

Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2021;14(2): 253-261

doi: 10.26559/mersinsbd.795354

Defne yaprağı ve limon kabuğu özütlerinin çığ balıklardaki toplam bakteri ve *E. coli* sayısına etkileri

 Zehra Batu¹,  Reyhan İrkin¹,  Elif Naz Sevgi¹,  Hande Pelin Katık¹,
 Meltem Hürcan¹,  Melis Akhalil¹,  Nedime Gündüz¹

¹İzmir Demokrasi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Beslenme ve Diyetetik Bölümü

Öz

Amaç: İnsan beslenmesinde önemli yeri olan balık, yüksek protein ve diğer azotlu bileşikler içermesi nedeniyle mikrobiyal bozulmaya yatkın bir su ürünüdür. Besinlerde mikrobiyal yükü azaltmaya yönelik sentetik ve doğal birçok koruyucu madde kullanılmaktadır. Bitki özütleri antimikrobiyal özellikler taşımakta ve doğal oldukları için tüketiciler tarafından tercih edilmektedir. Bu çalışmada ayıklanmış hamsi balıklarının, farklı oranlarda limon (*Citrus limon*) kabuğu ve defne (*Laurus nobilis* L.) yaprağı özütleri içeren yıkama sularında bekletilmesinin *Escherichia coli* (*E. coli*) ve toplam bakteri sayısına etkileri incelenmiştir. **Yöntem:** Çalışmada balık yıkama suları olarak steril musluk suyu, limon kabuğu özütü (%50, %100 v/v), defne yaprağı özütü (%50, %100 v/v) ile çalışılmıştır. Özütler soxhelet cihazı ile ekstrakte edilmiştir. Hamsi balıkları iç organları çıkarılıp temizlenmiş şekilde satın alındıktan sonra yıkama sularında bekletilmiş, numunelerde toplam bakteri ve *E. coli* miktarları (log kob/g) tespit edilmiştir. Kullanılan özütlerin pH değerleri belirlenmiştir. **Bulgular:** Limon kabuğu ve defne yaprağı özütleri ile işlem görmüş balıklarda *E. coli* sayıları gruplar arasında farklılık göstermezken ($p>0.05$) toplam bakteri sayısı kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ($p<0.05$). **Sonuç:** Bu ekstraktların yüksek antibakteriyel etkileri nedeniyle çığ balıklar için pişirme öncesi yıkama suyu olarak kullanılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Balık, limon kabuğu özütü, defne yaprağı özütü, *Escherichia coli*, toplam bakteri sayısı

Yazının geliş tarihi: 15.09.2020

Yazının kabul tarihi: 14. 04.2021

Sorumlu yazar: Zehra Batu, İzmir Demokrasi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, İzmir, Türkiye. Tel (iş):0232 2601001, E-posta: batu.zehra@hotmail.com

Effects of laurel leaf and lemon peel extracts on total bacteria and *E. coli* counts in raw fish

Abstract

Aim: Fish, which has an important place in human nutrition, is an aquatic product susceptible to microbial spoilage due to its high protein and other nitrogenous compounds. Many synthetic and natural preservatives are used to reduce microbial load in foods. Plant extracts have antimicrobial properties and are preferred by consumers because they are natural. In this study, the effects of soaking the picked anchovies in washing water containing different proportions of lemon (*Citrus lemon*) peel and laurel (*Laurus nobilis* L.) leaf extracts on the number of *Escherichia coli* (*E. coli*) and total bacteria were investigated. **Method:** In the study, sterile tap water, lemon peel extract (50%, 100% v/v), laurel leaf extract (50%, 100% v/v) were used as fish washing water. The extracts were extracted with a soxhlet apparatus. After the anchovies were purchased (internal organs were removed and cleaned) they were kept in washing water and the total amount of bacteria and *E. coli* in the samples (log cfu / g) were determined. Also, the pH values of the extracts were measured. **Results:** While the number of *E. coli* in the fishes treated with lemon peel and bay leaf extracts did not differ between the groups ($p > 0.05$), the total number of bacteria was found to be lower than the control group ($p < 0.05$). **Conclusion:** It was concluded that these extracts should be used as pre-cooking washing water for raw fishes due to their high antibacterial effects.

