metanol uygulama grubu arasında anlamlı fark yoktur ($p>0.05$) (Çizelge 19). Levrek uygulama gruplarında levrek kontrol grubu ile muskat etanol arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$). Levrekte diğer uygulama grupları arasında istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$) (Çizelge 20).

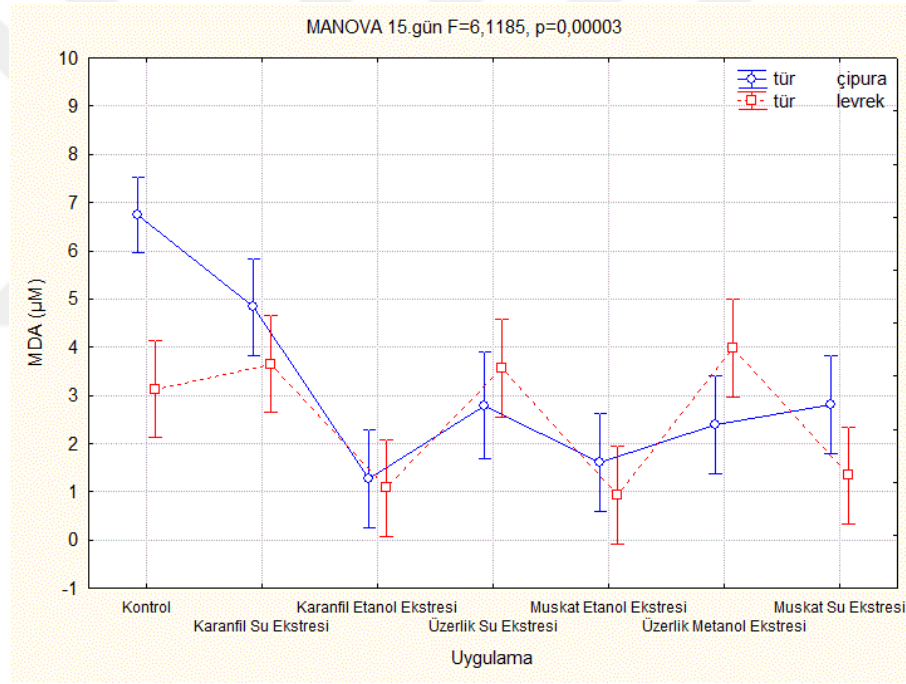
Çizelge 19. 10. gün çipura Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	0.949					
Karanfil Etanol	<0.001	0.265				
Muskat Etanol	<0.001	0.051	1.000	0.988		
Üzerlik Metanol	0.055	0.948	0.997	1.000	0.851	
Muskat Su	<0.05	0.533	1.000	1.000	0.995	1.000

Çizelge 20. 10. gün levrek Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	0.900					
Karanfil Etanol	0.079	0.949				
Üzerlik Su	0.653	1.000	0.997			
Muskat Etanol	<0.05	0.824	1.000	0.972		
Üzerlik Metanol	0.579	1.000	0.999	1.000	0.985	
Muskat Su	0.156	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000

MDA 15. Gün MANOVA testine göre, uygulamalar arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark vardır ($F=6.1185$; $p<0.001$).



Şekil 22. MDA 15. günde filetolara uygulanan bitki ekstraları ve kontrol grubu arasındaki MANOVA sonuçları

Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, çipura kontrol grubu uygulaması ile diğer uygulama grupları arasında (karanfil su hariç $p>0.05$) istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark vardır ($p<0.001$) (Çizelge 21). Levrek uygulama gruplarına bakılacak olursa, uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0.05$) (Çizelge 22).

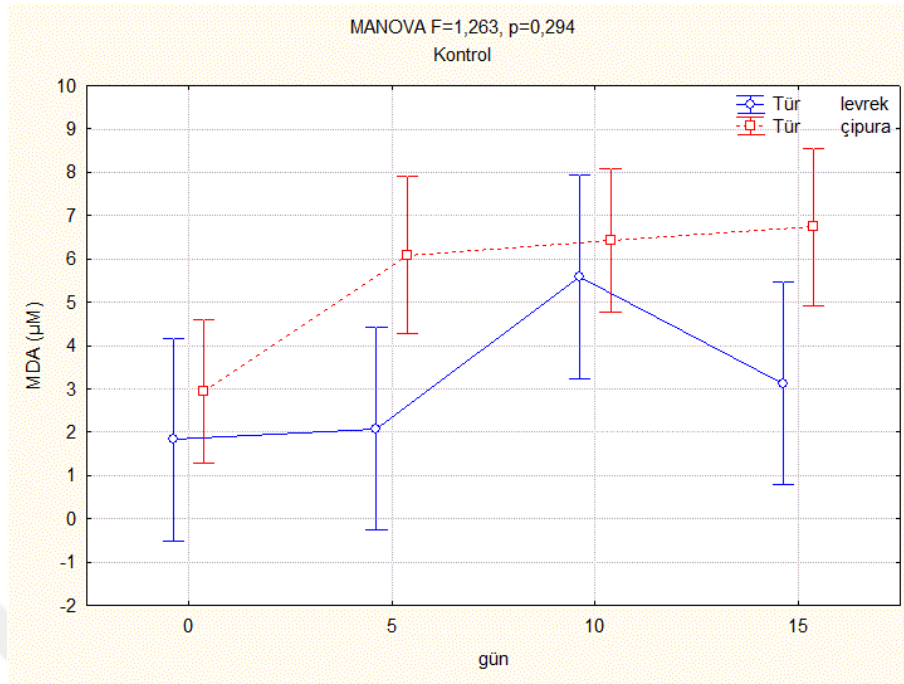
Çizelge 21. 15. gün çipura Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	0.166					
Karanfil Etanol	<0.001	0.000				
Üzerlik Su	<0.001	0.290	0.747			
Muskat Etanol	<0.001	0.002	1.000	0.948		
Üzerlik Metanol	<0.001	0.061	0.946	1.000	0.998	
Muskat Su	<0.001	0.238	0.661	1.000	0.916	1.000

Çizelge 22. 15. gün levrek Tukey Post-Hoc testi

Uygulama	Kontrol	Karanfil Su	Karanfil Etanol	Üzerlik Su	Muskat Etanol	Üzerlik Metanol
Karanfil Su	1.000					
Karanfil Etanol	0.221	0.036				
Üzerlik Su	1.000	1.000	0.051			
Muskat Etanol	0.138	0.019	1.000	0.028		
Üzerlik Metanol	0.995	1.000	0.009	1.000	0.004	
Muskat Su	0.428	0.096	1.000	0.131	1.000	0.027

MANOVA testi kullanılarak, analizlerin yapıldığı her tür için 0, 5, 10 ve 15. gün arasında MDA değerleri karşılaştırma yapılarak değerlendirilmiştir. Kontrol MANOVA testine göre çipurada 0. günden sonra 15. güne doğru bir artış görülmektedir. Levrekte 0 ve 5. gün arasında MDA değerleri değişmemiştir, 5 ve 10. gün arasında küçük bir artış görülmektedir. 15. günde ise düşüş görülmektedir. Sonuç olarak, MANOVA testine göre kontrol grubundaki türler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($F=1.263$; $p>0.05$).



