

RESEARCH ARTICLE

Investigation of Antibacterial Effects of Different Plant Extracts and Essential Oils on Bacteria Isolated from Lakerda Products

Dilek Kahraman Yılmaz¹, Nermin Berik^{2*}

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Çanakkale, Türkiye

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Çanakkale, Türkiye

<https://orcid.org/0000-0002-9626-5446>

<https://orcid.org/0000-0003-3015-8688>

Received: 02.05.2023 / Accepted: 01.06.2023 / Published online: 04.07.2023

Key words:

Antimicrobial
Lakerda
Clove
Citrus flowers
Orange peel
GC/MS

Abstract: In this study, the *in vitro* antimicrobial effects of citrus flower, clove and orange peel essential oils and ethanolic extracts on different bacteria isolated from lakerda samples were investigated. It was determined that essential oils were more effective than ethanolic extracts. Citrus flower and clove essential oils showed strong effects on *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus equorum*, *Carnobacterium mobile*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Vibrio hibernica* and *Vibrio rumoiensis*. Essential oils showed the highest inhibitory effect on *C. mobile*. It was found that the essential oil of citrus flower and clove were effective on *C. mobile* at concentrations 0.00977% and 0.00488%, respectively. It was determined that citrus essential oil provided a stronger inhibition on *Staphylococcus pasteurii* at a concentration of 0.3125%. The clove essential oil at a concentration of 1.25% had the least effect on *S. pasteurii*. In this study, it was determined that the essential oils of citrus flowers and clove had strong inhibitory effects on the tested bacteria. In conclusion, our findings supports that addition of citrus flowers and clove essential oils to lakerda had positive effects with respect to food safety.

Anahtar kelimeler:

Antibakteriyel
Lakerda
Karanfil
Turunç çiçeği
Portakal kabuğu
GC/MS

Farklı Bitki Ekstrakt ve Esansiyel Yağların Lakerda Örneklerinden İzole Edilen Bakteriler Üzerine Antibakteriyel Etkilerinin Araştırılması

Öz: Bu çalışmada turunç çiçeği, karanfil tanesi ve portakal kabuğu yağları ve etanolik ekstraktlarının; lakerda örneklerinden izole edilen bakteriler üzerinde *in vitro* koşullarda antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Sonuçlara göre; esansiyel yağların etanolik ekstraktlara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağları; *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus pasteurii*, *Staphylococcus equorum*, *Carnobacterium mobile*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Vibrio hibernica* ve *Vibrio rumoiensis* bakterileri üzerinde güçlü etki göstermiştir. Esansiyel yağlar en yüksek inhibisyon etkisini, *C. mobile* üzerinde göstermiştir. Bu tür üzerinde turunç çiçeği %0,00977 ve karanfil tanesi %0,00488 konsantrasyon ile esansiyel yağlarının etkili olduğu bulunmuştur. Turunç çiçeği esansiyel yağının *Staphylococcus pasteurii* üzerinde %0,3125 konsantrasyon ile daha güçlü bir inhibisyon sağlanmıştır. En az etki %1,25 konsantrasyon ile karanfil esansiyel yağında *S. pasteurii* bakterisine karşı tespit edilmiştir. Bu çalışmada turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının, test edilen bakteriler üzerinde güçlü inhibisyon etkisi olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, bulgular gıda güvenliğini sağlamak için lakerdalarda; turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının kullanılabilirliğini desteklemektedir.

Giriş

Lakerda, İspanyolca bir kelime olup, sevilen anlamına gelen “la kerrida” kelimesinden türemiştir. Lakerda 14. yüzyıl ortalarında ilk kez İspanya’da Yahudi balıkçılar tarafından üretilmiştir. Günümüzde ise “Lakerda” adıyla bilinen, sıklıkla torik ya da palamut balıklarına tuzlama teknolojisinin uygulandığı geleneksel bir üründür (Erkan vd., 2009). Türkiye’de Karadeniz, Marmara ve Ege Bölgelerinde bu balıkların bol olduğu dönemlerde sıklıkla yapılmakta ve tüketilmektedir. Türkiye dışında en çok

İspanya, İtalya, Yunanistan’da bilinmekte ve tüketilmektedir (Turan vd., 2009; Ormancı, 2013). Lakerda, %15 oranında tuz içeriği ve 5-6 arasında pH oranı ile karakterize olmuş ve ısıl işlem uygulanmadan tüketilen bir üründür. Lakerda üretimi balıkların bozulmasını önleyerek raf ömrünü arttırmak için yapılırken, günümüzde farklı bir lezzet oluşturma amacı ön plana geçmiştir (Aksu vd., 2013). Lakerda üretiminde mevcut mikroorganizma yükünü büyük ölçüde

*Corresponding author: nberik@yahoo.com

How to cite this article: Kahraman Yılmaz, D., & Berik, N. (2023). Investigation of antibacterial effects of different plant extracts and essential oils on bacteria isolated from lakerda products. COMU J. Mar. Sci. Fish, 6(1): 44-55. doi: 10.46384/jmsf.1291400

engelleyecek teknolojik uygulamalar (ısıtım işlem veya basınç uygulaması gibi) kullanılmamaktadır. Gıda güvenliği için üründe bulunan, mikroorganizma kaynaklı risklerinin önlenmesi gerekmektedir. İnsan sağlığını tehdit edebilecek, mikroorganizma risklerinin önlenmesinde; doğal bitki özlerinden de yararlanılmaktadır (Solórzano-Santos ve Miranda-Novales vd., 2012; Chouhan vd., 2017; Varlı vd., 2020).

