Ege Journal of
Fisheries and Aquatic Sciences

www.egejfas.org

E-ISSN 2418-3140

EgeJFAS

Su Ürünleri Dergisi

Volume 37 Number 1 2020

Ege University Faculty of Fisheries

Instructions for Authors

Scope of the Journal

Su Ürünleri *Dergisi* (*Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*) is an open access, international, double blind peer-reviewed journal publishing original research articles, short communications, technical notes, reports and reviews in all aspects of fisheries and aquatic sciences including biology, ecology, biogeography, inland, marine and crustacean aquaculture, fish nutrition, disease and treatment, capture fisheries, fishing technology, management and economics, seafood processing, chemistry, microbiology, algal biotechnology, protection of organisms living in marine, brackish and freshwater habitats, pollution studies.

Su Ürünleri *Dergisi* (*EgeJFAS*) is published quarterly (March, June, September and December) by Ege University Faculty of Fisheries since 1984.

Submission of Manuscripts

Please read these instructions carefully and follow them strictly to ensure that the review and publication of your paper is as efficient and quick as possible. The Editors reserve the right to return manuscripts that are not in accordance with these instructions. All manuscripts will be peer-reviewed by at least two referees.

Submission of manuscripts to this journal should be presented in electronic form via online submission system at http://www.egejfas.org. If your submission is not successful via online system, you can send the file via e-mail. The correspondence regarding editorial matters should be sent to editor@egejfas.org.

Please prepare your manuscript according to the instructions below.

Work submitted for publication must be previously unpublished, not under consideration for publication elsewhere and, if accepted, it should not then be published elsewhere.

Preparation of Manuscripts

Papers must be clearly written in Turkish or English. Manuscripts should be typed double spaced on A4 size paper in 12-point Times New Roman font including the references, table headings and figure captions with standard margins (25 mm) all around. The author's name should appear centered under the title. Numbered ([1]) note should give the author's institutional address and an asterisked (*) note should indicate the correspondence author's e-mail address. Degrees and qualifications should not be included.

Please prepare your typescript text using a word-processing package (save in .doc or .docx).

The complete manuscript should be in a single file containing full text, references, figures and tables. Figures and tables should be at the end of the manuscript file and the locations should be indicated in the text.

- Research papers and reviews must not exceed 25 manuscript pages including tables and figures (except checklists).
- Short communications, technical notes and reports which are results of brief but significant work, must not exceed 10 manuscript pages including tables and figures.

Title page

The title must be short and concise. The first name and surname of each author should be followed by department, institution, city with postcode, and country. The e-mail address of the corresponding author should also be provided. It is editorial policy to list only one author for correspondence.

It is important that authors ensure the following: (i) all names have the correct spelling and are in the correct order (first name and family name). Occasionally, the distinction between surnames and forenames can be ambiguous, and this is to ensure that the authors' full surnames and forenames are tagged correctly, for accurate indexing online.

Abstract

English and Turkish abstracts (contributors who are not native Turkish speakers may submit their manuscripts with an English abstract only) of maximum of 300 words should be included in all submissions. The Abstract should be comprehensible to readers before they have read the paper, and reference citations must be avoided. It is essential that the Abstract clearly states the legal importance of the work described in the paper. A list of keywords (maximum six) must be proposed.

Following pages

These should content the rest of the paper and should be organized into an Introduction, Material and methods, Results, Discussion, Acknowledgements and References. Short communication and technical notes both should follow the same layout, without the abstract. In writing of systematic papers, the International Codes of Zoological and Botanical Nomenclature must be strictly followed. The first mention in the text of any taxon must be followed by its authority including the year. The names of genera and species should be given in *italics*.

Acknowledgements

Acknowledgements should be kept brief and placed before the reference section.

References

Full references should be provided in accordance with the APA style. The usage of reference managers as Mendeley ©or Endnote ©or an online reference manager as Citefast (http://www.citefast.com/) with the output style of APA 6th edition is advised in organizing the reference list.

All references must be written in English. The in-text citation to the references should be formatted as surname(s) of the author(s) and the year of publication: (Kocataş, 1978) or (Geldiay and Ergen, 1972); in Turkish article (Geldiay ve Ergen, 1972). For citations with more than two authors, only the first author's name should be given, followed by "*et al*." –in Turkish article 'vd.'- and the date. If the cited reference is the subject of a sentence, only the date should be given in parentheses, i.e., Kocataş (1978), Geldiay *et al*. (1971). There should be no parentheses for the citations that the year of the citation is given in the beginning of the sentence, i.e. "In 1978, Kocataş's study of freshwater ecology showed that…"

When its needed to cite two or more works together, in-text citations should be arranged alphabetically in the same order in which they appear in the reference list, i.e. (Geldiay and Ergen, 1972; Kocataş, 1978; Thurry, 1987) or (Kocataş, 1978, 1979, 1981) or (Geldiay and Ergen, 1972a, 1972b)

All citations should be listed in the reference list, with the exception of personal communications. References should be listed alphabetically ordered by the author's surname, or first author's surname if there is more than one author at the end of the text.

Hanging indent paragraph style should be used. The year of the reference should be in parentheses after the author name(s). The correct arrangement of the reference list elements should be in order as "Author surname, first letter of the name(s). (publication date). Title of work. Publication data. DOI

Article title should be in sentence case and the journal title should be in title case. Journal titles in the Reference List must be italicized and spelled out fully; **do not abbreviate titles**) e.g., *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, not *Ege J Fish Aqua Sci*). Article titles are not italicized. If the journal is paginated by issue the issue number should be in parentheses.

DOI information (if available) should be placed at the end of the reference as in the example. The DOI information for the reference list can be retrieved from CrossRef © Simple Text Query Form (http://www.crossref.org/SimpleTextQuery/) by just pasting the reference list into the query box.

The citation of journals, books, multi-author books and articles published online should conform to the following examples:

Journal Articles

Öztürk, B .(2010). Scaphopod species (Mollusca) of the Turkish Levantine and Aegean seas. *Turkish Journal of Zoology,* 35(2), 199-211. DOI:10.3906/zoo-0904-23

Özbek, M. & Ulutürk, E .(2017) .First record of *Spongilla lacustris*) Porifera: Demospongiae) from the Eastern Black Sea (Uzungöl Lake, Trabzon) (*in Turkish with English abstract*). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 34(3), 341-346. DOI: 10.12714/egejfas.2017.34.3.14

Books

Parsons, T.R., Matia, Y. & Lalli, C.M. (1984). A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. New York: Pergamon Press.

Chapter in Books

Gollasch, S. (2007). Is ballast water a major dispersal mechanism for marine organisms? In W. Nentwig (Ed.), *Biological Invasions* (pp 29-57). Berlin: Springer.

Proceedings

Soultos, N., Lossifidou, E., Lazou, T. & Sergedilis, D. (2010). Prevalence and antibiotic susceptibility of Listeria monocytogenes isolated from RTE seafoods in Thessaloniki (Northern Greece). In Ş. Çaklı, U. Çelik, C. Altınelataman (Eds.), West European Fish Technologists Association Annual Meeting 2010 (pp. 94-98). İzmir, Turkey: Proceedings Book.

Online Articles

Andrews, T. (2010). What vitamins are found in fish? Retrieved from http://www.livestrong.com/article/292999-what-vitamins-are-found-in-fish (27.11.2012).

Tables and Figures

All illustrations, except tables, should be labeled 'Figure' and numbered in consecutive Arabic numbers, and referred to as Table 1, Figure 1....in the text, unless there is only one table or one figure. Each table and figure, with a concise heading or with a descriptive statement written in English -and Turkish- (only contributors who are native Turkish speakers) should be placed inside the manuscript in proper places. Tables need not to exceed 175 x 227 mm. Figures, which are recommended for electronic formats such as JPEG, TIFF (min. 300 dpi) should be also arranged in available dimensions. When it is necessary, the original copies of the figures will be asked from author(s) as separate files, after the reviewing process being concluded.

Copyright and License

Upon receipt of accepted manuscripts at EgeJFAS, authors will be invited to complete a copyright license to publish form.

Please note that by submitting an article for publication you confirm that you are the corresponding/submitting author and that EgeJFAS may retain your email address for the purpose of communicating with you about the article. If your article is accepted for publication, EgeJFAS will contact you using the email address you have used in the registration process.

Proof Sheets and Offprints

Page proofs will be sent to the corresponding authors. These should be checked immediately and corrections, as well as answers to any queries, returned to the Editorial Office via e-mail within 3 working days (further details are supplied with the proof). It is the author's responsibility to check proofs thoroughly. No changes or additions to the edited manuscript will be allowed at this stage. The journal provides free access to the papers.

Page Charges and Reprints

No page charges are collected. All authors/readers have free access to all papers.

Plagiarism Detection

In accordance with its publishing policies EgeJFAS requires plagiarism check for each study that has undergone the "Review Process". The iThenticate plagiarism checker software is used for plagiarism detection.

Indexes

EgeJFAS is indexed in TUBITAK ULAKBIM TR Dizin, ESCI (Clarivate Analytics), Zoological Record (Clarivate Analytics), EBSCO, CABI, ProQuest, DOAJ, ASFA

Corresponding Address	**E- ISSN 2148-3140**
Su Ürünleri Dergisi Ege University Faculty of Fisheries 35100 Bornova-İzmir, Turkey Phone: +90 232 311 3838 Fax: +90 232 388 3685 E-mail: editor@egejfas.org	

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

Su Ürünleri Dergisi

Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

Volume 37 Number 1 **E-ISSN 2418-3140**

İÇİNDEKİLER CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ RESEARCH ARTICLES

Istakoz (*Homarus gammarus* Linnaeus 1758) türüne özel yapay resif modelleri
Species-specific artificial reef models for lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus 1758)
Deniz Acarlı, Semih Kale **1-7**

Yenişakran (Çandarlı Körfezi, Ege Denizi) kıyı balıkçılığının mevsimsel av kompozisyonu ve birim çaba başına düşen av miktarları
Seasonal catch composition and catch per unit effort of coastal fishery in Yenişakran (Çandarlı Bay, Aegean Sea)
Tuğçe Şensurat Genç, Okan Akyol **9-14**

Abatement efficiency and fate of EPA-Listed PAHs in aqueous medium under simulated solar and UV-C irradiations, and combined process with TiO_2 and H_2O_2
Navid Kargar, Ali Reza Amani-Ghadim, Amir Abbas Matin, Golnar Matin, Hasan Baha Buyukisik **15-27**

Aeromonas hydrophila balık patojeninde biyosensör suşlar aracılığıyla çevreyi algılama sisteminin tespiti ve virülens faktörleri
Determination of quorum sensing system via biosensor strains and virulence factors in fish pathogen *Aeromonas hydrophila*
Nurdan Filik, Ayşegül Kubilay **29-36**

Comparison on nutritional properties of wild and cultured brown trout and Atlantic salmon
Doğal ve kültür dere alabalığı ve Atlantik somonunun besinsel özelliklerinin karşılaştırılması
Ömer Alper Erdem, Başak Alkan, Mehmet Tolga Dinçer **37-41**

Farklı konsantrasyonlarda kullanılan nisinin vakum paketlenerek soğukta (4±2°C) depolanan levrek (*Dicentrarchus labrax*) filetolarının yağ asit profili üzerine etkileri
The effects of nisin used at different concentrations on fatty acids profile of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets under chilled (4±2°C) and vacuum-packed conditions
Yılmaz Uçar, Fatih Özoğul, Mustafa Durmuş, Ali Rıza Köşker, Yeşim Özoğul **43-51**

Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardina pilchardus*) iç organlarından tripsin eldesi ve bazı fonksiyonel özelliklerinin tespiti
Extraction of trypsin enzyme from visceral organs of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus*) and determination of some functional characteristics
Boğaçhan Burak Erkan, Şükran Çaklı **53-58**

Melendiz Çayı (Konya Kapalı Havzası) *Squalius cappadocicus* Özuluğ & Freyhof, 2011 popülasyonu için bazı popülasyon dinamiği parametrelerinin belirlenmesi
Determination of some population dynamical parameters of *Squalius cappadocicus* Özuluğ & Freyhof, 2011 for Melendiz River (Konya Endorheic Basin)
Burak Seçer, Umut Cömertpay, Sevil Sungur, Erdoğan Çiçek **59-64**

The genus *Granulina* (Mollusca: Gastropoda: Neogastropoda) from the Turkish coasts with taxonomical notes on some Mediterranean species
Akdeniz türleri üzerine bazı taksonomik notlarla birlikte, Türkiye kıyılarındaki *Granulina* (Mollusca: Gastropoda: Neogastropoda) genusunun durumu
Franck Boyer, Walter Renda, Bilal Öztürk **65-83**

İstavrit balığında ayıklama işlemi: Kalite, gıda güvenliği ve halk sağlığı ilişkisi
Gutting process in horse mackerel: Relationship between quality, food safety, public health
Gülgün F. Ünal Şengör, Zafer Ceylan, Remziye Eda Yardımcı, Samime Özturan **85-91**

Balık tüketiminde tüketim tercihlerini etkileyen faktörlerin analizi: Çankırı İli örneği
Analysis of factors affecting consumption preferences in fish consumption: Case of Çankırı Province
Yasin Genç, Mevhibe Albayrak, Hüseyin Tayyar Güldal **93-101**

DERLEMELER REVIEWS

Makroalglerin prebiyotik etkileri
Prebiotic effects of macroalgae
Zehra Torun, Belma Konuklugil **103-112**

Published by

Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Su Ürünleri Dergisi
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences

Sahibi **Director**
Uğur SUNLU **Dekan** **Dean**
Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yazı İşleri Müdürü **Editor-in-Chief**
Ufuk ÇELİK
Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yazı İşleri Müdür Yardımcıları **Co-Editors-in-Chief**
Gürel TÜRKMEN Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Hasan M. SARI Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yardımcı Editörler **Associate Editors**
Okan AKYOL Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Mehmet Alp SALMAN Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Cüneyt SUZER Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey
Vahdet ÜNAL Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Teknik Editör **Technical Editor**
M. Tolga TOLON Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

İstatistik Editörü **Statistical Editor**
Hülya SAYĞI Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Yabancı Dil Editörü **Foreign Language Editor**
Eren ALKAN Ege University School of Foreign Languages, İzmir, Turkey

Yayın Kurulu **Editorial Board**
Ela ATIŞ Egel University, İzmir, Turkey
Aslı BAŞARAN Ege University, İzmir, Turkey
Levent BAT Sinop University, Sinop, Turkey
Javier BORDERÍAS ICTAN-CSIC, Madrid, Spain
Kurt BUCHMANN Universityof Copenhagen, Copenhagen, Denmark
Melih Ertan ÇINAR Ege University, İzmir, Turkey
Yılmaz ÇİFTÇİ Ordu University, Ordu, Turkey
Deniz ÇOBAN Adnan Menderes University, Aydın, Turkey
Mark DIMECH FAO Fish. Aqua. Dept., Rome, Italy
M. Tolga DİNÇER Ege University, İzmir, Turkey
Ertuğ DÜZGÜNEŞ Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey
Ercüment GENÇ Ankara University, Ankara, Turkey
Ana GORDOA CEAB-CSIC, Madrid, Spain
Gertrud HAIDVOGL Uni. Nat. Res. Life Sci., Vienna, Austria
Chiaki IMADA Tokyo Uni. Marine Sci. Tech., Tokyo, Japan
Bilge KARAHAN Egel University, İzmir, Turkey
F. Saadet KARAKULAK İstanbul University, İstanbul, Turkey
Marcelo de Castro LEAL University of Lavras, Lavras, Brazil
Aynur LÖK Ege University, İzmir, Turkey
K. Karal MARX Fisheries College and Research Institute, Thoothukudi, India
Jörg OEHLENSCHLÄGER Seafood Consultant, Hamburg, Germany
Rahime ORAL Ege University, İzmir, Turkey
M. Bahadır ÖNSOY Muğla Sıtkı Koçman University, Muğla, Turkey
Murat ÖZBEK Ege University, İzmir, Turkey
Hüseyin ÖZBİLGİN Mersin University, Mersin, Turkey
Müfit ÖZULUĞ İstanbul University, İstanbul, Turkey
Giuliana PARISI University of Florence, Florence, Italy
Fatih PERÇİN Ege University, İzmir, Turkey
Şahin SAKA Ege University, İzmir, Turkey
Haşim SÖMEK İzmir Katip Çelebi University, İzmir, Turkey
Radu SUCIU Danube Delta National Institute, Tulcea, Romania
Tamás SZABÓ Szent Istvàn University, Gödöllő, Hungary
William TAYLOR Michigan State University, East Lansing, USA
E. Mümtaz TIRAŞIN Dokuz Eylül University, İzmir, Turkey
Adnan TOKAÇ Ege University, İzmir, Turkey
Sühendan Mol TOKAY İstanbul University, İstanbul, Turkey
Mustafa ÜNLÜSAYIN Akdeniz University, Antalya, Turkey
Argyro ZENETOS Hellenic Centre for Marine Research, Anávyssos, Greece

Yayın Ofisi **Editorial Office**
Halise KUŞÇU Ege University Faculty of Fisheries, İzmir, Turkey

Su Ürünleri Dergisi yılda dört sayı olarak yayınlanır. Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences is published in four issues annually.

T.C. Kültür ve Turizm Bakanlığı Sertifika No: 18679
Ministry of Culture and Tourism Sertificate No:18679

Yayımlanma Tarihi **Publishing Date**
15 Mart March 15th, 2020

İletişim **Contact**
Ege Üni. Su Ürünleri Fakültesi, 35100, Bornova, İzmir Ege Uni. Faculty of Fisheries, 35100, Bornova, Izmir, Turkey
Tel: +90 232 311 3838 Fax: +90 232 388 3685 http://www.egejfas.org info@egejfas.org

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 1-7 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.01

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

Istakoz (*Homarus gammarus* Linnaeus 1758) türüne özel yapay resif modelleri

Species-specific artificial reef models for lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus 1758)

Deniz Acarlı[1] ● **Semih Kale**[2*]

[1] Department of Fisheries Technology, Gökçeada School of Applied Sciences, Çanakkale Onsekiz Mart University, 17760, Gökçeada, Çanakkale, Turkey http://orcid.org/0000-0001-8537-9969

[2] Department of Fishing and Fish Processing Technology, Faculty of Marine Sciences and Technology, Çanakkale Onsekiz Mart University, 17020, Çanakkale, Turkey http://orcid.org/0000-0001-5705-6935

Corresponding author: semihkale@comu.edu.tr

Received date: 27.05.2019 *Accepted date: 26.08.2019*

How to cite this paper:
Acarlı, D. & Kale, S. (2020). Species-specific artificial reef models for lobster (*Homarus gammarus* Linnaeus 1758). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 1-7. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.01

Öz: Bu çalışmanın hedefi, ıstakoz türünün (*Homarus gammarus* Linnaeus, 1758) tercih edeceği muhtemel yapay resif modellerinin belirlenmesidir. Bu amaçla, sekiz farklı şekil ve büyüklükte yapay resif modeli tasarlanmıştır. Farklı materyal (ahşap, beton ve metal) ve şekillere (düz, ızgara, 6 girişli, U tipi, baca şapkası, şömine baca tuğlası) sahip modeller Marmara Denizi'nde Erdek Ocaklar Körfezi kıyılarında kıyıdan 500 m mesafede 10 m, 15 m ve 20 m derinliklerde deniz tabanına plana göre her bir model için üçer adet olacak şekilde yerleştirildikten sonra aylık periyotlarla sualtı gözlemleriyle incelenmiştir. Sualtı gözlemleri sırasında SCUBA ekipmanları kullanılmış olup resiflerin deniz tabanına yerleştirilmesinde geçen süre (çaba) 233 dk/dalgıç ve dalgıçların suda geçirdiği süre ise 540 dk/dalgıç olarak hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda, yapay resiflerin çevresinde ve içinde toplam 32 adet *H. gammarus* türü gözlenmiştir. Sıcaklık 14°C'nin altına düştüğünde ıstakoz sayısında belirgin bir artış görülmüştür. Bununla birlikte, ıstakoz bireylerinin sadece 20 m derinlikteki beton yapay resif modellerini tercih ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, küçük olan bireylerin 40×80 cm düz beton modeli (24 adet), büyük olan bireylerin ise U beton modeli (8 adet) tercih ettiği gözlenmiştir. Dolayısıyla bu çalışma sonucunda, yetiştiriciliği yapılan ıstakoz bireylerinin stoklarının korunması ve sürdürülebilirliğinin sağlanması açısından beton yapay resif modellerinin kullanılması ve bireylerin doğal ortamlarına aşılanmasında bu resiflere bırakılması önerilmiştir. Bu bağlamda, bu çalışma ileride gerçekleştirilecek çalışmalara ışık tutacaktır.

Anahtar kelimeler: Türe özel yapay resif, ıstakoz, *Homarus gammarus*, yapay resif tasarımı, Marmara Denizi

Abstract: The objective of this study is to determine the possible artificial reef models preferred by lobster species (*Homarus gammarus* Linnaeus, 1758). For this purpose, eight artificial reef models at different shapes and sizes have been designed. These models include flat, grilled, U-type, cowl, fireplace chimney brick shapes made from the materials of wood, concrete and metal. Artificial reefs were deployed at 5, 10, 20 m water depths and 500 m from the shore on the coast of Erdek Ocaklar Bay in Marmara Sea. Then, monthly monitoring was conducted and SCUBA equipment were used during underwater monitoring. The time for deploying artificial reefs on the sea bottom (effort) was 233 minutes/diver and the time spent underwater by the divers was calculated as 540 minutes/diver. As a result of the study, 32 individuals of *H. gammarus* were observed in/around the artificial reefs. A significant increase was observed in the number of lobsters when the temperature dropped below 14°C. However, it was determined that lobster individuals preferred only concrete artificial reef models at the depth of 20 m. In addition, it was observed that small individuals preferred 40×80 cm flat concrete model (24 individuals) and large individuals preferred U-type concrete model (8 individuals). Therefore, it has been proposed to the usage of concrete artificial reef models in order to protect and ensure the sustainability of the reared lobster stocks and to release them into these artificial reefs while introducing them to the natural environments. In this context, this study will shed light on future studies.

***Keywords*:** Species-specific artificial reef, lobster, *Homarus gammarus*, artificial reef design, Marmara Sea

GİRİŞ

Yapay resifler deniz canlıları için yeni tip habitat yaratmak veya mevcut habitatları korumak ve geliştirmek amacıyla denize yerleştirilen yapılar olarak tanımlanmaktadır (Jensen, 2002). Yapay resifler denizel canlılara beslenme, üreme, barınma (yuva) ve korunma alanları oluşturulması için insan eliyle deniz tabanına yerleştirilen yapılardır (Aydın, 2011). Denizel canlı kaynaklarının sürdürülebilir kullanımı, bütünleşik kıyı alanları yönetimi ve biyolojik çeşitliliğin korunması gibi modern doğa korumacılığına yönelik planlamalarda yapay resif uygulamaları büyük bir öneme sahiptir. Dünyada yapay resifler üzerine yapılan çalışmalar konusunda Japonya ve ABD başı çekmekte olup buralarda yapılan yapay resif çalışmaları yaklaşık 200 yıl öncesine dayanmaktadır (Stone vd., 1991). Japonya'daki yapay resif uygulamaları balıkçılık sahalarının iyileştirilmesi ve üretimin arttırılmasına yönelik gerçekleştirilmektedir.

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

ABD'de dalış turizmi, sportif balıkçılık ve olta balıkçılığının geliştirilmesine yönelik yapay resif uygulamaları gerçekleştirilmektedir. Avrupa'da ise yapay resif uygulamaları yasa dışı trol avcılığının önlenmesi (Ramos-Espla vd., 2000), deniz çayırı (*Posidonia oceanica*) yataklarının korunması (Guillén vd., 1994), tür çeşitliliğinin arttırılması gibi amaçlara yönelik gerçekleştirilmektedir. Avrupa'daki yapay resif uygulamaları 1970'li yıllarda İtalya'da başlamış, önce diğer Akdeniz ülkelerine daha sonra Kuzey Denizi ve Baltık Denizi ülkelerine yayılmıştır (Jensen, 2002). Yapay resifler 1980'li yıllara kadar balık üretimini arttırmak için inşa edilmiştir. Son yıllarda ise su kalitesini geliştirme (Angel ve Spanier, 2002) ile ekosistemi yenileme (Rilov ve Benayahu, 2000) gibi çevreci ve korumacı konular yapay resif çalışmalarında öncelik kazanmaktadır. Türkiye'deki bilimsel destekli yapay resif çalışmaları ise 1991 yılında başlamıştır. Sonrasında Marmara Denizi (Erdek Ocaklar Körfezi) ve Akdeniz Bölgesi'ndeki çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Güney Ege ve Akdeniz'de daha çok dalış turizmine yönelik yapılan yapay resif çalışmalarının bu bölgelerdeki küçük ölçekli balıkçılığın geliştirilmesinde de önemli katkıları bulunmaktadır.