Keywords: Fish, lemon peel extract, laurel leaf extract, *Escherichia coli*, total bacterial count

Giriş

Gıdalarda doğal ve sentetik kaynaklı koruyucu katkı maddeleri uzun zamandır kullanılmaktadır. Sentetik kimyasal koruyucuların sağlığa zararlı olası etkilerinden dolayı kullanımı azaltılmakta, doğal katkı maddelerine olan eğilim gün geçtikçe artmaktadır¹⁻³. Son yıllarda, alternatif olarak bitki özütlerinin gıda endüstrisinde antimikrobiyal olarak kullanımının yaygınlaşmaya başladığı görülmektedir⁴. Bitkinin kendisi (gövde, yaprak, çiçek, tomurcuk, tohum, meyve, rizom ve soğan), bitki özütleri ve bitkilerden elde edilen uçucu yağlar lezzet ve aroma verici olmakla birlikte, gıdaların korunmasında mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkiler gösterebilmekte ve saklama sürelerini uzatabilmektedir⁵⁻⁹.

Bitki özütleri ve yağlarının deniz ürünlerinde raf ömrünü uzatmak amacıyla kullanımlarına dair birçok çalışma vardır. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarında meyan kökü özütünün¹⁰, sıcak dumanlanmış gökkuşluğu alabalığı filetolarında zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağı ve gül yağı (*Rosa damascena* Mill.) özütlerinin³, kerevitlerde (*Astacus*

leptodactylus) biberiye (*Salvia rosmarinus*) ve kekik esansiyel yağlarının¹, Akdeniz kılıç balığı (*Tetrapturus belone*) filetolarında kekik esansiyel yağının¹¹, sardalyada (*Sardinella aurita*) biberiye özütünün¹², gökkuşluğu alabalığı filetosunda altın otu (*Helichrysum arenarium*) özütünün², derisiz gökkuşluğu alabalığı filetoları ile hazırlanmış köfte harcında ise biberiye ve defne (*Laurus nobilis* L.) uçucu yağının¹³ raf ömrünü önemli derecede arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Limon (*Citrus limon*), kabuğu alkaloid ve flavonoid içermesi sebebiyle tıbbi ve antimikrobiyal amaçlarla kullanılan önemli bir aromatik bitkidir^{14, 15, 16, 17}. Bunun yanında cilt bakımı, iyi sindirim düzeni, peptik ülser, solunum ve idrar yolları hastalıkları gibi birçok alanda da kullanılmaktadır¹⁸. Yapılan çalışmalarda limon yağının antimikrobiyal aktivitesi yüksek bir yağ olduğu gözlenmiştir¹⁹⁻²¹. Bazı çalışmalarda limon esansiyel yağlarının hem *in-vitro* hem de *in-vivo* ortamlarda mikroorganizmalar üzerine etkili olduğu gösterilmiştir²². Limon özütünün *Lactobacillus lactis*²³ üzerine etkisi olduğu, tam limon özütü yağ asitlerinin ise *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve

Klebsiella pneumoniae dışındaki tüm bakteri (*Escherichia coli* ATC 25922, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445), maya (*Candida albicans* ATCC 10239) ve fungusların (*Epidermophyton* spp.) gelişimlerini farklı oranlarda engelleyici etkisi olduğu belirtilmiştir²⁴. Limon kabuğu yağının *Pseudomonas* cinsi bakterileri azaltıcı etkisi olduğu²⁵ ve alabalıkların muhafaza edildiği süre boyunca mikrobiyolojik kalitesini korumak için alternatif bir yöntem olarak kullanılabilirliği raporlanmıştır²⁶.

Ülkemizdeki tıbbi aromatik önemli bitkilerden olan defne her mevsim yeşil yapraklı, ağaç veya çalı formunda olabilmektedir. Dünyadaki üretimin yaklaşık %90'ı ülkemizde olup, özellikle Akdeniz Bölgesi'nde oldukça yaygın bulunmaktadır²⁷. Defne yapraklarından elde edilen uçucu yağlar antimikrobiyal özellikler taşımakta; antiseptik, antiromatizmal, diaphoretik, diüretik ve sindirim amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak defnenin gıda ve kozmetik alanında koku bileşeni olarak kullanımı da vardır²⁸. Defne uçucu yağının *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* gibi patojen bakterilere yönelik bakterisidal aktivite gösterdiği saptanmıştır^{29,30}.