Bitkilerin yaprak, meyve, kabuk, kök kısımlarından elde edilen esans yağ ve ekstraktlar; içerdikleri kimyasal bileşenlerin farklı etkileriyle, günlük yaşamda geniş bir alanda karşımıza çıkmaktadır. Esansiyel yağlar kimyasal bileşimleri, aromatik özellikleri, farmakolojik ve terapötik etkileri sayesinde (Şengezer ve Güngör, 2008); gıdaların raf ömürlerini uzatmak, aromasını arttırmak, gıdalardaki mikroorganizma risklerini engellemek, bazı hastalık ve yaraları tedavi etmek için kullanılmaktadır. Parfüm, kozmetik ve temizlik ürünlerinde ise esans maddesi olarak yer almaktadır (Ali ve Blunden, 2003; Lahlou, 2004; Tipu vd., 2006). Tüketicilerin sentetik gıda katkı maddelerinin güvenilirliğine karşı artan endişeleri dikkate alınarak; bitkisel esansiyel yağların antimikrobiyal özellikleri ile ilgili pek çok çalışma gerçekleştirilmiştir (Seow vd., 2013). Bu bitkisel kaynaklar arasından, turunçgiller ve karanfil antimikrobiyal özellikleri ile öne çıkmaktadır (Radünz vd., 2019; Ceccato-Antonini vd., 2023).

Turunçgillerin bir türü olan acı portakal (*Citrus aurantium*), Rutaceae familyasına ait bir bitki türüdür (Paul ve Cox 1995). Acı portakal meyvesinin hem kabuğundan hem de çiçeğinden esansiyel yağ elde etmek mümkündür. Özellikle çiçeğinden elde edilen esansiyel yağ neroli yağı olarak bilinmektedir (Kang vd., 2016). *Citrus aurantium* 'un meyvesi, kabuğu, yaprakları çiçeklerinden elde edilen esansiyel yağın; antimikrobiyal, antioksidan, antidiyetik ve diğer farmakolojik etkileri bulunmaktadır (Suntar vd., 2018). Yağın içerdiği moleküller ile gıda, ilaç, kozmetik sektörlerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Mannucci vd., 2018).

Karanfil, Mrytaceae (Mersingiller) familyasının bir üyesi olup, dört mevsim yeşil kalabilen ve boyu 20 metre uzunluğa erişebilen *Syzygium aromaticum* ağacından elde edilen bir çeşit çiçek tomurcuğudur. Yaklaşık %14-20 arasında esansiyel yağ içeren karanfilin bileşeni "eugenol" olarak bilinmektedir (Kennouche vd., 2015). Kullanımı yaklaşık M.Ö. 3. yüzyılda başlamış olup; kokusu ve antiseptik özelliği için olduğu bilinmektedir. Dünya mutfaklarında karanfil, gıdalarda aroma verici olarak kullanılmaktadır. Yüksek antimikrobiyal etkisi ile gıda ürünlerinin yanında ilaç ve kozmetik sektörlerinde de kullanılmaktadır (Cai ve Wu, 1996; Chaieb vd., 2007; Kamatou vd., 2012).

Portakal (*Citrus sinensis*) bitkisi Rutaceae familyasına ait odunsu bir bitki olup, Dünya'da en çok tüketilen turunçgil türüdür. Bitkinin meyve, meyve kabuğu, çiçek ve yapraklarından çeşitli esansiyel yağlar elde edilirken; meyve kabuğundan elde edilen yağın içeriğinde limonen oranı yüksektir (Gavahian vd., 2019). Portakal kabuklarından elde edilen esans yağın antimikrobiyal ve

antioksidan etkileri sayesinde; pek çok farklı alanda kullanımı mevcuttur (Ceccato-Antonini vd., 2023).

Bu çalışmada antibakteriyel etkileriyle doğal, ekonomik, sürdürülebilir kaynaklar olan turunç çiçeği, karanfil ve portakal kabuğu esansiyel yağlarının ve etanolik ekstraktlarının lakerda örneklerinden izole edilen bakteriler üzerine antibakteriyel etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışmada doktora tezi kapsamında, lakerda ürünlerinden izole edilen bakteri izolatları kullanılmıştır. Türlerin gen bankası kayıtlarıyla benzerlik oranları karşılaştırılmış ve yüksek benzerlik oranına sahip türler ile çalışılmıştır.

Çoklu antibiyotik direncine sahip bakteri izolatlarının; bazı bitkisel esans yağlarla inhibisyon potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla, esansiyel yağ ve etanolik ekstraktlar laboratuvar ortamında elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan portakal (*Citrus sinensis*) kabukları, karanfil (*Syzygium aromaticum*) taneleri, turunç (*Citrus aurantium*) çiçeği Çanakkale'deki yerel satış noktalarından temin edilmiştir.

Yöntem

Bitki esans yağları ve ekstraktlarının hazırlanması

Portakal kabukları, yüzey alanını arttırmak amacıyla küçük parçalara ayrılmıştır. Turunç çiçekleri ve karanfil taneleri ise bütün halde kullanılmıştır. Elde edilen örneklerden esansiyel yağlar su, ekstraktlar ise alkol kullanılarak elde edilmiştir. Esansiyel yağların eldesinde, su distilasyonu yöntemi ile Clevenger aparatı kullanılmıştır (Clevenger, 1928). Etanolik ekstraksiyon işlemi Soxhlet ekstraktörü kullanılarak yapılmıştır. Bu amaçla; portakal kabukları, karanfil taneleri ve turunç çiçeklerinden 20'şer gram tartılarak her biri 350 mL etil alkol içerisinde ekstrakte edilmiştir (Soxhlet, 1879). Ekstraksiyon işleminden sonra çözelti içindeki alkol rotary evaporatör ile ortamdan uzaklaştırılarak, ekstraktlar yoğunlaştırılmıştır. Bitki ekstraktları ve esansiyel yağlar antibakteriyel testler yapılınca kadar buzdolabında +4°C'de ağzı kapalı, koyu renkli steril şişelerde muhafaza edilmiştir.