Deniz ıstakozu (*Homarus gammarus*, Linnaeus 1758) ekonomik değerinin yüksek olması ve insan gıdası olarak tüketilmesi nedeniyle önemli bir deniz ürünüdür. Avrupa, Amerika ve Japonya'da sevilerek tüketilen ve önemli üretim miktarına sahip olan deniz ıstakozu Türkiye'de de büyük bir potansiyele sahiptir. Bununla birlikte, bu potansiyel sadece avcılık faaliyetleri ile değerlendirilmektedir. Ancak, avcılık üretimi de 2000 yılında 15 ton/yıl iken 2017 yılında 1,8 ton/yıl'a kadar düşmüştür (TÜİK, 2019). Büyüme ve gelişim aşamalarının çok uzun zaman alması (4-6 yıl) nedeniyle yetiştiriciliği yapılmamaktadır. TÜİK (2019) verilerine göre deniz ıstakozunun kg fiyatı 2000 yılında 6 TL iken 2017 yılında 81,7 TL olmuştur. Ekonomik değere sahip olan türlerin sularımızdaki ekolojik açıdan ne tür etkileşimlere neden olacağının araştırılması ile bu etkileşimlerin ne tür ekonomik sonuçlara yol açacağının öngörülmesi için çeşitli stratejiler geliştirilmesi su ürünleri sektörü açısından oldukça yararlı olacaktır. Ekonomik değerinin yüksek olması ve avcılık üretiminin azalması nedeniyle ıstakoz stoklarının varlığını devam ettirebilmesine ve alansal dağılımlarının genişlemesine katkı sağlayabilmesi için yapay resif uygulamalarının arttırılması gerekmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada mevcut ıstakoz stokları için barınma, korunma, beslenme ve üreme alanları sağlayabilecek türe özel yapay resiflerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Türe özel yapay resiflerin tasarımı ve yapımı

Istakoz türüne özel yapay resif modellerinin tasarlanmasında Autodesk 3DS MAX yazılımı kullanılmış ve bilgisayar ortamında çizimleri gerçekleştirilmiştir. Her bir yapay resif modelinden üçer adet olacak şekilde modellerin yapımı tamamlanmıştır. Çalışmada ahşap (ızgara), sac (düz), demir (ızgara), beton (düz), beton (baca şapkası), beton (U model), baca şapkası ve şömine baca tuğlası modelleri kullanılmıştır. Modellerin teknik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. Istakoz resiflerinin yapımında ahşap, demir ve beton malzemeler kullanılmıştır. Plastik malzemelerin kullanımından özellikle kaçınılmış ve bu tür malzemeler kullanılmamıştır.

Çalışma alanı

Çalışma sahası olarak Marmara Denizi'nin güneyinde yer alan Erdek Ocaklar Körfezi seçilmiştir (Şekil 1). Çalışma sahasının belirlenmesinde Acarlı ve Ayaz (2015) tarafından 2011 yılında yerleştirilmiş olan 1 m^3'lük resif bloklarının bulunduğu derinlik olan 20 m dikkate alınmış olup bununla birlikte ayrıca 10 m ve 15 m'ye de resif modelleri yerleştirilmiştir.

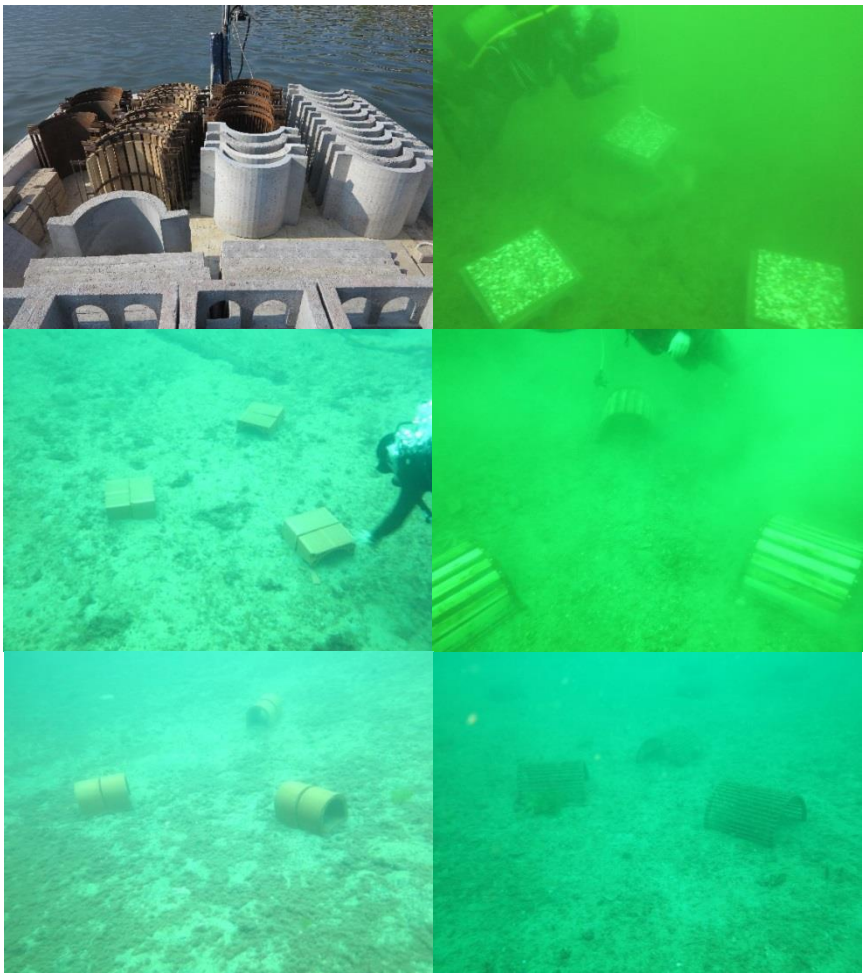
Yapay resifler modellerinin deniz tabanına yerleştirilmesi

Yapımı biten modeller çalışma sahasına bir balıkçı gemisi vasıtasıyla taşınmıştır. Araştırma ekibi ve dalgıçlar tarafından kıyıdan 500 m uzaklıkta ve 10, 15, 20 metre derinliklere her modelden üçer adet olacak şekilde ve 120°'lik açılar ile birbirine bakacak biçimde deniz tabanına planlandığı gibi yerleştirilmiştir (Şekil 2). Yapay resif modellerinin deniz tabanına yerleştirilmesi işlemleri Haziran 2015'te tamamlanmış olup sonrasında sualtı izleme çalışmaları başlamıştır.

Tablo 1. Istakoz türüne özel yapay resif modellerinin teknik özellikleri
Table 1. Technical characteristics of species-specific artificial reef models for European lobster

Model	Adet	En (mm)	Boy (mm)	Yükseklik (mm)	Et Kalınlığı (mm)	Kapladığı Hacim (m^3)	Ağırlık (adet/kg)
Ahşap (Izgara)	9	462	500	220	35	$7,7\times10^{-2}$	20
Sac (Düz)	9	420	500	275	2-3	$8,723\times10^{-2}$	11
Demir (Izgara)	9	445	500	270	8	$8,64\times10^{-2}$	15
Beton (Düz)	9	400	800	50	50	$1,6\times10^{-2}$	35
Beton (Baca Şapkası)	9	455	455	150	45	$3,665\times10^{-2}$	28
Beton (U tipi)	9	400	500	200	55-60	$6,75\times10^{-2}$	45
Baca Şapkası	9	200	390	195	50-55	$1,521\times10^{-2}$	15
Şömine Baca Tuğlası	9	280	380	150	40	$1,596\times10^{-2}$	12

Şekil 1. Çalışma alanı
Figure 1. Study area



Şekil 2. Yapay resif modellerinin deniz tabanına yerleştirilmesi
Figure 2. Deployment of artificial reef models to the seabed

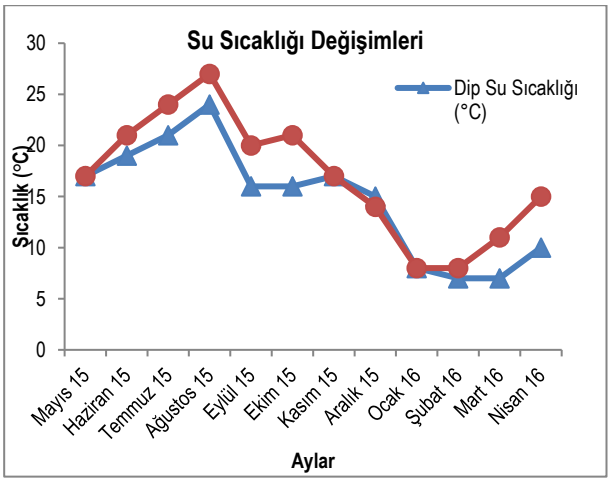
Sualtı izleme çalışmaları

Tüm resif modelleri deniz tabanına yerleştirildikten sonra dalgıçlar tarafından aylık olarak günün aynı saatlerinde (10:00 – 12:00) dalışlar gerçekleştirilerek sualtı izleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Örneklemelerde Nikon CoolPix marka sualtı fotoğraf makinesi ve GoPro marka sualtı video kamerası kullanılmıştır. Dalgıçlar ellerindeki sualtı tabletlerine her bir resif modeline ait verileri (su derinliği, su sıcaklığı vb.) yazarak kayıt altına almışlardır. Derinlik ve su sıcaklığı değerleri Oceanic GEO 2 marka sualtı bilgisayarı tarafından ölçülmüştür. Dalışlar sırasında SCUBA ekipmanları kullanılmıştır. Dalış limiti (dip zamanı) derinlik sınırlarına dikkat edilerek hesaplanmıştır. Sualtı çalışmalarında örnekleme süresi her bir derinlik için 15 dk olarak belirlenmiş ve bu süre hiçbir dalışta aşılmamıştır.

BULGULAR

Su sıcaklığı

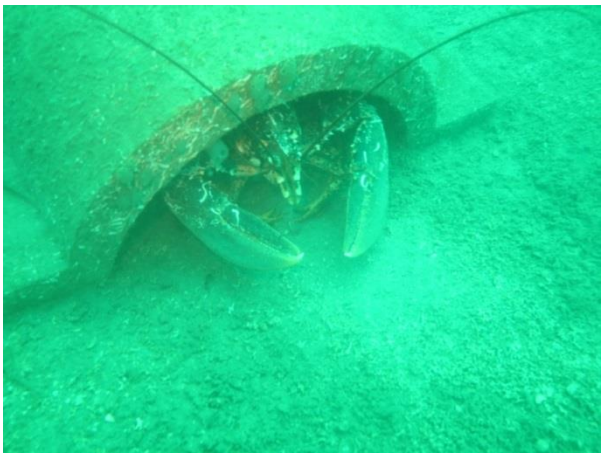
Çalışma boyunca sualtı izlemeleri sırasında ölçülen deniz dip su sıcaklığı ile deniz yüzey suyu sıcaklığının aylık değişimi Şekil 3'te sunulmuştur. En yüksek yüzey suyu sıcaklığı Ağustos 2015'te 27°C olarak, en düşük yüzey suyu sıcaklığı ise Ocak ve Şubat 2016 aylarında 8°C olarak ölçülmüştür. Dip suyu sıcaklıkları ise en yüksek Ağustos 2015'te 24°C olarak, en düşük ise Şubat ve Mart 2016 aylarında 6°C olarak ölçülmüştür. Su sıcaklığı 14°C'ye ulaştığında ise ıstakoz bireyleri yapay resiflerin içerisinde ve çevresinde daha çok gözlenmiştir.



Şekil 3. Deniz dip suyu ve yüzey suyu sıcaklığının aylık değişimi
Figure 3. Monthly variation of sea surface temperature and sea bottom temperature

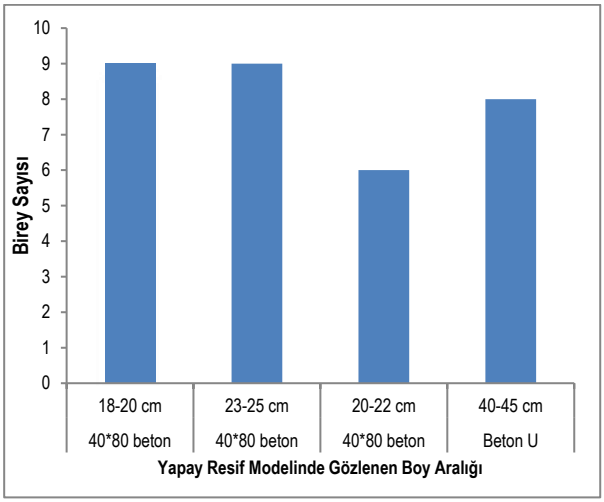
Istakoz türünün davranış ve sualtı gözlemleri

Çalışmada farklı materyale sahip ıstakoz türüne özel yapay resiflerden 7 cm et kalınlığına sahip U tipi beton ve düz beton (40 × 80 cm) olan iki modeli ıstakozların tercih ettikleri gözlemlenmiştir (Şekil 6, Şekil 7). Ayrıca ıstakozların sadece 20 m su derinliğinde bulunan bu modellere geldiği sualtı gözlemlerinde görülmüştür. Küçük bireylerin (18-20 cm toplam boya sahip) 40 × 80 cm düz beton modeli tercih ettikleri, büyük bireylerin ise U tipi beton modeli tercih ettikleri gözlenmiştir. Bununla birlikte, tüm çalışma boyunca büyük bireylerin boylarının ortalama 40-45 cm arasında değiştiği modelin yanında bulundukları anlarda ölçüleri bilinen resif modeli üzerinden hesaplanarak tahmin edilmiştir. Dalgıç tarafından önce bireylerin resifin ne kadarlık bir bölümünü kapladığına bakılmış daha sonra bu resiflerin yanına gelen dalgıç tarafından ıstakozun yaklaşık boyu tahmin edilmiştir. Bu tahminler resifin boyutlarının sabit olmasından dolayı yapılarak yaklaşık değerler olarak değerlendirmeye alınmıştır (Şekil 8).



Şekil 6. U tipi beton modelde gözlenen bir ıstakoz bireyi (~40-45 cm)
Figure 6. A European lobster individual observed in U-type reef model (~40-45 cm)

Şekil 7. Düz beton (40 × 80 cm) modelde gözlenen bir ıstakoz bireyi (~18-22 cm)
Figure 7. A European lobster individual observed in flat concrete (40 × 80 cm) reef model (~40-45 cm)



Şekil 8. Istakoz bireylerinin boy aralıklarına göre yapay resif modellerindeki toplam birey sayısı
Figure 8. Total number of European lobster individuals according to the length range in artificial reef models

Istakoz bireylerinin tercih ettiği yapay resiflerin giriş kısımlarının kuzeye göre yaptıkları açılar değerlendirildiğinde 130° olan modellerde toplam 9 adet 23-25 cm arasındaki birey, 150° olan modelde toplam 15 adet 18-22 cm arasındaki birey ve 340° olan modelde ise toplam 8 adet 40-45 cm arasında bireyin gözlendiği tespit edilmiştir.

Sualtı gözlemlerinde dalgıçlar her bir derinlikte 15 dk'lık bir gözlem yapmışlardır. Buna göre çalışma boyunca her bir dalgıcın sualtı gözlemleri için suda geçirdiği zaman minimum 540 dk olarak hesaplanmıştır. Modellerin planlandığı şekilde deniz tabanına yerleştirilmeleri için sualtında geçen süre (çaba) ortalama 233 dk/dalgıç olarak hesaplanmıştır.

Istakozların bu yapılan modeller içerisinde kabuk değiştirdikleri dalgıçlar tarafından doğrudan gözlenmiştir. Bu nedenle ıstakozların modelleri bir yuva olarak kabul etmeleri ve doğal yaşam alanları olarak benimsedikleri sonucuna varılmıştır. Ayrıca 8 adet büyük bireyden birisinin karın kısmında (abdomen) yumurtaların olduğu da yine dalgıçlar tarafından direkt olarak gözlemlenmiştir. Küçük bireylerin tamamının düz beton modeli (40 × 80 cm) tercih etmeleri son derece dikkat çekicidir. Sualtı gözlemleri sırasında küçük bireylerin dalgıçlar tarafından bulunmaları oldukça kolay gerçekleşmiştir. Küçük ıstakoz bireylerinin düz beton 40 × 80 cm modelin alt kısmında ön kollarıyla kumu ileriye doğru itmeleri nedeniyle yapay resifin çevresinde temiz kum tepeleri oluşmasına sebep olduklarından dalgıçlar bu yöne doğru ilerledikleri sırada bireyleri çok rahat bir şekilde görebilmiştir. Her bir temiz kum tepeciğinin yanında küçük ıstakoz bireylerine rastlanılmıştır. Bu durum dalgıçların küçük ıstakoz bireylerini aramak için çok fazla dip zamanı geçirmelerinin de önüne geçmiş ve dalgıçlara önemli bir avantaj sağlamıştır.

TARTIŞMA

Dünyada yapay resiflerde kullanılan malzemeler üzerine yapılan bilimsel araştırmaların büyük çoğunluğu Japonya'da başlamış Amerika ve Malezya gibi birçok ülkede de devam etmiştir. Bunlardan ahşap materyal üzerine Amerika, çift kabuklu-beton karışımı materyal üzerine Meksika, plastik (PVC) materyal üzerine başta Malezya ve Amerika, demir-karbon alaşımı ve çelik-beton karışımı üzerine Japonya, cam takviyeli polyester (CTP) üzerine Japonya, özellikle atık sac (çöp kutuları, vinç kolları, köprü bacakları, büyük yakıt tankları vb.) malzemelerin değerlendirilmesi amacıyla Amerika'da çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Lukens, 1997; Düzbastılar ve Lök, 2004). Türkiye'de farklı materyale sahip yapay resif kullanımı pek yaygın değildir. Ancak beton materyalden yapılmış beton blok kullanımı daha yaygın olarak göze çarpmaktadır (Lök vd., 2002). Ülkemizde türe özel yapay resif çalışmalarının ilki ahtapot üzerine Ege Denizi İzmir Körfezi'nin Çiçek Adaları ve Urla mevkiinde gerçekleşmiştir (Ulaş vd., 2011). Mevcut çalışma ise, yine ahtapotlarda olduğu gibi eklembacaklılar sınıfına dahil olan ıstakozlar için çok farklı sayıda materyale sahip resif modellerinin yapımı ve deniz tabanına yerleştirilmeleri üzerine yapılmıştır. Bu çalışmada ahşap, beton ve metal malzemeden yapılan yapay resif modelleri araştırılmıştır. Buna göre en çok tür cezbeden model 6 girişli beton model olmasına rağmen, ıstakozların bu modeli tercih etmemelerinin muhtemel nedeni olarak modelin çok fazla girişe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer beton malzemeden yapılmış 40 × 80 cm düz beton model ile U tipi beton modelin ise ıstakoz bireylerini kendilerine çektiği gözlenmiştir.

Acarlı vd. (2014) yapmış oldukları çalışmada Temmuz 2011'de deniz tabanına yerleştirilen 1 m^3'lük beton blokların sualtı incelemeleri sonucunda habitat bağımlı ıstakozların bu düzenekleri tercih ettiklerini ve bu düzeneklerin etrafında, çevresinde ve alt kısımlarında yaşayabilecekleri alanları kazdıklarını gözlemlemişlerdir. Bu bağlamda, mevcut çalışmada ıstakoz tuzaklarına benzeyen yapay resif modelleri yapılmıştır. Ayrıca Acarlı vd. (2014) ıstakozların yuva girişleri ile ilgili incelemeleri sonucunda yuvaların giriş kısımlarının Kuzeybatı-Güneydoğu (% 57,15), Kuzeydoğu-Güneybatı (% 28,57) ve Doğu-Batı (% 14,28) yönlerine doğru baktığını tespit etmiştir. Dolayısıyla bu çalışmada farklı özelliklere sahip modeller zemine yerleştirilirken bu açılar dikkate alınarak zemine yerleştirilmeleri gerçekleştirilmiştir. Ancak bu durum dalgıçlara sualtında fazla zaman kaybına sebep olmuştur. Deniz tabanına bu yapay resif modellerinin yerleştirilmesi için geçen süre (çaba) 233 dk/dalgıç olarak hesaplanmıştır. Oysaki

birçok resif modeli İbrice örneği (Altinağaç vd., 2013) hariç, serbest düşme hareketi ile yerleştirilmektedir (Lök vd., 2002).

Çalışma süresince yüzey ve dip suyu sıcaklıkları 8–27°C arasında değişmesine rağmen, özellikle çalışmanın hedef türü olan *H. gammarus*'un bu düzenekler çevresine veya içine su sıcaklığı 14°C'ye ulaştığında gelmeleri bu çalışmada elde edilen önemli bir bulgudur. Benzer şekilde Acarlı vd. (2013) sıcaklık bu seviyelere geldiğinde ıstakoz bireylerinin gözlendiğini rapor etmiştir.

Yapay resif modellerinin deniz tabanına yerleştirilmelerini takip eden ilk 3 ay içinde hiçbir ıstakoz bireyine rastlanılmamasına rağmen, Ağustos 2015'te ilk birey U tipi beton modelde görülmüştür. Buna karşın, Acarlı ve Ayaz (2015) yapmış oldukları çalışmada ilk bir yıl ıstakoz bireylerinin gözlenmediğini rapor etmiştir. Öte yandan, mevcut çalışma ıstakoz bireylerinin gözlendiği ayın Ağustos ayı olması itibariyle ile literatürdeki çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Farklı materyaller kullanılarak çeşitli modellerde ve ebatlarda geliştirilen ıstakoz türüne özel yapay resif modellerinde yapılan gözlemler sonucunda kullanılan materyal ve geliştirilen modellerin dışında ıstakoz bireylerinin yapay resifleri tercih davranışları üzerinde etkisi olabilecek faktörlerden birisi de en, boy, yükseklik, hacim gibi özellikleri kapsayan yapay resifin ebatlarıdır. Ancak yapılan gözlemler neticesinde ıstakoz bireylerinin çok çeşitlilik gösteren bir yapay resif tercihi olmadığı tespit edilmiştir. Istakoz bireylerinin tercih ettikleri yapay resif modelleri göz önünde bulundurulduğunda hacim faktörünün doğrudan resif tercihini etkileme konusunda yeterli olmadığı, bunun dışında hacimle doğrudan ilişkili olsa da hacimden önce en, boy, yüksekliğin daha çok etkisi olduğu kanaatine ulaşılmıştır. Özellikle ıstakoz bireylerinin sadece beton malzemeden ve 400 mm enindeki modelleri tercih ettiği gözlenmiştir. Bununla birlikte, ıstakoz bireylerinin boyutlarına göre yapay resif modellerini tercih ettikleri belirlenmiş ve bireylerin boyutlarındaki değişimlere göre tercih edilen yapay resif modelinin yüksekliğinin de değiştiği tespit edilmiştir. Ancak genel olarak hacmin tek başına tercih sebebi sayılabileceği bir gözlem kayıt edilmemiştir. Bu durumun ıstakoz bireylerinin sadece kendisinin yaşam alanı olarak kullanabileceği yapay resif modellerini tercih edip bu resiflerin içerisindeki alanları diğer bireylerle ortak yaşam alanı olarak kullanmayı tercih etmemelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan, tabanı kazma davranışları nedeniyle de o alanda kendi yaşam alanını oluşturmaktadır. Sadece beton materyalden yapılmış olan yapay resiflerde ıstakoz bireylerinin görülmesi ve diğer materyallerin ıstakoz bireyleri tarafından hiç tercih edilmemiş olması nedeniyle ıstakoz türüne özel yapay resif modellerinin geliştirilmesinde ilerideki çalışmalarda beton materyallerin değerlendirilmesi yararlı olacaktır. Bununla birlikte ıstakoz bireylerinin kendilerine yuva gibi kullanacakları ve sadece kendilerinin yaşayabileceği ebatlardaki modelleri seçmesi de yine bu türün davranış özellikleri açısından değerlendirildiğinde en etkin modellerin tek bir ıstakoz bireyinin yaşayabileceği ebatlardaki beton malzemeden üretilmiş yapay resif modelleri olduğunu işaret etmektedir. Dolayısıyla bu çalışma özelinde etkinliği karşılaştırılabilecek diğer bir model bulunmamasından dolayı sadece hacim ile ilişki kurulması doğru olmayacaktır. Ancak yine de ıstakoz bireylerinin boyutları büyüdükçe tercih ettikleri yapay resif modelinin yüksekliğinin de büyüdüğü yaşam alanı seçiminde önemli bir husus olarak öne çıkmaktadır.

Istakozların (büyük ve küçük boy gruplarındaki) tümünün 20 m'deki beton modelleri tercih ederek bu derinlikte kalmalarının sebebi olarak muhtemelen bölgeye daha önceden yerleştirilen (Acarlı vd., 2013) 1 m^3'lük yapay resif ünitesinin bu derinlikte çok büyük ölçüde etkisinin olduğu düşünülmektedir. Çünkü dalgıçlar ıstakozların 1 m^3'lük yapay resif ünitesinin içerisinde zaman zaman yer değiştirdiklerini ancak bu bölgeden ayrılmadıklarını gözlemlemişlerdir. Istakoz bireyleri gerek beslenmek için gerekse üremek için hep bu bölgeyi tercih etmişlerdir. Istakozların model olarak sadece beton malzemeden yapılmış modelleri tercih etmeleri önemli bir sonuçtur. Ancak resif modellerinin büyük ya da küçük olmasının ıstakozların boylarını da doğru orantılı olarak değiştirdiği sonucuna varılmıştır. Büyük yapıdaki resifleri büyük boydaki ıstakozlar tercih ederken, küçük yapıdaki resifleri küçük boydaki ıstakozların tercih ettikleri tespit edilmiştir. Dolayısıyla balıkçılık yönetimi açısından bu durum değerlendirildiğinde ileride yapılacak çalışmalarda araştırma sahasında bulunurluğu tespit edilen ıstakoz bireylerinin boylarının küçük olması (veya büyük olması) durumunda küçük boyutlardaki (veya büyük boyutlardaki) yapay resif modellerinin kullanılması daha verimli sonuçlar elde edilmesine katkı sağlayacaktır. Bununla birlikte, sadece mevcut bireylerin boy çeşitliliğine göre değil aynı zamanda yapay resif modellerinin deniz tabanına yerleştirilmesi yoluyla o bölgede ıstakoz topluluklarının oluşturulması hedeflendiği durumlarda da oluşturulması hedeflenen ıstakoz stokunun boy dağılımına yönelik uygun yapay resif modellerinin seçilmesi gerekmektedir. Özellikle stokların korunması ve sürdürülebilirliğinin sağlanmasına yönelik çalışmaların gerçekleştirilmesi sayesinde bu hususta daha kapsamlı ve spesifik bilgilerin toplanmasına imkân sunacaktır. Dünya çapında deneysel anlamda ıstakoz stoklarının korunması için yumurtadan itibaren büyütülerek doğal yaşam alanlarına bırakıldığı (aşılandığı) bilinmektedir (Benavente vd., 2010; Prodöhl vd., 2014). Ancak doğal ortama bırakılan ıstakoz yavrularının yaşama ve ölüm oranları hakkında yeterince bilgiye ulaşılamamaktadır. Dolayısıyla mevcut araştırma projesi ile model, materyal ve yapısal büyüklük üzerine literatüre çok önemli katkılar sağlayan sonuçlar elde edilmiştir. Bu kapsamda, elde edilen sonuç ve çıktıların ileride yapılacak benzer aşılama projelerine büyük katkıları olacağı düşünülmektedir.