Su ürünleri dünyada gıda zehirlenmelerinin önemli bir bölümü ile ilişkilendirilmektedir³¹. Taze balık oldukça hızlı bozulabilen bir üründür ve balıkların kalitesini ölçmek için mikroorganizmalar açısından denetlenmesi önerilmektedir³². Balıklar, taşıma ve işleme aşamalarında farklı düzeylerde kontamine olabilirler. Bu kontaminasyon; çiğ ürünler, işleme sırasında kullanılan araçlar veya insanların yanı sıra, depolama ve işleme sırasında da ortaya çıkabilmektedir³³⁻³⁵. Besin zehirlenmelerine sıklıkla sebebiyet veren ve fekal-oral yolla bulaşan *E. coli*'nin sayısı, balıklarda önemli bir hijyen indikatörü olarak kullanılmaktadır³⁶⁻³⁸. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı da balıklarda mikrobiyolojik bir parametre olarak önem taşımaktadır^{31,39}. Taze balıkların soğuk koşullar altında saklanması konusunda Avrupa Komisyonu tarafından hayvansal gıdalar, özellikle balık ve deniz ürünlerini içeren özel hijyen gereksinimleri ile ilgili

detaylı bir genelge yayınlanmıştır (EC 853/2004). Toplam bakteri sayısının balıklarda raf ömrünün sonunu belirleyici bir gösterge olarak 5-6 log kob/g'dan 7-8 log kob/g'a dek değişebileceği ifade edilmektedir⁴⁰. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'nde⁴¹ taze soğutulmuş balıkların mikrobiyolojik değerlerine ilişkin herhangi bir limit değere rastlanmamakla birlikte, sadece histamin düzeyine ilişkin limit değer verilmiştir. Balıkların yüksek oranda koliform ve *E. coli* ile kontamine olması, çoğunlukla suyun kontaminasyon derecesi, balık yetiştiriciliği ile ilgili çevresel faktörlerle ilişkilendirilmektedir⁴².

Bu çalışmada ayıklanmış hamsi balıklarının, pişirme öncesi mikrobiyal yükünü ve *E. coli* sayılarını azaltabilmek amacıyla, ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen limon kabuğu ve defne yaprağı özütleri ile belirli konsantrasyonlarda yıkama çözeltileri uygulanarak, sadece su ile yıkanan kontrol grubuna göre antimikrobiyal etkinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Yöntem

Çalışmada kullanılacak kurutulmuş defne yaprağı, taze limon ve hamsi balığı İzmir'in merkezindeki yerel marketlerden temin edilmiştir. Kuru defne yaprağı ve limon kabuğu ayrı ayrı parçalanarak homojenize edilmiş, 50'er gram tartılmışlardır. Ardından defne yaprağı ve limon kabuğu Soxhlet ekstraktörüne alınarak üzerine 250 ml saf su ilave edilerek sulu ekstrasyonları yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi 60 - 70°C' de iki saat boyunca sürdürülmüştür. Limon kabuğu ve defne yaprağı özütlerinin pH değerleri pH-metre (HANNA HI 2002-02) ile belirlenmiştir.

Şubat-Mart 2020 tarihinde taze, kafası koparılmış ve iç organları ayıklanmış olarak temin edilen hamsi balığı numuneleri steril numune poşetlerine konulup +4°C koşullarında laboratuvara getirilerek analizleri yapılmıştır. Balık numuneleri laboratuvara getirildikten sonra 6 gruba ayrılmıştır: I. Grup yıkama işlemi yapılmayan balıklar; II. Grup steril musluk suyuna

daldırılan balıklar; III. Grup %50 defne yaprağı özütü-su (v/v), IV. Grup %50 limon kabuğu özütü-su (v/v), V. Grup %100 defne yaprağı özütü ve VI. Grup %100 limon kabuğu özütü içeren yıkama sularına daldırılan balık numuneleridir. Tüm gruptaki balık örnekleri ayrı kaplardaki yıkama sularında 15'er dakika bekletildikten sonra, steril bez üzerinde suları süzdürülüp porselen havanda ezilmiştir. Aseptik koşullarda 10 g alınarak 90 ml steril dilüsyon sıvılarına (fizyolojik tuzlu su) tartılmış ve seri dilüsyonlar (10^{-1} - 10^{-6} 'lık dilüsyonlar) hazırlanmıştır. Çalışma üç tekrarlı yapılmıştır.

Seri dilüsyonlardan yapılan ekimler ile *E. coli* ve toplam bakteri sayıları belirlenmiş ve koloni sayıları logaritmik olarak ifade edilmiştir. Seri dilüsyondan (10^{-1} 'lik) Violet Red Bile Agara (VRBA) ekim yapılarak 37°C'de 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. VRBA'da gelişen pembe renkli koliform bakteri kolonileri alınarak 1 ml steril peptonlu suda seyreltilmiş ve bu sudan 0.1 ml alınarak Tryptone Bile X-glucuronide Agar (TBX) üzerine ekim yapılmış, 37°C'de 24 saat inkübasyon sonrası *E. coli* kolonileri tespit edilmiştir⁴³. Toplam bakteri sayısı tespiti için ise plak dökme yöntemi ile Plate Count Agar (PCA, Merck) kullanılmış, 35°C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir^{44,45}.