Şekil 23. MDA kontrol grubunda günler arasındaki MANOVA sonuçları

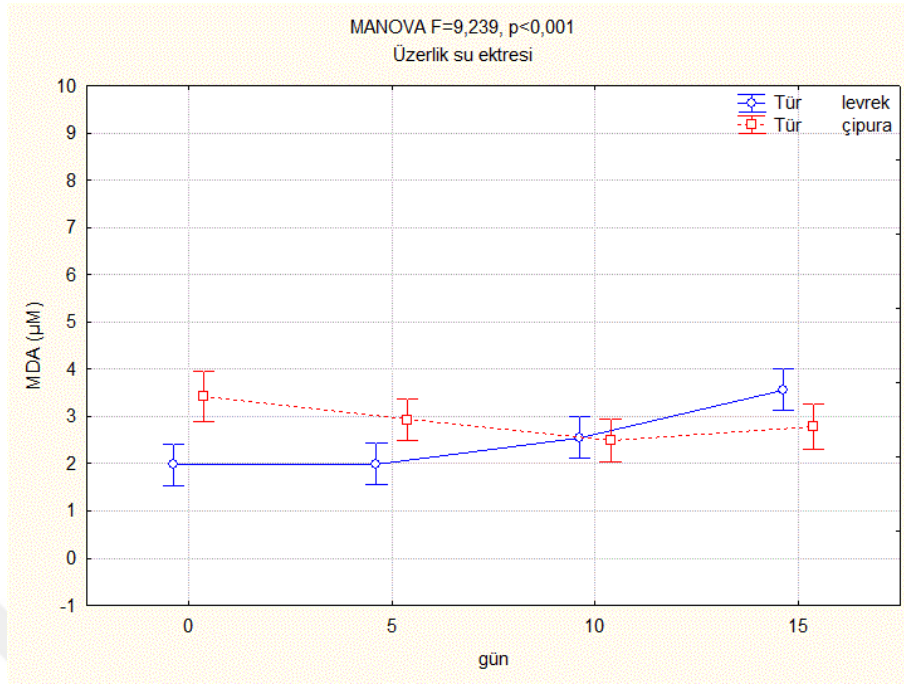
Daha detaylı olarak türler için ayrı ayrı Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, çipura için de levrek için de kontrol grubunun günlere göre istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$) (Çizelge 23).

Çizelge 23. Kontrol Tukey Post-Hoc testi

Çipura			
Gün	0	5	10
5	0.193		
10	0.075	1.000	
15	0.057	1.000	1.000

Levrek			
Gün	0	5	10
5	1.000		
10	0.331	0.422	
15	0.993	0.998	0.816

Üzerlik su uygulamasında MANOVA testine göre çipura 0, 5 ve 10. gün arasında bir düşüş gösterip 15 gün küçük bir artış göstermektedir. Aynı zamanda levrekte 0. ve 5. gün arasında MDA değerleri değişmemiş olup, 10 ve 15. gün küçük bir artış görülmektedir. Türler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($F=9.239$; $p<0.001$).



Şekil 24. MDA üzerlik su ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları

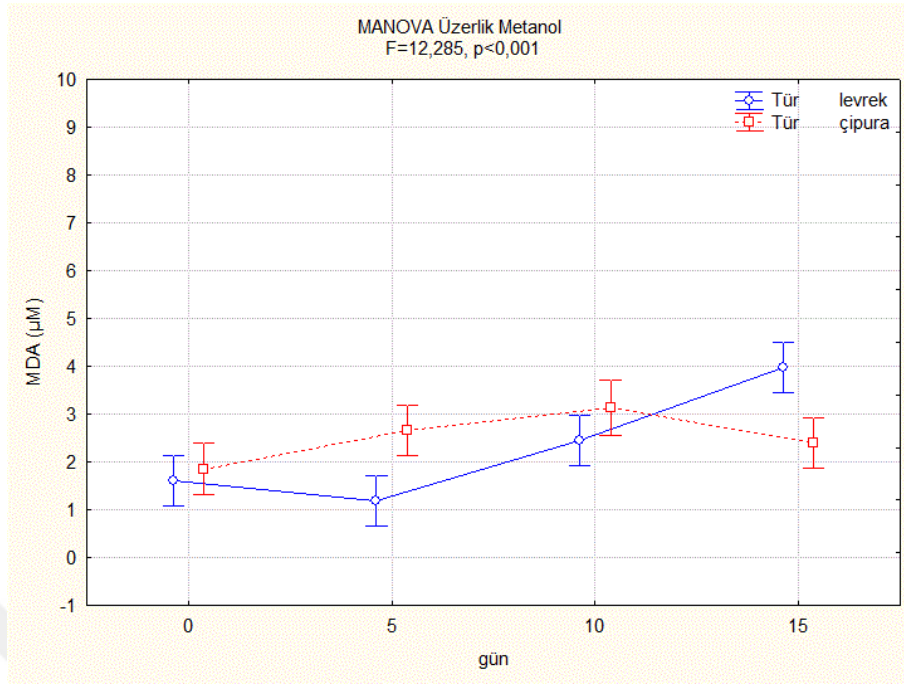
Daha detaylı olarak türler ayrı ayrı Tukey Post Hoc testi kullanılarak incelendiğinde, çipura balığı için üzerlik su ekstresinde günlere göre istatistiksel olarak bir fark yoktur ($p>0.05$). Levrek için üzerlik su ekstresinde 15. gün ile 0 ve 5. gün arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark vardır ($p<0.001$). 10. gün ile 15. gün arasında ise istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$) (Çizelge 24).

Çizelge 24. Üzerlik su Tukey Post-Hoc testi

Çipura			
Gün	0	5	10
5	0.830		
10	0.146	0.836	
15	0.626	1.000	0.982

Levrek			
Gün	0	5	10
5	1.000		
10	0.587	0.612	
15	<0.001	<0.001	<0.05

Üzerlik metanol MANOVA testine göre çipura 0, 5 ve 10. günlerde bir artış göstermiş olup 15. günde düşüş görülmüştür. Aynı zamanda levrekte ise 0 ve 5. gün arasında MDA değerinde düşüş görülmekte olup, 5 ve 15. gün arasında artış görülmektedir. Türler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($F=12.285$; $p<0.001$).



Şekil 25. MDA üzerlik metanol ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları

Daha detaylı olarak türler için ayrı ayrı Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, çipura için üzerlik metanol ekstresinde 10. gün ile 0. gün arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$). Levrek için ise 10. gün ile 5. gün, 15. gün ile 10. gün arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$). Yine levrek balığında 15. gün ile 0. ve 5. gün arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır ($p<0.001$) (Çizelge 25).

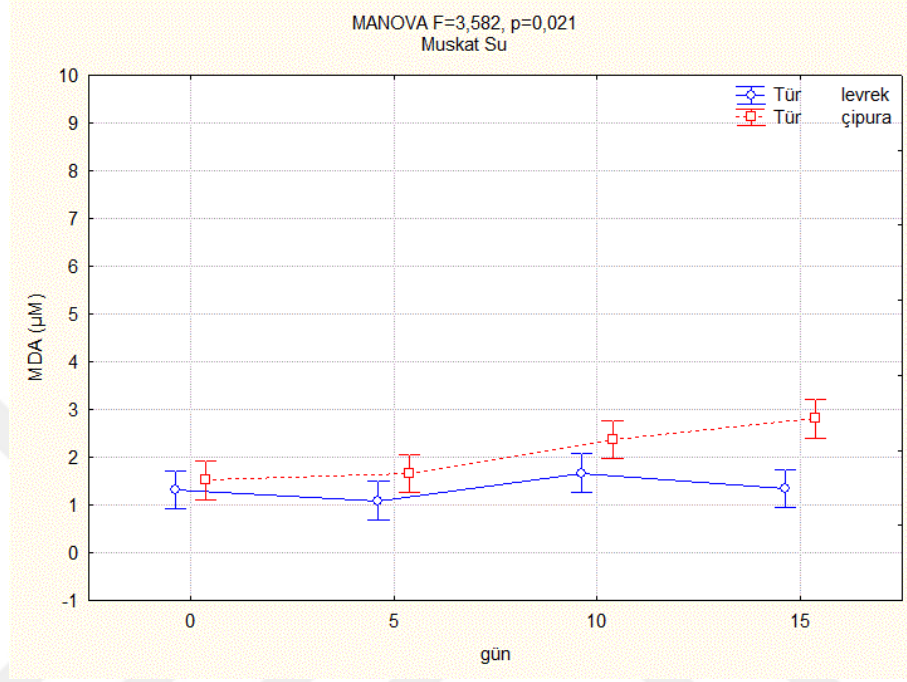
Çizelge 25. Üzerlik metanol Tukey Post-Hoc testi

Çipura			
Gün	0	5	10
5	0.384		
10	<0.05	0.924	
15	0.820	0.996	0.565

Levrek			
Gün	0	5	10
5	0.951		
10	0.323	<0.05	
15	<0.001	<0.001	<0.05

Muskat su MANOVA testine göre çipurada 0, 5, 10 ve 15. gün arasında MDA değerinde artış görülmektedir. Levrekte MDA değerindeki değişimlere bakılacak olursa; 0 ve 5. gün arasında düşüş görülürken, 5 ve 10. gün arasında küçük bir artış,

10 ve 15. gün arasında ise küçük bir azalma görülmektedir. Türler arasında ise istatistiksel olarak fark vardır ($F=3.582$; $p<0.05$).