Yapay resifler kullanılan malzemeler açısından karşılaştırıldığında ıstakozların sadece beton malzemelerden yapılan yapay resifleri tercih ettiği belirlenmiştir. Beton malzemeden yapılan modellerin içerisinde ise 40 × 80 cm düz model ile U tipi olan modeli tercih ettikleri tespit edilmiştir. En çok ıstakoz bireyinin gözlendiği model 40 × 80 cm düz beton model olmasının nedeni türün zemin kazma davranışı olduğu düşünülmektedir. Tüm yapay resif modellerinin karşılaştırılması sonucunda ıstakoz türünün sahip olduğu tabanı kazma davranış özelliklerinden dolayı tasarlanacak yapay resif modellerinde zemininin boş olması gerektiği ortaya koyulmuştur.

Istakozun protein değerinin yüksek oluşu (Kumlu, 2001), yüksek ekonomik değere sahip oluşu ve lüks tüketim gıdaları içinde yer alması sebebiyle mutlaka yetiştiriciliği yapılarak üretimi sağlanması gereken bir canlıdır. Ancak ülkemizde yetiştiricilik çalışmaları türün biyolojik özellikleri nedeniyle uzun yıllar almasından dolayı yapılmamaktadır. Bu nedenle belirli bir boya ulaştırıldıktan sonra denize bırakılmaları (aşılama) daha çok tercih edilebilir bir yöntem olarak görülmektedir. Bu durumda denize bırakılan bireylerin ergin boya ulaşabilmeleri ve stoklarının korunması açısından bu tür düzeneklerin (ıstakoz türüne özel yapay resiflerin) önemli katkılar sunacağı düşünülmektedir. Bununla birlikte, türe özel yapay resiflerin farklı su ortamlarında (tatlısu, acısu) ve farklı türler (kerevit gibi) için de tasarlanması ve deneysel çalışmaların gerçekleştirilmesi tavsiye edilmektedir.

İlerideki çalışmalarda ıstakoz stoklarının korunması ve sürdürülebilirliğinin sağlanması için beton yapay resif modelleri üzerine daha fazla çalışmanın gerçekleştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca bu çalışma literatürde çok az bilgi bulunan ıstakoz bireylerinin doğal ortamlarına aşılanması veya bırakılması sonrasında yuva yapma tercihi ve saklanma davranışı üzerine yapılacak çalışmalarda önemli bir kaynak teşkil edecektir. Dolayısıyla bu çalışma ile ilerideki çalışmalarda türün sürdürülebilirliğinin sağlanması açısından yetiştiriciliği yapılan ıstakoz bireylerinin beton yapay resiflere bırakılması önerilmektedir. Bu bağlamda, bu çalışma ileride gerçekleştirilecek çalışmalara ışık tutacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimler Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FBA-2015-437 nolu proje ile desteklenmiştir. Yapay resiflerin deniz tabanına yerleştirilmesi aşamasındaki lojistik desteklerinden dolayı Su Ürünleri Mühendisi Kamil ÇAKIR ve Soner Reis gemisinin kaptanı Cüneyt JİLE'ye teşekkür ederiz.

KAYNAKÇA

Acarli, D., Ayaz, A. & Çakir, K. (2014). Erdek-Ocaklar yapay resiflerinde *Homarus gammarus* (L.1753)'un yuva yapma davranışı üzerine bir ön çalışma. *17. Sualtı Bilim ve Teknoloji Toplantısı* (pp.126). İstanbul, Türkiye.

Acarli, D. & Ayaz, A. (2015). Using concrete artificial reef as a tool to enrich the new marine habitat in Erdek-Ocaklar Bay (Marmara Sea, Turkey). *Fresenius Environmental Bulletin*, *24* (2a): 602-609.

Acarli, D., Ayaz, A., Altinağaç, U., Özekinci, U., Bayhan, B. & Kara, A. (2013). Determination of fish fauna at artificial reefs using underwater visual census methods in Erdek-Ocaklar (Marmara Sea/Turkey). *10th CARAH – International Conference on Artificial Reefs and Related Aquatic Habitats* (pp. 61). İzmir, Turkey.

Altinağaç, U., Ayaz, A., Acarli, D. & Özekinci, U. (2013). Determination of the fish species composition of saroz artificial reefs in İbrice (Saroz Bay, Turkey). *10th CARAH – International Conference on Artificial Reefs and Related Aquatic Habitats* (pp. 63). İzmir, Turkey.

Angel, D.L. & Spanier, E. (2002). An application of artificial reefs to reduce organic enrichment caused by net-cage fish farming: preliminary results. *ICES Journal of Marine Science*, *59*: S324–S329. DOI: 10.1006/jmsc.2002.1208

Aydın, M. (2011). Yapay habitatlar ve balıkçılık. Mavi Yaşam, 4: 5-6.

Benavente, G.P., Uglem, I., Browne, R. & Balsa, C.M. (2010). Culture of juvenile European Lobster (*Homarus gammarus* L.) in submerged cages. *Aquaculture International*, *18*: 1177–1189. DOI: 10.1007/s10499-010-9332-9

Düzbastilar, F.O. & Lök, A. (2004). Yapay Resif İnşasında Kullanılan Birincil Malzemeler. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21, 181-185.

Guillén, J.E., Ramos, A.A., Martinez, L. & Sanchez Lizaso, J.L. (1994). Antitrawling reefs and the protection of *Posidonia oceanica* (L) meadows in the Western Mediterranean Sea: Demand and Aims. *Bulletin of Marine Science*, 55(2-3): 645–650.

Jensen, A. (2002). Artificial reefs of Europe: Perspective and future. *ICES Journal of Marine Science*, *59*: S3–S13. DOI: 10.1006/jmsc.2002.1298

Kumlu, M. (2001). *Karides, ıstakoz ve midye yetiştiriciliği*. Adana: Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları.

Lök, A., Metin, C., Ulaş, A., Düzbastilar, F.O. & Tokaç, A. (2002). Artificial reefs in Turkey. *ICES Journal of Marine Science*, 59, 192-195. DOI: 10.1006/jmsc.2002.1221

Lukens, R.R. (1997). Guidelines for marine artificial reef materials. Report compiled by the Artificial Reefs Subcommittee of the Technical Coordinating Committee, Gulf States Marine Fisheries Commission, 118 p.

Prodöhl, P.A., Jørstad, K.E., Triantafyllidis, A., Katsares, V. & Triantaphyllidis, C. (2014). European lobster – *Homarus gammarus. GenImpact Final Scientific Report*, 9, 91-97.

Ramos-Espla, A.A., Guillén, J.E., Bayle-Sempere, J.T. & Sánchez-Jérez, P. (2000). Artificial anti-trawling reefs off Alicante, South- Eastern Iberian Peninsula: Evolution of reef block and set designs. In A.C. Jensen, K.J. Collins, A.P.M. Lockwood (Eds.), *Artificial Reefs in European Seas* (pp 195-218). Dordrecht: Springer. DOI: 10.1007/978-94-011-4215-1_12

Rilov, G. & Benayahu, Y. (2000). Fish assemblage on natural versus vertical artificial reefs: the rehabilitation perspective. *Marine Biology*, *136*(5), 931-942. DOI: 10.1007/s002279900250

Stone, R.B., McGurrin, J.M., Sprague, L.M. & Seaman, W.Jr. (1991). Artificial habitats of the World: Synopsis and major trends. In W. Seaman Jr, L.M. Sprague (Eds). *Artificial habitats for marine and freshwater fisheries* (pp 31-60). California: Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-08-057117-1.50008-1

TÜİK (2019). Su Ürünleri İstatistikleri. Alıntılama adresi: https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr (27.05.2019).

Ulaş, A., Lök, A., Duzbastilar, F.O., Özgül, A. & Metin, C. (2011). A new artificial reef design for octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier, 1797) in the Aegean Sea and preliminary results. *Brazilian Journal of Oceanography*, *59*: 21-25.

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 9-14 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.02

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

Yenişakran (Çandarlı Körfezi, Ege Denizi) kıyı balıkçılığının mevsimsel av kompozisyonu ve birim çaba başına düşen av miktarları

Seasonal catch composition and catch per unit effort of coastal fishery in Yenişakran (Çandarlı Bay, Aegean Sea)

Tuğçe Şensurat Genç[1*] ● Okan Akyol[2]

[1] İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Çiğli, İzmir, Türkiye
http://orcid.org/0000-0002-5528-3322

[2] Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Urla, İzmir, Türkiye
http://orcid.org/0000-0001-7738-2156

Corresponding author: sensurat@gmail.com

Received date: 08.03.2019 *Accepted date: 03.09.2019*

How to cite this paper:
Genç Şensurat, T. & Akyol, O. (2020). Seasonal catch composition and catch per unit effort of coastal fishery in Yenişakran (Çandarlı Bay, Aegean Sea). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 9-14. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.02

Öz: Bu çalışma, Yenişakran, Çandarlı Körfezi (Ege Denizi)'nde bir kıyı balıkçısının 2017 - 2018 yılları arasında günlük balıkçılık seferleri boyunca balık av kayıtlarını sunmaktadır. Balıkçı, yıl boyunca hem uzatma ağını hem de paragatı kumlu ve deniz çayırlarıyla kaplı tabanda 5-25 m derinliklerde kullanmaktadır. Böylece hem uzatma ağından hem de paragattan toplam 39 tür belirlenmiştir. Ortalama birim çaba başına av (CPUE) değerleri (8,7 ± 0,1 kg / 1000 m ağ ve 12,9 ± 0,8 kg / 1000 iğne), paragatın uzatma ağından daha verimli takım olduğunu göstermiştir. Ortalama CPUE değerleri bakımından, uzatma ağları ile paragat arasında anlamlı bir fark vardır ($p<0,05$).

Anahtar kelimeler: Fanyalı uzatma ağı, paragat, CPUE, kıyı balıkçılığı, Ege Denizi

Abstract: This study presents the catch records of a coastal fisherman during daily fishing trip between 2017 and 2018 in Yenişakran, Çandarlı Bay (Aegean Sea). The trammel net and longline were used at depths of 5-25 m on a sandy bottom and the sea meadows during the year. A total of 39 species were identified from the both trammel netting and the longlining. Mean catch per unit effort (CPUE) values (8.7±0.1 kg/1000 m net and 12.9±0.8 kg/1000 hooks) shown that longlining was more efficient fishing gear than the trammel netting. In terms of mean CPUE values, there is significantly difference between trammel netting and longlining ($p<0.05$).

Keywords: Trammel net, longline, CPUE, coastal fishing, Aegean Sea

GİRİŞ

Çandarlı Körfezi, Kuzey Ege'de Dikili Körfezi ile İzmir Körfezi arasında yer alan nispeten sığ bir körfezdir. En derin yeri 138 m'dir. Körfez, kuzeyde Maltepe Burnu ile Güneyde Aslan Burnu arasında yer almaktadır. 325 km²'lik bir alana sahip olup, içerisinde irili ufaklı birçok adayı (Güvercin, Kızkulesi, Karaada, Eşek, Akkuş, Bozburun, İkiz, Pırasa, Küçükada, Tavşan adaları) barındırmaktadır. Adalarıyla, çok sayıdaki koy ve bükleriyle, kuzeyde Bakırçay güneyde ise Gediz deltalarıyla ve tuzlalarla çevrili körfez, tür çeşitliliğinin zenginliğine bağlı olarak önemli bir balıkçılık sahası özelliğindedir (Çoker ve Akyol, 2012).

Körfez kıyılarını kullanan Çandarlı, Şakran, Aliağa, Yenifoça ve Foça limanları ve balıkçı kooperatifleri, körfez balıkçılığının ana merkezleridir. Bu kooperatiflerin toplam üye sayısı 308 olarak bildirilmiştir (Ünal vd., 2009).

Çandarlı Körfezi kıyılarında yer alan Yenişakran, Aliağa İlçesi sınırları içerisinde küçük bir beldedir. Kıyılarında balıkçılık dışında tarım, sanayi alanları (petrokimya tesisleri, gemi söküm) ve akuakültür tesisleri mevcut olup, kıyı balıkçıları ahtapot (*Octopus vulgaris*), mürekkep balığı (*Sepia officinalis*), barbun (*Mullus barbatus*), çipura (*Sparus aurata*) , levrek (*Dicentrarchus labrax*), melanur (*Oblada melanura*) gibi balıkları yıl boyunca hedeflemektedir (Tokaç vd., 2010). Aynı zamanda 1997 yılından bu yana hizmet veren S.S. Yenişakran Su Ürünleri Kooperatifi'nde 36 üye vardır ve aktif olarak çalışan balıkçı sayısı 17'dir.

Bölgede balık ve balıkçılık üzerine yapılmış az sayıda çalışma vardır. Çandarlı Körfezi'nde gerek balıkçılık gerekse ihtiyoplankton çalışmalarının derlenmesiyle 48 familyaya ait 134 balık türünün varlığı kaydedilmiştir (Çoker ve Akyol, 2012). Yenişakran kıyılarında yapılan bir ihtiyoplankton çalışmasında 24 familyaya ait 58 tür ile 2 genus düzeyinde balık yumurta ve larvası tespit edilmiştir (Çoker vd. 2012). Yine Çandarlı Körfezi'nin kıyı sularından trata ile örneklenmiş 22 balık türünün boy-ağırlık ilişkileri verilmiştir (Gurkan vd., 2010). Yörenin ticari kıyı balıkçılığı üzerine ise herhangi bir detaylı çalışmaya rastlanmamıştır. Sadece Yenişakran'da yer alan bir

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

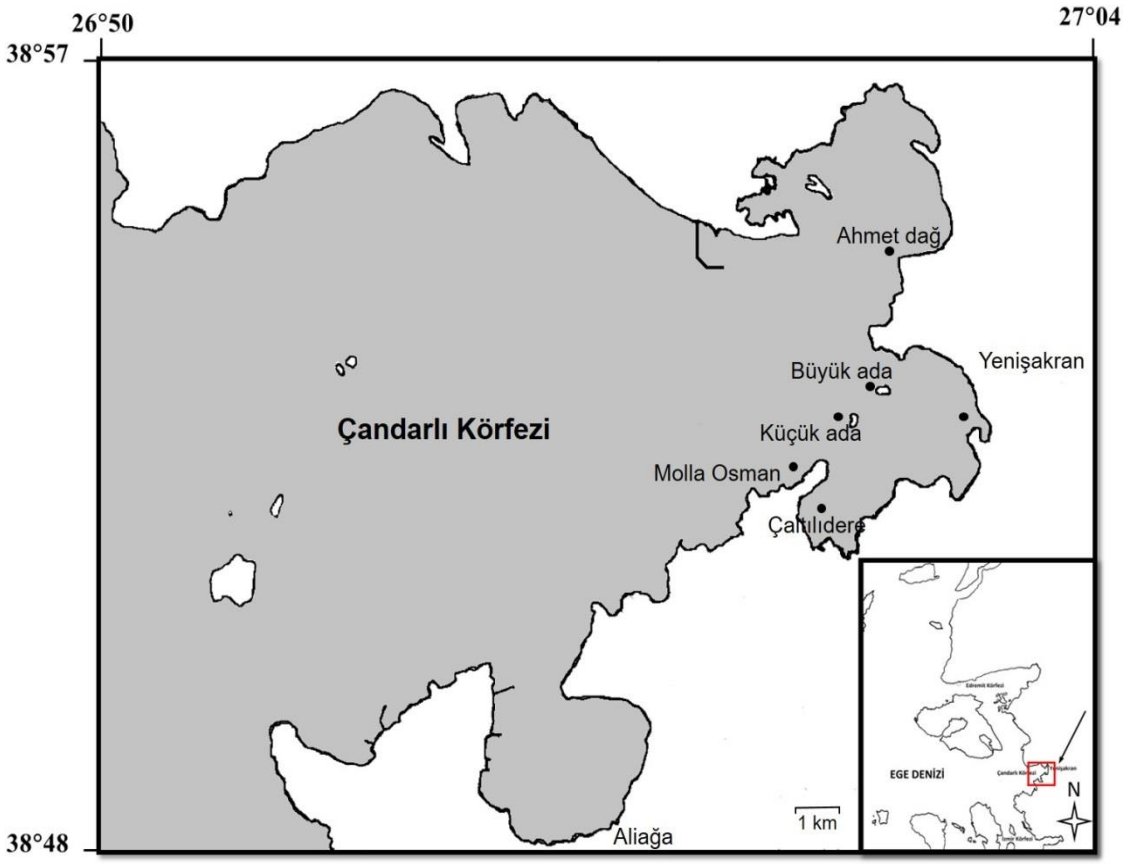
su ürünleri kooperatifinin yapısı, sorunları ve yöredeki av araçlarının tespitinin yapıldığı kısa bir bilgi 'Ege denizi balıkçılığı' kapsamında derlenen bir kitap çalışmasında yer almaktadır (Tokaç vd., 2010).

Bu çalışma, Yenişakran kıyılarını kullanan az sayıda aktif balıkçıyı temsil edebilecek bir kıyı balıkçı teknesinin yıl boyunca yaptığı tüm avını, tür çeşitliliği ve birim çaba başına düşen av miktarı (CPUE) temelinde ele alarak, mevsimsel sonuçlarını sunmaktadır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Şubat 2017 – Ağustos 2018 tarihleri arasında Çandarlı Körfezi Yenişakran kıyılarında yürütülmüştür (Şekil 1). Yörenin aktif çalışan bir kıyı balıkçı teknesi yaklaşık iki yıl boyunca izlemeye alınmış; günlük av kayıtları kesintisiz olarak av kayıt formlarına işlenmiştir. Bunun için haftada birkaç kez balıkçıyla temas edilmiş, teknenin bağlandığı iskelede ağ elleme esnasında kayıt tutulmuş, gidilemeyen günlerde balıkçının da kayıt tutması sağlanmıştır. Örnekleme boyunca 2017 yılında uzatma ağı ile 172 gün, paragat ile 77 gün olmak üzere toplamda 249 gün; Ağustos 2018'e kadar ise uzatma ağıyla 154 gün, paragat ile 41 gün olmak üzere toplam 195 gün av yapılmıştır. Sonuçta bu çalışmada iki yıl içerisinde toplam 444 günlük av sonuçları değerlendirilmiştir.

Elde edilen veriler, av araçlarına göre (fanyalı uzatma ağı ve paragat) hem yıllık hem de mevsimsel olarak sınıflandırılmıştır. Kullanılan uzatma ağının teknik özellikleri FAO (1975)'ya göre MS-Visio 10.0 programında ölçekli olarak çizilirken, paragat takımları ölçeksiz çizilmiştir.



Şekil 1. Örnekleme sahası: Çandarlı Körfezi ve Yenişakran
Figure 1. Sampling area: Çandarlı Bay and Yenişakran

Birim çaba başına düşen av miktarları (CPUE) hem uzatma ağı hem de paragat için ayrı ayrı ağırlıkça hesaplanmıştır. Bu hesaplama De Metrio ve Magalafonou (1988)'nun formülünden uyarlanmıştır:

CPUE=kg/f ;

Balıkçılık çabası ise f = (a'/10) x g formülüyle hesaplanmıştır.

Formüllerde f balıkçılık çabasını, (a'/10) günlük atılan ve ortalama 10 ağ ünitesinden oluşan bir ağın ortalama uzunluğunu; yani bu çalışmada, 1 posta ağ 100 m olduğundan toplamda 1000 m ağı, 'g' ise çalışılan gün sayısını ifade etmektedir (aynı formülasyona göre paragat için 1000 iğneyi göstermektedir). Kullanılan av araçlarının ortalama CPUE değerleri arasında istatistiki önem kontrolü student *t*-testi ile

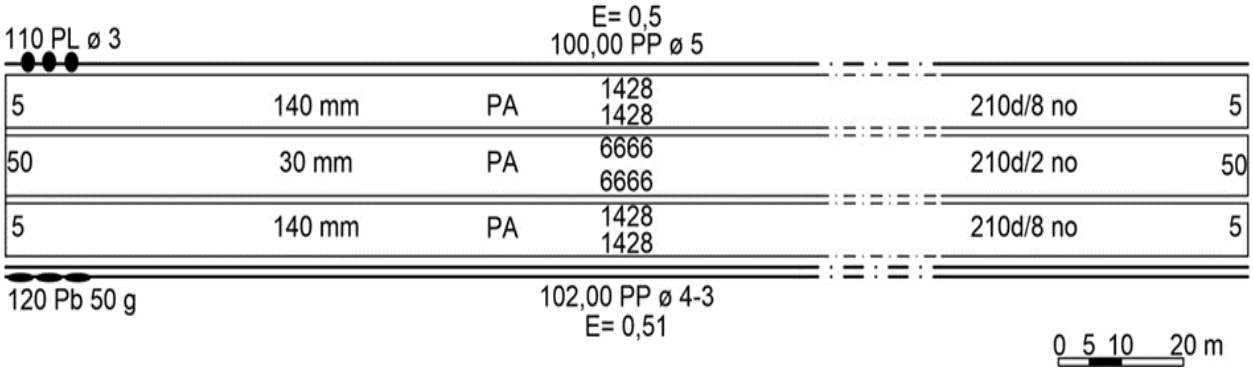
yapılmıştır (α=0,05). Ortalamalar standart sapmalarıyla (±s.d.) verilmiştir.

BULGULAR

Çalışmada kullanılan tekne, 6,6 m uzunluğunda, 9 HP beygir gücüne sahip, ahşap bir balıkçı teknesidir. Tekne esasen bir uzatma ağı teknesi olup, yıl içerisinde değişik av takımlarını (ince paraketa, uzatma ağı, olta) da kullanabilmektedir. Bu tekne de yaz aylarında sırtı ile kısa süreli (toplam 7 gün) scombrid (uskumru, kolyoz, palamut) avı gerçekleştirmiş olup, toplam 25 kg (n=66) balık elde etmiştir.

Çalışmada kullanılan fanyalı uzatma ağı, polyamid (PA) materyalden, 210d/2 numara tor ile 210d/8 numara ip kalınlarında ve 30 mm tam göz boyunda (TGB) tor ağ, 140 mm TGB'nda fanyadan yapılmıştır. Donam faktörü (E) 0,50'dir. Ağın toplam uzunluğu 100 m olup tor ağın derinliği 50 göz iken, fanyalar 5 göz derinliktedir. 3 numara plastik (PL) mantarlardan 110 adet ve 50 g'lık kurşunlardan (Pb) 120 adet kullanılmıştır. Mantar yakada 5 mm ve kurşun yakada ise 4-3 mm polipropilen (PP) yaka halatı donatılmıştır (Şekil 2).

Bu ağlar, tüm yıl Molla Osman, Küçükada, Büyükada, Ahmetdağ, Çaltıdere ve Tamaşalık mevkiinde kullanılmakta olup, hava uygunsa 5-6 m, hava kötüyse 20-25 m derinliklerde düz ve eriştelik (Posidonia çayırları) zeminlerde kullanılmaktadır. Genellikle 10 posta olarak kullanılan bu ağlar dönek yöntemiyle kullanılmakta olup, sabah 11:00 civarında atılmakta ve ertesi sabah 08:00 gibi kaldırılmaktadır. Ağdan çıkan balıklar Tablo 1'de görülmektedir.

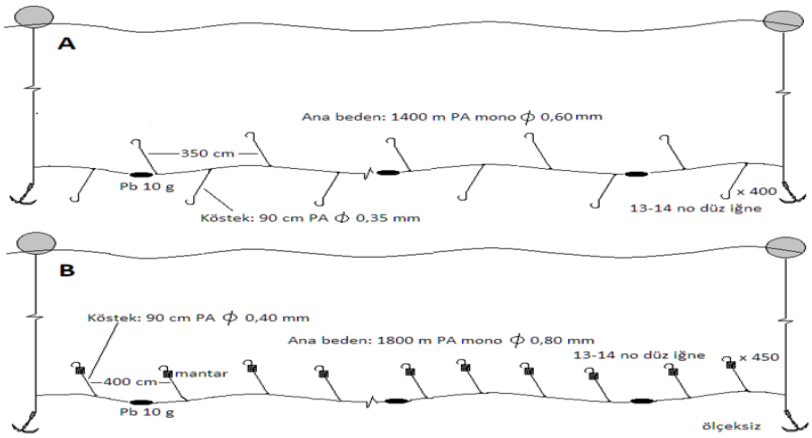


Şekil 2. Çalışmada kullanılan fanyalı uzatma ağı
Figure 2. Trammel net, used in the study

Çalışmada örneklenen ince paragat iki tiptir. Bunlar, dip paragatı (DP) ve şamandıra köstekli paragattır (ŞKP). DP 400 iğneden, ŞKP ise 450 iğneden oluşmaktadır. DP ana bedeni 0,60 mm çaplı monofilament naylon misina iken, ŞKP aynı malzemeden 0,80 mm çapındadır. DP ana beden uzunluğu 1400 m, ŞKP toplam uzunluğu ise 1800 m'dir. Kösteklerin çapı DP için 0,35 mm, ŞKP için 0,40 mm iken köstek uzunlukları her iki paragat için 90 cm'dir. Yine her iki paragatta 13-14 no düz iğne (Mariner marka) kullanılmıştır. Ana bedenin dibe batması için aralara 10 g kurşun ağırlıklar monte edilmiştir (Şekil 3). Paragatlarda yem olarak mamun ve mürekkepbalığı tercih edilmektedir.