Analizler üç tekrarlı olarak yapılmış, belirlenen bakteri sayıları logaritmik birime dönüştürülmüştür. Verilerin istatistiksel analizinde SPSS 25 paket programı kullanılmıştır. Çalışmada dezenfekte edilen balık örneklerinde görülen azalma miktarlarının anlamlılık düzeyinin belirlenmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Farkın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için post-hoc test yöntemlerinden Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Analizler sonucunda $p < 0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Kontrol grubu balık, su ile yıkanmış balık ve farklı oranlarda limon kabuğu ve defne yaprağı özütü eklenmiş çözeltilerde

yıkanmış balıklarda tespit edilen *E. coli* sayıları (log kob/g) ve toplam bakteri sayıları (log kob/g) ortalamaları Tablo 1'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda 2,6 log kob/g olarak belirlenen *E. coli*, yıkama sularında bekletilmiş tüm gruplarda tespit edilememiştir. Toplam bakteri sayılarında ise tüm gruplarda azalma gözlenmiş, bu azalma en küçükten en büyüğe doğru sırasıyla suda bekletilmiş balık, %50 defne yaprağı özütü (v/v), %50 limon kabuğu özütü (v/v), %100 limon kabuğu özütü ve %100 defne yaprağı özütünde şeklinde bulunmuştur. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam bakteri sayısındaki azalma %100 limon kabuğu özütü (pH: 5.07) ve %100 defne yaprağı özütündekilere (pH: 5.36) göre anlamlı olarak daha fazladır ($p < 0.05$). %50 defne yaprağı özütü (v/v) ve %50 limon kabuğu özütündeki (v/v) azalmalar ise kontrol grubuna göre anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Tartışma

Çiğ balık raf ömrü oldukça kısa bir ürün olduğu için depolamadan bir gün içinde tüketilmesi önem taşımaktadır. İyi pişmemiş bir üründe bulunan patojenlerin halk sağlığı açısından sorun oluşturabileceği bilinmektedir. Bu nedenle tüketim öncesi hayvansal ürünlerde mümkün olduğunca az mikroorganizmanın bulunması önem taşımaktadır. Bu çalışmada çiğ hamsi balıklarında pişirme öncesi mikroorganizma sayılarının azaltılması ve ürünün tüketimden önce zehirlenmeleri önlemesi yönünden güvenilir hale getirilmesi planlanmıştır. Günümüzde gıda endüstrisinde bitkiler ve bunlardan elde edilen uçucu yağ ve özütlerin doğal antibakteriyel olarak kullanımları yaygınlaşmaktadır¹⁻⁴. Bu nedenle çalışmada doğal bitki özütlerinin kullanılması açısından defne ve limon kabuğunun farklı konsantrasyonlarının antibakteriyel etkileri değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Kontrol grubu ve farklı oranlarda özütler ile yıkanmış balıklarda *E. coli* ve toplam canlı sayıları (log kob/g).

	Ortalama <i>E. coli</i> sayıları (log kob/g)	Ortalama toplam bakteri sayısı (log kob/g)	Kontrolle göre aradaki fark (log kob/g)
K	2.6	3.95	-
SK	0	3.59	0.36
%50 D	0	2.92	1.03
%100 D	0	2.11	1.84*
%50 L	0	2.76	1.19
%100 L	0	2.25	1.70*

*p<0.05, K: kontrol grubu balık, SK: steril suda bekletilmiş balık, %50 D: %50 defne yaprağı özütü içeren suda bekletilmiş balık, %100 D: %100 defne yaprağı özütünde bekletilmiş balık, %50 L: %50 limon kabuğu özütü içeren suda bekletilmiş balık, %100 L: %100 limon kabuğu özütünde bekletilmiş balık.

Balıklarda toplam mezofilik aerobik bakteri ve gıda kalitesi arasında bir ilişki olmadığı, fakat toplam genel canlı mikroorganizma sayısının, hijyenik açıdan kalite göstergesi olduğu belirtilmektedir. Toplam bakteri sayısı ve koliform bakteri sayıları kontrolü yapılan tüm pişmiş ve çiğ gıda ürünleri için genel bir hijyen kontrol indikatörüdür⁴⁶.