Şekil 26. MDA muskat su ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları

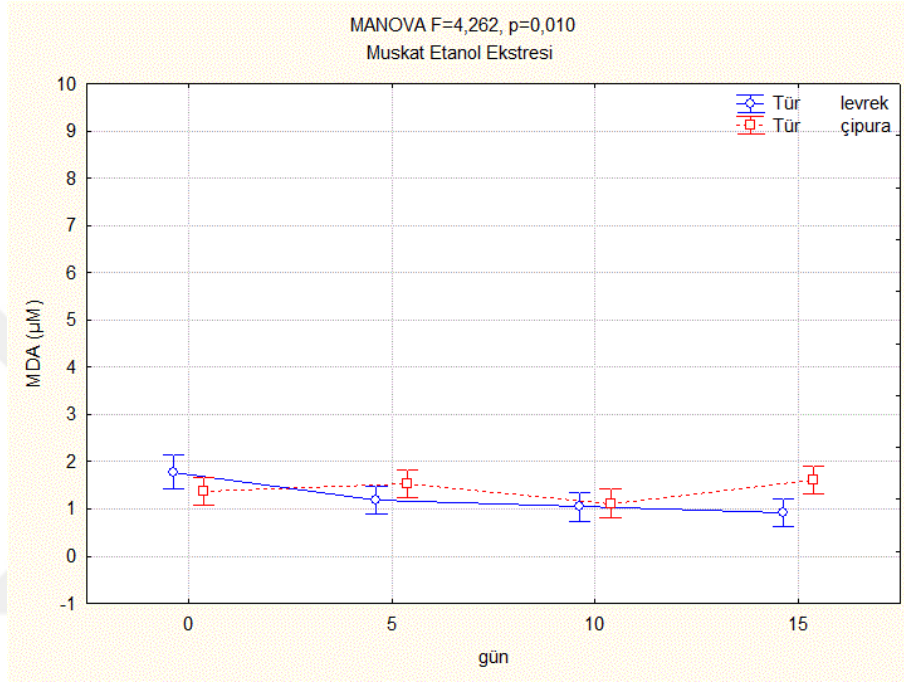
Detaylı olarak her tür için ayrı ayrı Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, levrek için muskat su ekstresinde günlere göre istatistiksel olarak bir fark yoktur ($p>0.05$). Çipura muskat su ekstresi için ise 15. gün ile 0. gün arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark vardır ($p<0.001$). 15. gün ile 5. gün arasında ise istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$) (Çizelge 26).

Çizelge 26. Muskat su Tukey Post-Hoc testi

Çipura			
Gün	0	5	10
5	1.000		
10	0.078	0.225	
15	<0.001	<0.05	0.760

Levrek			
Gün	0	5	10
5	0.991		
10	0.917	0.458	
15	1.000	0.984	0.939

Muskat etanol MANOVA testine göre çipurada MDA değerindeki değişimler; 0 ve 5. gün arasında artış görülürken, 5 ve 10. gün arasında küçük bir düşüş, 10 ve 15. gün arasında ise küçük bir artış görülmektedir. Levrekte ise MDA değerindeki değişimler; 0, 5, 10 ve 15. gün arasında MDA değerinde düşüş görülmektedir. Türler arasında ise istatistiksel olarak fark vardır ($F = 4.262$; $p < 0.05$)



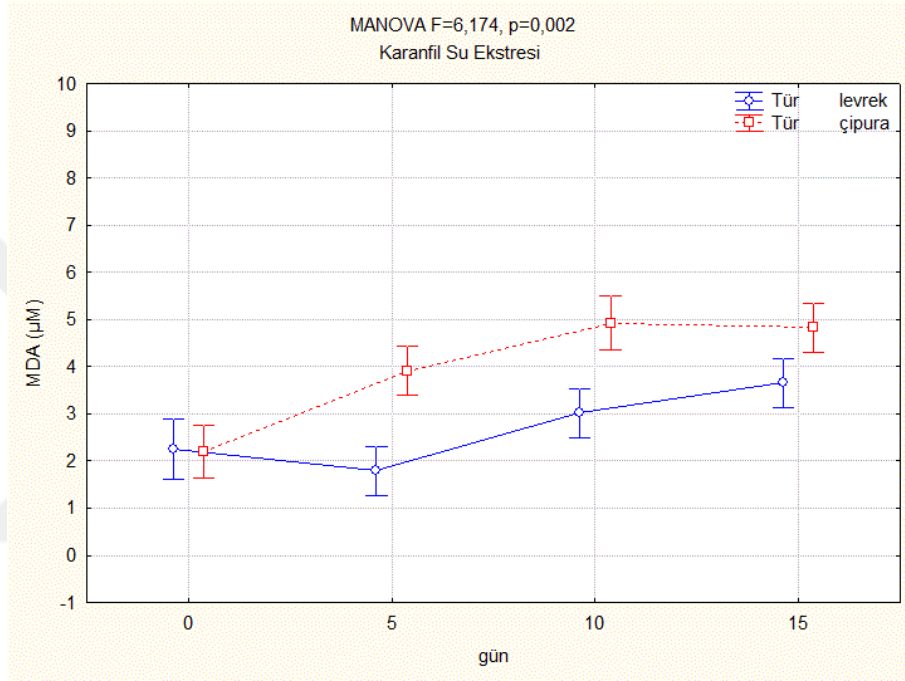
Şekil 27. MDA muskat etanol ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları

Daha detaylı olarak türler için ayrı ayrı Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, çipura balığı için muskat etanol ekstresinde günlere göre istatistiksel olarak fark yoktur ($p > 0.05$). Levrek için muskat etanol ekstresinde ise 15. gün ile 0. gün arasında ise istatistiksel olarak fark vardır ($p < 0.05$) (Çizelge 27).

Çizelge 27. Muskak etanol Tukey Post-Hoc testi

Çipura				Levrek			
Gün	0	5	10	Gün	0	5	10
5	0.994			5	0.215		
10	0.908	0.486		10	0.055	0.996	
15	0.955	1.000	0.295	15	<0.05	0.907	0.999

Karanfil su MANOVA testine göre çipurada MDA değerinde 0, 5 ve 10. gün arasında MDA değerinde artış görülürken; 10 ve 15. gün arasında küçük bir düşüş görülmektedir. Levrekte ise MDA değerindeki değişimler, 0 ve 5. gün arasında düşüş görülürken; 5, 10 ve 15. gün arasında artış görülmektedir. Türler arasında ise istatistiksel olarak fark vardır ($F=6.174$; $p<0.05$).