Kimyasal bileşenlerin belirlenmesi

Bitki ekstraktları ve esansiyel yağların içerdiği kimyasal bileşenler GC-MS (Shimadzu GCMS QP 2010 ULTRA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bileşenlerin ayrılması, düşük polarite fazı difenil dimetil polisiloksan ve taşıyıcı gaz helyum içeren bir Rxi-5 ms kılcal kolon (30m; 0,25 mm; 0,25 µm) (Restek Corporation, Bellefonte, PA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklığı başlangıçta 40°C'ye ayarlanmıştır. Bu sıcaklıkta 3 dakika bekletildikten sonra dakikada 4°C artırılarak, 240°C'ye kadar çıkarılmıştır. Enjeksiyon, 250°C'de 1 µL'lik enjeksiyon hacmi ile bölünmüş modda (ayırıcı 1:5) yapılmıştır. Kütle spektrumu (70 eV) m/z 40-450 amu tarama aralığında, kolonda akış hızı 0,89 mL/dk, basınç

100 kPa ve toplam akış hızı: 8,4 mL/dk olarak ayarlanmıştır. Analiz toplam 53 dakikada gerçekleştirilmiştir. Test edilen esansiyel yağların ve ekstraktların kromatogramları, Wiley W9N11 marka spektrum kütüphanesinde karşılaştırılarak içerikleri tanımlanmıştır.

Antibakteriyel duyarlılık testleri

Disk difüzyon testi

Esansiyel yağların ve ekstraktların lakerda ürünlerinden izole edilen bakteriler üzerine antibakteriyel etkisi disk difüzyon testi ile belirlenmiştir (Bauer et al., 1966). Bu amaçla steril kör diskler (Oxoid, CT0998B) 10 µL esansiyel yağ ve etil alkol ekstraktları için ise 2 mg/disk olacak şekilde 10 µL ekstrakt emdirilmiştir. Diskler aseptik şartlar altında kurutulmuştur. Bakteri ekimi yapılan besi yerlerine steril pens yardımıyla hazırlanan diskler belli açıklıkta yerleştirilmiştir. Diskler vibrio türleri için Triptikaz Soya ve diğer bakteri türleri için ise Müller Hinton besi ortamlarına yerleştirilmiştir. Bakteri türüne göre (22°C ve 36°C) uygun sıcaklıkta 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrasında zon çapları ölçülerek ≥ 20 mm ise güçlü inhibisyon, $< 20-12$ mm ise orta düzey inhibisyon ve < 12 mm ise etkisiz olarak değerlendirilmiştir (Rota vd., 2008).

Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi

Minimum inhibitör konsantrasyonu analizi Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır. Bitki ekstraktlarının stok solüsyonu (%10) uygun üreme ortamı içerisinde %6 DMSO ve %0,5 tween 80 içerecek şekilde hazırlanmıştır (Turgis vd., 2012). 50 µl besi ortamı 50 µl stok solüsyonu ile 96 plakalar içerisinde karşılaştırılarak iki katlı seyreltme yapılmıştır. Sonrasında kuyucuklara 50 µL bakteri süspansiyonu (10^5 CFU/mL) ilave edilmiştir. Kuyucuklardaki son ekstrakt konsantrasyonu %2,5'dan başlayarak %0,001221'e kadar olacak şekilde ayarlanmıştır. Kontrol kuyucukları 1-100µl bakteri içeren besi ortamı, 2- DMSO, tween 80 ve bitki ekstraktını içeren 100 µl bakterisiz besi ortamı ve 3-100 µl bakterisiz besi ortamından oluşturulmuştur. Plakalar uygun üreme sıcaklığında 24 saat inkübe edilmiştir. MİK değerleri üremeyi inhibe eden konsantrasyona bakılarak belirlenmiştir. Minimum bakterisidal konsantrasyonunun belirlenmesi için ise MİK değeri ve öncesindeki iki seyreltmeden ekimler katı besiyerlerine yapılarak MBK değeri belirlenmiştir (Schwalbe vd., 2007).

Bulgular ve Tartışma

Bitki ekstraktı ve esansiyel yağların kimyasal bileşimi

Araştırmada kullanılan turunc çiçeği, karanfil ve portakal kabuğu uçucu yağlarının kimyasal bileşeni GC-MS ile analiz edilerek belirlenmiştir. Turunc çiçeği esansiyel yağında en fazla bulunan bileşenlerin linalool (%29,45), linalil asetat (%27,09) ve hotrienil asetat

(%7,78) (Tablo 1) olduğu tespit edilmiştir. Öjenol (%67,06), karyofilen (%22,88), öjenol asetat (%4,22) ve D-limonen (%90,48) ise sırasıyla karanfil uçucu yağında (Tablo 2) ve portakal kabuğu esansiyel yağında (Tablo 3) temel bileşenler olarak belirlenmiştir. Karanfil etanolik ekstraktında en fazla bulunan temel bileşenlerin öjenol (%65,05), palmitik asit (%16,85) ve tetradekanoik asit (%8,2) olduğu belirlenmiştir (Tablo 4). Linalil asetat (%26,11), L-Linalool (%12,86), palmitik asit (%8,34) ve 7-Tetradesenal, (Z)- (%8,34), turunc çiçeği etanolik ekstraktındaki temel bileşenler olarak belirlenmiştir (Tablo 5). Portakal kabuğu etanolik ekstraktının temel bileşenlerinin ise ksantozin (%14,4), gliseraldehit (%11,87) ve dihidroksiaseton (%7,5) olduğu belirlenmiştir (Tablo 6). Bu çalışmada kullanılan esansiyel yağlarda, GC-MS ile tespit edilen bileşenlerin literatürde belirtilen değerlerle benzer olduğu görülmüştür. Diğer çalışmalarda turunc çiçeği esansiyel yağı (Dugo vd., 2010; Anwar vd., 2016), karanfil uçucu yağı (Goñi vd., 2009), portakal kabuğu esansiyel yağı (Waheed vd., 2020), karanfil etanolik ekstraktı (Parthasarathy vd., 2008) ve turunc çiçeği etanolik ekstraktı (Metoui vd., 2015) için belirtilen bileşiklerle bulgularımız benzerlik göstermektedir. Portakal kabuğu etanolik ekstraktı içeriğinde yüksek oranda tespit ettiğimiz ksantozin ve gliseraldehit (2,3-Dihidroksiopropana) bileşenlerinin; literatürde portakal kabuğu ekstraktı içerisindeki varlıkları ile ilgili çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak, farklı bitkilerde bu bileşenler bulunabilmektedir (Ashihara vd., 2017; Zhang vd., 2020).