Soğutulmuş çiğ balıklarla ilgili Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde genel toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı için bir kriter belirtilmemiştir⁴¹. Uluslararası Mikrobiyolojik Standartlar Komisyonu (ICMSF) balıklarda kaliteyi belirlemek amacıyla toplam mezofilik aerobik bakteri için 10^6 - 10^7 /g limit belirtilmiştir⁴⁷. Temiz sularda yaşayan balıkların derisindeki bakteri sayısının 10-100 adet/cm² düzeyinde olduğu, buna karşın kirli bölgeler veya sıcak tropik sulardaki balıklarda söz konusu değerlerin yükseldiği kaydedilmiştir⁴⁸. Çalışmamızda satın alınmış balık örneklerinde elde edilen toplam bakteri sayılarının belirtilen kriterlerin altında ve standartlara uygun olduğu görülmektedir. Bununla birlikte balıklara uygulanan defne ve limon kabuğu özütleri ile yıkama işleminin kontrol gruplarına göre önemli

düzeyde bir redüksiyon sağladığı ve çiğ balıklarda mikrobiyal yükü azaltmada doğal ve etkili olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. İşlenmiş balık ürünlerinin muhafaza ve kalitesinin artırılmasına yönelik yapılmış benzer bir çalışmada defne ve biberiye uçucu yağlarının gökkuşuğu alabalığından elde edilen balık köfteleri üzerine mikrobiyolojik ve duyuşal yönden etkileri incelenmiş, biberiye ve defne uçucu yağlarının toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı gözlenmiş, defne uçucu yağının ürünlerde duyuşal açıdan daha çok beğenildiği kaydedilmiştir¹³.

Defne uçucu yağının aktivitesi ile ilgili yapılan farklı bir çalışmada ise defne, fesleğen (*Ocimum basilicum*) ve biberiye uçucu yağlarının 20 bakteri suşu üzerine antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve defne uçucu yağının diğer gruplara göre özellikle *E. faecalis* ATCC 29212, *Enterobacter* spp., *Shigella* spp., *S. aureus* ve *S. epimeridis*'e karşı daha etkili olduğu gösterilmiştir⁴⁹.

Limon kabuğunun *in vitro* ve gıda model çalışmalarında önemli antioksidan ve antimikrobiyal özellikler gösterdiği de bilinmektedir⁵⁰. Gökkuşuğu alabalıklarına %1'lik limon uçucu yağı ilave edilmesinin turuncgil uçucu yağları arasında en etkili

antibakteriyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir⁵¹. Ayrıca, limon uçucu yağının çiğ köfte ve balık patojenlerine karşı önemli ölçüde inhibisyon sağladığı da belirtilmektedir^{25,52}.

Defne ve fesleğen özütleri kullanılarak üretilen yenilebilir filmlerin alabalık filetolarına etkilerini tespit etme amacıyla yapılmış bir çalışmada; toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı antimikrobiyal yenilebilir film kaplı gruplarda kontrol gruplara göre düşük bulunmuş, balıkların depolama süresini de üç gün uzatmıştır. Ayrıca bu özütlerden elde edilen filmlerin depolama boyunca Enterobacteriaceae, *Staphylococcus* spp. bakterileri ve maya-küf gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir⁵³. Bu çalışmada elde edilen defne yaprağı özütünün gösterdiği antimikrobiyal etki bizim çalışmamızla uyumludur. Çalışmamızın sonuçlarında en belirgin inhibisyon etkisi 1.84 log kob/g ile %100 defne yaprağı özütü ile yıkanmasında görülmüştür. Bunu 1.70 log kob/g ile %100 limon kabuğu özütü izlemiştir. Çalışmamıza benzer şekilde, limon kabuğu özütünün *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans* ve *Triconphyton rubrum* üzerine anlamlı inhibisyon etkileri Ali ve ark.'ın⁵⁴ yaptığı çalışmada ortaya konulmuştur. Henderson ve ark.'ın⁵⁵ farklı oranlarda limon kabuğu özütünün (%25, %50, %75 ve %100) *E. coli* üzerine antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, en yüksek etkinin %100 oranda limon kabuğu özütünde bildirilmesi de bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Gıdaların mikrobiyal yükü, besin güvenliği açısından oldukça önemli bir durumdur. Doğru muhafaza koşullarının sağlanmaması ve kontaminasyon gibi mikrobiyal yükü arttıracak etmenlerin yanı sıra, balıkların pişirilmeye hazırlanması sırasında dahi mikroorganizmalar hızla çoğalabilmektedir. Diğer taraftan yakalama alanının mikrobiyal kalitesinin yetersiz olması, satış personeli ve balıkçıların, hijyen ve sanitasyon konusunda bilgiye sahip olmaması gibi nedenlerden dolayı, balık eti bulaşmalara maruz kalmaktadırlar. Balıkların avlanma, taşıma, muhafaza ve satış alanlarında mikrobiyal kontaminasyonların engellenemediği durumlarda, bakterilerin üremesine bağlı