Dip paragatı, Kasım-Mayıs arasında kullanılırken, şamandıra köstekli paragat Mayıs-Ekim ayları arasında Molla Osman, Küçükada, Büyükada, Ahmetdağ, Çaltıdere ve Tamaşalık mevkiinde kullanılmaktadır. 5-20 m derinliklerdeki eriştelik alanlara düz (DP) ve zig-zag (ŞKP) olarak gece boyunca 10 kez atılan bu paragatlardan çıkan türler Tablo 1'de görülmektedir.

Av kaydı olarak birey sayısı ve ağırlık (kg) günlük olarak her operasyon için kaydedilmiştir. Böylece tüm örnekleme dönemi boyunca uzatma ağıyla toplam 13318 birey ve 2841 kg ürün; paragatla ise 2876 birey ve 674 kg ürün elde edilmiştir. Tablo 1'e göre, uzatma ağıyla yakalanmış 38 tür, paragat ile yakalanmış 20 tür tespit edilmiştir. Her iki av aracıyla yakalanmış toplam tür sayısı ise 39'dur. Bu tabloda sadece çuçuna balığı (*Myliobatis aquila*) ıskarta av olarak görülmektedir. Kalan 38 tür -yasal boyutlarda ise- ekonomik olarak değerlendirilmiştir. Bu türlerin mevsimsel dağılımına bakıldığında *Chelon auratus, Dentex dentex, Diplodus vulgaris, Mullus barbatus, Pagellus erythrinus, Sciena umbra, Scorpaena scrofa, Solea solea, Sparus aurata, Octopus vulgaris* ve *Sepia officinalis* tüm mevsimlerde uzatma ağına yakalanmışlardır. Paragatta ise kış mevsimi örneklemesi bulunmamakla birlikte, *D. dentex, Dicentrarchus labrax, S. aurata* ve *Spondyliosoma cantharus* diğer üç mevsimde de gözlemlenen balıklardır. Yine mevsimsel olarak en çok tür ilkbaharda (33 tür uzatma ağı, 15 tür paragat) yakalanmış olup, onu uzatma ağı için kış (27 tür), paragat için yaz mevsimi (12 tür) izlemiştir.



Şekil 3. Çalışmada kullanılan paragat takımları (A) dip (B) şamandıra köstekli paragat
Figure 3. Longlines used in the study (A) bottom (B) floating branch lines

Tablo 1. Mevsimsel olarak Yenişakran kıyılarında uzatma ağı ve paragat balıkçılığından elde edilen türlerin listesi (2017-2018 birleştirilmiş)
Table 1. Seasonal species list obtained from trammel netting and longlining in the coasts of Yenişakran (2017-2018 combined)

	Uzatma ağı				Paragat			
Tür adı / Mevsim	**Sonb.**	**Kış**	**İlkb.**	**Yaz**	**Sonb.**	**Kış***	**İlkb.**	**Yaz**
Belone belone	+	+		+				
Boops boops			+	+	+			+
Chelidonichthys lucernus			+					
Chelon auratus	+	+	+	+			+	
Chelon labrosus		+	+					
Dentex dentex	+	+	+	+	+		+	+
Dicentrarchus labrax		+	+		+		+	+
Diplodus annularis		+	+					
Diplodus puntazzo		+	+					
Diplodus sargus							+	
Diplodus vulgaris	+	+	+	+			+	
Homarus gammarus			+					
Lithognathus mormyrus			+	+				+
Melicertus kerathurus				+				
Merlangius merlangus		+	+	+				
Mullus barbatus	+	+	+	+				
Myliobatis aquila		+						
Oblada melanura		+		+				+
Pagellus erythrinus	+	+	+	+			+	+
Pagrus pagrus		+	+	+				
Platichthys flesus			+					
Sarda sarda		+	+	+				
Sarpa salpa		+	+	+			+	
Sciena umbra	+	+	+	+			+	
Scomber colias			+					
Scomber scombrus			+	+			+	+
Scorpaena porcus		+	+	+			+	
Scorpaena scrofa	+	+	+	+				
Solea solea	+	+	+	+				
Sparus aurata	+	+	+	+	+		+	+
Sphyraena sphyraena	+		+	+				+
Spicara maena			+	+			+	
Spondyliosoma cantharus		+	+	+	+		+	+
Trachurus trachurus		+	+				+	+
Umbrina cirrosa			+					
Zeus faber		+						
Cephalapoda								
Octopus vulgaris	+	+	+	+				+
Sepia officinalis	+	+	+	+			+	
Loligo vulgaris	+	+	+					
Yakalanmış ∑ birey sayısı	419	4017	6702	2180	435		495	1946

*Kış mevsiminde hiç paragat avı yapılmamıştır.

Elde edilen türlerin CPUE değerleri ayrı ayrı ele alınmış olup, bunların her iki yıllık örneklemesi Tablo 2'de, mevsimlere göre karşılaştırması ise Tablo 3'de verilmiştir. Buna göre, her iki yıl boyunca uzatma ağının ortalama CPUE'si 8,7±0,1 kg/1000 m ağ olurken, paragatın 12,9±0,8 kg/1000 iğne olarak hesaplanmıştır. Burada uzatma ağı ile paragatın ortalama CPUE değerleri arasında fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Mevsimsel CPUE'lere bakıldığında, uzatma ağları için kış mevsiminin, paragatlar için ise ilkbahar ve yaz mevsiminin en verimli olduğu görülmektedir.

Tablo 2. Çandarlı Körfezi, Yenişakran kıyılarında uzatma ağı ve paragat balıkçılığından avlanma çabası ve CPUE (kg/1000 m ağ ve kg/1000 iğne)
Table 2. Fishing effort and CPUE (kg /1000 m net and kg /1000 hooks) from the gillnet and longline fishery of Yenişakran coasts, Çandarlı Bay

	UZATMA AĞI					PARAGAT				
Yıl	Ağ boyu (m)	Sefer sayısı	Toplam av (kg)	f	CPUE (kg/f)	İğne sayısı	Sefer sayısı	Toplam av (kg)	f	CPUE (kg/f)
2017	1000	172	1480,2	172	8,6	450	77	427,1	34,7	12,3
2018	1000	154	1360,5	154	8,8	450	41	247,1	18,5	13,4
Ort.			**1420±85**	**163±13**	**8,7±0,1**			**337±127**	**26,6±11**	**12,9±0,8**

Tablo 3. Çandarlı Körfezi, Yenişakran kıyılarında uzatma ağı ve paragat balıkçılığında mevsimsel avlanma çabası ve CPUE (kg/1000 m ağ ve kg/1000 iğne)
Table 3. Seasonal fishing effort and CPUE (kg/1000 m net and kg/1000 hooks) from the gillnet and longline fishery of Yenişakran coasts, Çandarlı Bay

		UZATMA AĞI					PARAGAT				
Yıl	Mevsim	Ağ boyu(m)	Sefer sayısı	Toplam av (kg)	f	CPUE (kg/f)	İğne sayısı	Sefer sayısı	Toplam av (kg)	f	CPUE (kg/f)
2017	Güz	1000	15	83,1	15	5,5	450	23	111	10,4	10,7
	Kış	1000	37	419	37	11,3	0	0	0	0	0
	İlkbahar	1000	80	746	80	9,3	450	12	67	5,4	12,4
	Yaz	1000	40	232,1	40	5,8	450	42	249,2	18,9	13,2
	Ort.			370±286	43±27	8±2,8			142,4±95	11,6±6,8	12,1±1,3
2018	Güz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Kış	1000	49	510,2	49	10,4	0	0	0	0	0
	İlkb.	1000	71	650,6	71	9,2	450	7	43,9	3,2	13,7
	Yaz	1000	34	199,8	34	5,9	450	34	203,3	15,3	13,3
	Ort.			454±231	51,3±19	8,5±2,3			124±113	9,3±9	13,5±0,3

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma, Yenişakran kıyılarının görece az sayıda aktif balıkçılarından birinin yaklaşık iki yıl süresince av kayıtlarının tutulmasıyla elde edilmiş verilerin mevsimsel değerlendirilmesiyle oluşturulmuştur. Tokaç vd. (2010) Yenişakran yöresinde toplam 66 posta uzatma ağı ile 2 sepet ince paragattan ve bunları kullanan 20 civarında tekneden bahsetmişlerdir. Böylece çalışmada iki sepet paragat yörenin tamamını, 10 posta ağ ise yaklaşık %15'ini temsil etmektedir.

Bu güncel veriler sonucu kıyı balıkçılığından toplam 39 tür elde edilmiştir. Bu türler Ege Denizi'nin tipik türleridir ve en çok Sparidae familyasına ait türler (13 tür) yakalanmıştır. Burada, Çoker ve Akyol (2012)'un Çandarlı Körfezi için bildirdiği 15 Sparid türünden sadece *Dentex machrophthalmus* ve *Pagellus bogaraveo* türlerine rastlanmamıştır. Bunda av araçlarının (uzatma ağı ve paragat) en çok 25 m derinliğe kadar kullanılmış olması etkili olabilir. Tür listesinde dikkati çeken bir diğer husus da paragat ile *Scomber scombrus, Sphyraena sphyraena* ve *Trachurus trachurus* gibi pelajik balıkların yakalanmasıdır ki, bu durum şamandıralı olmaları nedeniyle ikinci tip paragatın dipten yükselen kösteklerinin önemli etkisine bağlanabilir.

Tokaç vd. (2010) Yenişakran balıkçılığında hedef türleri Ahtapot, mürekkepbalığı, barbun, çipura, levrek, melanur gibi benzer olarak listelemişlerdir.

Birim çaba olarak 1000 m ve 1000 iğnelik ünitelere bölünmüş her iki av aracından özellikle paragatın CPUE değerleri bakımından daha etkili olduğu ve birim çabada daha

yüksek av sağladığı görülmüştür. Bununla beraber paragat kışın hiç kullanılmamış, ayrıca paragat uzatma ağına göre daha az balık çeşitliliği (20 tür) sağlamıştır. Balıkçının av araçlarını dönüşümlü olarak kullanmasının ona bir avantaj sağladığı muhakkaktır. Zira balıkçı bu şekilde yılın tüm mevsimlerinde göç balıklarından av aracını değiştirerek gelirini arttırma yoluna gitmektedir. Bununla beraber, paragatın CPUE olarak daha fazla balık sağlamasının getirdiği avantajlar, fiyat ve pazar istikrarı açısından ekonomik olarak ayrıca araştırılmalıdır.

Bu çalışma ile Çandarlı Körfezi küçük ölçekli balıkçılığına bir aktif balıkçının günlük av kayıtlarıyla ışık tutulmuştur. Standardize edilmiş birim çaba başına düşen av verilerinin örneklenen alanlardaki göreceli balık yoğunluğunun bir göstergesi olarak kullanılabileceği bilinmektedir (Naesje vd. 2007). Bu çalışmanın sonuçları bu anlamda önemli bir kayıt olarak kabul edilebilir. Gelecekte, yörenin yeni av kayıtlarıyla beraber diğer balıkçılık faaliyetlerinin de (gırgır, trol, amatör, akuakültür) birlikte ele alınmasıyla sürdürülebilir balıkçılık için yönetim planlarına katkı sağlanabilir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, örnekleme ve günlük av kayıtlarını tutmada yardımcı olan Yenişakran balıkçısı Mehmet Emin Dalyan'a ve uzatma ağının ölçekli teknik planını çizen Dr. Tevfik Ceyhan'a şükranlarını sunmaktadır.

KAYNAKÇA

Çoker, T. & Akyol, O. (2012). Çandarlı Körfezi (Ege Denizi) Balıkları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1): 5-9.

Çoker, T., Taşkavak, E., Taylan, B., Ulutürk, E., Akalın, S., Akçınar, C. & Filiz, H. (2012). Yenişakran kıyısı (İzmir, Ege Denizi) ihtiyoplanktonu. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1): 31-37.

De Metrio, G. & Megalofonou, P. (1988). Catch, size distribution, growthand sex ratio of swordfish (*Xiphias gladius* L.) in the Gulf of Taranto. FAO Fish. Rep. No. 394: 91-102.

FAO (1975). Catalogue of Small-scale Fishing Gear. (Ed. C. Nedelec) Food and Agriculture Organization of the UN by Fishing News Books Ltd. 191 p.

Gurkan, Ş., Bayhan, B., Akcinar, S.C. & Taskavak, E. (2010). Length-weight relationship of fish from shallow waters of Candarli Bay (North Aegean Sea, Turkey). *Pakistan Journal of Zoology*, 42(4): 495-498.

Naesje, T.F., Hay, C.J., Nickanor, N., Koekemoer, J., Strand, R. & Thorstad, E.B. (2007). Fish populations, gillnet catches and gillnet selectivity in the lower Orange River, Namibia, from 1995 to 2001. NINA Report No: 231.

Tokaç, A., Ünal, V., Tosunoğlu, Z., Akyol, O., Özbilgin, H. & Gökçe, G. (2010). Ege Denizi Balıkçılığı. IMEAK Deniz Ticaret Odası İzmir Şubesi Yayınları, İzmir, 390 s.

Ünal, V., Yercan, M. & Göncüoğlu, H. (2009). Ege Kıyıları Su Ürünleri Kooperatifleri. Sür-Koop Yayınları, No.1, Ankara, 131 s.

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 15-27 (2020)
Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.03

RESEARCH ARTICLE ARAŞTIRMA MAKALESİ

Abatement efficiency and fate of EPA-Listed PAHs in aqueous medium under simulated solar and UV-C irradiations, and combined process with TiO_2 and H_2O_2

Navid Kargar[1*] ● Ali Reza Amani-Ghadim[2] ● Amir Abbas Matin[3] ● Golnar Matin[4] ● Hasan Baha Buyukisik[5]

[1] Department of Marine-Inland Water Sciences and Technology, Faculty of Fisheries, Ege University, 35100 Bornova, Izmir, Turkey http://orcid.org/0000-0002-6939-0284
[2] Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, 53714-161 Tabriz, Iran http://orcid.org/0000-0003-3279-5170
[3] Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, 53714-161 Tabriz, Iran http://orcid.org/0000-0001-8264-8414
[4] Department of Marine-Inland Water Sciences and Technology, Faculty of Fisheries, Ege University, 35100 Bornova, Izmir, Turkey http://orcid.org/0000-0002-1286-8611
[5] Department of Marine-Inland Water Sciences and Technology, Faculty of Fisheries, Ege University, 35100 Bornova, Izmir, Turkey http://orcid.org/0000-0002-5855-4300

*Corresponding author: navidkargar@gmail.com
Received date: 09.04.2019 Accepted date: 05.09.2019

How to cite this paper:
Kargar, N., Amani-Ghadim, A.R., Matin, A.A., Matin, G. & Buyukisik, H.B. (2020). Abatement efficiency and fate of EPA-Listed PAHs in aqueous medium under simulated solar and UV-C irradiations, and combined process with TiO_2 and H_2O_2. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 15-27. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.03

Abstract: Photolytic degradation of dissolved compounds of 16 EPA-Listed PAHs in aqueous medium, exposed to ultraviolet/ titanium dioxide (UV-C/TiO_2), xenon light/ titanium dioxide (Xe/TiO_2), xenon light/ hydrogen peroxide (Xe/H_2O_2) and ultraviolet/ hydrogen peroxide (UV-C/H_2O_2) was studied. The compounds which detected above detection limit of applied analytical method and instrument include: naphthalene (Nap), acenaphthylene (Acy), acenaphthene (Ace), fluorene (Flu), fluoranthene (Fln) and pyrene (Pyr) survived. A time-course experiment (0, 1, 2, 5, 12 min) was performed to determine the fate of PAHs profile along treatments. After accomplishment of the removal process $\sum_6$ PAHs ranked as follow: UV-C/TiO_2 > Xe/TiO_2 > UV-C > Xe > Xe/H_2O_2, and UV-C /H_2O_2 with estimated values of 76.38, 23.02, 22.55, 2.78, 0.00 and 0.00% of the concentration values at the beginning of the treatment, respectively. High efficiency of Xe/H_2O_2 treatment process (100.00%) at the end of treatment and the structure of residual PAHs which changed to the lighter compounds (2,3-ringed PAHs) before accomplishment of the removal process were proven. Generally, low resistance of Fln to all treatment conditions was observed. Total removal of Nap was considered to be a characteristic PAH compound for completion of the removal of PAHs. Mutate of parent PAH compounds and intermediates were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and the results suggest the evaluating the toxicity of the treated water due to by-product formation concerns.

***Keywords*:** Water treatment, advanced oxidation processes (AOPs), photodegradation, endocrine disrupting chemicals (EDCs), 16 EPA-Listed PAHs

INTRODUCTION

Owing to different varieties of human activities, numerous organic and inorganic chemicals are constantly discharged into different component of the environment. Organic pollutants represent widely used ubiquitous substances, also they can be found as by-products through natural and/or human-induced processes. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (CASRN: 130498-29-2) consist of two or more fused aromatic rings and constitute an important group of environmentally persistent and toxic organic pollutants. Incomplete organic combustion is the main source of PAHs while introduction of PAHs into the environment is a consequence of both natural events (e.g., volcanic activities, forest fires, and natural leakage of natural gas and crude oil) and human activities (e.g., burning of fossil fuels, extraction, transportation, and refining operations of fossil fuels, waste incineration, and smoking) (Fechner, 2015; Förstner & Wittmann, 1981). PAHs are distributed in the environment in response to atmospheric transportation, wet and dry deposition, and surface-to-air exchange processes (Zhang et al., 2016).

PAHs are adsorbed on particles and end in the food chain due to their lipophilic and persistent nature, thereby causing carcinogenic, mutagenic, and teratogenic problems. Based on environment's authorities e.g. European Environment Agency (EEA) and the United States Environmental Protection Agency (US EPA) regulations, PAHs are listed as compounds that require elimination. Furthermore, based on the results of different researches on chronic impacts of PAHs, these compounds are categorized as an important part of endocrine disrupting compounds (EDCs) (Bergman et al., 2012; Wee and Aris, 2017; Yin et al., 2017; Zhang et al., 2016). Over the last few decades, the levels of PAHs have increased dramatically in the aquatic segments of ecosystem (Fechner, 2015; Forsgren, 2015; Shanker et al., 2017). Various methodologies have been developed for disposal of PAHs pollution in the atmosphere, soil, and sediment compartments. However, removal of the trace levels of PAHs from effluents have gained considerable attention in recent years regarding the fact that the effluent quality is a determinant factor in protecting aquatic life (Beach et al., 2010; National Academy of Sciences, 1993; Tjeerdema,

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

2012; Tornero and Hanke, 2016). Advanced oxidation processes (AOPs), which generate highly reactive hydroxyl radicals (e.g. ozonation, hydrogen peroxide applying, UV irradiation, and photocatalytic techniques) have been tested on pilot scale for the decomposition of various organic micropollutants in effluents (Pal et al., 2010).

In natural waters, degradation of PAHs partly happens owing to presence of oxidants (e.g. singlet oxygen, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and solar irradiation. Oxygenated PAHs are more reactive than their corresponding PAHs, so as a solution, applying AOPs as a post-treatment method for wastewaters ideally yield CO_2, H_2O, and inorganic compounds as final products (Daniela M. Pampanin, 2013; Kochany and Maguire, 1994; Ross and Crosby, 1985; Yan et al., 2004). In the case of catalytic processes for abatement of micropollutants in real matrices, various kinds of catalysts such as TiO_2, ZnO, Fe_2O_3, SnO_2, and CeO_2 have been employed in different studies (Oturan and Aaron, 2014). Due to exceptional stability under various conditions, the effective band gap energy (~3.2 eV), and relatively low price, TiO_2 has been widely investigated (Bagheri et al., 2017). In the present study, photocatalyst assisted tests were conducted on TiO_2 coated Pilkington Activ™ self-cleaning glass to eliminate the release of free nano-TiO_2 to the intended environment as secondary pollution after treatment (Battin et al., 2009; Deng et al., 2017; Mueller and Nowack, 2008; Stogiannidis and Laane, 2015; Wang et al., 2016). Photosensitized degradation by both visible and invisible light has been used for removing organic chemicals; in particular, increased efficiency of light-assisted degradation process has been proved via semiconducting of photocatalysis (Chatterjee and Mahata, 2002). In the present study, the photolytic degradation of naturally dissolved compounds of 16 EPA-Listed PAHs was compared in aqueous medium, under simulated natural sunlight by Xenon lamp irradiation and short-wavelength ultraviolet (UV-C100-280 nm) irradiation. Hydrogen peroxide was applied for generation of hydroxyl radical (OH•) to assist photolysis as a safe method for organic micropollutants removal from treated wastewater (Tiedeken et al., 2017). For all tests, the quantitative molecular structure of the remaining and degradation efficiency for target compounds were studied. The generated intermediates were also investigated. According to our knowledge, previous studies have not examined the mixture of 16 EPA-Listed PAHs and were focused on the degradation yields of more water soluble PAHs without presence of the other PAH congeners in the tests, whereas PAH concentrations in various environmental samples contains a mixture of lower molecular weight (LMW-PAHs) and high molecular weight (HMW-PAHs) even they are nonsoluble/semi-soluble in water, so the interaction between PAHs during AOP tests has remained ignored which is inevitable in real environment. The basic aim of this research is clarification of effective AOP methods which suits the requirements of green/sustainable water management.

MATERIAL AND METHODS

Preparation of aqueous PAHs solution

EPA 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Mixture analytical standard was obtained from Supelco (USA). The studied PAHs, along with their abbreviations, are listed in Table 1. A total of 800 µL of the standard mixture was transferred to 2000 mL volumetric flasks containing approximately 300 mL deionized water. They were then marked by deionized water and shaken immediately to minimize glassware adsorption. The shaking continued up to complete disappearance of the droplets of the standard solution. The pH of the prepared solution was measured as 6.83 (concurrent temperature 25°C) by a WTW pH meter (model 3110, Germany). To achieve the most similar conditions to natural aqueous medium, surfactants were not applied to increase the solution of compounds. The solutions were stored under dark and cool conditions (4°C) until photodegradation processes. Stock solutions were prepared just before (30 minutes) experiments.

Photodegradation procedure

Characterization

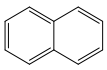
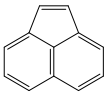
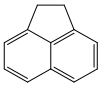
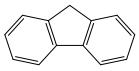
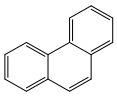
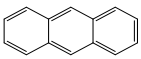
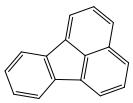
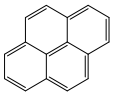
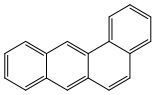
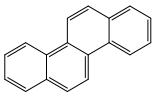
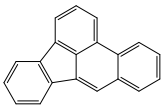
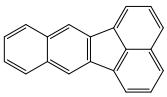
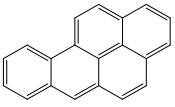
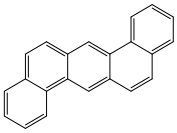
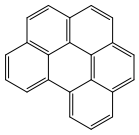
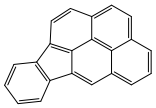
In order to determine the TiO_2 coated surface of the glass, size, and kind of particle which are key factors in photocatalyst efficiency (Gmurek et al., 2017), both surfaces of the Plinkton Active™ glass were characterized by Raman spectroscopy using (Renishaw InVia Raman spectroscopy RM1000, Gloucestershire, U.K.) as an accurate way for the analysis of surface morphology of thin TiO_2 films (Kurtoglu, Longenbach, and Gogotsi, 2011; Kurtoglu, Longenbach, Reddington, et al., 2011). The results of Raman spectra revealed clear characteristic peaks of anatase phase of TiO_2 nanocrystals (the Bands:144, 396, 514 and 636). The Raman spectra of glass surfaces are demonstrated in Figure 1a. X-ray diffraction patterns (XRD) were recorded by Bruker AXS model D8 advanced diffractometer (Cu Kα radiation (λ=1.54187 Å) at 40 kV and 35 mA with Bragg angle ranging from 3 to 70). Smoothed XRD image 2θ = 25.28° corresponding to the anatase phase TiO_2 is illustrated in Figure 1b. Regarding Scherrer equation and XRD results, the anatase phase of TiO_2 crystallite was determined too.

To clarify the roughness condition of the coated surface of Plinkton Activ™ glass, the surface morphology of the glass was studied by atomic force microscopy (Flex AFM, Nanosurf, Switzerland). From the top-down view (TiO2-coated surface of glass), the average TiO_2 nanoparticle diameter is about 90±30 nm (Figure 2.a). The hemispherical peaks are observable in the topographical view (Figure 2.b). From the sectional AFM view (Figure 2.d) the thickness of the TiO_2 layer on the glass is about 8±3 nm. The results indicate the appropriate roughness with a high surface area for the photocatalytically active surface of the glass. The top-down view (bare surface of glass) AFM images exhibit very smooth surface in comparison with the active surface (Figure 2.c).

The irradiation experiments used two UV-C TUV 15W lamps (model SLV/25, Phillips, Netherlands) and an Osram XBO R 300 WC Xe-arc lamp as a simulator of solar light. The radiation intensity of the UV lamp in the experimental setup was measured by UV radiometer (Cassy Lab Company, Germany).

After adjusting the distance of the active surface of glass and sources of irradiation, the light intensity was measured as 11.5 and 21.9 (W/m^2) for UV-C and Xe tests, respectively.