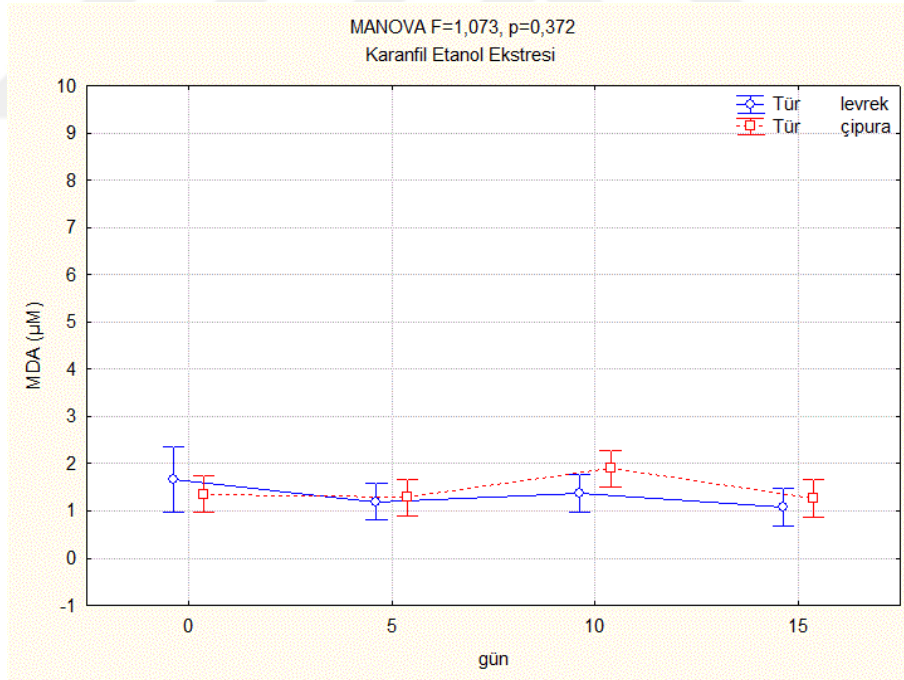
Şekil 28. MDA karanfil su ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları

Daha detaylı olarak türler için ayrı ayrı Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, çipura için karanfil su ekstresinde 0. gün ile 5, 10 ve 15. gün arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark vardır ($p<0.001$). Levrek için karanfil su ekstresinde ise 15. gün ile 0. gün ve 10. gün ile 5. gün arasında istatistiksel olarak fark vardır ($p<0.05$). Yine levrek için 15. gün ile 5. gün arasında istatistiksel olarak oldukça anlamlı fark vardır ($p<0.001$) (Çizelge 28).

Çizelge 28. Karanfil su Tukey Post-Hoc testi

Çipura				Levrek			
Gün	0	5	10	Gün	0	5	10
5	<0.001			5	0.938		
10	<0.001	0.161		10	0.560	<0.05	
15	<0.001	0.208	1.000	15	<0.05	<0.001	0.647

Karanfil etanol MANOVA testine göre çipurada MDA değerindeki değişimler; 0 ve 5. gün arasında MDA değeri değişmemişken, 5 ve 10. gün arasında küçük bir artış, 10 ve 15. gün arasında ise küçük bir düşüş görülmektedir. Levrek için MDA değerindeki değişimlere bakılacak olursa; 0 ve 5. gün arasında bir düşüş, 5 ve 10. gün arasında küçük bir artış, 10 ve 15. gün arasında ise çok küçük bir düşüş görülmektedir. Türler arasında ise istatistiksel olarak fark yoktur ($F=1.073$; $p>0.05$).



Şekil 29. MDA karanfil etanol ekstresinde günler arasındaki MANOVA sonuçları

Daha detaylı olarak türler için ayrı ayrı Tukey Post Hoc testi kullanıldığında, çipura için de levrek için de karanfil etanol ekstresinin günlere göre istatistiksel olarak fark yoktur ($p>0.05$) (Çizelge 29).

Çizelge 29. Karanfil etanol Tukey Post-Hoc testi

Çipura				Levrek			
Gün	0	5	10	Gün	0	5	10
5	1.000			5	0.924		
10	0.513	0.352		10	0.995	0.997	
15	1.000	1.000	0.320	15	0.800	1.000	0.955

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Seçmiş olduğumuz karanfil, üzerlik ve muskat bitkileri; levrek ve çipura balığında ilk kez çalışılmıştır. Patır ve ark. (2015) gökkuşacağı alabalığı üzerinde raf ömrünü uzatmaya yönelik karanfil ekstrelerini kullanmaları ve olumlu sonuçlar elde etmelerinden dolayı karanfil bitkisi pozitif kontrol olarak seçildi. Üzerlik bitkisi ise Demirkol (2010) yapmış olduğu çalışmada görüldüğü gibi yüksek antimikrobiyal özellik göstermesi nedeni ile çalışmada kullanılmış ve çalışmamızı da desteklemektedir. Muskat bitkisinin hipolipidemik özelliğinin MDA tayini açısından olumlu yanıt alınacağı ve daha önce buna yönelik bir çalışma olmadığından dolayı seçilmiştir.

Yapılan identifikasyon sonuçlarına göre çipuradan; *Streptococcus* sp., *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus* sp., levrekten; *Neisseria* sp., *S. aureus*, *Bacillus* sp., *Enterococcus* sp., *Corynebacterium* sp. bakterileri tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Bitki örneklerinin (karanfil, muskat ve üzerlik) etanol, metanol ve sulu ekstreleri (300 mg/ml) disk difüzyon yöntemi ile test bakterilerine karşı denenmiş olup, pozitif kontrol olarak standart antibiyotiklerden chlorophenicol kullanılmıştır. Chlorophenicol en yüksek inhibisyon zonu *S. epidermidis* Ç4 bakterisine karşı 36 mm olmuştur. Karanfil etanol ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *S. aureus* L2 bakterisine karşı 30 mm, Karanfil su ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *S. epidermidis* Ç4 bakterisine karşı 35 mm olarak tespit edilmiştir. Karanfil su *S. aureus* L2 bakterisine ve *Streptococcus* sp. Ç1 bakterisine karşı antibiyotikten daha yüksek bir inhibisyon zonu göstermiştir. Muskat su ekstresinin yalnızca *S. aureus* L2 bakterisine karşı 7 mm inhibisyon zonu gösterdiği belirlenmiştir. Muskat etanol ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *S. aureus* Ç2 bakterisine karşı 13 mm olduğu tespit edilmiştir. Altıntaş ve Kuleaşan (2020) yapmış oldukları çalışmada soğuk sıkım yöntemi ile kullanmış oldukları muskat aseton ekstresinin *S. aureus* 'a karşı 12 mm civarı zon çapı gözlemlenirken, *B. subtilis* 'e karşı zon çapı gözlemlenmemiş; muskat metanol ekstresi için ise *S. aureus* 'a karşı 20 mm civarı, 11 mm zon çapı gözlemlenmiştir. Bu çalışma ile Altıntaş ve Kuleaşan (2020)'ın yapmış olduğu çalışma karşılaştırıldığında muskat bitki ekstraktı için farklı metotlar ve çözücüler kullanılmasına karşın, *S. aureus* 'a karşı benzer zon çapları göstermektedir. Üzerlik metanol ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu 14mm

ile *Enterococcus* sp. L6 bakterisine karşı, üzerlik su ekstresinin en yüksek inhibisyon zonu *Enterococcus* sp. L6 bakterisine karşı 24 mm tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Bu çalışmadan elde edilen veriler dikkate alındığında; en düşük MİK değerinin 1625 µg/ml ile *S. aromaticum* L. sulu ekstresinden L8, Ç1, Ç2 ve Ç4 (*Corynebacterium* sp., *Streptococcus* sp., *S. aureus*, *S. epidermidis*)'e karşı elde edildiği gözlenmiştir. En yüksek MİK değeri ise 13000 µg/ml olarak saptanmıştır (Çizelge 5).

Antioksidan aktivite çalışmalarının verileri incelendiğinde *P. harmala*'nın sulu ekstresi %73,4, metanol ekstresi ise %76,2 radikal süpürme aktivitesi göstermiştir (Çizelge 6, Şekil 9). Khlifi ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada *P. harmala* DPPH testinde ekstrenin IC50 değeri 70.16 ± 3.30 µg/mL hesaplanmıştır. *M. fragrans*'ın sulu ekstrede radikal süpürme yüzdesi %76,8 iken etanol ekstresinde bu oran %71,8 olmuştur (Çizelge 6, Şekil 9). Vangoori ve ark. (2019) *M. fragrans*'ın etanolik ekstraktının (%66,24) standart askorbik aside (%81,57) çok yakın süpürme aktivitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. *S. aromaticum*' un ise radikal süpürme aktivitesi sulu ekstrede %58,2 iken, etanol ekstresinde %80,8 olarak bulunmuştur (Çizelge 6, Şekil 9). Nassar ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmada *S. aromaticum* etanol özünün DPPH %71,56 olarak hesaplamışlar ve ticari antioksidanlar ile karşılaştırıldığında güçlü serbest radikal süpürme aktivitesi olduğunu belirtmişlerdir.