Antibakteriyel duyarlılık

Bu çalışmada, turunc çiçeği, karanfil tanesi ve portakal kabuğu uçucu yağları ve etanolik ekstraktların, lakerda örneklerinden izole edilen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkileri; disk difüzyon testi ile belirlenmiştir (Tablo 7). Disk difüzyon testi sonuçları incelendiğinde; esansiyel yağların, etanolik ekstraktlardan daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bakteriler üzerindeki etkili esansiyel yağlar turunc çiçeği ve karanfil tanesi olarak belirlenmiştir. Bu nedenle minimum bakterisidal konsantrasyonu testi için bu iki esansiyel yağ kullanılmıştır.

Tablo 1. Turunç çiçeği esansiyel yağının bileşenleri

Alınma Zaman (dk)	Bileşen	Alan %
11,08	beta.-Pinene	0,48
11,77	beta.-Myrcene	0,26
13,2	Limonene	0,65
13,65	2(3H)-Furanone, 5-ethenyldihydro-5-methyl-	0,26
14,97	Linalool oxide cis	4,02
16,12	Linalool	29,45
17,04	Cyclopentanol, 1,2-dimethyl-3-(1-methylethenyl)-, (1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.)]- [1R-	0,23
18,54	6,7-Dioxabicyclo[3.2.1]octane, 1-methyl-	0,34
18,76	Epoxyllinalol	0,58
19,06	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	0,1
19,57	Terpineol <alpha->	3,83
20,79	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimethyl-	0,18
21	Nerol	0,44
21,19	1-Cyclooctene, 3,7-epoxy-4-acetyloxy-	0,15
22,05	Linalyl acetate	27,09
22,65	3,7-Dimethyl-1,7-octadiene-3,6-diol	0,29
23,15	Isopulegyl acetate	0,32
23,7	Carvacrol	0,17
25	8-acetoxylinalool	3,12
25,1	1,7-octadien-3-ol,2,6-dimethyl-	0,13
25,42	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol, 1,3,3-trimethyl-, acetate	2,78
25,53	3-Nonanol, 1,2:6,7-diepoxy-3,7-dimethyl-, acetate	2,51
25,68	Ho-trienol	2,24
25,86	2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (Z)-	1,13
26,23	4-Hydroxymethylene-2,6-dimethyl-oct-7-en-3-one	0,35
26,51	Geranyl acetate	3,64
26,99	3,7-Nonadien-2-ol, 4,8-dimethyl-	0,76
27,42	3,7-Dimethyl-octa-1,7-dien-3,6-diol	0,41
27,51	8-Acetoxylinalool	0,39
27,77	Trans(beta)-caryophyllene	0,1
27,88	s-(+)-5-(1-Hydroxy-1-methylethyl)-2-methyl-2-cyclohexen-1-one	0,22
29,69	Limonene dioxide 1	0,24
29,81	Bisabolol <alpha->	0,16
29,99	2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, isobutyrate, (Z)-	0,39
30,11	Epoxy-.alpha.-terpenyl acetate	0,14
30,3	Hotrienyl acetate	7,78
30,72	Linalool oxide <trans->	2,86
30,93	Indan-1,3-diol monopropionate	0,51
32,32	Nerolidol	0,73
32,82	(-)-Spathulenol	0,12
35,35	Octan-2-one, 3,6-dimethyl-	0,12
36,98	Farnesol <cis,cis->	0,15
51,46	Thiogeraniol	0,11

Tablo 2. Karanfil tanesi esansiyel yağının bileşenleri

Alınma Zamanı (dk)	Bileşen	Alan %
5,07	1-Octadecanol	0,08
13,89	4-Octanol, 7-methyl-, acetate	0,12
15,8	Heptyl methyl ketone	0,06
16,75	1,5-Heptadiene, 3,3-dimethyl-, (E)-	0,11
18,57	Benzyl acetate	0,06
19,68	Benzoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	0,31
21,98	Chavicol	0,24
25,37	alpha.-Cubebene	0,26
25,8	Eugenol	67,06
26,31	Copaene <alpha->	0,7
27,82	Caryophyllene	22,88
28,79	cis-muurola-3,5-diene	0,06
28,9	alpha.-Humulene	2,95
29,54	Cadina-1(6),4-diene <10betaH->	0,17
29,64	alpha.-Amorphene	0,09
30,24	alpha.-selinene	0,06
30,61	Farnesene <(E,E)-, alpha->	0,15
31,2	Eugenol acetate	4,22
31,41	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	0,18
32,04	Cyclohexane,1,5-diethenyl-2,3-dimethyl-, (1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)-	0,05
33,01	Caryophyllene oxide	0,2

Tablo 3. Portakal kabuğu esansiyel yağının bileşenleri

Alınma Zamanı (dk)	Bileşen	Alan %
9,43	Alpha pinene	0,54
11	Sabinene	0,17
11,77	Myrcene	2,28
12,23	Caprylaldehyde	0,98
12,45	Carene <delta-3->	0,13
13,28	D-Limonene	90,48
14,42	gamma.-Terpinene	0,11
16,08	Linalool	1,92
16,26	Pelargonaldehyde	0,12
19,05	(-)-Terpinen-4-ol	0,51
19,57	Terpineol <alpha->	0,55
20,15	Decanal	0,68
21,02	Citronellol	0,14
21,46	Z-Citral	0,14
22,55	Geranial	0,18
22,65	Perillaldehyde	0,13
30,18	Valencene	0,66
50,41	Nonacosane	0,14
51,22	Pentacosane	0,15

Tablo 4. Karanfil tanesi etanolik ekstraktının bileşenleri

Alıkonma Zamanı (dk)	Bileşen	Alan %
5,19	1,1-Diethoxypropanal	2,53
17,82	2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	0,34
19,06	Caprylic acid	0,45
24,12	2-Methoxy-4-vinylphenol	0,18
25,64	Eugenol	65,05
25,99	Capric acid	1,05
31,22	Eugenol acetate	1,62
32,29	Lauric acid	2,65
38,05	Tetradecanoic acid	8,2
39,47	2,6,10,15,19,23-Hexamethyl-tetracosane-2,10,14,18,22-pentaene-6,7-diol	0,38
40,76	Pentadecanoic acid	0,37
41,23	4,4,8-Trimethyltricyclo[6.3.1.0(1,5)]dodecane-2,9-diol	0,33
43,33	Palmitic acid	16,85