Table 1. The physicochemical properties and abbreviations of studied PAHs

	PAH	Abbreviation	Structure	MW[a] (g.mol^{-1})	RN[b]	*S*[c] (mg.L^{-1})
1	Naphthalene	Nap		128	2	32
2	Acenaphthylene	Acy		152	3	3.9
3	Acenaphthene	Ace		152	3	3.9
4	Fluorene	Flu		166	3	1.9
5	Phenanthrene	Phe		178	3	1.1
6	Anthracene	Ant		178	3	0.05
7	Fluoranthene	Fln		202	4	0.26
8	Pyrene	Pyr		202	4	0.13
9	Benz[a]anthracene	BaA		228	4	0.009–0.014
10	Chrysene	Cry		228	4	0.002
11	Benzo[b]fluoranthene	B[b]F		252	5	0.0014
12	Benzo[k]fluoranthene	B[k]F		252	5	0.0007–0.008
13	Benzo[a]pyrene	B[a]P		252	5	0.003
14	Dibenzo[a,h]anthracene	DBA		278	5	0.0005
15	Benzo[g,h,i]perylene	B[g,h,i]P		276	6	0.00026
16	Indeno[1,2,3-c,d]pyrene	Ind		276	6	0.00019

[a] Molecular Weight, [b] Ring Number, [c] aqueous solubility (25 °C)

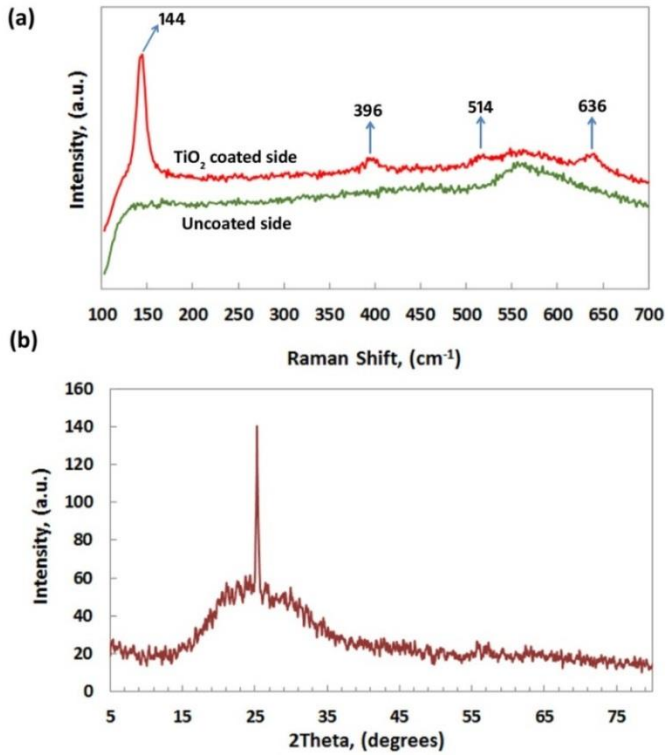


Figure 1. Raman spectra of glass surfaces (a) and XRD pattern of TiO2 coated surface (b)

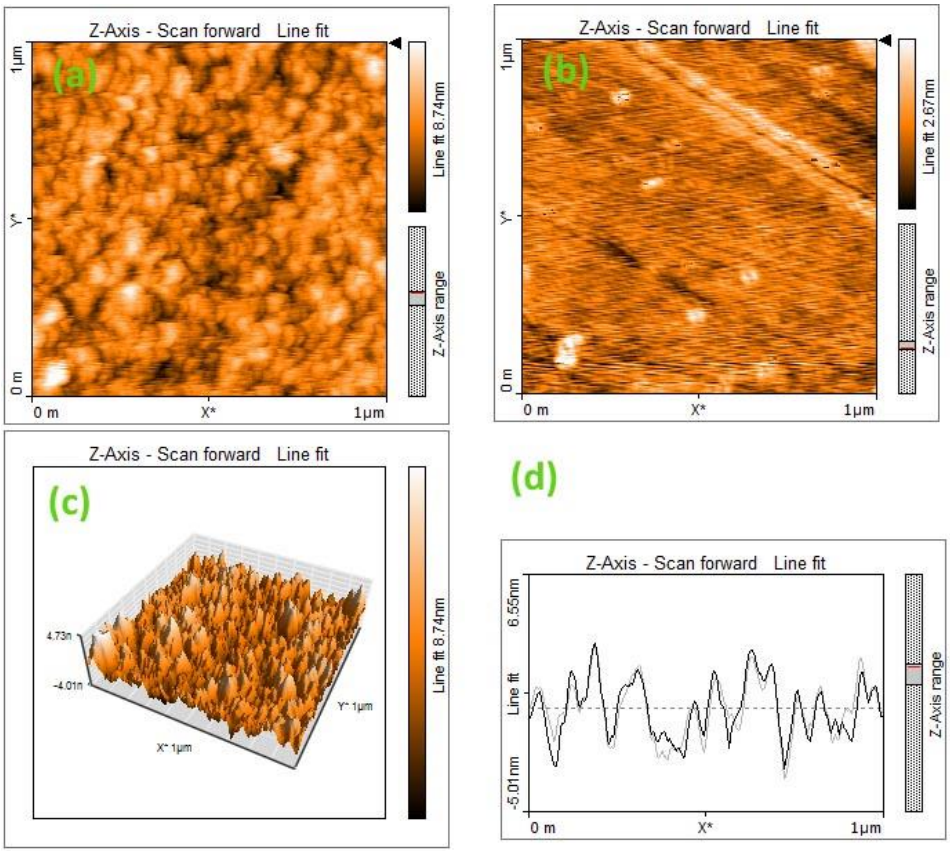


Figure 2. AFM images of Pilkington Activ™ glass in (a, b) a top-down view, (c) a topographical view, (d) sectional view for active and bar surfaces, respectively

Photodegradation procedure

Aqueous PAHs solution was poured into the Borosilicate 3.3 glass crystallization dishes (280 mL, Ø 95 mm) purchased from ISOLAB GmbH (Germany). Concerning UV-C/TiO_2 and Xe/TiO_2 tests, the round cut TiO_2 coated glass (Ø 75 mm) was placed in the crystallization dishes with nickel-chrome stands in direction of the irradiation sources. The active surface of the glass faced the lamps and aqueous PAHs solution was filled such that it rose about 1 cm from the active level of glass. Magnetic mini-stirrers model Topolino from IKA (Germany) and 6x25 mm PTFE magnetic stirring bars from LP ITALIANA S.p.A. (Italy) were used for agitating the solutions. To determine the concentration of H_2O_2 solution, titration with a 1 M solution of potassium permanganate ($KMnO_4$) was performed where the concentration was estimated at 31.19%. For UV-C/H_2O_2 and Xe/H_2O_2 tests, H_2O_2 concentration increased to 10 ppm by adding 2.2 µL H_2O_2 to 100 mL in the intended reaction vessels. Dark controls of the aqueous PAHs solution and H_2O_2-added solution were conducted to ensure that no loss of the PAHs occurred via reactions other than photolysis (i.e. hydrolysis, evaporation, and adsorption to the walls of the reaction vessel). Also, control adsorption experiments were performed for TiO_2-assisted tests.

The sampling was performed at times of 1, 2, 5 and 12 minutes after starting the irradiation across all tests. 15 mL of treated samples were taken by colorless polypropylene disposable pipet tips from BRAND™ (Germany) and stored in glass- screw cap conical centrifuge tubes with Rubber lined caps as a method of preventing evaporation from the samples; The tubes were washed carefully by GC-grade acetone and dried in 200°C for 30 min to eliminate any possible contaminations. Also, filled tubes covered with aluminium foil to prevent any light damage until extraction step. The reactor temperature was adjusted at 25°C for all tests. With regards to UV-C, UV-C/TiO_2, and UV-C/H_2O_2 tests, for each sampling, the electric source of the reactor was switched off to eliminate any possible exposure to UV-C irradiation. Also, considering volatility and high toxicity of the researched PAH compounds and an extraction solvent, wearing a NIOSH/MESA approved toxic gas respirator was necessary (USEPA, 2007).

Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) procedure

Residual PAHs after the degradation process was determined gas chromatographically. For this purpose, an effective sample preparation was required. So, a dispersive liquid-liquid microextraction method as previously reported by Assadi *et al*. (Rezaee et al., 2006) was employed with slight modifications. A 10.00 mL aqueous sample was placed in a 15 mL glass conical centrifuge tube. The mixture of 1.00 mL of acetone (as disperser solvent) and 20.00 µL tetrachloroethylene (C_2Cl_4) (as extraction solvent) was injected into the sample. After formation of a stable cloudy solution, the mixture was centrifuged for 2 min at 6000 rpm. The dispersed solvent droplets were sedimented in the conical bottom of centrifuge tube. The 2.00 µL of sedimented phase was separated manually using a fixed needle syringe for Agilent Instruments (Thermo Scientific™) and stored in 100µL Insert silanized glass inserts/polymer spring/conical precision point interior placed in amber vials with cap PTFE/Silicone septa for GC and then samples transferred immediately to analyzed by GC/MS.

Chromatographic analyzes

The efficiency of the investigated method in the degradation of target compounds and identification of intermediate products during the degradation process were examined using gas chromatographic-mass spectrometric analysis. For this purpose, An Agilent 7890A GC coupled with 5975C MS (with EI source, Quadrupole mass analyzer, and triple axis detector) (USA) was utilized. Separation of PAHs and intermediate compounds was performed on Agilent HP-5MS capillary column (30 m × 0.25 mm ID, 1 µm film thickness) (USA) according to the following temperature programming:

The initial column temperature was set at 100 ºC and held for 2 min then rose to 310 ºC at 15 ºC min^{-1} and held for 25 min. Injection port, ionization source, and quadrupole mass analyzer temperatures were set at 280, 230 and 150 ºC, respectively.

Quality assurance and quality control

The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) are both important parameters as figures of merit in an analytical method which in chromatographic methods of analysis were calculated as 3×S/N and 10×S/N, respectively for each analyte (Table 2). The low LOD (7-10 ngL^{-1}) and LOQ (23-35 ngL^{-1}) values show high performance of the preferred analytical method in trace PAHs analysis. Also, linear dynamic range for each analyte was obtained by plotting calibration curve (analyte concentrations vs. corresponding peak areas) which started from concentrations near to LOQ and continues until 5% deviation from linearity. Good linearity (r^2=0.9994-0.9999) and wide linear dynamic range are advantages of the method. In order to evaluate the method precision, relative recoveries were calculated using added-found method via $R = (\frac{C_F}{C_A}) \times 100$, where CF and CA were the found concentration and added concentration of the analytes (EPA 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Mixture analytical standard), respectively. Results in Table 2, indicate that the results precision is acceptable.

Table 2. Figures of merit of DLLME-GC/MS method for PAHs analysis.

Compound	r^2	LOD (ngL^{-1})	LOQ (ngL^{-1})	LDR[a] (μgL^{-1})	Mean recovery(%)±SD[b]
Nap	0.9998	10	35	0.02-200	85.0±4.25
Acy	0.9997	10	35	0.02-200	82.5±4.54
Ace	0.9999	7	23	0.02-200	86.2±5.17
Flu	0.9995	8	26.5	0.02-200	87.1±4.79
Fln	0.9998	10	35	0.02-200	85.6±5.13
Pyr	0.9994	10	35	0.02-200	84.3±4.36

[a] Linear Dynamic Range, [b] Standard Deviation

PAHs quantitative molecular profile fate

To clarify the quantitative molecular fate of PAHs profile in treated aqueous solutions, degradation efficiency (DE) of each PAH compound was evaluated under for all treatments. To elucidate the influence of studied AOPs on PAHs remaining profile, the total percentage of PAH remaining ($\sum_6$ PAHs) for each individual treatment were measured and compared. Also, to illustrate the properties of processes in terms of PAH content characteristics, PAH remaining was categorized according to their ring sequences.

Results and discussion

Dark control of the H_2O_2-added PAHs solution revealed negligible degradation values as 0.79, 1.00, 1.30 and 2.79% over the sampling time stages.

UV-C irradiated treatments

Degradation diagrams related to UV-C irradiated treatments are represented in Figure 3.

Nap degradation pattern through UV-C treatment was recorded as 53.85, 54.88, 77.39, and 92.42% at 1, 2, 5, and 12 minutes after starting the treatment respectively. This pattern was recorded as 26.70, 4.72, 2.48 and 34.37% for UV-C/TiO_2 and 10.56, 27.91, 67.95, and 100.00% for UV-C/H_2O_2 treatment. In general, these results suggest high performance of UV-C and UV-C/H_2O_2 treatments in degradation of Nap. This compound has extensive applications and high solubility so presents predominantly in precipitations, effluents, and runoffs (see Table 1) (Mastral and Callén, 2000; *Naphthalene in Moth Balls and Toilet Deodorant Cakes - Fact sheets*, n.d.; Ravindra et al., 2008). Based on this information, the researched AOPs seem more considerable for the degradation of Nap (Mondal et al., 2014).

The results of degradation pattern for Acy under UV-C treatment were 24.76, 12.97, 37.84, and 72.03% at 1, 2, 5 and 12 minutes after starting the treatment respectively. The degradation pattern of the abovementioned sampling times for UV-C/TiO_2 treatment was obtained as 29.20, -4.39, -10.50, and 24.40%. Also, 10.56, 27.91, 67.95, and 100.00% were identified for UV-C/H_2O_2. In general, high performance of UV-C/H_2O_2 in degradation of Acy was observed.

The degradation pattern of Ace was recorded as 29.04, 24.69, 53.89, and 81.40% for UV-C treatment; 32.63, 6.81, 0.73, and 26.40 for UV-C/TiO_2 treatment as well as 6.20, 69.70, 19.68, and 100.00% for UV-C/H_2O_2 treatment. The results show high performance of UV-C/H_2O_2 in degradation of Ace.

Flu was degraded with 56.80, 59.29, 69.69, and 82.97% under UV-C treatment; 27.51, -12.63, -21.35 and 31.72% for UV-C/TiO_2 treatment and -2.23, 71.73, 25.06, and 100.00% for UV-C/H_2O_2 treatment. In general, high performance of UV-C/H_2O_2 treatment in degradation of Flu was evidenced.

The degradation pattern of Fln was recorded as: 100.00, -9.62, 100.00, and 100.00% under UV-C treatment, where 26.69, 22.95, 7.81, and 22.29% for UV-C/TiO2 treatment and -2.18, 71.73, 25.07, and 100.00% through UV-C/H_2O_2 treatment were obtained. All these generally suggest the high performance of UV-C and UV-C/H_2O_2 treatments in degradation of Fln.

The results of degradation pattern of Pyr were identified as 39.84, 100.00, 100.00, and 53.66% under UV-C treatment; 100.00, 100.00, -25.89, and 12.85% for UV-C/TiO2 treatment; and -2.18, 71.71, 25.08 and 100.00% for UV-C/H_2O_2 treatment. This group of results generally reveals high performance of UV-C /H_2O_2 treatment in degradation of Pyr.

Some minor exceptions (increases < -2% under UV-C/H_2O_2 treatments) are explainable by the low electrochemical oxidation potential of individual compounds Flu and Fln as 1.62 V and 1.83 V respectively (Gurunathan et al., 1999) in comparison with H_2O_2 oxidation potential of 2.8 V. Hence, H_2O_2 initially acts as an electron scavenger (Viswanathan et al., 2015; "Water Treatability Database / Ultraviolet Irradiation + Hydrogen Peroxide," n.d.) up to production of OH• causing diminished DE over initial times of treatments (before 5 min).

In the Figure 3.b we are witness of increased peak of target compounds between sampling times of 1 min and 2 min in UV-C/TiO_2 test and then decrease the DE peaks in following sampling times, could be explained by catalytic cracking of PAHs via HMW-PAHs to LMW-PAHs during the process (Pujro et al., 2015) HMW-PAHs include compounds with five and six fused aromatic rings which are strongly carcinogenic and mutagenic. Further, due to the number of benzene rings and unsaturation degree they become increasingly stable and nonbiodegradable (Stogiannidis and Laane, 2015). HMW-PAHs are introduced into aquatic environments both directly (via dry deposition of aerosol-bound PAHs) (González-Gaya et al., 2016) and indirectly (through road and storm-water runoff) (U.S. Environmental Protection Agency, 2007). Accordingly, cracking the HMW-PAHs to lighter PAHs deserves attention.

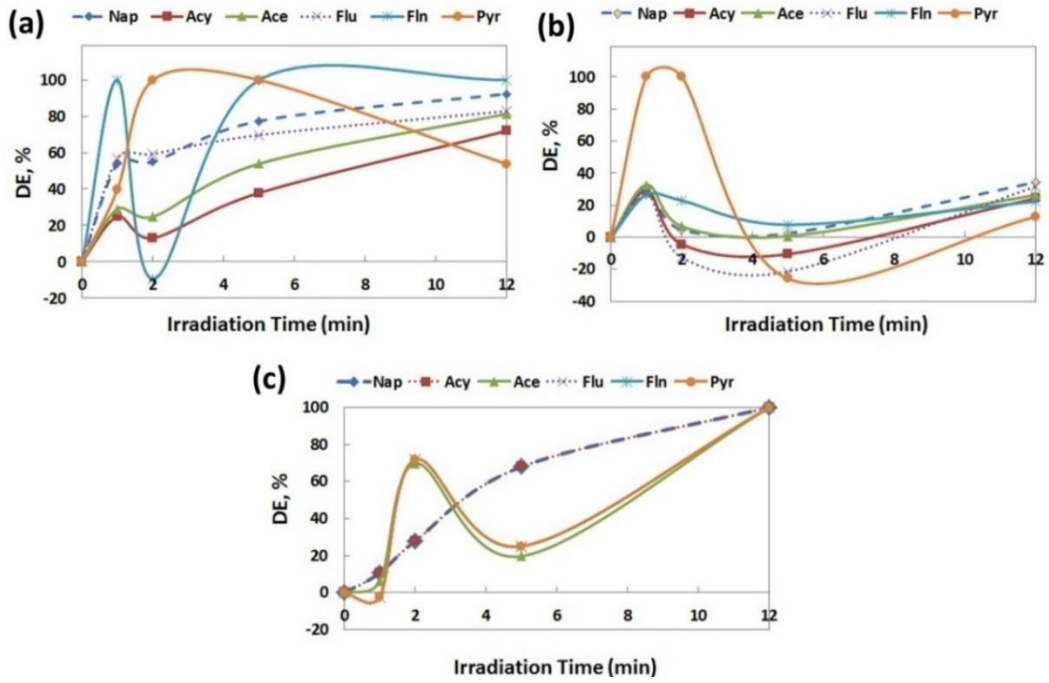


Figure 3. Degradation diagrams associated with UV-C irradiated treatments; UV-C treatment (a), UV-C/TiO_2 treatment (b), UV-C/H_2O_2 treatment (c)

Simulated solar treatments

Degradation diagrams related to Xe irradiated treatments are depicted in Figure 4.

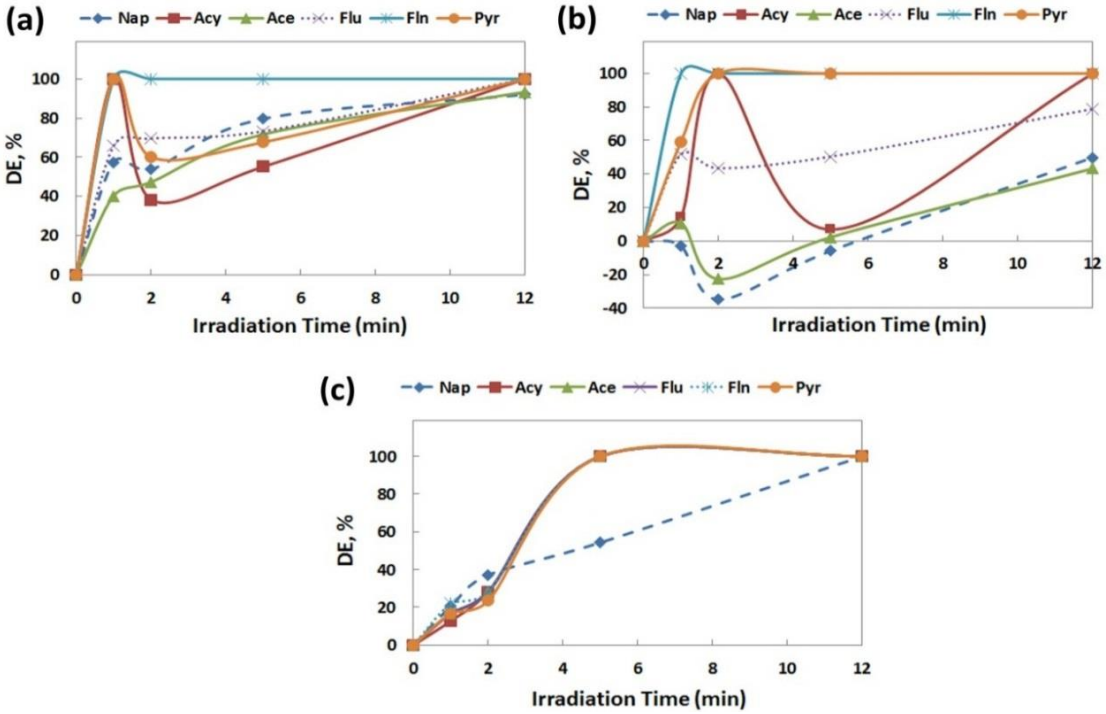


Figure 4. Degradation diagrams associated with the simulated solar irradiated treatments; Xe treatment (a), Xe/TiO_2 treatment (b), Xe/H_2O_2 treatment (c)

Nap degradation pattern was obtained as 57.55, 53.86, 79.71, and 92.08% by Xe irradiation treatment, where -3.08, -34.88, -5.83 and 49.92% for Xe/TiO_2 test as well as 20.48, 37.21, 54.36, and 100.00% for Xe/H_2O_2 treatment were achieved. The results suggest the high performance of Xe and Xe/H_2O_2 treatments in degradation of Nap. Observation of the increased peak of Nap at primary sampling times (1 and 2 min) of the Xe/TiO_2 treatment and stay undegraded (just 40% degraded) up to end of treatment (Figure 4.b) could be explained as catalytic cracking of PAHs by high molecular weight (HMW-PAHs) to lower molecular weight (LMW-PAHs) PAHs during the process (Pujro et al., 2015).

The results of degradation pattern for Acy were determined as 100.00, 38.48, 55.24, 100.00% for Xe irradiation treatment, where 14.34, 100.00, 6.94, and 100.00% for Xe/TiO_2 and 12.87, 28.34, 100.00, and 100.00% for Xe/H_2O_2 treatment were obtained. According to the results, high performance of UV-C/H_2O_2, Xe, and Xe /H_2O_2 treatments was evidenced in degradation of Acy. The Acy decreased 6.94% at min 5 subsequently 100% after min 2 under Xe/TiO_2 treatment, it could be explainable as catalytic cracking of PAHs by high molecular weight (HMW-PAHs) to lower molecular weight (LMW-PAHs) PAHs during the process too (Pujro et al., 2015).

Degradation pattern of Ace recorded as: 40.37, 47.39, 71.75 and 93.36 degradation percentages for Xe irradiation treatment; 10.63, -22.64, 2.35 and 43.32 percentages for Xe/TiO_2 treatment and 16.73, 28.21, 100.00 and 100.00 percentages were obtained for Xe/H_2O_2 at 1, 2, 5 and 12 minutes after starting the treatment. Regarding this group of results, Xe and Xe/H_2O_2 treatments were revealed high performance to degradation of Ace.

The degradation pattern of Flu was recorded as: 65.87, 69.59, 73.31, and 100.00% through Xe irradiation treatment, where 51.78, 43.50, 50.47, and 78.83% for Xe/TiO_2 treatment and 16.74, 28.29, 100.00, and 100.00% for Xe/H_2O_2 were obtained at 1, 2, 5 and 12 minutes after starting the treatment. In general, Xe and Xe/H_2O_2 treatments exhibited high performance in the case of Flu degradation.

The results of degradation pattern for Fln revealed 100.00% at all sampling steps under Xe irradiation and Xe/TiO_2-assisted treatments. Also, 21.97, 28.32, 100.00, and 100.00% for Xe/H_2O_2 were determined at 1, 2, 5, and 12 minutes after starting the treatment. This group of results generally indicates the high performance of Xe, Xe/H_2O_2, and Xe/TiO_2 treatments in degradation of Fln.

The results of degradation pattern of Pyr were identified as 100.00, 60.19, 67.70 and 100.00% for Xe through treatment at 1, 2, 5 and 12 minutes after starting the treatment. Also, 59.26% of the first sampling stage and 100.00% of the next sampling time stages were obtained under solar-TiO_2 assisted treatment, while 16.79, 23.57, 100.00, and 100.00% were achieved for Xe/H_2O_2 at sampling time steps. These results generally suggest the high performance of Xe, Xe/H_2O_2, and Xe/TiO_2 treatments in degradation of Pyr.

Total PAH remaining pattern

The survey of total mass remains of PAH for each individual treatment has been reported in Figure 5.

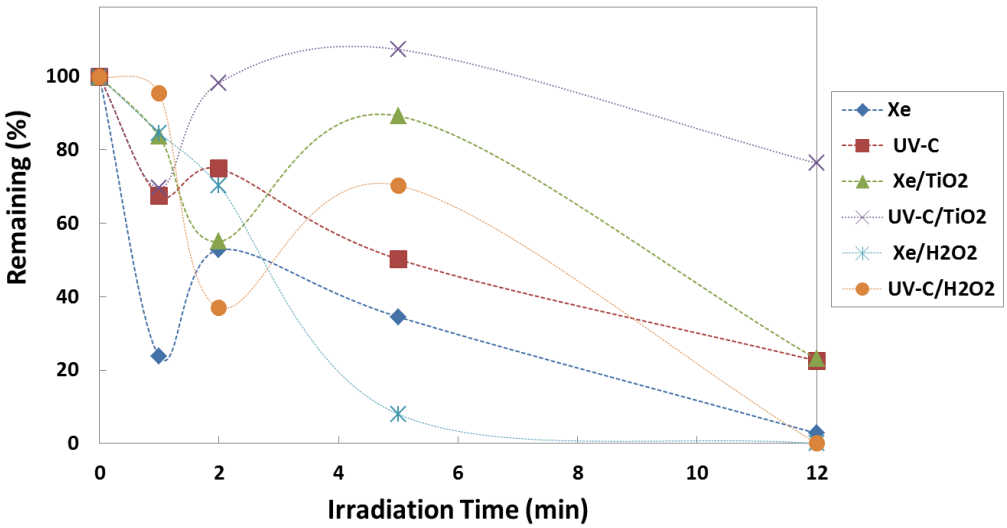


Figure 5. ∑6 PAHs remaining diagram for investigated AOPs

As presented in the diagram, apparently DE in TiO_2-assisted treatments seems very weak (total remaining of 76.38% after 12-min treatment). This can be explained by lower energy band gap of PAHs with lower molecular weight (2-4 ringed PAHs) (Luo et al., 2015). Further, the limited amount of coated TiO_2 nanocrystals on the glass is another possible reason for seemingly weaker performances in comparison with other treatment processes. With growth in the active surface of TiO_2 and/or increase the treatment duration, enhancement of degradation rate will be expectable (D. Dionysiou et al., 2016). Overall, the total six parent PAHs concentrations in the last sampling stage (12 min after starting the treatment) can be ranked as follows: UV-C/TiO_2 > Xe/TiO_2 > UV-C > Xe > Xe/H_2O_2, and UV-C /H_2O_2 with estimated values of 76.38, 23.02, 22.55, 2.78, 0.00 and 0.00% of the concentration values at the beginning of the treatment, respectively.