olarak ciddi anlamda bozulmalar ve gıda zehirlenmelerine zemin hazırlanmakta, bu durum ekonomik kayıpların yanı sıra halk sağlığını tehdit edebilecek düzeylere ulaşmaktadır. Bu konuda depolanması düşünülen balıkların yardımcı ambalaj ve koruma teknolojileri kullanılarak depolanabilir hale getirilmesi ve saklama koşullarındaki değişimlerinin incelenmesi ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ve bunlar gibi bitkisel özütlerin, su ürünlerinin duyu ve kimyasal özelliklerine etkilerini de inceleyen çalışmaların yapılması ileride planlanmaktadır.

Yazarlar katkıları: Zehra Batu: Hipotez geliştirme, veri elde etme, veri analizi ve yorumlama, makale yazımı, laboratuvar çalışmaları. Reyhan İrkin: Hipotez geliştirme, araştırma planlama, veri elde etme, veri analizi ve yorumlama, makale yazımı, laboratuvar çalışmaları. Elif Naz Sevgi: Makale yazımı, laboratuvar çalışmaları. Hande Pelin Katık: Makale yazımı, laboratuvar çalışmaları. Meltem Hürcan: Makale yazımı, laboratuvar çalışmaları. Melis Akhalil: Makale yazımı, laboratuvar çalışmaları. Nedime Gündüz: Makale yazımı, laboratuvar çalışmaları.

Çıkar çatışması: Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Mali destek: Bu çalışma için herhangi bir mali destek alınmamıştır.

Kaynaklar

1. Duman M, Çoban ÖE, Özpolat E. Biberiye ve kekik esansiyel yağları katkısının marine edilmiş kerevitlerin (*Astacus leptodactylus* Esch., 1823) raf ömrüne etkisinin belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2012; 18(5): 745-751.
2. Kuş B. Altınotu ve ökseotu bitki ekstraktlarının alabalık filetosu üzerindeki antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin incelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi) *Çukurova Üniversitesi Yayınlanmamış Tez*. Adana, 2012; 96s.

3. Mutlu A, Bilgin Ş. Zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağı ve yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.) ekstraktlarının buzdolabı koşullarında ($4\pm 1^\circ\text{C}$) depolanan sıcak dumanlanmış alabalık (*oncorhynchus mykiss*) filetolarının raf ömrüne etkisi. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*. 2016; 2(1): 19-29.
4. Cerit LS. Bazı baharat uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri (Yüksek Lisans Tezi) Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Tez. Denizli, 2008.
5. Nair MKM, Vasudevan P, Venkitanarayanan K. Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 2005; 16(5): 395-398.
6. Soomro AH, Masud T, Anwaar K. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2002; 1(1):20-24.
7. Sobrino-López A, Martín-Belloso O. Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. *International Dairy Journal*. 2008; 18(4):329-343.
8. Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*. 2010; 21(9):1199-1218.
9. Gyawali R, Ibrahim SA. Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*. 2014; 46:412-429.
10. Çoban ÖE, Çoban MZ. Meyan kökü ekstraktı ile zenginleştirilmiş kitosan kaplamanın alabalık (*Oncorhynchus Mykiss*) filetolarının kalitesi üzerine etkisi. *Ecological Life Sciences*. 2019; 14(4):83-92.
11. Kykkidou S, Giatrakou V, Papavergou A, Kontominas MG, Savvaidis IN. Effect of thyme essential oil and packaging treatments on fresh Mediterranean swordfish fillets during storage at 4 C. *Food Chemistry*. 2009; 115(1):169-175.
12. Özyurt G, Kuley E, Balıkçı, E ve ark. Effect of the icing with rosemary extract on the oxidative stability and biogenic amine formation in sardine (*Sardinella aurita*) during chilled storage. *Food and Bioprocess Technology*. 2012; 5(7):2777-2786.
13. Keser E, İzci L. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'ndan elde edilen balık köftelerinde biberiye ve defne uçucu yağlarının mikrobiyolojik ve duyu kaliteye etkisi. *Acta Aquatica Turcica*. 2020; 16(1):13-21.
14. Aibinu I, Adenipekun T, Adelowotan T, Ogunsanya T, Odugbemi T. Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of *Citrus aurantifolia* (lime fruit) as used locally. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*. 2007; 4(2), 185-190.
15. Turhan İ, Tetik N, Karhan M, Turunçgil kabuk yağlarının elde edilmesi ve gıda endüstrisinde kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. 2006; 3, 71-77.
16. Teixeira B, Marques A, Ramos C, et al. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 2013; 43:587-595.
17. Dev C, Nidhi SRRS. Basketful benefit of *Citrus limon*. *International Research Journal of Pharmacy*. 2016; 7(6):1-3.
18. Mohanapriya M, Ramaswamy L, Rajendran R. Health and medicinal properties of lemon (*Citrus limonum*). *International Journal Of Ayurvedic And Herbal Medicine*. 2013; 3(1):1095-1100.
19. Karankı, E. Ülkemizde yaygın olarak kullanılan bazı baharatların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi (Doktora Tezi), Yayınlanmamış Tez. Niğde Üniversitesi, Niğde, 2013.
20. Sánchez-González L, Pastor C, Vargas M, Chiralt A, González-Martínez C, Cháfer M. Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biology and Technology*. 2011; 60(1):57-63.
21. Bölükbaşı Aktaş ŞC. Narenciye kabuk yağlarının etlik piliçlerde doku yağ asidi