Sonuç olarak muskat su, muskat etanol ve üzerlik metanol ekstreleri *in vitro* antibakteriyel aktivite ve mik değeri olarak yüksek aktiviteye sahip olmadığı fakat radikal süpürme aktivitesinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Üzerlik metanol ekstresi de yalnızca *Enterococcus* sp. L6 bakterisine karşı yüksek zon çapı ve MİK değeri göstermiş olup, radikal süpürme aktivitesinin yüksek olduğu görülmektedir. Karanfil su ve karanfil etanol ekstratları için *in vitro* antibakteriyel aktivite ve mik değeri olarak yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Radikal süpürme aktivitesi olarak karanfil etanol yüksek sonuçlar vermişken sulu ekstresi için daha düşük yüzde görülmektedir.

Toplam bakteri sayımlarına baktığımızda hem levrek hem de çipura da laktik asit bakteri varlığı gözlemlenmemiştir. Çipura aerobik ve psikrofilik bakteriler üzerinde karanfil etanol ekstresinin etkili olduğu; levrekte ise aerobik ve psikrofilik bakteriler üzerinde, karanfil etanol ve muskat etanol ekstrelerinin etkiliği olduğu gözlemlenmiştir.

Asitlik, ayrışmaya uğrayan, bütirik asit ve diğer uçucu lipidleri serbest bırakan yağlı gıdaların hoş olmayan tat ve kokusu olarak ifade edilebilir. Aynı zamanda, yiyeceklerde ve diğer ürünlerde bulunan doymamış yağların, hoş olmayan koku veya tat ile işaretlenmiş hava oksidasyonu sonucu oluşan bir durum olarak da tanımlanabilir. Genel olarak, katı ve sıvı yağların ve lipidlerin istenmeyen tat ve kokuya sahip aldehit ve ketonlara kimyasal olarak parçalanmasıdır. Lipid oksidasyonu, gıda bozulmalarının başlıca nedenlerinden biridir (John ve diğerleri, 1999). Balıkları kabul edilemez hale getiren veya raf ömürlerini azaltan, genellikle ekşime ve renk bozulması olarak adlandırılan çeşitli kötü kokuların gelişmesine yol açar. Ek olarak, oksidasyon reaksiyonu gıdanın besin kalitesini düşürebilir ve bazı oksidatif ürünler potansiyel olarak toksiktir (George, 2006). Birincil lipid peroksidasyon ürünü, kararsız olan ve balıkların acılaşmasına katkıda bulunan aldehitler gibi çeşitli ikincil ürünler oluşturmak üzere ayrılan hidroperoksiti içerir.

MDA, oksitlenmiş ve çoklu doymamış lipid içeriğinin önemli bir bozunma ürünüdür (Tamura ve diğerleri 1991, Crawford ve diğerleri 1966, Pegg ve diğerleri 1992). Analizi, gıda numunelerinde ve biyolojik dokularda lipid oksidasyonunu değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Kwon ve Veen 1968, Esterbauer ve Cheseeman 1990).

Bu çalışmada, MDA miktarının belirlenmesi amacıyla levrek ve çipura filetolarında meydana gelen hasarın belirteci olarak MDA hesaplanmıştır. Sonuç olarak filetoların bekleme süresi arttıkça dokularda oksidatif stresin arttığı ve buna bağlı olarak da doku hasarlarının arttığı görülmektedir.

Ancak uygulamalar arası verilere bakıldığında ise en fazla oksidatif stresin kontrol grubu balık filetolarında olduğu görülmektedir. Farklı günler ve uygulamalar arasındaki sonuçlar incelendiğinde hem çipura hem de levrekte 0. günde MDA ortalama değerleri arasında istatistiksel farklılıklar görülmemektedir.

0, 5, 10 ve 15. günlerde çipura kontrol grubunda hesaplanan MDA değerleri diğer uygulamalara göre (karanfil su ekstresi hariç) istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermektedir.

Öte yandan levrek filetolarında 5. ve 15. günlerde anlamlı bir farklılık gözlenirken, 10. günde kontrol grubu, muskat etanol grubundan oldukça farklı olduğu görülmektedir.

Yüksek MDA değerlerinin yağ oksidasyonunun bir sonucu olduğu göz önüne alındığında, 5 günlük deneylerden sonra iki balık türünde bulunan farklılıklar iyi doğrulandı. Aslında, iki balık türünü karakterize eden farklı yağ içerikleri göz önüne alındığında, bu farklılıklar iyi açıklanmıştır. Çipuranın yağ içeriğinin levrek ile kıyaslandığında yüksek olduğu bilinmektedir (Özyılmaz 2019).

Sonuç olarak, elde edilen MDA değerleri, çalışma süresi boyunca kontrol grubu dışındaki tüm gruplar için kabul edilebilir sınırların oldukça altında kalmıştır. Bunlar, ekstraktların antioksidatif özelliklerinin altını çizmektedir. Çalışmanın sonuçlarından da anlaşıldığı gibi, her iki balık türünde de muskat etanol ve karanfil etanol ekstraktlarının yüksek antioksidan özelliği olduğu, bu ekstraktların lipidlerin oksidasyonunu önleme ve uzun süre sonra bile (15 gün) filetoların raf ömrünü artırma kapasitesinin olduğu görülmektedir.

Tüm deney gruplarından 0, 5, 10 ve 15. günlerde elde edilen MDA değerleri karşılaştırıldığında, kontrol grubundaki levrek ve çipura filetolarının oksidatif durumunun çalışma döneminde oldukça değişken olduğu sonucuna varılmıştır. Bu geniş veri değerleri sonucunda 0, 5, 10 ve 15 günlük değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Her iki tür için de kontrol gruplarındaki MDA değerlerinin 5'ten yüksek olduğu görülmektedir. Bu değerler gıdalardaki MDA değeri için kabul edilebilir sınır olduğu bilinmektedir ve herhangi bir ekstrakt kullanılmadan, filetoların lipidlerinin oksitlenmeye başladığı ve ürünün kalitesinin bozulduğu anlamına gelir. 0 günde bile 5'e yakın MDA değerleri bulundu. Levrek filetolarında 15. günde gözlenen MDA'nın azalması, numunenin tamamen bozulması ve metodolojinin uygun bir değer tespit edememesi olarak açıklanabilir.

Bitki ekstrakt grupları göz önüne alındığında, en iyi sonuçlar muskat (hem etanol hem de su) ve ardından karanfil etanolün uzun süre (15 güne kadar) kullanılmasından elde edilmiştir. Aksine, üzerlik ekstraktları her iki balık türü için ilk günlerde (0-5 gün) daha verimli sonuç verirken, 5 gün sonraki örneklerde MDA değerleri lipid oksidasyonunun arttığını gösterecek yükselmiştir.

Çipura filetoları için karanfil su ekstraktı durumunda gözlenen beklenmedik eğilim (diğer karanfil ekstraktları ve diğer sonuçlarla uyumlu değil) büyük olasılıkla numunenin dış kontaminasyonundan veya analizlerdeki yanlışlıklardan kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma sonuçları “pozitif kontrol” olarak seçilen karanfilin bilindiği üzere yüksek antimikrobiyal özellik gösterdiğini doğrulamaktadır.

Karanfil ekstraktları (su ve etanol), diğer ekstraktlara göre izole edilen bakterilere karşı daha yüksek inhibisyon zonları verirken; karanfil su ekstraktı *Streptococcus* sp. bakterisine karşı antibiyotiğe göre daha yüksek inhibisyon zonu vermiştir. Ayrıca karanfil en iyi MİK sonuçlarını vermiştir.