Ring sequencing

The remaining PAHs were categorized according to their ring sequences, as two-ring group (including Nap), three-ring group (including Acy, Ace, and Flu) and four-ring group (including Fln and Pyr) (Figures 6 and 7).

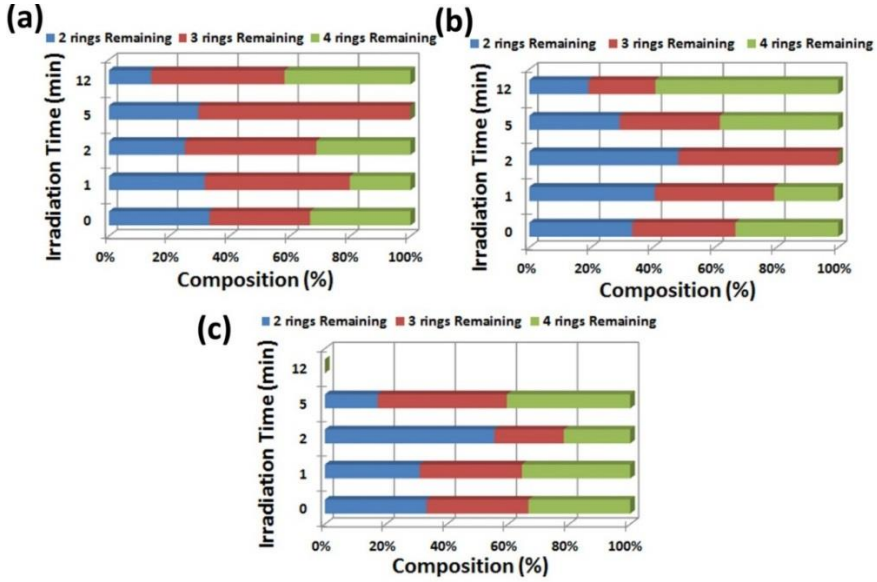


Figure 6. Remaining concentration composition of PAHs categorized according to their ring sequences for UV-C treatment (a), UV-C/TiO_2 treatment (b), and UV-C/H_2O_2 treatment (c)

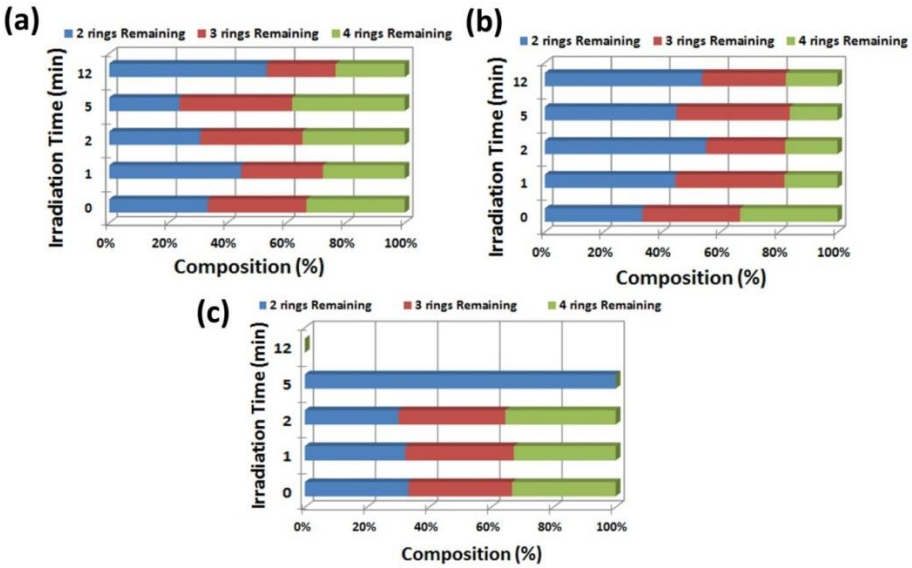


Figure 7. Remaining concentration composition of the PAHs categorized according to their ring sequences for Xe treatment (a), Xe/TiO2 treatment (b), and Xe/H_2O_2 treatment (c)

Regarding the diagrams of remaining PAH patterns with reference to their ring sequences, we witnessed an ascending trend in 2 rings remaining in PAHs profiles belonging to solar irradiated treatments (Xe, Xe/H_2O_2, and Xe/ TiO_2) although the reverse was recorded for UV-C treated tests (UV-C, UV-C /H_2O_2, and UV-C / TiO_2). These results suggest the absolutely high performance of Xe/H_2O_2 (Figure 7.c) and UV-C/H_2O_2 (Figure 6.c) treatment for abatement of the parent target PAH compounds (100% at 12 min after starting the treatment) but from the view of the ring sequences of remaining concentration at 5th min of treatment in Xe/H_2O_2 and UV-C/H_2O_2 treatments, Xe/H_2O_2 profile is superior to UV-C/H_2O_2. Converting the profile of PAHs in aqueous mixture with both "petrogenic" and "pyrogenic" characteristics to lighter petrogenic characteristic is desirable in terms of environmental health globally (Ramesh et al., 2011). However, there is a need to extend ecotoxicological tests to achieve reliable information about the environmental applicability of the AOPs in real scale regarding the high possibility of generation of hydroxy-PAHs (OH-PAHs) in H_2O_2-assisted treatments due to a significant reduction factor of OH•. The polar functional groups enhance the hydrophilicity of OH-PAHs (Achten and Andersson, 2015). Also, some OH-PAHs have higher genotoxicity and higher half-live with more persistent, bioaccumulative and toxic properties (Motorykin et al., 2015).

Formation of temporary products

For the investigated processes including UV, Xe, UV/TiO_2, Xe/TiO_2, UV/H_2O_2, and Xe/H_2O_2, the remaining temporary byproducts were determined after 12 min of each process. The experiments were repeated for three times with repetitious GC peaks analyzed. The identified byproducts are reported in Table 3. During PAHs photodegradation under UV and Xenon irradiations, sequencing destruction of PAHs leads to the formation of compounds 1 and 3. Other byproducts containing oxygenated functional groups can be produced by the general following pathways (Fasnacht and Blough, 2003):

The PAHs photodegradation can initiate by three proposed primary reactions. In the first pathway, the absorption of a photon by PAH molecule results in the generation of PAH cation-radical (PAH^+) thereby releasing an electron reacting with dissolved oxygen molecule (Miller and Olejnik, 2001). The generated cation-radicals can produce very oxidative radical intermediates such as superoxide anion-radicals and aromatic hydrocarbon anion radicals from reacting with water molecules or hydroxide anions. The produced radicals can further react with PAHs to produce stable byproducts containing oxygenated functional groups listed in Table 3. The active oxidative radicals can be produced via other mechanisms. The second pathway involves development of excited triplet state of a PAH molecule with O_2 in a $^3PAH^*$-$^3O_2$ complex (Sigman et al., 1991). It has also been proposed that O_2 can be adsorbed by a PAH molecule to form a ground state PAH-O_2 complex. Under the photon irradiation, charge transfer complex will be formed (photoionization). $PAH^+ - O_2^-$ complex can produce superoxide anion-radicals (Sigman et al., 1998).

During advanced oxidation processes (i.e UV/TiO_2, Xe/TiO_2, UV/H_2O_2 processes), it is well known very oxidative and highly reactive hydroxyl radicals are generated (Amani-Ghadim and Dorraji, 2015) which can oxidize the organic pollutants unselectively. These relevant reactions at the photocatalyst surface cause the degradation of PAHs. In addition to the mentioned reactions, for producing hydroxyl radicals, the active radicals can be generated via photosensitization mechanism described in Eqs. (1-3) (Konstantinou and Albanis, 2004):

$$PAH + h\nu \rightarrow {}^1PAH^* \rightarrow {}^3\mathrm{PAH}^* \quad (1)$$

$${}^3\mathrm{PAH}^* + TiO_2 \rightarrow PAH^{\cdot+} + TiO_2(e_{CB}^-) \quad (2)$$

$$TiO_2(e_{CB}^-) + O_2 \rightarrow O_2^{\cdot-} + TiO_2 \quad (3)$$

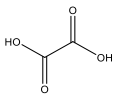
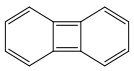
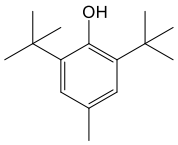
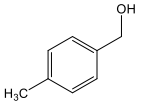
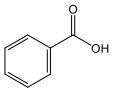
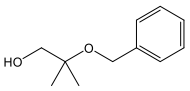
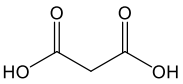
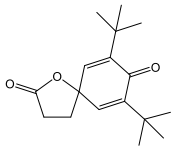
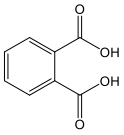
Due to the non-selective reaction feature of hydroxyl radicals, formation of various by-products is expectable. However, it is very difficult to determine the degradation pathway of each PAH and the parent PAH of each identified byproduct. With change the main GC peaks related to the PAHs, some new peaks related to temporary degradation byproducts were appeared.

CONCLUSIONS

This study investigated the photochemical treatments based on simulated solar and UV-C radiation with TiO_2 and H_2O_2 for degradation of dissolved compounds of 16 EPA-Listed PAHs in aqueous medium. During simulated solar treatment processes, the structure of residual PAHs was changed and the ratio of lighter compounds (2,3-ringed PAHs) increased clearly before accomplishment of the removal process. The results have expanded the borders of understanding on the fate of PAHs and their by-products in aqueous medium through the investigated AOPs, which facilitated the prediction of PAH-related hazards in aqueous medium. Multistage treatment system approaches, end to bioremediation systems to decay trace, light and biodegradable remaining can be supposed to reinforce AOP water treatment systems to achieve high levels of environmental safety for effluents of the system. The results suggested the ability of solar irradiation to reduce PAH pollution in contaminated effluents and superiority of PAH-degrading of Xe/H_2O_2 and UV-C/H_2O_2 treatment for total

elimination of parent PAH contaminators in aqueous medium. Undoubtedly, performing future extended ecotoxicological tests can expand the real scale tests to decrease the influence of PAHs on aquatic environments.

Table 3. Possible identified byproducts during photolytic degradation of naturally dissolved compounds of 16 EPA-Listed PAHs by UV, Xe, UV-TiO_2, Xe-TiO_2, UV/H_2O_2, and Xe/H_2O_2 processes

Compound	Retention time (min)	Main fragments	Product Structure	Product Name	Process
1	7.145	78, 77, 52, 51, 39		Benzene	Xenon, UV
2	7.848	46, 44, 29, 28, 18		Oxalic acid	Xenon, Xenon/TiO_2 coated glass, Xenon/H_2O_2
3	10.065	152, 126, 76, 63, 50		Biphenylene	Xenon, UV, Xenon/TiO_2 coated glass
4	10.205	94, 66, 40, 39		Phenol	All investigated processes
5	10.307	220, 205, 189, 177, 161, 145, 57		Butylated hydroxytoluene	UV-TiO_2 coated glass UV/H_2O_2
6	11.021	122, 107, 91, 79, 65, 39		4-Methylbenzyl alcohol	UV
7	11.309	122, 105, 94, 77, 51, 39, 27		Benzoic acid	All investigated processes
8	11.537	107, 92, 91		2-(Benzyloxy)-2-methylpropan-1-ol	UV
9	12.597	87, 60, 45, 43, 42, 29		Malonic acid	All investigated processes
10	13.495	276, 261, 232, 217, 205, 189, 175, 161, 149, 135, 109, 91, 57		7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-6,9-diene-2,8-dione	Xenon/TiO_2 coated glass UV
11	17.286	148, 104, 76, 50, 38, 18		1,2-benzenedicarboxylic acid	All investigated processes

ACKNOWLEDGMENTS

This study was partially funded by Ege University Scientific Research (BAP) (Project No.: 2017/SÜF/014). Authors acknowledge Dr. Ozan Ünsalan (Ege University, Department of Physics) for his help with the analysis of Raman spectra. Navid Kargar and Golnar Matin thank Prof. Yury Gogotsi (A.J. Drexel Nanotechnology Institute, Drexel University) for his useful comments and suggestions on characterization of TiO_2 nanocrystals.

REFERENCES

Achten, C. & Andersson, J.T. (2015). Overview of Polycyclic Aromatic Compounds (PAC). *Polycyclic Aromatic Compounds*, *35*(2–4), 177–186. DOI: 10.1080/10406638.2014.994071

Amani-Ghadim, A.R. & Dorraji, M.S.S. (2015). Modeling of photocatalyatic process on synthesized ZnO nanoparticles: Kinetic model development and artificial neural networks. *Applied Catalysis B: Environmental*, *163*, 539–546. DOI: 10.1016/j.apcatb.2014.08.020

Bagheri, S., Termehyousefi, A. & Do, T.O. (2017). Photocatalytic pathway toward degradation of environmental pharmaceutical pollutants: Structure, kinetics and mechanism approach. *Catalysis Science and Technology*, *7*(20), 4548–4569. DOI: 10.1039/c7cy00468k

Battin, T.J., Kammer, F. v.d., Weilhartner, A., Ottofuelling, S. & Hofmann, T. (2009). Nanostructured TiO 2 : Transport Behavior and Effects on Aquatic Microbial Communities under Environmental Conditions. *Environmental Science & Technology*, *43*(21), 8098–8104. DOI: 10.1021/es9017046

Beach, D. G., Quilliam, M. A., Rouleau, C., Croll, R.P. & Hellou, J. (2010). Bioaccumulation and biotransformation of pyrene and 1-hydroxypyrene by the marine whelk Buccinum undatum. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *29*(4), 779–788. DOI: 10.1002/etc.112

Bergman, Å., Heindel, J., Jobling, S., Kidd, K. & Zoeller, R.T. (2012). *State of the science of endocrine disrupting chemicals, 2012*. *Toxicology Letters* (Vol. 211). UNEP/WHO. DOI: 10.1016/j.toxlet.2012.03.020

Chatterjee, D. & Mahata, A. (2002). Visible light induced photodegradation of organic pollutants on dye adsorbed TiO2 surface. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, *153*(1–3), 199–204. DOI: 10.1016/S1010-6030(02)00291-5

Daniela, M. Pampanin, M.O.S. (2013). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons a Constituent of Petroleum: Presence and Influence in the Aquatic Environment. In *Hydrocarbon*. InTech. DOI: 10.5772/48176

Deng, X.-Y., Cheng, J., Hu, X.-L., Wang, L., Li, D. & Gao, K. (2017). Biological effects of TiO 2 and CeO 2 nanoparticles on the growth, photosynthetic activity, and cellular components of a marine diatom Phaeodactylum tricornutum. *Science of The Total Environment*, *575*, 87–96. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.003

Dionysiou, D., Puma, G.L., Ye, J., Schneider, J. & Bahnemann, D. (2016). *Photocatalysis Applications*. (D. D. Dionysiou, G. Li Puma, J. Ye, J. Schneider, & D. Bahnemann, Eds.). Cambridge: Royal Society of Chemistry. DOI: 10.1039/9781782627104

Fasnacht, M.P. & Blough, N.V. (2003). Mechanisms of the Aqueous Photodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Science & Technology*, *37*(24), 5767–5772. DOI: 10.1021/es034389c

Fechner, H.F.H. & E.J. (2015). *Chemical Fate and Transport in the Environment*. Elsevier. DOI: 10.1016/C2011-0-09677-1

Forsgren, A.J. (2015). *Wastewater Treatment: Occurrence and Fate of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs)*. CRC Press. Retrieved from https://books.google.com.tr/books?id=D3V3CAAAQBAJ&dq=Wastewater+Treatment+Occurrence+and+Fate+of+Polycyclic+Aromatic+Hydrocarbons+(PAHs)+DIO&lr=&source=gbs_navlinks_s&hl=en

Förstner, U. & Wittmann, G.T.W. (1981). *Metal Pollution in the Aquatic Environment*. Springer-Verlag. DOI: 10.1007/978-3-642-69385-4

Gmurek, M., Olak-Kucharczyk, M. & Ledakowicz, S. (2017). Photochemical decomposition of endocrine disrupting compounds – A review. *Chemical Engineering Journal*, *310*, 437–456. DOI: 10.1016/j.cej.2016.05.014

González-Gaya, B., Fernández-Pinos, M.-C., Morales, L., Méjanelle, L., Abad, E., Piña, B., … Dachs, J. (2016). High atmosphere–ocean exchange of semivolatile aromatic hydrocarbons. *Nature Geoscience*, *9*(6), 438–442. DOI: 10.1038/ngeo2714

Gurunathan, K., Murugan, A.V., Marimuthu, R., Mulik, U. & Amalnerkar, D. (1999). Electrochemically synthesised conducting polymeric materials for applications towards technology in electronics, optoelectronics and energy storage devices. *Materials Chemistry and Physics*, *61*(3), 173–191. DOI: 10.1016/S0254-0584(99)00081-4

Kochany, J. & Maguire, R.J. (1994). Abiotic transformations of polynuclear aromatic hydrocarbons and polynuclear aromatic nitrogen heterocycles in aquatic environments. *Science of The Total Environment*, *144*(1–3), 17–31. DOI: 10.1016/0048-9697(94)90424-3

Konstantinou, I.K. & Albanis, T.A. (2004). TiO2-assisted photocatalytic degradation of azo dyes in aqueous solution: kinetic and mechanistic investigations. *Applied Catalysis B: Environmental*, *49*(1), 1–14. DOI: 10.1016/j.apcatb.2003.11.010

Kurtoglu, M. E., Longenbach, T. & Gogotsi, Y. (2011). Preventing Sodium Poisoning of Photocatalytic TiO2 Films on Glass by Metal Doping. *International Journal of Applied Glass Science*, *2*(2), 108–116. DOI: 10.1111/j.2041-1294.2011.00040.x

Kurtoglu, M. E., Longenbach, T., Reddington, P. & Gogotsi, Y. (2011). Effect of Calcination Temperature and Environment on Photocatalytic and Mechanical Properties of Ultrathin Sol-Gel Titanium Dioxide Films. *Journal of the American Ceramic Society*, *94*(4), 1101–1108. DOI: 10.1111/j.1551-2916.2010.04218.x

Luo, Z., Wei, C., He, N., Sun, Z., Li, H. & Chen, D. (2015). Correlation between the Photocatalytic Degradability of PAHs over Pt/TiO 2 -SiO 2 in Water and Their Quantitative Molecular Structure. *Journal of Nanomaterials*, *2015*, 1–11. DOI: 10.1155/2015/284834

Mastral, A.M. & Callén, M.S. (2000). A Review on Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Emissions from Energy Generation. *Environmental Science & Technology*, *34*(15), 3051–3057. DOI:10.1021/es001028d

Miller, J.S., & Olejnik, D. (2001). Photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water. *Water Research*, *35*(1), 233–243. DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00230-X

Mondal, K., Bhattacharyya, S. & Sharma, A. (2014). Photocatalytic Degradation of Naphthalene by Electrospun Mesoporous Carbon-Doped Anatase TiO 2 Nanofiber Mats. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, *53*(49), 18900–18909. DOI: 10.1021/ie5025744

Motorykin, O., Santiago-Delgado, L., Rohlman, D., Schrlau, J. E., Harper, B., Harris, S., … Massey Simonich, S. L. (2015). Metabolism and excretion rates of parent and hydroxy-PAHs in urine collected after consumption of traditionally smoked salmon for Native American volunteers. *Science of The Total Environment*, *514*, 170–177. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.01.083

Mueller, N.C. & Nowack, B. (2008). Exposure Modeling of Engineered Nanoparticles in the Environment. *Environmental Science & Technology*, *42*(12), 4447–4453. DOI: 10.1021/es7029637

Naphthalene in Moth Balls and Toilet Deodorant Cakes - Fact sheets. (n.d.). Retrieved from www.health.nsw.gov.au/publichealth/infectious/phus.asp

National Academy of Sciences. (1993). *Managing Wastewater in Coastal Urban Areas*. Washington, D.C.: National Academies Press. DOI: 10.17226/2049

Oturan, M.A. & Aaron, J.-J. (2014). Advanced Oxidation Processes in Water/Wastewater Treatment: Principles and Applications. A Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *44*(23), 2577–2641. DOI: 10.1080/10643389.2013.829765

Pal, A., Gin, K.Y.H., Lin, A.Y.C. & Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science of the Total Environment*, *408*(24), 6062–6069. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2010.09.026

Pujro, R., Falco, M. & Sedran, U. (2015). Catalytic Cracking of Heavy Aromatics and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons over Fluidized Catalytic Cracking Catalysts. *Energy & Fuels*, *29*(3), 1543–1549. DOI: 10.1021/ef502707w

Ramesh, A., Archibong, A., Hood, D., Guo, Z. & Loganathan, B. (2011). Global Environmental Distribution and Human Health Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. In *Global Contamination Trends of Persistent Organic Chemicals* (pp. 97–126). CRC Press. DOI: 10.1201/b11098-7

Ravindra, K., Sokhi, R. & Van Grieken, R. (2008). Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment*, *42*(13), 2895–2921. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2007.12.010

Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, M.-R., Aghaee, E., Ahmadi, F. & Berijani, S. (2006). Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, *1116*(1–2), 1–9. http://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.03.007

Ross, R.D. & Crosby, D.G. (1985). Photooxidant activity in natural waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *4*(6), 773–778. DOI:10.1002/etc.5620040608

Shanker, U., Jassal, V. & Rani, M. (2017). Degradation of toxic PAHs in water and soil using potassium zinc hexacyanoferrate nanocubes. *Journal of Environmental Management*, *204*, 337–348. DOI: 10.1016/j.jenvman.2017.09.015

Sigman, M.E., Schuler, P.F., Ghosh, M.M. & Dabestani, R.T. (1998). Mechanism of Pyrene Photochemical Oxidation in Aqueous and Surfactant Solutions. *Environmental Science & Technology*, *32*(24), 3980–3985. DOI: 10.1021/es9804767

Sigman, M.E., Zingg, S.P., Pagni, R.M. & Burns, J. H. (1991). Photochemistry of anthracene in water. *Tetrahedron Letters*, *32*(41), 5737–5740. DOI: 10.1016/S0040-4039(00)93543-3

Stogiannidis, E. & Laane, R. (2015). Source Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Using Their Molecular Indices: An Overview of Possibilities. In *Springer International Publishing* (Vol. 234, pp. 49–133). Springer International Publishing . DOI: 10.1007/978-3-319-10638-0_2

Tiedeken, E.J., Tahar, A., McHugh, B. & Rowan, N.J. (2017). Monitoring, sources, receptors, and control measures for three European Union watch list substances of emerging concern in receiving waters – A 20 year systematic review. *Science of The Total Environment*, *574*, 1140–1163. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.084

Tjeerdema, R.S. (2012). *Aquatic Life Water Quality Criteria for Selected Pesticides*. (R. S. Tjeerdema, Ed.) (Vol. 216). Boston, MA: Springer US. DOI: 10.1007/978-1-4614-2260-0

Tornero, V., & Hanke, G. (2016). Chemical contaminants entering the marine environment from sea-based sources: A review with a focus on European seas. *Marine Pollution Bulletin*, *112*(1–2), 17–38. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2016.06.091

U.S. Environmental Protection Agency. (2007). *Ecological Soil Screening Levels for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Interim Final*. Washington, DC. Retrieved from https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-09/documents/eco-ssl_pah.pdf

USEPA. (2007). *Method 625 - Base/neutrals and acids*. *Methods for organic chemical analysis of municipal and industrial wastewater*.