Tablo 5. Turunç çiçeği etanolik ekstraktının bileşenleri

Alıkonma Zamanı (dk)	Bileşen	Alan %
5,73	Glyceraldehyde	0,96
6,06	Formamide, N-methoxy-	0,29
7,58	Propanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	0,48
7,89	Dihydroxyacetone	1,21
11,75	2-Hydroxy-gamma-butyrolactone	0,23
11,88	Propanoic acid	0,58
13,36	2 Ethyl hexanol	7,16
13,83	Benzeneacetaldehyde	0,22
14,1	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)-	0,3
15,33	1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine	0,84
16,14	L-Linalool	12,86
16,61	Phenethyl alcohol	0,42
17,58	Benzyl nitrile	0,62
17,73	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	1,68
19,98	Dodecane	0,36
21,5	1,2,3-Propanetriol, 1-acetate	2,79
21,84	Acetate, 2-hydroxy-2-(3-chloro-4,5-dihydro-5-isoxazolyl)-, ethyl ester	0,92
21,93	2-Phenylethanamide	0,4
22,07	Linalyl acetate	26,11
22,68	2,6-Dimethyl-1,7-octadiene-3,6-diol	0,34
23,37	Indole	0,64
24,1	Guaiacol <4-vinyl->	0,28
24,95	3-Methyl-hepta-1,6-dien-3-ol	0,57

Tablo 5'in devamı

25,05	Methylantranilate	0,46
25,12	9-Hydroxy-linalool	2,66
25,95	Decanoic acid	0,74
27,07	Tetradecane	0,88
27,8	Trans(.beta.)-caryophyllene	0,33
28,97	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, [S-(Z)]-	0,25
30,2	Pentylallyl butyrate	1,65
32,28	Dodecanoic acid	0,3
32,35	Nerolidol	1,34
33,41	Hexadecane	0,62
33,72	Quinic acid	1,7
37,01	Farnesol <cis,cis->	0,42
38,04	Tetradecanoic acid	1,4
39,12	Hexadecane	0,31
40,39	Caffeine	0,8
41,89	Xycaine	0,38
42,45	2-Propanamine, 1-(2,6-dimethylphenoxy)-	0,48
43,36	Palmitic acid	8,34
44,17	Hexadecanoic acid, ethyl ester	0,47
45,8	7H-Furo[3,2-g][1]benzopyran-7-one, 4-methoxy-	0,29
47,52	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	3,73
47,66	7-Tetradecenal, (Z)-	8,34
48,18	Octadecanoic acid	2,54
48,33	9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethyl ester, (Z,Z,Z)-	0,36
51,25	Pentacosane	0,27
52,6	9-Octadecenamide	0,68

Tablo 6. Portakal kabuğu etanolik ekstraktının bileşenleri

Alınma Zamanı (dk)	Bileşen	Alan %
5,16	Pyrrolidine-.alpha.,.alpha.,.alpha.',.alpha.'-d4	0,45
5,65	Glyceraldehyde	11,87
6,05	Formamide, N-methoxy-	1,7
7,58	Propanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	2,02
7,93	Dihydroxyacetone	7,5
9,19	2-Hydroxy-2-cyclopenten-1-one	0,39
11,76	3-Isopropoxypropylamine	0,56
13,25	Limonene	2,18
14,05	Pentanoic acid, 4-oxo-	0,23
15,28	Maltyl isobutyrate	0,77
16,13	Linalool	0,43

Tablo 6'nin devamı

17,73	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	2,21
18,01	1,2-Dioxetane, 3,4,4-trimethyl-3-[[trimethylsilyloxy]methyl]-	2,73
18,11	1,2,3-Propanetriol	0,74
18,15	2,5-Dihydroxy-1,4-dioxane	2,36
18,32	dl-Glyceraldehyde dimer	0,85
19,58	Ethanol, 2-(2-butoxyethoxy)-	6,16
21,5	1,2,3-Propanetriol, monoacetate	4,83
24,11	Guaiacol <4-vinyl->	0,35
25,95	Decanoic acid	0,25
28,3	Cytidine	2,54
28,47	Xanthosine	14,4
30,21	Valencene	0,52
32,27	Lauric acid	0,34
32,41	Acetophenone <3',4'-dimethoxy->	0,67
33,24	3-Deoxy-d-mannoic lactone	5,78
33,64	Quinic acid	0,96
34,07	beta.-D-Glucopyranoside, methyl	3,05
34,26	Megastigmatrienone 4	0,5
34,79	beta.-D-Glucopyranose, 4-O-.beta.-D-galactopyranosyl	0,57
36,14	N-Ethyl-4-propyl-4-nonanamine	0,36
38,03	Tetradecanoic acid	1,43
38,55	1,3-Propanediol, 2-butyl-2-ethyl-	0,72
41,9	Xycaine	0,7
43,32	Palmitic acid	4,4
47,87	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	1,03
47,62	7-Tetradecenal, (Z)-	2,92
48,16	Octadecanoic acid	1,03
48,35	Ethyl linoleolate	0,25
48,57	Hexadecanamide	0,41
50,44	Nonacosane	0,66
51,25	Eicosane	0,24
52,61	9-Octadecenamide	2,13

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) testi sonuçları Tablo 8'de gösterilmiştir. Turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının test edilen bakteriler üzerinde genel olarak inhibe edici etkisi olduğu bulunmuştur. Minimum inhibisyon konsantrasyonu bulgularına göre; turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının test edilen bakteriler üzerinde %0,00488-%1,25 konsantrasyonlarında etkili olduğu tespit edilmiştir. Minimum bakterisidal konsantrasyon bulgularına göre; bu iki uçucu yağın aynı bakteriler üzerinde %0,01953-%2,5 konsantrasyonlarında etkili olduğu tespit edilmiştir. Esansiyel yağlar en yüksek inhibisyon etkisini