Seçilen diğer iki bitki göz önüne alındığında üzerlik su, üzerlik metanol ve iki muskat ekstraktından (su ve etanol) daha yüksek antimikrobiyal aktivite (hem antibakteriyal aktivite testinde hem de MİK'de) göstermiştir. Bu nedenle muskatın izole edilen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitelerinin oldukça düşük olduğu sonucuna varılabilir.

Bununla birlikte, muskat (hem etanol hem su) lipid antioksidanı olarak en iyi sonuçları vermiştir (her iki türde de 15 gün sonra bile daha düşük TBA değeri). Ayrıca üzerlik ekstraktları sadece ilk günlerde (0-5 gün) antioksidan olarak etkili sonuç vermiştir.

Gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için sentetik antimikrobiyal ve antioksidan ajanların kullanımı gıda endüstrisinde hala yaygındır. Ancak bu ajanların hem çevre hem de insan sağlığı için tehlikeli olabileceği bilinmektedir. Bu nedenle alternatif doğal ajanların uygulanarak kullanımları sınırlandırılmalıdır. Sentetik antimikrobiyal ajanlar yerine alternatif doğal ürünlerin araştırılması, son yıllarda hem endüstriyel hem de bilimsel sektörler için önemli bir konu haline gelmiştir.

Bu çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının hazırlanmasına ekonomik olarak bakılacak olursa, fiyat-verim olarak en yüksek performansa sahip bitkinin karanfil, daha sonra üzerlik ve son olarak muskat olduğu görülmüştür.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara dayanarak, kullanılmış olan 3 bitkinin antibakteriyal ve antioksidan olarak kullanımının raf ömrüne olumlu olarak etki gösterdiği görülmüştür. Bundan sonraki çalışmalar için bu bitkilerin farklı konsantrasyonlarında ve diğer organizmalara karşı antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerine ve gıda sektöründe kullanımlarına yönelik daha detaylı çalışmalar önerilmektedir.

KAYNAKÇA

- Adharsh, C., Ajithkumar, B., Sulaja, O., & Hema, M. (2021) Influence of weather parameters on the yield and phenophases of nutmeg (*Myristica fragrans*) in the central zone of Kerala. *V-AGMET 2021*, 52-54.
- Airaksinen, M.M., Kari, I. (1981) Carbolines, psychoactive com pounds in the mammalian body. Part II: effects, *Medical Biology*, 59:190–211.
- Al-Shamma, A., Drake, S., Flynn, D.L., Mitscher, L.A., Park, Y.H., Rao, G.S., Simpson, A., Swayze, J.K., Veysoglu, T., Wu, S.T. (1981) Antimicrobial agents from higher plants antimicrobial agents from *Peganum harmala* seeds, *Journal of Natural Products*, 44:745–747.
- Altinelataman, C., Yılmaz Şen, E.B., Yılmaz, Ş.T., Erdem, Ö.A. & Çelik, U. (2018) The effects of nettle (*Urtica dioica*), spiny sowthistle (*Sonchus asper*) and dandelion (*Taraxacum officinale*) on the fish quality during storage period. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(4), 423-431.
- Altıntaş, A.K., Kuleaşan, H. (2020) Soğuk Sıkma ve Soğuk Maserasyon Yöntemiyle Elde Edilen Bitki Ekstraktlarının Yaygın Patojenler Üzerindeki Etkileri, *Gıda The Journal of Food*, 45(1), 161-170.
- Asgarpanah, J. ve Ramezanloo, F. (2012) Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L., *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 6(22): 1573-1580.
- Assa, J. R., Widjanarko, S. B., Kusnadi, J., & Berhimpon, S. (2014). Antioxidant potential of flesh, seed and mace of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt), *International Journal of Chemical Techology Research*, 6(4), 2460-2468.
- Baba, E. (2018) Bakteriyel Balık Patojenlerine Karşı Portakal (*Citrus sinensis*) Kabuğu Uçucu Yağının in vitro Antibakteriyel Etkisi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 14(3), 208-214.
- Barat. J.M., Fernández-Segovia, I., Fuentes, A., Martínez-Mañez, R., Rizo, A., Ros-Lis, J., Vivancos, J.L., Zaragoza, P. (2013) Evaluation of Sea Bream (*Sparus aurata*) Shelf Life Using an Optoelectronic Nose, *Food Chemistry*, 138(1): 1374 – 1380.

- Batiha, G.E.S., Beshbishy, A.A., Alkazmi, L.M., Nadwa, E.H., Wasef, L.G., Rashwan, A.K. (2020) *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities, *Biomolecules* 2020, 10(202).
- Baytop, T. (1999) Türkiye’de Bitkilerle Tedavi Geçmişte ve Bugün, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 480s.
- Bellakhdar, J. (1997) La pharmacop’ee marocaine traditionnelle. Medecine arabe ancienne et savoirs populaires, *Ibis Press*, 529–530.
- Berrougui, H., Lopez-Lazaro, M., Martin-Cordero, C., Mamouchi, M., Ettaib, A., Herrera, M.D. (2005) Cytotoxic activity of methanolic extract and two alkaloids extracted from seeds of *Peganum harmala* L., *Journal of Natural Remedies*, 5:41–45.
- Berrougui, H., Martin-Cordero, C., Khalil, A., Hmamouchi, M., Ettaib, A., Marhuenda, E., Herrera, M.D. (2006) Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from *Peganum harmala* L. seeds in isolated rat aorta, *Pharmacological Research*, 54:150–157.
- Bhowmik, D., Kumar, K. S., Yadav, A., Srivastava, S., Paswan, S., & Dutta, A. S. (2012). Recent trends in Indian traditional herbs *Syzygium aromaticum* and its health benefits. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(1), 13-22.
- Bian, D., Li, G., Zhang, H. (1987) Effects of harmine on the immune function of mice, *Zhongguo Yaoli Xuebao*, 8:477–480.
- Bremner, P., Rivera, D., Calzado, M.A., Obon, C., Inocencio, C., Beckwith, C., Fiebich, B.L., Muñoz, F., Heinrich, M. (2009) Assessing medicinal plants from South-Eastern Spain for potential anti-inflammatory effects targeting nuclear factor-Kappa B and other pro-inflammatory mediators, *Jornal of Ethnopharmacology*, 124: 295-305.
- Chen, Q., Chao, R., Chen, H., Hou, X., Yan, H., Zhou, S., Peng, W., Xu, A. (2005) Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis, *International Journal of Cancer*, 114: 675-682.
- Cortés-Rojas, D.F., Fernandes de Souza, C.R., Oliveira, W.P. (2014) Clove (*Syzygium aromaticum*): A precious spice, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedication*, 2014; 4(2): 90-96.

- Cultured Aquatic Species Information Programme. *Dicentrarchus labrax*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Bagni, M. In: FAO Fisheries Division: Rome. [Accessed on May 4 2021].
- Cultured Aquatic Species Information Programme. *Sparus aurata*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Text by Colloca, F.; Cerasi, S. In: FAO Fisheries Division Rome. [Accessed on May 4 2021].
- Demirkol, G. (2010) Türkiye’de Yaygın Olarak Kullanılmakta Olan Elli Baharat Türünün Antibakteriyel, Antifungal Ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans, Ordu,40.
- Doğankaya, L. (2010) *Türkiye’de Kültür Ve Doğal Çipura (Sparus Aurata L. 1758) Populasyonları Arasındaki Filogenetik Farklılıkların Mitokondriyal Gen Bölgelerinin DNA Dizi Analizleri İle Tanımlanması*, Doktora, Ankara Üniversitesi, Ankara, 103.
- Dolea, D., Rizo, A., Fuentes, A., Barat, JM., Fernández-Segovia, I. (2018) Effect of thyme and oregano essential oils on the shelf life of salmon and seaweed burgers, *Food Science and Technology International*, 24(5), 394-403.
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B.I., Kubilay, A. (2011) Balıklardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlere Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağlarının Antibakteriyal Aktivitesi, *Kafkas Üniversitesi Veterineri Dergisi*, 17 (Suppl A): S47-S54.
- El-Saad, E.M. (1980) Peganum harmala: its use in certain der matoses, *International Journal of Dermatology*, 19:221–222.
- Esterbauer, H., Cheeseman, K.H. (1990) Determination of Aldehydic Lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-Hydroxynonenal, *Methods In Enzymology*, 42: 407-421.
- Faydaoğlu, E., Sücüoğlu, M.S. (2013) Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım olanakları, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6-2, 233-265.
- Frison, G., Favretto, D., Zancanaro, F., Fazzin, G., Ferrara, S.D. (2008) A case of beta-carboline alkaloid intoxication following ingestion of Peganum harmala seed extract, *Forensic Science International* 179,37-43.