Viswanathan, V., Hansen, H.A., & Nørskov, J.K. (2015). Selective Electrochemical Generation of Hydrogen Peroxide from Water Oxidation. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, *6*(21), 4224–4228. DOI: 10.1021/acs.jpclett.5b02178

Wang, Y., Zhu, X., Lao, Y., Lv, X., Tao, Y., Huang, B., … Cai, Z. (2016). TiO 2 nanoparticles in the marine environment: Physical effects responsible for the toxicity on algae Phaeodactylum tricornutum. *Science of The Total Environment*, *565*, 818–826. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.03.164

Water Treatability Database / Ultraviolet Irradiation + Hydrogen Peroxide. (n.d.). Retrieved December 26, 2018, from https://iaspub.epa.gov/tdb/pages/treatment/treatmentOverview.do

Wee, S.Y. & Aris, A.Z. (2017). Endocrine disrupting compounds in drinking water supply system and human health risk implication. *Environment International*, *106*(April), 207–233. DOI: 10.1016/j.envint.2017.05.004

Yan, J., Wang, L., Fu, P.P. & Yu, H. (2004). Photomutagenicity of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons from the US EPA priority pollutant list. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *557*(1), 99–108. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2003.10.004

Yin, S., Tang, M., Chen, F., Li, T. & Liu, W. (2017). Environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): The correlation with and impact on reproductive hormones in umbilical cord serum *. *Environmental Pollution*, *220*, 1429–1437. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.10.090

Zhang, Y., Dong, S., Wang, H., Tao, S. & Kiyama, R. (2016). Biological impact of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons (ePAHs) as endocrine disruptors *. *Environmental Pollution*, *213*(November), 809–824. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.03.050

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 29-36 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.04

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

Aeromonas hydrophila balık patojeninde biyosensör suşlar aracılığıyla çevreyi algılama sisteminin tespiti ve virülens faktörleri

Determination of quorum sensing system via biosensor strains and virulence factors in fish pathogen *Aeromonas hydrophila*

Nurdan Filik[1]* ● Ayşegül Kubilay[2]

[1] Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, 32260 Isparta, Türkiye http://orcid.org/0000-0003-4376-7298
[2] Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, 32260 Isparta, Türkiye http://orcid.org/0000-0002-6043-2599

*Corresponding author: nurdansal@hotmail.com
Received date: 27.03.2019 Accepted date: 06.09.2019

How to cite this paper:
Filik, N. & Kubilay, A. (2020). Determination of quorum sensing system via biosensor strains and virulence factors in fish pathogen *Aeromonas hydrophila*. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 29-36. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.04

Öz: Çevreyi algılama sistemi bakterilerin sinyal molekülleriyle kendi aralarında iletişim kurmalarını sağlayarak istedikleri çoğunluğa ulaştıklarını anladıkları anda da kritik virülens faktörlerini üreten, bakteriyi virülent hale getiren, sonucunda hastalık oluşturan ve bunu yöneten bir sistemdir. Araştırmada balık enfeksiyonu Hareketli Aeromonas Septisemisi (MAS) etkeni *Aeromonas hydrophila* (2 suş) suşlarının çevreyi algılama sistemi çalışılmıştır. Suşlarda öncelikle *N*-butanoyl-L-homoserin lakton (BHL) ve *N*-(3-okzododekanoyl)-L-homoserin lakton (OdDHL) sinyal moleküllerinin üretimi, *Chromobacterium violaceum* CV026 ve *Agrobacterium tumafeciens* NT1 biyosensör suşları aracılığıyla araştırılmıştır. *A. hydrophila*'nın *C. violaceum* CV026 suşu kullanılarak yapılan testte BHL sinyal molekülünü ürettiği, *A. tumefaciens* NT1 suşu kullanılarak yapılan testte OdDHL sinyal molekülünü ürettiği tespit edilmiştir. *A. hydrophila*'da BHL ve OdDHL sinyal moleküllerinin tespitiyle bu moleküllere bağımlı olan ramnolipid, elastaz, proteaz, amilaz, hemoliz üretimi gibi çevreyi algılama sistemi tarafından kontrol edilen virülens faktörlerinin varlığı bakımından fenotipik olarak araştırılmıştır. *A. hydrophila* suşlarının ramnolipid, proteaz, amilaz ve hemoliz aktiviteleri pozitif olarak bulunmuştur. *A. hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 kontrol suşuna göre daha az elastaz aktivitesine sahiptir. Araştırmayla *A. hydrophila* suşlarının bir topluluk içerisinde olduğunu anladığının ve toplu olarak hareket ettiğinin göstergesi olan çevreyi algılama sistemine sahip olduğu, balıklarda hastalık oluşturan tehlikeli virülens faktörlerini ürettiği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Aeromonas hydrophila*, Çevreyi Algılama Sistemi, Virülens Faktörleri, *N*-Açil Homoserin Lakton, BHL, OdDHL

Abstract: Quorum Sensing is a system that produces critical virulence factors, virulent get bacteria and manages the disease as a result, and when they realize that the bacteria reach the majority they want by enabling them to communicate with the signal molecules themselves. In this study, Quorum Sensing system of *Aeromonas hydrophila* (2 strains) which is the causative agent of fish infection Motile Aeromonas Septicemia (MAS) disease was studied. In the strains, primarily the production of *N*-butanoyl-L-homoserine lactone (BHL) and *N*-(3-octododecanoyl)-L-homoserine lactone (OdDHL) signaling molecules was investigated via *Chromobacterium violaceum* CV026 and *Agrobacterium tumafeciens* NT1 biosensor strains. *A. hydrophila* produced BHL signaling molecule in assay committed using *C. violaceum* CV026 strain, producing OdDHL signaling molecule in assay committed using *A. tumefaciens* NT1 strain. *A. hydrophila* was investigated as phenotypically by the detection of BHL and OdDHL signaling molecules and in the presence of virulence factors controlled by quorum sensing system such as ramnolipid, elastase, protease, amylase, hemolysis production dependent on these molecules. The ramnolipid, protease, amylase and hemolysis activities of *A. hydrophila* strains were found to be positive. *A. hydrophila* has less elastase activity than *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 control strain. Research has emphasizing *A. hydrophila* strains are within a population and that they have a of quorum sensing system, shown that they act collectively that determined they produces dangerous virulence factors that cause disease in fish.

***Keywords*:** *Aeromonas hydrophila*, Quorum Sensing System, Virulence Factors, *N*-Acyl Homoserine Lactone, BHL, OdDHL

GİRİŞ

Bakterilerin asosyal canlılar olmadığı, moleküllerini algılayarak birbirleriyle iletişim kurdukları anlaşılmıştır. Bakteri hücreleri arasındaki popülasyon yoğunluğuna bağlı olan hücre-hücre iletişim mekanizması Çevreyi Algılama (Quorum Sensing, QS) olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda kullanılmaya başlanan QS terimi bu özelliklerden hareketle "Quorum: salt çoğunluk" ve "Sense: hissetme" kelimelerinden oluşturulmuştur (Saraçlı, 2006).

Bu sayede bakteriler birbirleriyle iletişim kurmakta, hücre sayılarını kontrol etmekte, fizyolojik ve patojenik özelliklerini değiştirmekte, virülens faktörleri gibi kritik gen ekspresyonlarını gerçekleştirmektedirler. Bakteriler arasındaki bu iletişim, bulundukları ortama sinyal molekülü sentezlemeleri olup sentezlenen bu moleküllerin yoğunluğu ile ortamdaki salt çoğunluğu algılayabilmeleri ve sonucunda sinyal moleküllerinin özel genlerin ekspresyonun da rol oynamasına dayanmaktadır (Yılmaz-Yıldıran vd., 2015). Bakteriler QS mekanizmasını kullanarak sporulasyon, toplu kaçış, pigment üretimi, konjugasyon, hücre bölünmesi, antibiyotik üretimi, biyolüminesans, lag fazından çıkma, biyofilm oluşumu, immün yanıttan kaçış, nodül sayısını sınırlama, virülens faktörlerinin üretimi, besin için diğer bakterilerle savaş, ekstrasellüler proteaz üretimi, ekzoenzimlerin üretimi gibi birçok hayati faaliyetini düzenler. (Altun ve Şener, 2008; Bruhn vd., 2005).

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

Bu mekanizma içerisinde yer alan sinyal moleküllerinin çeşidi ve bu moleküllerin algılanma şekline göre üç çeşit çevreyi algılama mekanizması vardır. Bunlar: 1. LuxI/LuxR Sistemi (Gram negatif bakterilerde) 2. Oligopeptit Sistemi (Gram pozitif bakterilerde) 3. Hibrit Sistemi'dir (Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerde) (Yılmaz-Yıldıran vd., 2015).

Çevreyi algılama sistemini kullanan bakterilerin keşfinden sonra bakterilerle ilgili algılar çok yönlü hale gelmiştir. Nijland (2010), bakterilerin havadaki koku oluşturan kimyasalları algılayabilen moleküler bir yapılarının olduğunu keşfetmiştir. Yapılan bu araştırma ile bakterilerin bu kokuya karşı çevreyi algılama sistemiyle düzenlenen virülens faktörlerinden biyofilmi üreterek tepki gösterdiğini de bildirmiştir.

Dünyada geniş dağılım gösteren *A. hydrophila* Gram-negatif bir bakteridir ve aynı zamanda deniz ve tatlı su balık hastalıklarına neden olan bir patojendir. Hareketli Aeromonas türleri genellikle fırsatçı patojen ya da sekonder patojen olarak kabul edilmesine rağmen, *A. hydrophila* primer patojen olarak görülmüştür (Timur ve Timur 2003, Bastardo vd., 2012, Gong vd., 2015). *A. hydrophila* yüksek oranda hücre lizizi gerçekleştiren, Gram-negatif, çomak şekilli, sporsuz, oksidaz pozitif, fakültatif anaerobik, oportünist, hem insan hem de balıkta patojeni bir bakteridir (Hazen vd., 1978; Daskalov, 2006; De Silva vd., 2018, Dewi vd., 2019, Wilson vd., 2019). Agar üzerindeki kolonileri yumuşak, dışbükey ve yuvarlaktır (Al-Fatlawy ve Al-Hadrawy, 2014). Jelatini, hemoglobini, elastini sindirdiği ve dirençli olduğu için öldürülmesi zor olan *A. hydrophila* bakterisi hayvanlardan 100 yıldan beri, insanlardan 1950'lerin başlarından beri izole edilmiştir. (Mathewson ve Dupont, 1992).

A. hydrophila oldukça toksiktir. Hareketli *Aeromonas*'ların patojenitesi üretmiş oldukları sitotoksik (β-hemolisin) ve sitotonik (kolera benzeri) enterotoksinlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu bakterilerin bağırsak mukozasına tutunma ve buradan da kana geçme özelliğine sahip oldukları bilinmektedir. Balık veya insan vücuduna girdiğinde, kan dolaşımı yoluyla ilk organa dolaşır. En önemli virülens faktörlerinden biri olan aerolizin sitotoksik enterotoksin (Act) üretir. Toksin, hücre tarafından bir tip II salgı sisteminden üretilir. Toksin, hücre ölümü ve doku yıkımını gerçekleştirir (Albert vd., 2000; Chopra vd., 2000). Virülensin üretimi çevreyi algılama ile düzenlenebilir bir fenomendir. Çevreyi algılama sistemi *A. hydrophila*'da çeşitli virülens faktörlerinin ekspresyonunu düzenler (Chu vd., 2011). Virulent *A. hydrophila* (vAh) Motile Aeromonas Septisemisi (MAS) hastalığının etkenidir ve epidemik salgınlara neden olur (Abdelhamed vd., 2019). Balıklarda, bu hastalık deri ülseri, nekroz, hemorajik septisemi, ekzoftalmus, yüzgeç ve kuyruk çürüklüğü ile karakterizedir (Zhang vd., 2014; Baldissera vd., 2019).

Bu çalışmada *A. hydrophila*'nın çevreyi algılama sistemini kullanarak bakteriyel iletişim sistemine sahip olup olmadığının mutant *C. violaceum* CV026 ve mutant *A. tumefaciens* NT1 biyosensör suşlar aracılığıyla tespit edilmesi ve çevreyi algılama sisteminin yönetimindeki virülens faktörlerinden ramnolipid, elastaz, proteaz, amilaz, hemoliz üretiminin fenotipik olarak araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

A. hydrophila, *P. aeruginosa* PAO1, *C. violaceum* CV026 ve *A. tumefaciens* NT1 suşlarının kaynağı ve gelişme koşulları

Araştırmada SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'ndan temin edilen, hasta gökkuşağı alabalıklarının iç organlarından izole edilmiş ve moleküler düzeyde identifikasyonu yapılmış olan balık patojeni *A. hydrophila*'nın 2 suşu kullanılmıştır. Suşlar kullanılmadan önce referans suş ile karşılaştırılarak geleneksel bakteriyolojik testlerle teyitleri de yapılmıştır. Suşlar kullanılıncaya kadar McFarland 0.5'e göre standardize edilen miktarda -80°C'de ve %20 gliserin içerisinde muhafaza edilmiştir. Depolanan suşlar günlük kullanım için -80°C'den alınarak -20°C'de bekletildikten sonra TSA besiyerlerine ekilmiştir. Ekimleri yapılan suşlar 25°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra günlük kullanım amacıyla maximum 7 gün süreyle +4°C'de saklanmıştır. SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilen pozitif kontrol olarak kullanılan insan patojeni *P. aeruginosa* PAO1 (1 suş) suşu, LBA besiyerinde 30°C'de üretilmiştir ve -80°C'de ve %20 gliserol içerisinde muhafaza edilmiştir. AHL sinyal moleküllerinin tespiti için kullanılan *C. violaceum* CV026 (1 suş) mutant suşu ve *A. tumefaciens* NT1 (1 suş) mutant suşu da SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. Bu suşlar %1,2 agar içeren katılaştırılmış ve *A. tumefaciens* NT1 suşu için gentamisin (20 µg/ml); *C. violeceum* suşu için kanamisin (20 µg/ml) LB (%1 tripton, %0,5 maya ekstraktı, %0,5 NaCl) besiyerinde 24 saat süreyle 30°C'de üretilmiştir. Bu stok kültürler farklı testler için kullanılmıştır (Ulusoy, 2007).

C. violaceum CV026 ve *A. tumefaciens* NT1 biyosensör suşları aracılığıyla *A. hydrophila*'da *N*-Açil Homoserin Lakton (AHL) sinyal moleküllerinin tespiti

AHL sinyal moleküllerinin araştırılmasında; Ulusoy (2007) tarafından modifiye edilen McClean vd. (1997)'nin metodundan yararlanılmıştır. TSA besiyerinde 25°C'de 24 saat *A. hydrophila* üretilmiştir. AHL molekül tespiti için *A. hydrophila* suşları TSA kültüründen Luria Bertani Agar (LBA) besiyerine 2 cm'lik çizgi olarak ekilmiş *C. violaceum* CV026 biyosensör suşu da patojen bakterilerle arasında 3 mm aralıkla aynı boyutta karşısına ekilmiş ve 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Böylece inkübasyon sonucunda mor renk oluşumuna bakılarak çevreyi algılama sisteminin sinyal moleküllerinden BHL'nun varlığı değerlendirilmiştir. OdDHL molekülünün varlığını araştırmak için de aynı prosedür uygulanmıştır. Yeşil renk aranırken *A. tumefaciens* NT1 suşu için tek fark olarak 20 µg X-Gal ilaveli LBA besiyeri kullanılmıştır. Sonuçlar *P. aeruginosa* PAO1 suşuyla karşılaştırılarak *N*-Açil Homoserin Lakton (AHL) moleküllerinin tespiti için çapraz doğrulama testi yapılmıştır (Mohaddam vd., 2014).

Ramnolipid testi

0,2 g cetiltrimetilamonyumbromid (CTAB) ve 5 mg/l^{-1} metilen mavisi içeren M9-glutamat minimal medium agar petrileri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Siegmund ve Wagner, 1991). *A. hydrophila* suşları ise Luria Bertani Broth (LBB) besiyerinde 25°C'de 24 saat üretilmiştir. Bu suşların bir gecelik LBB kültürlerinden 20'şer µl alınarak M9-glutamat minimal medium agar petrilerinin ortasına damlatılmış ve 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda bakteri kolonisi etrafındaki saydam zon ramnolipid aktivitesinin göstergesi olarak kabul edilmiştir. Test sırasında steril LBB negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlar *P. aeruginosa* PAO1 suşuyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Ulusoy, 2007). Ramnolipid üretim testi üç paralel çalışılmıştır.

Proteaz testi

A. hydrophila suşları Tryptic Soy Broth (TSB) besiyerinde 25°C'de 24 saat üretilmiştir. Her bir kültürden %2 yağsız süt tozu içeren TSA petrilere açılan 3 mm'lik çukurlara 20 µl ilave edilmiş ve 25°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda bakteri kolonisi etrafındaki saydam zon proteolitik aktivitenin göstergesi olarak kabul edilmiştir (Swift vd., 1999; Dong vd., 2005; Ulusoy, 2007). Suşların proteolitik aktiviteleri bakteri kültürü ilave edilen bölgedeki saydam zon çapı ölçülerek kaydedilmiştir. Proteaz testi üç paralel çalışılmıştır.

Amilaz testi

A. hydrophila suşları ise TSB'de 25°C'de 24 saat üretilmiştir. Her bir kültürden %2 nişasta ilaveli TSA'ya çizgi tarzında ekim yapılmış ve 25°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 5 dk içinde okunan sonuçlarda inkübasyondan sonra koloniler üzerine lugol solüsyonu dökülmüş, pozitif reaksiyonlar koloni etrafında berrak alan oluşmasıyla tespit edilmiştir. Besiyerinde mavi renk negatif sonucu, koloni etrafındaki oluşan pembe-esmer bölge şüpheli reaksiyonu ifade etmektedir (Swift vd., 1999). Amilaz testi üç paralel çalışılmıştır.

Hemoliz testi

A. hydrophila suşları, %5 kan içeren TSA petrilerine çizgi tarzında ekilmiş ve 25°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda bakteri kolonisi etrafındaki saydam zon hemoliz aktivitesinin göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Swift vd., 1999). Hemoliz testi üç paralel çalışılmıştır.

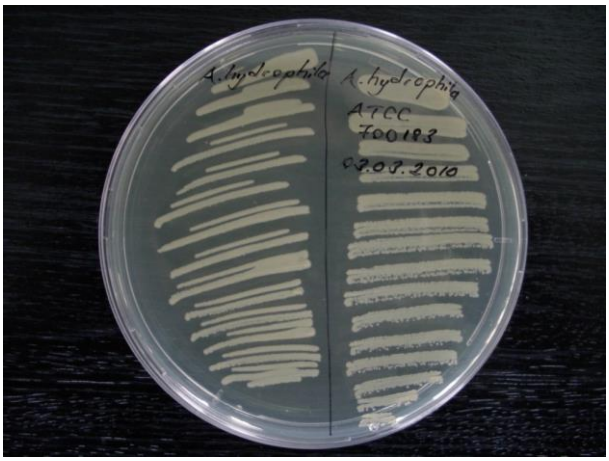
Elastaz testi

A. hydrophila suşlarına Elastin Kongo Red (ECR) testi uygulanmıştır (Ohman vd., 1980). *A. hydrophila* suşları LBB'de 25°C'de 14 saat üretilmiştir. Bu kültürlerin süpernatantlarından 100 µl üzerine 900 µl ECR tamponu (100 mM Tris, 1 mM $CaCl_2$, pH 7.5, 20 mg ECR) ilave edilmiş ve 30°C'de 3 saat karıştırılarak inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda çözülmemiş olan ECR 12000 devirde 2 dk santrifüj edilerek uzaklaştırılmış ve süpernatantlar 96 çukurlu yuvarlak tabanlı polyester plaklara 100 µl olarak her bir bakteri süpernatantı ilave edilerek çalışılmıştır. Plaklar OD'si 630 nm'de ELİSA okuyucusunda optik yoğunlukları ölçülerek hesaplanmıştır. Her suş için OD değerlerinin ortalamaları alınmıştır. Steril LBB negatif kontrol, *P. aeruginosa* PAO1 suşu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Ulusoy, 2007).

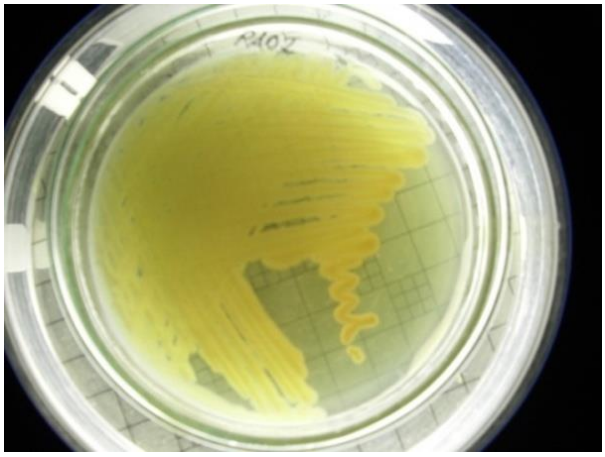
BULGULAR

Biyosensör suş *A. tumefaciens* NT1, pozitif kontrol suşu *P. aeruginosa,* balık patojeni *A. hydrophila*'da koloni yapıları

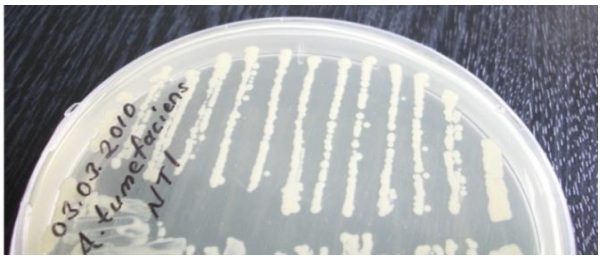
A. hydrophila'nın koloni rengi (Şekil 1)'de, pozitif kontrol insan patojenin koloni rengi *P. aeruginosa* PAO1 (Şekil 2)'de OdDHL sinyal molekülünün üretimini gösteren *A. tumefaciens* NT1 mutant suşunun koloni rengi (Şekil 3)'de LBA üzerinde verilmiştir. *C. violaceum* CV026 mutant suşta pigmentsiz koloni (Şekil 4) ve orijinal suşta *C. violaceum* 12472 (Şekil 5) mor renk koloni oluşumu gözlenmiştir.



Şekil 1. TSA besiyerinde gençleştirilen *A. hydrophila*
Figure 1. *A. hydrophila* rejuvenated on TSA medium

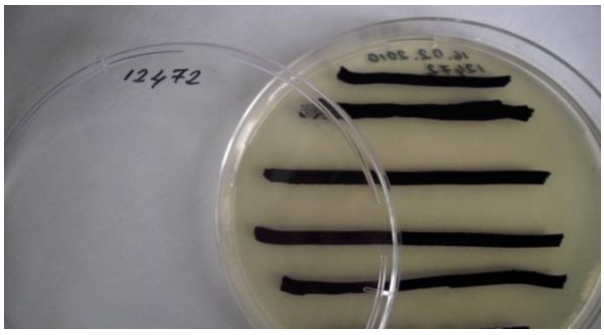


Şekil 2. LBA besiyerinde gençleştirilen *P. aeruginosa* (+kontrol)
Figure 2. *P. aeruginosa* (+control) rejuvenated on LBA medium



Şekil 3. LBA besiyerinde gençleştirilen *A. tumefaciens* NT1 mutant suş
Figure 3. *A. tumefaciens* NT1 mutant strain rejuvenated on LBA medium

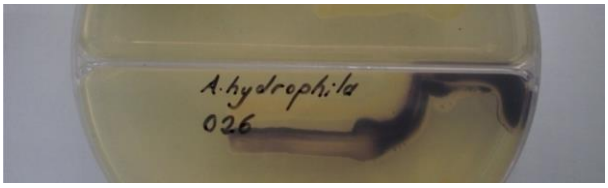
Şekil 4. LBA besiyerinde gençleştirilen *C. violaceum* CV026 mutant suş
Figure 4. *C. violaceum* CV026 mutant strain rejuvenated on LBA medium



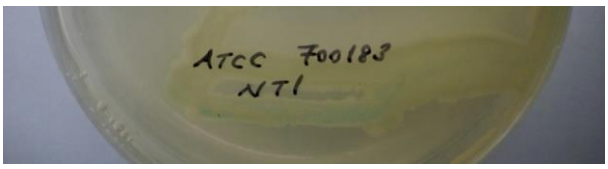
Şekil 5. LBA besiyerinde gençleştirilen *C. violaceum* 12472 orijinal suş
Figure 5. *C. violaceum* 12472 original strain rejuvenated on LBA medium

AHL molekülleri tespiti

Bakteri koloni renklerinin çok önemli olduğu bu prensipte kolonilerin renklerine özellikle dikkat edilmektedir. Bakteriyel iletişimin *A. hydrophila*'da olup olmadığı koloni renk değişimiyle belirlenmiştir. *C. violaceum* 12472 orijinal suş doğası gereği mor pigment üretmektedir. *C. violaceum* 12472 orijinal suş daha önceki çalışmalarla *C. violaceum* CV026 mutant suş formatına getirilmiştir. *C. violaceum* CV026 mutant suş; *A. hydrophila*'nın BHL molekülü üretmesiyle doğasına dönerek mor pigment üretir ve krem renk yerine mor renkte koloni oluşturur. Bu durum *A. hydrophila*'da BHL sinyal moleküllerinin varlığını ispatlamıştır (Şekil 6). Aynı prensiple *A. hydrophila*'nın OdDHL molekülü üretimesiyle *A. tumefaciens* NT1 mutant suşu doğasına dönerek yeşil pigment üretir ve krem renk yerine yeşil renkte koloni oluşturur. Bu durum *A. hydrophila*'da OdDHL sinyal moleküllerinin varlığını ispatlamıştır (Şekil 7).



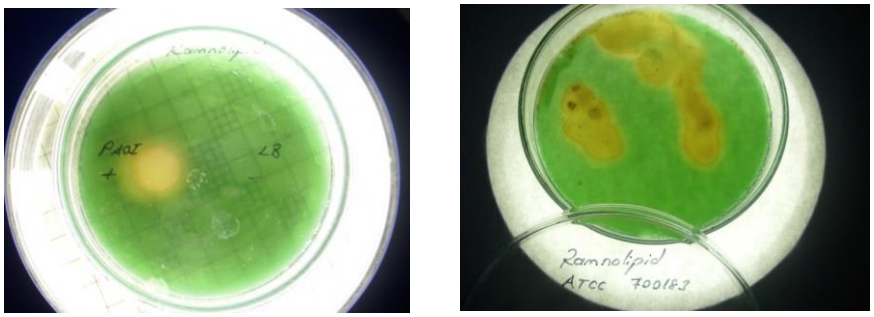
Şekil 6. *C. violaceum* CV026 aracılığıyla *P. aeruginosa* PAO1'de olduğu gibi *A. hydrophila*'nın kremden mor renge dönüşümüyle BHL sinyal moleküllerinin varlığı
Figure 6. Presence of BHL signaling molecules with the conversion of *A. hydrophila* from cream to purple color as are *P. aeruginosa* PAO1 via *C. violaceum* CV026



Şekil 7. *A. tumefaciens* NT1 aracılığıyla *P. aeruginosa* PAO1'de olduğu gibi *A. hydrophila*'nın kremden yeşil renge dönüşümüyle OdDHL sinyal moleküllerinin varlığı
Figure 7. Presence of OdDHL signaling molecules with the conversion of *A. hydrophila* from cream to green color as are *P. aeruginosa* PAO1 via *A. tumefaciens* NT1

Ramnolipid testi sonuçları

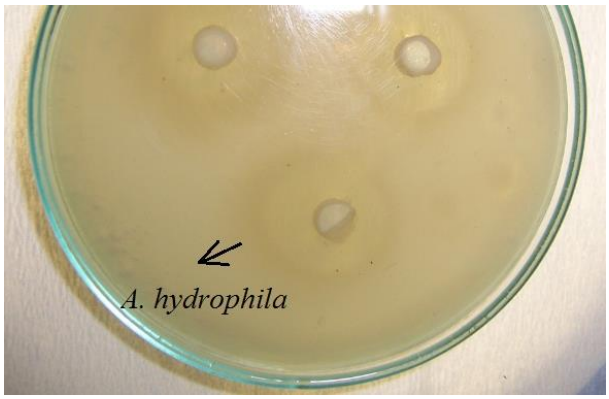
Besin kaynaklarının kısıtlı olduğu durumlarda, besin kaynaklarının bulunduğu ortamlara doğru bakterinin hareketine imkan sağlayan ve bir biyosurfaktan olan ramnolipid testi *A. hydrophila*'da (Şekil 8) pozitif sonuçlanmıştır.