- kompozisyonu ve raf ömrü üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*. 2017; 12(2):157-166.
22. Randazzo W, Jiménez-Belenguer A, Settanni L, et al. Antilisterial effect of citrus essential oils and their performance in edible film formulations. *Food Control*. 2016; 59:750-758.
23. Çoksever E. Farklı oranlarda turunc albedosu ilavesinin sucuk kalitesi üzerine etkisi (Doktora Tezi), Yayınlanmamış Tez. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 2009.
24. Erecevit P, Kırbağ S. Probiyotik maya olarak *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişimine, *Citrus limon* (L.) Burm. f. (limon)'un bazı fitokimyasal etkileri. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. 2017; 6(2):49-6
25. Keskin S, Şin E, Akarca G, Tomar O. Çeşitli bitki ekstraktlarının çiğ köfte üzerindeki antimikrobiyal etkisi. *Kocatepe Veterinary Journal*. 2018; 11(3):266-278
26. Özpolat E. Limon (*Citrus limon*) ve acı portakal (*Citrus aurantium*) uçucu yağlarının 4±1°C'de muhafaza edilen gökkuşuğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkileri. *Gıda*. 2019; 44(2):185-190.
27. Erden, Ü. Akdeniz defnesi (*Laurus nobilis* L.)'nde mevsimsel varyabilite ve optimal kurutma yöntemlerinin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi) Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış Tez. Adana, 2008.
28. Fiorini C, Fouraste I, David B, Bessiere JM. Composition of the flower, leaf and stem essential oils from *Laurus nobilis*. *Flavour and Fragrance Journal*. 1997; 12(2): 91-93.
29. O'Gara EA, Hill DJ, Maslin DJ. Activities of garlic oil, garlic powder, and their daily constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000; 66(5): 2269-2273.
30. Akgül A, Kıvanç M. Sensitivity four foodborne moulds to essential oils from Turkish spices, herbs, and citrus Peel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1989; 47(1):129-132.
31. Armani M, Civettini M, Conedera G, et al. Evaluation of hygienic quality and labelling of fish distributed in public canteens of northeast Italy. *Italian Journal of Food Safety*. 2016; 5(4).
32. Strunjak-Perovic I, Kozacinski L, Jadan M, Brlek-Gorski D. Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina*. 2010; 55(5):233-241.
33. Bryan FL. Epidemiology of foodborne diseases transmitted by fish, shellfish and marine crustaceans in the United States, 1970-1978. *Journal of Food Protection*. 1980; 43(11):859-876.
34. Gangarosa EJ, Bisno AL, Eichner ER, et al. Epidemic of febrile gastroenteritis due to *Salmonella* java traced to smoked whitefish. *American Journal of Public Health and the Nations Health*. 1968; 58(1):114-121.
35. Sanjee SA, Karim M. Microbiological quality assessment of frozen fish and fish processing materials from Bangladesh. *International Journal Of Food Science*. 2016, (2016)1-6.
36. Baer EF, Duran AP, Leininger HV, Read RB, Schwab AH, Swartzentruber A. Microbiological quality of frozen breaded fish and shellfish products. *Applied and Environmental Microbiology*. 1976; 31(3):337-341.
37. De Le'on R, Ridelman JM, de Cabrera S, Constanti-nides S, Lee TC, Chichester CO. Microbiologic quality of fish on sale in the city of Guatemala. *Revista de Biología Tropical*. 1978; 26:153-163.
38. Jeyasanta KI, Aiyamperumal V, Patterson, J. Prevalence of antibiotic resistant *Escherichia coli* in sea foods of Tuticorin coast, Southeastern India. *Advances in Biological Research*. 2012; 6:70-77.
39. Broekaert K, Heyndrickx M, Herman L, Devlieghere F, Vlaemynck G. Seafood quality analysis: Molecular identification of dominant microbiota after ice storage