Carnobacterium mobile üzerinde göstermiştir. Bu tür üzerinde turunç çiçeği esansiyel yağı %0,00977 ve karanfil tanesi esansiyel yağı %0,00488 konsantrasyonlarında etkili bulunmuştur. Turunç çiçeği esansiyel yağının *Staphylococcus pasteurii* üzerinde %0,3125 konsantrasyon ile daha güçlü bir inhibisyon sağlanmıştır. En az etki %1,25 konsantrasyon ile karanfil esansiyel yağında *S. pasteurii* bakterisine karşı tespit edilmiştir. Bu çalışmada turunç çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağları, test edilen mikroorganizmalar üzerinde en etkili ekstraktlar olarak belirlenmiştir. Turunç çiçeği esansiyel yağının daha önce *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherchia coli*, *Salmonella enterica*,

Pseudomonas aeruginosa ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri üzerinde antibakteriyel etkileri araştırılmış ve *P. aeruginosa* üzerinde güçlü inhibisyona sahip olduğu bildirilmiştir (Haj Ammar vd., 2012). Turunç çiçeğinden farklı çözümler (su, metanol ve etil asetat) kullanılarak elde edilen ekstraktların *B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *Salmonella Typhimurium* bakterilerini inhibe etmek için denemişlerdir. Çalışma sonucunda metanolik ekstraktın en etkili çözümler olduğu bildirilmiştir (Degirmenci ve Erkurt, 2020). Aynı araştırmacılar test edilen dört farklı bakteri için MİK ve MBK değerlerinin 0,39-25 mg/mL aralığında olduğunu belirtmişlerdir. Farklı narenciye (limon, portakal,

mandalina, turunç ve greyfurt) türlerinden elde edilen esansiyel yağların, *Pseudomonas fluorescens* ve *Staphylococcus haemolyticus* bakterileri üzerine antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Çalışmada MBK değerlerinin *P. fluorescens* için 40-50 µL/mL ve *S. haemolyticus* için ise 40-150 µL/mL olduğu belirlenmiştir (Al-Deen vd., 2021).

Farklı bir çalışmada gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde turunç yağı denenmiş olup, MİK değerlerinin 2,5-0,312 mg/mL aralığında olduğu rapor edilmiştir (Hsouna vd., 2013).

Tablo 7. Bitki ekstraktlarının lakerdadan izole edilen bakteriler üzerine disk difüzyon test sonuçları (zon: disk boyutu dahil mm)

Örnek adı	Bakteri	İzolat no	Esansiyel yağ			Etanolik ekstrakt		
			Turunç çiçeği	Karanfil	Portakal kabuğu	Turunç çiçeği	Karanfil	Portakal kabuğu
A	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	12	20	0	0	16	0
B	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1	40	24	0	0	12	0
B	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	18	18	0	0	10	0
A	<i>Staphylococcus equorum</i>	1	36	40	16	14	16	0
C	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	20	18	0	0	0	0
D	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	32	34	0	0	14	0
E	<i>Carnobacterium mobile</i>	1	10	12	0	0	0	0
F	<i>Vibrio hibernica</i>	1	36	34	16	0	18	0
F	<i>Vibrio rumoiensis</i>	1	38	32	14	0	18	0

A, B ve E: Balıkçı örnekleri, C, D ve F: Balık market örnekleri

Radünz vd. (2019) karanfil esansiyel yağının *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *Salmonella Typhimurium* için disk difüzyon test sonuçlarını sırasıyla 2,83 cm, 2,81 cm, 2,47 cm ve 2,22 cm olarak bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar test edilen dört bakteri için MİK değerini 0,304 mg/mL olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar, karanfil tanesi esansiyel yağının üç farklı *Staphylococcus* türü üzerindeki etkisini incelediğimiz çalışmamızda 24-40 mm (2,4-4 cm) çap ve 0,15625-1,25% MİK değerleri ile benzerlik göstermektedir. Farklı turunçgillerden (limon, portakal, mandalina, turunç ve greyfurt) elde edilen esansiyel yağların farklı gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerine antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmaya göre; MBK değerleri *P. fluorescens* için 40-50 µL/mL ve *S. haemolyticus* için 40-150 µL/mL olarak tespit edilmiştir (Al-Deen vd., 2021). Ancak, çalışmamızda disk

difüzyon testi sonuçlarına göre portakal kabuğu bu iki bakteri türü üzerinde etkisiz bulunduğundan MİK ve MBK testlerine devam edilmemiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların bakteri izolatlarının menşesindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Literatürde turunç çiçeği esansiyel yağının *Carnobacterium* türleri üzerindeki antibakteriyel etkisi ile ilgili bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Ouattara vd. (1997) *Carnobacterium piscicola* bakterisinin inhibisyonu için karanfil esansiyel yağının %1'lik konsantrasyonunun yeterli olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada altı farklı *Carnobacterium* izolatına turunç çiçeği ve karanfil esansiyel yağlarının etkisi araştırılmış olup; elde ettikleri MİK değerlerinin çalışmamızdaki karanfil yağı için bulunan MİK değerlerinden, daha yüksek olduğu görülmüştür. Başka bir çalışmada *Vibrio harveyi* ve *Vibrio ichthyoenteri* bakterileri için MİK değeri %0,125 ve MBK değeri ise %0,25 olarak rapor edilmiştir (Pathirana vd., 2019). Farklı *Vibrio* türleri ile yapılan bir çalışmada altı adet *Vibrio alginolyticus*, dokuz adet *Vibrio parahaemolyticus*, bir adet *Vibrio vulnificus* ve bir adet *Vibrio fluvialis* suşu üzerinde karanfil esansiyel yağının etkisi araştırılmış ve MİK değerlerinin 0,156-0,756 mg/mL arasında, MBC değerlerinin ise 0,625-5 mg/mL arasında olduğu tespit edilmiştir (Snoussi vd., 2008). Bu bulgular; bakteri türünün farklı suşlarında dahi, antibakteriyel etkinin görüldüğü konsantrasyonlarda farklılık olabileceğini göstermektedir.