- Froese, R. and D. Pauly. Editors. 2021. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, (02/2021)
- Giannakourou, M.C., Tsironi, T., Thanou, J., Tsagri, A.M., Katsavou, E., Lougovois, V., Kyra, V., Kasapidis, G., J. Sinanoglou, V. (2019) Shelf Life Extension and Improvement of the Nutritional Value of Fish Fillets through Osmotic Treatment Based on the Sustainable Use of Rosa damascena Distillation By-Products, *Foods*, 8(9), 421; doi:10.3390/foods8090421.
- Goulas, A. E., Kontominas, M.G. (2007) Combined Effect of Light Salting, Modified Atmosphere Packaging and Oregano Essential Oil on the Shelf-Life of Sea Bream (*Sparus aurata*): Biochemical and Sensory Attributes, *Food Chemistry*, 100(1); 287-296.
- Görmez, Ö., Diler, Ö. (2017) Balık Patojenlerine Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktivitesi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Yalvaç Akademi Dergisi*, 2(1), 112-122.
- Grosso, D.S., Gawienowski, A.M. (1976) Inhibition of mitochondrial monoamine oxidase of the rat uterus and liver by clorgyline, pargyline and harmine, *Biochemical Pharmacology*, 25:957–961.
- Gür, D.M. (2013) *Çipura ve Levrek Yavrularında Görülen Hastalıklarda Histopatolojik İncelemeler*, Yüksek Lisans, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 88s.
- Haldankar, P.M., Rangwala, A.D. (2009) Nutmeg-a boon spice for Konkan, *Spice India*, 22: 4-9.
- Hasanhocaoğlu Yapıcı, H., Alparslan, Y., Baygar, T., Metin, C. (2015) Günlük Ağacı (Liquidambar orientalis) Yapraklarından Elde Edilen Ekstraktın Kültür Levreğinin (Dicentrarchus labrax) Raf Ömrü Ve Et Kalitesi Üzerine Etkisi, *Journal of Food and Health Science*, 1(4); 166 – 177.
- Hassoun, A., Emir Çoban, Ö. (2017) Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products, *Trends in Food Science & Technology*, 68 (2017), 26-36.
- Iwu, M. M. (1993) *Handbook of African Medicinal Plants*, CRC Press, Florida, 413s.
- Jaiswal, P., Kumar, P., Singh, V.K., Singh, D.K. (2009) Biological Effects of *Myristica fragrans*, *ARBS Annual Review of Biomedical Sciences*, 11: 21-29.

- Jirovetz L., Buchbauer G., Stoilova I., Stoyanova A., Krastanov A., Schmidt E. (2006) Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil, *Journal of Agriculture Food and Chemistry* 54(17): 6303-6307.
- Jukic, M., Politeo, O., Milos, M. (2006), Chemical Composition and Antioxidant Effect of Free Volatile Aglycones from Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) Compared to Its Essential Oil, *Croatian Chemical Acta*, 79 (2), 209-214.
- Karaton Kuzgun, N. (2014) *Farklı Esansiyel Yağlar Ve Kitosan İle Hazırlanan Filmlerle Ambalajlanmış Luciobarbus esocinus Filetolarının 2±1°C’de Raf Ömrünün Araştırılması*, Doktora, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Anabilim Dalı, Elazığ, 130s.
- Kartal, M., Altun, M.L., Kurucu, S., HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L., *J. Pharmacological Biomedical Analysis*, 31 (2003) 263-269.
- Kenar, M. (2009) *Aromatik Bitkilerden Elde Edilen Doğal Antioksidanların Balık Filetosu Üzerindeki Duyusal, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Etkilerinin İncelenmesi*, Yüksek Lisans, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı, Adana, 92s.
- Keskin, İ., Köstekli, B., Eyuboğlu, A., Kaya, Y. (2019) Determination of the shelf life of smoked sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) marinade stored under refrigerated conditions (4 °C), *Food Technology*, 8(2), 294-306.
- Khalafalla, F.A., Ali, F.H.M., Hassan, A.H.A. (2015) Quality improvement and shelf-life extension of refrigerated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets using natural herbs, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(1), 33-40.
- Khemir, M., Besbes, N., Khemis, I.B., Bella, C.D., Monaco, D.L., Sadok, S. (2020) Determination of shelf-life of vacuum-packed sea bream (*Sparus aurata*) fillets using chitosan microparticles-coating, *CyTA - Journal of Food*, 18(1), 51-60.
- Khlifi, D., Sghaier, R.M., Amouri, S., Laouini, D., Hamdi, M., Bouajila, J. (2013) Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalapensis* L. and *Peganum harmala* L., *Food and Chemical Toxicology*, 55 (2013), 202–208.

- Kuhn MA, Winston D (2000) *Herbal therapy and supplements a scientific and traditional approach*, New York: Lippincott., 561s.
- Küsmenoğlu, Ş. (1996) *Peganum harmala* L. Bitkisi ve Biyolojik Aktif Bileşikleri, *FABAD Journal of Pharmaological Science.*, 21, 71-75.
- Lamchouri, F., Settaf, A., Cherrah, Y. (1999) Antitumour principles from *Peganum harmala* seeds, *Therapie*, 54: 753-758.
- Lim, T.K. (2014) *Syzygium aromaticum*, *Edeible Medicinal and Non Medicinal Plants*, 460-482.
- Liu, L., Luo, Y., Shen, H., Song, Y., You, J. (2011) Effect of Sodium Alginate-Based Edible Coating Containing Different Anti-Oxidants on Quality and Shelf Life of Refrigerated Bream (*Megalobrama amblycephala*), *Food Control*, 22(3-4); 608-615.
- Liu, J., Zhao, G. (2005) Effects of *Peganum harmala* extract on the growth and antioxidase activity of wheat seedlings, *Xibei Zhiwu Xuebao*, 25:1756–1760.
- Mahmoudian, M., Jalilpour, H., Salehian P. (2002) Toxicity of *Peganum harmala*: Review and a case report, *Iran Journal of Pharmacological Theraphy*, 1:1-4.
- Mei, J., Ma, X., Xie, J. (2019) Review on Natural Preservatives for Extending Fish Shelf Life, *Foods*, 2019, 8, 490; doi:10.3390/foods8100490.
- Metin, S., Didinen, B.I., Mercimek, E.B., Ersoy, A.T. (2017) Bazı Bakteriyel Balık Patojenlerine Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktivitesi, *Yunus Araştırma Bülteni*, 2017 (1), 59-69.
- Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M., Shayegh, J. (2012) Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main alkaloids, *Pharmacognosy Reviews*, 7 (14), 199-211.
- Mutlu, A., Bilgin, Ş. (2016) Zeytin (*Olea europaea* L.) Yaprığı ve Yağ Gülü (*Rosa damascena* Mill.) Ekstraktlarının Buzdolabı Koşullarında (4±1°C) Depolanan Sıcak Dumanlanmış Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Raf Ömrüne Etkisi, *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2(1), 19-29.
- Olatunde, O.O., Benjakul, S. (2018) Natural Preservatives for Extending the Shelf-Life of Seafood: A Revisit, *Comprehensive Reviewsin Food Science and Food Safety*, 17(2018), 1595-1612.