- on several general growth media. *Food Microbiology*. 2011; 28(6):1162-1169.
40. Fogarty C, Whyteb P, Brunton N, et al., Spoilage indicator bacteria in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) stored on ice for 10 days. *Food Microbiology*. 2019; 38-42.
41. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. (2011, 29 Aralık). *Resmi Gazete* (Sayı:28157). Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/12/20111229M3-6.htm>
42. Pamuk Ş, Demirel Y N, Gürler Z, Investigation of the microbiological quality of sea breeding (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fishes in Afyonkarahisar province. *Kocatepe Veterinary Journal*. 2019; 12(2), 150-157.
43. Brozkova I, Zapletal T, Kroutilova L, Hajek T, Mo P, Cervenka L, The effect of soaking regime and moderate drying temperature on the quality of buckwheat-based product, *Journal of Cereal Science*. 2018; 81, 15-21.
44. Mikrobiyoloji- *Escherichia coli* sayımında genel teknikler, MPN tekniği standardı. Türk Standartları Enstitüsü, TSE 6063, Ankara, 1996.
45. Halkman AK. Gıda mikrobiyolojisi uygulamaları. 1. Basım, Ankara, Başak Matbaacılık ve Tanıtım Hizmetleri Ltd.Şti. 2005:358.
46. Gül F, Önal A E. Halk sağlığı açısından gıda analizlerinin önemi. *Nobel Medicus*. 2008; 4(3): 07-14.
47. Külçü D B. Farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen Palamut (*Sarda sarda*) balığının mikrobiyolojik kalite niteliklerinin belirlenmesi, *Eurasian Journal of Vet Science*. 2017; 33, 2, 120-126.
48. İnat G, Pamuk Ş, Sırıken B, Demirel Y. Tüketime hazır tuzlanmış hamsi balıklarının (*Engraulis encrasicolus*) mikrobiyolojik ve kimyasal kalitelerinin belirlenmesi *Vet. Hekim Der Dergisi*. 2013; 84(1): 26-35.
49. Ouibrahim A, Tlili-Ait-kaki Y, Bennadja S, Amrouni S, Djahoudi AG, Djebar MR. Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*. 2013; 7(42):4968-4973.
50. Moosavy MH, Hassanzadeh P, Mohammadzadeh E, Mahmoudi R, Khatibi SA, Mardani K. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of lemon (*Citrus limon*) peel in vitro and in a food model. *Journal of Food Quality and Hazards Control*. 2017; 4(2):42-48.
51. Yıldız PO. Turunçgil kabuk yağlarının gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının raf ömrü üzerine etkileri. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*. 2019; 5(1):17-26.
52. Öntaş C, Baba E, Kaplaner E, Küçükaydin S, Öztürk M, Ercan MD. Antibacterial activity of citrus limon peel essential oil and *Argania spinosa* oil against fish pathogenic bacteria. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. 2016; 22(5):741-749.
53. Sürengil G. *Defne (Laurus nobilis) ve Fesleğen (Ocimum basilicum) Ekstratları Kullanılarak Üretilen Yenilebilir Filmlerin Alabalık (Oncorhynchus mykiss) Filetolarına Etkilerinin Tespiti* (Yüksek Lisans Tezi) Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yayınlanmamış tez, Ankara, 2014.
54. Ali J, Das B, Saikia T. Antimicrobial activity of lemon peel (*Citrus limon*) extract. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2017; 9(4):79-81.
55. Henderson AH, Fachrial E, Lister INE. Antimicrobial Activity of Lemon (*Citrus limon*) Peel Extract Against *Escherichia coli*. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*. 2018; 39(1):268-273.