Tablo 8. Bitki esansiyel yağlarının lakerdadan izole edilen bakteriler üzerinde minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) (%)

Örnek adı	Bakteri	İzolasyon no	MİK		MBK	
			Turunc çiçeği Esansiyel yağı	Karanfil Esansiyel yağı	Turunc çiçeği Esansiyel yağı	Karanfil Esansiyel yağı
A	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	0,3125	0,625	0,625	1,25
B	<i>Staphylococcus pasteurii</i>	1	0,3125	1,25	0,625	2,5
B	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0,07813	0,625	0,15625	1,25
A	<i>Staphylococcus equorum</i>	1	0,07813	0,15625	0,3125	0,3125
C	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	0,3125	0,07813	0,625	0,15625
D	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>	1	0,07813	0,07813	0,15625	0,15625
E	<i>Carnobacterium mobile</i>	1	0,00977	0,00488	0,03906	0,01953
F	<i>Vibrio hibernica</i>	1	0,3125	0,07813	0,3125	0,07813
F	<i>Vibrio rumoiensis</i>	1	0,01953	0,07813	0,01953	0,07813

A, B ve E: Balıkçı örnekleri, C, D ve F: Balık market örnekleri

Sonuç

Bu çalışmada; turunc çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının, test edilen bakteriler üzerinde güçlü inhibisyon etkisi olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak elde ettiğimiz bulgular; lakerda ürünlerinde gıda güvenliği açısından istenmeyen bazı bakterilere karşı doğal koruyucu olarak, turunc çiçeği ve karanfil tanesi esansiyel yağlarının kullanılabilirliğini desteklemektedir.

Teşekkür

Bu çalışma; Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi “FDK-2020-3334 numaralı” projesi olarak desteklenmiştir. Dilek Kahraman Yılmaz’ın Prof. Dr. Nermin Berik danışmanlığında yürütülen doktora tezinden hazırlanmıştır. Türkiye Yüksek Öğretim Kurumu (YÖK) 100/2000 burs programının desteğine teşekkür ederiz. Dr. Fevziye Işıl Kesbiç’e; örneklerin GC/MS analizleri aşamasındaki destekleri için teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Yazar Katkıları

Dilek Kahraman Yılmaz ve Nermin Berik çalışmayı planladı. Tüm yazarlar veri toplama ve analiz etmede, sonuçları tartışmada ve makalenin son şeklini almasında katkıda bulundular.

Etik Onay

Bu çalışma için etik kurul iznine gerek yoktur.

Kaynaklar

- Aksu, F., Uran, H., & Varlık, C. (2013). Geleneksel bir su ürünü “Palamut Lakerdası”. *Dünya Gıda Dergisi*, 8, 26-28.
- Al-Deen, R. B., Aloklah, B., & Al-Amir, L. (2021). Chemical composition and antibacterial activity of the peel essential oils extracted from citrus fruits. *Journal of Agriculture and Applied Biology*, 2(2), 114-123.
- Ali, B.H., & Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research: An international journal devoted to pharmacological and toxicological evaluation of natural product derivatives*, 17(4), 299-305. doi.org/10.1002/ptr.1309
- Anwar, S., Ahmed, N., Speciale, A., Cimino, F., & Saija, A. (2016). Bitter orange (*Citrus aurantium* L.) oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 259-268). Academic Press. doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00029-8
- Ashihara, H., Mizuno, K., Yokota, T., & Crozier, A. (2017). Xanthine alkaloids: occurrence, biosynthesis, and function in plants. In: *Progress in the chemistry of organic natural products* (Kinghorn, A. D., Falk, H., Gibbons, S., & Kobayashi, J. I. eds.) Volume 105, pages 1-88.
- Aydın, A., & Alçiçek, A. (2018). Effects of the supplementation of essential oil isolated from orange peel (*Citrus sinensis* L.) to broiler diets on the performance. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 5(2), 127-135. doi.org/10.30910/turkjans.421348