- Oliveira, R.A., Oliveira F.F., Sacramento, C.K. (2007) Essential oils: prospects for agribusiness spices in Bahia, *Bahia Agriculture* 8(1): 46-48.
- Oliveira R.A., Reis T.V., Sacramento C.K., Duarte L.P, Oliveira F.F. (2009) Volatile chemical constituents of rich spices in eugenol, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(3): 771-775.
- Oliver-Bever, B. (1983) Medicinal Plants In Tropical West Africa, *Journal of Ethnopharmacology*, 9 (1983) 1-83.
- Othmen, K.B., Elfalleh, Walid., Beltran, J.M.G., Esteban, M.A., Haddat, M. (2020) An *in vitro* study of the effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocyte activities. Antioxidant, cytotoxic and bactericidal properties, *Fish and Shellfish Immunology*, 99 (2020) 35–43.
- Oğuzhan Yıldız, P. (2019) Turunçgil Kabuk Yağlarının Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Filetolarının Raf Ömrü Üzerine Etkileri, *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 5(1): 17-26.
- Özay, C., Uluköy, G., Mammadov, R., Sayın, Z. (2018) Üç Sıklamen Yumru Ekstraktının Radikal Süpürme Aktivitesi ve Balık Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel Etkisi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(2), 562-568.
- Özgöray, E.D., Akçay, E. (2009) Levrek (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) balıklarında reproduksiyon, *Veterineri Hekim Derneği Dergisi*, 80(2): 19-24.
- Öztürk Kerimoğlu B., Kavuşan, H.S., Serdaroğlu, M. (2020) The impacts of laurel (*Laurus nobilis*) and basil (*Ocimum basilicum*) essential oils on oxidative stability and freshness of sous-vide sea bass fillets, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 44:101-109.
- Patır, B., Can, Ö.P., Çoban, Ö.E., Özpolat, E. (2015) Gökkuşluğu Alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) Hazırlanan Marinatların Raf Ömrü Üzerine Eugenol'un Etkisi, *Fırat Üniv. Fen Bilimleri Dergisi*, 27(2), 9-16.
- Pezeshk, S., Ojagh, S.M., Alishahi, A. (2015) Effect of Plant Antioxidant and Antimicrobial Compounds on the Shelf-life of Seafood – A Review, *Czech Journal of Food Science*, 33, 2015 (3): 195–203.

- Prince A., Powell C. (2000) Clove oil as an anesthetic for invasive field procedures on adult rainbow trout, *North American Journal of Fisheries Management*, 20: 1029-32.
- Roura, S.I., Valle, C.E., Ponce, A. G. and Moreira, M.R. (2005) Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 38: 565-570.
- Saleem, M.S., El-Sherif, S.A., Sharaf, A.M., Abo-Zeid, K.S. (2019) Influence of Essential Oils and Frozen Storage on Quality Parameters of Catfish (*Clarias gariepinus*) Burgers and Fingers, *Journal of Food Processing & Technology*, 10(7): 1000801.
- Sanchez-Ramos, J.R. (1991) Banisterine and Parkinson's disease, *Clin Neuropsychopharmacol*, 14:391–402.
- Shan, B., Cai, Y.Z, Sun, M., Corke, H. (2005) Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents, *J Agric Food Chem*, 53 (20), 7749-7759.
- Sheahan C.M., Chase W.M. (2000) Phylogenetic relationships within zygophyllaceae based on DNA sequences of three plastid regions, with special emphasis on zygophylloideae. *Syst Bot*, 25, 371-84.
- Shi, C.C., Liao, J.F., Chen, C.F. (2001) Comparative study on the vasorelaxant effects of three harmala alkaloids in vitro, *Japanese Journal of Pharmacology*, 85:299–305.
- Shulgin, A.T. (1966) Possible Implication of Myristicin as a Psychotropic Substance, *Nature* 210 (1966) 380–384.
- Sobhani A.M., Ebrahimi S.A., Mahmoudian, M. (2002) An in vitro evaluation of human DNA topoisomerase I inhibition by *Peganum harmala* L. seeds extract and its beta-carboline alkaloids, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5:19–23.
- Srivastava, A.K., Srivastava, S.K., Syamsudar, K.V. (2003) Bud and leaf essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from India and Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*; 20: 51–53.
- Srivastava S.K., Nagpure N.S., Kushwaha B., Ponniah A.G. (2003) Efficacy of clove oil as an anaesthetic agent in fishes, *Indian Journal of Animal Science* 73:466-7.

- Şamlı, E. (2019) *Beş Farklı Levrek (Dicentrarchus Labrax) Damızlıklarının Mikrosatelitler ile Genetik Çeşitliliğinin Belirlenmesi ve Islah Potansiyelinin Ortaya Çıkarılması*, Doktora, Ege Üniversitesi, İzmir, 97.
- Tanker, N., Koyuncu, M., Coşkun, M. (1998) *Farmasötik Botanik*, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 416s.
- Thankumari, C.K., Shivaraman, K., Kandianum, K., Peter, K.V. (1994) *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 3: 105–123.
- Tokur, B., Korkmaz, K., Ayas, D. (2006) Comparison of Two Thiobarbituric Acid (TBA) Method for Monitoring Lipid, *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23 (3-4), 331-334.
- Türker, H., Yıldırım, B.A., Karakaş, F., Köylüoğlu, H. (2009) Türkiye’de Bulunan Bazı Endemik Bitki Türlerinden Elde Edilmiş Ekstraktların Balık Patojenleri Üzerindeki Antibakteriyel Etkilerinin Belirlenmesi, *Turkish Journal of Biology*, 33 (2009), 73-78.
- Uçak, İ. (2019) Physicochemical and antimicrobial effects of gelatin-based edible films incorporated with garlic peel extract on the rainbow trout fillets, *Progress in Nutrition*, 21(1), 232-240.
- Vangoori, Y., Dakshinamoorthi, A., Kavimani, S. (2019) Prominent Pancreatic Lipase Inhibition and Free Radical Scavenging Activity of a Myristica fragrans Ethanolic Extract in vitro. Potential Role in Obesity Treatment, *Maedica a Journal of Clinical Medicine*, 14 (3): 254-259.
- Wang, X.W., Xie, H. (1999) Antineoplastic alkaloids from Peganum harmala, *Drugs Future* 24:1333–1337.
- Yıldırım, B.A., Türker, H. (2018) Antibacterial Activity of Some Aromatic Plant Essential Oils Against Fish Pathogenic Bacteria, *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 4(2), 67-74.
- Yanishlieva, N.V., Marinova, E.M. (2001) Stabilisation of edible oils with natural antioxidants. *Eur. Journal Lipid Science Technol.*, 103, 752-767. *Complementary Therapies Part 2: Vol. 10, No. 5: 277-284.*

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Ad Soyad : D***u K****Ç
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi: S*****N-1*/0*/1**4
Medeni Hali : Bekar
Telefon : 05*6 1*0 0* 4*
E-posta : d*****c@gmail.com

Eğitim

Alınan Derece	Aldığı Kurum/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Pedagojik Formasyon	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi	2017
Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	2019
Yüksek Lisans	Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Biyoloji ABD	devam ediyor

Yabancı Diller

Dil (İngilizce, vs)	Başlangıç	Orta	İleri
Yazma		X	
Konuşma		X	
Anlama		X	
Okuma		X	

Projelerde Yaptığı Görevler

Proje Türü: Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi. Levrek (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) ve çipura (*Sparus aurata* L.) balıklarından izole edilen bakterilere karşı *Peganum harmala* L., *Myristica fragrans* Houtt. ve *Syzygium aromaticum* L. bitki ekstraktlarının antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması ve balık raf ömrü üzerine etkileri BAP 20/111/04/1/6. 2020-2021. Araştırmacı

Eserler

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında (proceedings) basılan bildiriler:

KIRAÇ D., GIANNETTO D. (2020). Levrek (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) ve çipura (*Sparus aurata* L.) balıklarından izole edilen bakterilere karşı *Peganum harmala* L., *Myristica fragrans* Houtt. ve *Syzygium aromaticum* L. bitki ekstraktlarının antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin araştırılması ve balık raf ömrü üzerine etkileri. XI. Fen Bilimleri Araştırma E-Sempozyumu 6 Ocak 2021.