- Bauer, A., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single diffusion method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45, 493-496.
- Cai, L., & Wu, C. D. (1996). Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *Journal of Natural Products*, 59(10), 987-990.
- Ceccato-Antonini, S. R., Shirahigue, L. D., Varano, A., da Silva, B. N., Brianti, C. S., & de Azevedo, F. A. (2023). Citrus essential oil: would it be feasible as antimicrobial in the bioethanol industry? *Biotechnology Letters*, 45, 1-2. <https://doi.org/10.1007/s10529-022-03320-4>
- Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A. B., Rouabhia, M., Mahdouani, K., & Bakhrouf, A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy research*, 21(6), 501-506. doi.org/10.1002/ptr.2124
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58. doi.org/10.3390/medicines4030058
- Clevenger, J.F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *Journal of the American Pharmacists Association*, 17(4), 345-349
- Dugo G, Peyron L, Bonaccorsi I, Dugo G and Mondello L, (2010). Extracts from the bitter orange flowers (*Citrus aurantium* L.): Composition and adulteration. In: Citrus oils. Composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity (Dugo G and Mondello L eds.), pages 333-348
- Erkan, N., Tosun, S.Y., Alakavuk, D.Ü., & Ulusoy, Ş. (2009). Keeping quality of different packaged salted Atlantic Bonito “Lakerda”, *Journal of Food Biochemistry*, 33,5, 728-744. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00247.x
- Gavahian, M., Chu, Y. H., & Mousavi Khaneghah, A. (2019). Recent advances in orange oil extraction: An opportunity for the valorisation of orange peel waste a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 925-932. doi.org/10.1111/ijfs.13987
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., & Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116(4), 982-989. doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.058
- Haj Ammar, A., Bouajila, J., Lebrhi, A., Mathieu, F., Romdhane, M., & Zagrouba, F. (2012). Chemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus aurantium* L. flowers essential oil (Neroli oil). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 15(21), 1034-1040. doi.org/10.3923/pjbs.2012.1034.1040
- Hsouna, A. B., Hamdi, N., Halima, N. B., & Abdelkafi, S. (2013). Characterization of essential oil from *Citrus aurantium* L. flowers: antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Oleo Science*, 62(10), 763-772. doi.org/10.5650/jos.62.763
- Kamatou, G. P., Vermaak, I., & Viljoen, A. M. (2012). Eugenol—from the remote Maluku Islands to the international market place: a review of a remarkable and versatile molecule. *Molecules*, 17(6), 6953-6981. doi.org/10.3390/molecules17066953
- Kang, P., Ryu, K. H., Lee, J. M., Kim, H. K., & Seol, G. H. (2016). Endothelium-and smooth muscle-dependent vasodilator effects of *Citrus aurantium* L. var. amara: Focus on Ca²⁺ modulation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 82, 467-471. doi.org/10.1016/j.biopha.2016.05.030
- Kenouche, A., Benkaci-Ali, F., Scholl, G., & Eppe, G. (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* cloves extracted by conventional and microwave techniques. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 5(1), 1-11. doi.org/10.1080/22311866.2014.961100
- Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448. doi.org/10.1002/ptr.1465
- Mannucci, C., Calapai, F., Cardia, L., Inferrera, G., D'Arena, G., Di Pietro, M., & Calapai, G. (2018). Clinical Pharmacology of *Citrus aurantium* and *Citrus sinensis* for the Treatment of Anxiety. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2018. doi.org/10.1155/2018/3624094
- Metoui, N., Gargouri, S., Amri, I., Fezzani, T., Jamoussi, B., & Hamrouni, L. (2015). Activity antifungal of the essential oils; aqueous and ethanol extracts from *Citrus aurantium* L. *Natural product research*, 29(23), 2238-2241. doi.org/10.1080/14786419.2015.1007136
- Ormancı, H.B. (2013). Palamut (*Sarda sarda*) lakerdasının olgunlaşması süresince serbest amino asit ve biyojen amin oluşumunun ürün kalitesine etkileri. Doktora tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Çanakkale, Türkiye, 143 s.
- Ouattara, B., Simard, R. E., Holley, R. A., Piette, G. J. P., & Bégin, A. (1997). Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International journal of food microbiology*, 37(2-3), 155-162.
- Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., & Zachariah, T. J. (2008). *Chemistry of spices*. CABI International, Wallingford, USA. 464 pages.

- Pathirana, H. N. K. S., Wimalasena, S. H. M. P., De Silva, B. C. J., Hossain, S., & Heo, G. (2019). Antibacterial activity of clove essential oil and eugenol against fish pathogenic bacteria isolated from cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Slov. Vet. Res.*, *56*, 31-38. doi.org/10.26873/SVR-590-2018
- Paul, A., & Cox, P. A. (1995). An ethnobotanical survey of the uses for *Citrus aurantium* (Rutaceae) in Haiti. *Economic Botany*, 249-256.
- Radünz, M., da Trindade, M. L. M., Camargo, T. M., Radünz, A. L., Borges, C. D., Gandra, E. A., & Helbig, E. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chemistry*, *276*, 180-186. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.173
- Rota, M. C., Herrera, A., Martínez, R. M., Sotomayor, J. A., & Jordán, M. J. (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food control*, *19*(7), 681-687. doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.07.007
- Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C. (2007). *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA, pages 428.
- Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L., & Yuk, H. G. (2013). Plant essential oils as active antimicrobial agents. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *54*(5), 625-644. https://doi.org/10.1080/10408398.2011.599504
- Snoussi, M., Hajlaoui, H., Noumi, E., Usai, D., Sechi, L. A., Zanetti, S., & Bakhrouf, A. (2008). In-vitro anti-Vibrio spp. activity and chemical composition of some Tunisian aromatic plants. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *24*, 3071-3076.
- Solórzano-Santos, F., & Miranda-Novales, M. G. (2012). Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, *23*(2), 136-141. doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.005
- Soxhlet, F.V. (1879). Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes. *Dingler's Polytechnisches Journal*, *232*, 461-465.
- Degirmenci, H., & Erkurt, H. (2020). Chemical profile and antioxidant potency of *Citrus aurantium* L. flower extracts with antibacterial effect against foodborne pathogens in rice pudding. *LWT*, *126*, 109273. doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109273
- Suntar, I., Khan, H., Patel, S., Celano, R., & Rastrelli, L. (2018). An overview on *Citrus aurantium* L.: Its functions as food ingredient and therapeutic agent. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2018*. doi.org/10.1155/2018/7864269
- Şengezer, E., & Güngör, T. (2008). Esansiyel yağlar ve hayvanlar üzerindeki etkileri (derleme). *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, *48*(2), 101-110.
- Tipu, M. A., Akhtar, M. S., Anjum, M. I., & Raja, M. L. (2006). New dimension of medicinal plants as animal feed. *Pakistan Veterinary Journal*, *26*(3), 144-148.
- Turan, H., Kaya, Y., & Kocatepe, D. (2009). Geleneksel bir gıdamız; Lakerda. II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 27-29 Mayıs 2009, Van, 111-114.
- Turgis, M., Vu, K. D., Dupont, C., & Lacroix, M. (2012). Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Research International*, *48*(2), 696-702. doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.016
- Varlı, M., Hancı, H., & Kalafat, G. (2020). Tıbbi ve aromatik bitkilerin üretim potansiyeli ve biyoyararlılığı. *Research Journal of Biomedical and Biotechnology*, *1*(1), 24-32.
- Waheed, A., Akram, S., Ashraf, R., Mushtaq, M., & Adnan, A. (2020). Kinetic model and optimization for enzyme-assisted hydrodistillation of d-limonene-rich essential oil from orange peel. *Flavour and Fragrance Journal*, *35*(5), 561-569. doi.org/10.1002/ffj.3598
- Zhang, J., He, S., Wang, J., Wang, C., Wu, J., Wang, W., & Li, F. (2020). A Review of the traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and toxicology of *Corydalis yanhusuo*. *Natural Product Communications*, *15*(9). doi.org/10.1177/1934578X20957752