Şekil 8. *P aeruginosa* PAO1 (+kontrol), LBB (-kontrol) ve *A. hydrophila*'da ramnolipid varlığı
Figure 8. *P. aeruginosa* PAO1 (+control), LBB (-control) and the presence of rhamnolipid in *A. hydrophila*

Proteaz testi sonuçları

A. hydrophila'da proteaz aktivitesi kolonilerin etrafındaki saydam zon görülmesi ile sonuç pozitif kaydedilmiştir (Şekil 9). *A. hydrophila* suşunun birinde ortalama 11,6 mm çap belirlenirken *A. hydrophila* suşunun diğerinde ortalama 13 mm olarak belirlenmiştir.



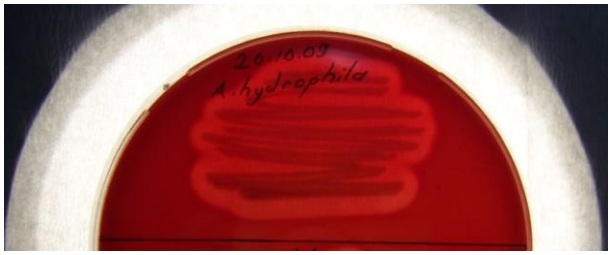
Şekil 9. *A. hydrophila*'da proteaz aktivitesi
Figure 9. Protease activity in *A. hydrophila*

Amilaz testi sonuçları

A. hydrophila'da amilaz aktivitesi pozitif tespit edilmiştir.

Hemoliz testi sonuçları

A. hydrophila'da hemoliz aktivitesi pozitif tespit edilmiştir. Çizgi tarzında yapılan ekimlerle hemoliz aktivitesinin varlığı belirlenmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. *A. hydrophila*'da çizgi ekiminde pozitif sonuç
Figure 10. Hemolysis zone in streaked of *A. hydrophila*

Elastaz testi sonuçları

A. hydrophila'da elastaz aktivitesi kontrol suşuna göre daha az tespit edilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bakterilerin iletişim mekanizması, toplu hareket yetenekleri, bakteriyel iletişimdeki moleküllerin yapısı ve işlevi çevreyi algılama sisteminin yönetimindedir. Bakteriler çevreyi algılama sistemiyle kritik gen ekspresyonlarını tetikleyerek AHL sinyal molekülleri aracılığıyla virülens faktörlerini üretmektedirler (Boşgelmez-Tınaz, 2003). Bu makalede balıklarda ciddi hastalıklara neden olan *A. hydrophila*'da çevreyi algılama sistemi ve yönetimindeki virülens faktörleri fenotipik testlerle araştırılmıştır. Suşlarda öncelikle, *C. violaceum* CV026 ve *A. tumafeciens* NT1 indikatör suşları kullanılarak BHL ve OdDHL sinyal moleküllerinin üretimi araştırılmıştır. *C. violaceum* CV026 suşu kullanılarak yapılan testlerde *A. hydrophila* suşlarının BHL sinyal molekülünü ürettiği, *A. tumefaciens* NT1 suşu kullanılarak yapılan testte de OdDHL sinyal molekülünü üretebildikleri tespit edilmiştir.

Prensibe göre renk değişimi söz konusu balık patojeninin çevreyi algılama sistemini kullandığını ispatlamıştır. Bakterilerdeki çevreyi algılama sistemi; yeterli çoğunluğa ulaştıklarını algıladıkları anda virülens faktörlerini aynı anda aktifleştirmelerini sağlayan bir sistemdir. Çevreyi algılama bakterilerin sözde zekasıyla hareket ettiklerinin de bir ifadesidir. Aralarındaki bakteriyel iletişimin bitirilmesi balıklar üzerindeki olumsuz etkilerini de büyük oranda bitirecektir.

Schwenteit vd. (2011) *C. violaceum* (McClean vd., 1997) ve *A. tumefaciens* pZLR4 (Cha vd., 1998) biyosensör suşlarını AHL molekülünü tespit için kullandıklarını belirtmişlerdir. Bu araştırmada da aynı iki bakteri türü biyosensör suş olarak kullanılmıştır.

Swift vd. (1997) *A. hydrophila ve A. salmonicidae* çevreyi algılama yoluyla gen expresyonunu gerçekleştirdiğini ve *A. hydrophila*'nın AHL moleküllerini ürettiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada benzerlik göstermiş ve *A. hydrophila* AHL moleküllerinden BHL ve OdDHL moleküllerini üretmiştir.

Garde vd. (2010) *A.hydrophila*'nın diğer *A. hydrophila* ile çevreyi algılama sisteminin düzenlediği C4-HSL sinyal molekülünü kullanarak iletişime geçen oportünist bir gram negatif bakteri olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırma makalesinde de sonuç aynıdır ve *A. hydrophila* suşları sinyal molekülleriyle iletişime geçerek virülens faktörlerini oluşturmuştur.

Kozlova vd. (2008) *A. hydrophila*'nın ishal izolatı SSU'su, sitotoksik, enterotoksik ve hemolitik etkinlikler içeren bir sitotoksik enterotoksin üretir ifadesini kullanmışlardır. Aeromonas suşunun, Act'a ek olarak, T3 ve T6 salgılama sistemleri ve aynı zamanda AI-1 benzeri otoendüktörlerin, *N*-açil homoserin laktonlarının üretimini modüle ettiği gösterilen karakteristiklerden oluştuğunu ve bunun QS ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada, *A. hydrophila* SSU'da S-ribosylhomocysteinase (LuxS) bazlı otoindüktör (AI)-2 QS sisteminin varlığını ve bunun bakteri virülensine katkısı olduğunu ortaya koymuşlardır. Mutajeneziyle hazırlanan *A. hydrophila*'nın luxS izogenik mutantının, biyofilm oluşumunda dinamikleri ve mimarisinde bir değişikliğe neden olduğunu, bakterinin hareketliliğinde bir düşüşe neden olduğunu ve septisemik durumlarda virülensi arttırdığını belirtmişlerdir. Söz konusu çalışmamızda da ilgili bakteri AHL molekülünü üretmiş ve yapılan virülens testlerine olumlu cevap vermiştir.

Daha çok *P. aeruginosa* konulu araştırmalarda dikkat çeken ramnolipid hemolitik etkisi olan bir hemolizindir.

Yapısındaki ramnoz içeren glikolipid sayesinde biyosürfaktan etki gösterir. Fosfolipaz C'nin etki etmesine zemin hazırlar. Ayrıca mukosiliyer taşınımı ve silya fonksiyonlarını inhibe eden (Karatuna ve Yağcı, 2008; Salyers ve Whitt, 1994) bu virülens faktörü araştırmamızın sonucunda balıklarda enfeksiyon oluşturan *A. hydrophila*'da görülmüştür. Ramnolipid aktivitesinin bu patojende varlığının tespitiyle ilgili patojenin virülens haritasına yeni bir bilginin eklenmesi açısından bu araştırma makalesi bir literatür kaynağı olmuştur.

Erdem vd. (2010) tatlı su balığı örneklerinin, bağırsak, solungaç, karaciğer ve deri numunelerinden izole edilen *Aeromonas* cinsine ait *A. hydrophila*, *A. caviae* ve *A. veronii bv. sobria* varlığını değerlendirmişlerdir. İzole edilen 78 *Aeromonas* suşunun siderofor, hemolitik, pirazinamidaz, proteaz aktiviteleri ve antibiyotik direnç durumlarını incelemişlerdir. Siderofor üretimi *A. hydrophila*, *A. caviae* suşlarının tamamında görülürken *A. veronii bv. sobria* suşlarının yalnızca ikisinde gözlemişlerdir. *A. hydrophila* ve *A. veronii bv. sobria* suşları hemolizin üretirken *A. caviae* suşlarını nonhemolitik olarak tespit etmişlerdir. Proteaz aktivitesi, *A. hydrophila*, ve *A. veronii bv. sobria* izolatlarının tamamında bulunurken *A. caviae* izolatlarının % 81,8'de saptamışlardır. Yaptığımız çalışmada buradaki araştırmayla benzer özellikler görülmüş *A. hydrophila*'da proteaz ve hemoliz testleri pozitif belirlenmiştir.

Swift vd. (1997) *A. hydrophila* ve *A. salmonicida* üzerinde yaptıkları bir çalışmada proteaz aktivitesinin pozitifliğiyle çevreyi algılama sisteminin bu bakterilerde olduğu belirtmiştir. İncelenen *A. hydrophila* suşlarında da proteaz sonuçları pozitiftir.

Rahim vd. (1984) Bangladeş'teki yaygın tatlı su balıklarından *Plotosus anguillaris*, *Lates calcarifer*, *Epinephelus megachir* ve *Telapia nilotica*'nın yüzeysel cilt ülserlerinden izole edilen *A. hydrophila* suşlarının enterotoksin üretimi, hemolizin üretimi ve bu iki virülens üretimi arasındaki ilişkiyi test etmişlerdir. *A. hydrophila* ile enfekte olmuş bu balıkların enterotoksijenik olduğu ve iyi pişirilmeden tüketilmesi durumunda ishal salgınlarından sorumlu olabileceğinin belirtildiği bu çalışmada *A. hydrophila* suşlarının β-hemolitik virülens faktörünü üreterek enterotoksijenik olduğu bildirilmiştir. Sonuçta β-hemolizinin üretimi enterotoksisitenin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Hatha vd. (2005) izole ettikleri hareketli *Aeromonas* suşlarının tamamının kanlı besiyerinde β-hemoliz oluşturduklarını yaptıkları çalışmayla bildirmiştir. Çalışmalarla desteklendiği gibi makalemizde araştırılan *A. hydrophila* suşlarında tespit edilen β-hemoliz aktivitesi balıklarda hastalık oluşumuna zemin hazırlayan ciddi virülens faktörlerindendir.

Allan ve Stevenson (1981) *A. hydrophila* NRC 505, alabalık içine enjekte edildiğinde patolojik etkilere neden olan hücre dışı maddeler ürettiğini belirtiler. Hücre dışı ürünlerin (EPS) proteolitik aktivite ve hemolitik aktivitesi balığın vücut sıcaklığı arttıkça balık üzerindeki etkisini kaybettiğini rapor ettiler. Proteaz eksikli bir mutant olan G35 suşunun, gökkuşağı alabalığı (*Salmo gairdneri*) ve benekli alabalık (*Salvelinus fontinalis*) için, ebeveyn suşundan belirgin şekilde daha toksik olduğunu görmüşlerdir. İntraperitoneal enjekte edilen benekli alabalığında *A. hydrophila*'nın hemolitik aktivitesinin öldürücü bir faktör olduğu sonucuna varmışlardır. İlgili makale de olduğu gibi bu çalışmamızda da incelediğimiz *A. hydrophila* suşlarının hemolitik aktivitelerinin üst düzeyde olduğunu rapor etmekteyiz.

Pandey vd. (2010) bakteri izolasyonundan sonra %2'lik süt tozu ve %10 jelatin içeren nutrient agara söz konusu bakteriyi inokule etmişlerdir. 24 ve 48 saatlik inkübasyon soucunda proteolitik aktiviteyi şeffaf zon oluşumuyla ispatlamışlardır. Hemolitik aktiviteyi ise insan kanı içeren TSA üzerinde çizgi ekimiyle belirlemişlerdir. Sonuçta patojen *A. hydrophila* suşlarında proteolitik ve hemolitik aktiviteleri belirlemişler ve SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat-Poliakrilamid jel elektroforezi) ile hemolizi görüntülemişlerdir. Söz konusu çalışmayla bu araştırma da metot benzerliği göstermekle birlikte aynı sonucu vermiştir.

Sonuç olarak, çevreyi algılama bakteriye güç katan bir sistem olmakla birlikte patojenite de oldukça etkilidir. Bakterilerin organize olarak virülens faktörlerini oluşturmaları çevreyi algılama sistemiyle gerçekleşmektedir. Bu nedenle QS moleküllerinin üretiminin önlenmesi, parçalanması veya inhibisyonu, QS sinyalinin alınmasının önlenmesi stratejileri üzerinde durmak önemlidir. Bu anlamda bakteri dünyasındaki enfeksiyon güçlerinden biri olan iletişimin kesilmesi su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalıktan korunmanın alternatif bir metodu olarak önerilebilir. Bakteri hücreleri arasındaki iletişimin engellenmesi (Qourum Quecching) aracılığıyla antibakteriyel etki elde etme çalışmaları gelecek için umut vaadeden bir alan olarak görülmektedir. Aynı zamanda çevreyi algılama sinyal moleküllerinin tespitiyle bu moleküllerin oluşumunun durdurulması hastalıkta erken teşhis kavramını gündeme getirmekte ve bu durumunda profilaksi de çığır açması hedeflenmektedir. *A. hydrophila*'nın çevreyi algılama sistemini kullanarak virülens faktörlerini yönettiğinin tespitiyle bir sonraki adıma dikkat çekilmektedir. Sonraki çalışmalarda da bu sistemin bloke edilmesini ele alan Qourum Quecching çalışmaları dikkati çekmektedir ve dünyada gerçekleştirilmektedir. Örneğin Chen vd. (2019) bir çalışmalarında *Bacillus licheniformis* T-1 güvenli ve etkili bir quorum quenching bakterisi olabileceğini ve akuakültürde *A. hydrophila* enfeksiyonlarına karşı koruma potansiyelinin yüksek olduğunu belirtmiştir.

Bilim dünyasına katkı için farklı bir bakış açısıyla bakterilerin bu molekül sayılarını nasıl anladıkları, yeterli sayıda çoğunluğa ulaştıklarını tespit ederken kullandıkları bu AHL moleküllerini sayıp saymadıkları, basit bir matematik hesabı olan molekül sayısını saymayı nasıl yaptıkları, Hellingwerf (2005) belirttiği gibi bakterilerin bir sinir ağı özelliklerinin birçoğunu barındırdığı bulgusundan hareketle bakteriler için düşük düzeyde bir zeka yapısının mı söz konusu olduğu konuları gündeme gelmektedir.

A. hydrophila suşlarının tamamının BHL ve OdDHL sinyal molekülleriyle *A. hydrophila* suşlarının bakteriyel iletişim ağı olan çevreyi algılama sistemini kullandığı ve bu sistemin yönetimindeki virülens faktörlerinden ramnolipidi, proteazı, amilazı ve hemolizi ürettiği tespit edilmiştir. Araştırmada BHL ve OdDHL sinyal molekülleri aracılığıyla *A. hydrophila*'nın çevreyi algılama sistemini kullandığının ispatıyla insan patojenine özgü elastaz ve ramnolipid gibi patolojik etkenlerden ramnolipide *A. hydrophila*'da rastlanmasının araştırmaya orijinallik kattığını düşünmekteyiz. Bu araştırma makalesinin *A. hydrophila*'da çevreyi algılama tespitiyle bir sonraki adım olarak bu patojenle ilgili quorum quenching çalışmalarına ve *İn vivo* çalışmalara yön göstereceği kanaatindeyiz.

TEŞEKKÜR

Bu araştırma makalesi Yüksek Lisans tezinden özetlenmiştir.

KAYNAKÇA

Abdelhamed, H.A., Banes, M., Karsi, A. & Lawrence, M.L. (2019). Recombinant ATPase of virulent *Aeromonas hydrophila* protects channel catfish against motile Aeromonas septicemia. *Frontiers in Immunology*. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01641

Albert, M.J., Ansaruzzaman, M., Talukder, K.A., Chopra, A.K., Kuhn, I., Rahman, M., Faruque, A.S.G. Islam, M.S., Sack, R.B. & Mollby, R. (2000). Prevalence of Enterotoxin Genes in *Aeromonas spp.* Isolated from Children with Diarrhea, Healthy Controls, and the Environment. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(10), 3785-3790.

Al-Fatlawy, H.N.K., & Al-Hadrawy, H.A. (2014). Isolation and characterization of *A. hydrophila* from the Al-Jadryia river in Baghdad (Iraq). *American Journal of Educational Research*, 2(8), 658-662. DOI: 10.12691/education-2-8-14

Allan, B.J. & Stevenson, R.M.W. (1981). Extracellular virulence factors of *Aeromonas hydrophila* in fish infections. *Canadian Journal of Microbiology*, 27(10), 1114-1122.

Altun, H.U. & Şener, B. (2008). Biyofilm infeksiyonları ve antibiyotik direnci. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39, 82-88.

Baldissera, M.D., Souza, C.F., Abbad, L.B., Verdi, C.M., Santos, R.C.V, Da Silva, A.S. & Baldisserotto, B. (2019). Dietary supplementation with caffeine increases survival rate, reduces microbial load and protects the liver against *Aeromonas hydrophila*-induced hepatic damage in the grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Microbial Pathogenesis,* 135, 103637.

Bastardo, A., Ravelo, C., Castro, N., Calheiros, J. & Romalde, J.L. (2012). Effectiveness of bivalent vaccines against *Aeromonas hydrophila* and *Lactococcus garvieae* infections in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Fish & Shellfish Immunology*, 32(5), 756-761. DOI: 10.1016/j.fsi.2012.01.028

Boşgelmez-Tınaz, G. (2003). Quorum Sensing in Gram-Negative Bacteria. *Turkish of Journal Biology*. 27, 85-93.

Bruhn, J.B, Dalsgaard, I., Nielsen, K.F., Buchholtz, C., Larsen J.L. & Gram L. (2005). Quorum sensing signal molecules (acylated homoserine lactones) in Gram negative fish pathogenic bacteria. *Diseases of Aquatic Organisms*, 65, 43-52. DOI: 10.3354/dao065043

Cha, C., Gao, P., Chen, Y.C., Shaw, P.D. & Farrand, S.K. (1998). Production of acylhomoserine lactone signals by gram-negative plant-associated bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11, 1119-1129.

Chen, B., Peng, M., Tong, W., Zhang, Q. & Song, Z. (2019). The Quorum Quenching Bacterium *Bacillus licheniformis* T-1 Protects Zebrafish against *Aeromonas hydrophila* Infection. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. DOI: 10.1007/s12602-018-9495-7

Chopra, A.K., Xu, X.J., Ribardo, D., Gonzalez, M, Kuhl, K., Peterson, J. W. & Houston, C. W. (2000). The Cytotoxic Enterotoxin of *Aeromonas hydrophila* Induces Proinflammatory Cytokine Production and Activates Arachidonic Acid Metabolism in Macrophages. *Infection and Immunity*, 68(5), 2808-2818.

Chu, W., Jiang, Y., Yongwang, L. & Zhu, W. (2011). Role of the quorum-sensing system in biofilm formation and virulence of *Aeromonas hydrophila*. *African Journal of Microbiology Research*, 5(32), 5819-5825, DOI: 10.5897/AJMR10.684

Daskalov, H. (2006). The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. *Food Control*, 17(6), 474–483, DOI: 10.1016/j.foodcont.2005.02.009

De Silva, B.C.J., Hossain, S., Dahanayake, P.S. & Heo, G.J. (2018). Aeromonas spp. from marketed Yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*): molecular characterization, phylogenetic analysis, virulence properties andantimicrobial susceptibility. *Journal of Applied Microbiology*, 126, 288-299. DOI: 10.1111/jam.14106

Dewi, A.F., Prajitno, A. & Yuniarti, A.A. (2019). Phytochemicals and The Ability of Plantago major Linn. Extract to Inhibit The growth of *Aeromonas hydrophila*. *The Journal of Experimental Life Science*, 9(2), ISSN:2087-2852.

Dong, Y., Zhang, X., Soo, H.L., Greenberg, P. & Zhang, L. (2005). The two-component response regulator PprB modulates quorum sensing signal production and global gene expression in *P. aeruginosa*. *Molecular Microbiology*, 56, 1287-1301. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04612.x

Erdem, B., Kariptaş, E. & Kaya, T. (2010). Siderophore, hemolytic, protease, and pyrazinamidase activities and antibiotic resistance in motile *Aeromonas* isolated from fish. *Turkish Journal of Biology*, 34, 453-462. DOI: 10.3906/biy-0901-20

Gong, Y.X., Zhu, B., Liu, G.L., Liu, L., Ling, F. & Wang, G.X. (2015). Single-walled carbon nanotubes as delivery vehicles enhance the immunoprotective effects of a recombinant vaccine against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 42(1), 213-220. DOI: 10.1016/j.fsi.2014.11.004

Hatha, M., Vivekanandhan, A.A., & Christol, G.J.J. (2005). Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised fresh water fish. *International Journal of Food Microbiology*, 98(2), 131-134. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.017

Hazen, T. C., Flierman, C. B., Hirsch, R. P., & Esch, G. W. (1978). Prevalence and distribution of *Aeromonas hydrophila* in the United States. *Applied and Environmental Microbiology*, 36, 731-738.

Hellingwerf, K.J. (2005). Bacterial observations: a rudimentary from of intelligence?. *Trends in Microbiology*, 13(4), 152-158. DOI: 10.1016/j.tim.2005.02.001

İkinci, Ö. (2010). Bakteriler Koku Alıyor. Yaklaşan Saat, Bilim ve Teknik, Güncelleme: 06.09.2010,http://www.yaklasansaat.com/haberdosya/2010_haberleri/eylul_2010/eylul7.asp (20.03.2019).

Karatuna, O. & Yağcı, A. (2008). *Pseudomonas aeruginosa*'da virülans faktörleri ve quorum sensing (Virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* and quorum sensing). *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 38(1), 42-51.

Kozlova, E.V., Popov, V.L., Sha, J., Foltz, S.M., Erova, T.E., Agar, S.L, Horneman, A.J. & Chopra, A.K. (2008). Mutation in the *S*-ribosylhomocysteinase (*luxS*) gene involved in quorum sensing affects biofilm formation and virulence in a clinical isolate of *Aeromonas hydrophila*. *Microbial Pathogenesis*, 45(5–6), 343-354. DOI: 10.1016/j.micpath.2008.08.007

Mathewson, J.J. & Dupont, H.L. (1992). Aeromonas species: role as human pathogens, In: Remington, J.S., Swartz, M.N. (Ed.), *Current Clinical Topics in Infectious Diseases*, (pp 26-36), Vol12e. Cambridge: Blackwell Scientific.

McClean, K.H., Winson, M.K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S.R., Camara, M., Daykin, M., Lamb, J.H., Swift, S., Bycroft, B.W., Stewart, G.S.A.B. & Williams, P. (1997). Quorum sensing and *Chromobacterium violeceum*: exploitation of violacein production for the detection of *N*-acylhomoserine lactones. *Microbiology*, 143, 3703-3711. DOI: 10.1099/00221287-143-12-3703

Moghaddam, M.M., Khodi, S. & Mirhosseini, A. (2014). Quorum Sensing in Bacteria and a Glance on *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology*: Open Access, 3(4), ISSN: 2327-5073. DOI: 10.4172/2327-5073.1000156

Nijland, R. (2010). Bacteria can have a 'sense of smell'. Science Daily, Science News, 17 August 2010. <www.sciencedaily.com/releases/2010/08/100816095719.htm>.

Ohman, D.E., Cryz, S.J. & Iglewski, B.H. (1980). Isolation and characterization of a *P. aeruginosa* PAO mutant that produces altered elastase. *Journal of Bacteriology*, 142, 836- 842.

Pandey, A., Naik, M. & Dubey, S.K. (2010). Hemolysin, Protease, and EPS Producing Pathogenic *Aeromonas hydrophila* Strain An4 Shows Antibacterial Activity against Marine Bacterial Fish Pathogens. *Journal of Marine Biology*, Article ID 563205, 9 pages. DOI: 10.1155/2010/563205

Rahim, Z., Sanyal, S.C., Aziz, K.M., Huq, M.I. & Chowdhury, A.A. (1984). Isolation of enterotoxigenic, hemolytic, and antibiotic-resistant *Aeromonas hydrophila* strains from infected fish in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(4), 865-867.

Salyers, A.A. & Whitt, D.D. (1994). Bacterial pathogenesis: a molecular approach. ASM Press, Washington, D. C., USA, pp. 260-268.

Saraçlı, M.A. (2006). "Quorum sensing": mikroorganizmalar iletişim mi kuruyor? *Gülhane Tıp Dergisi*, 48(4), 244-250.

Schwenteit, J., Gram, L., Nielsen, K.F., Fridjonsson, O.H., Bornscheuer, U.T., Givskov, M. & Gudmundsdottir B.K. (2011). Quorum sensing in *Aeromonas salmonicida* subsp. achromogenes and the effect of the autoinducer synthase AsaI on bacterial virulence. *Veterinary Microbiology*, 147, 389-397. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.07.020

Siegmund, I. & Wagner, F. (1991). New methods for detecting rhamnolipids excreted by *Pseudomonas* species during growth in mineral agar. *BioTechniques*, 5, 265-268.

Swift, S., Lynch, M.J., Fish, L., Kirke, D.F., Tomas, J.M., Stewart, G.S.A.B. & Williams, P. (1999). Quorum Sensing-Dependent Regulation and Blockade of Exoprotease Production in *Aeromonas hydrophila. Infection and Immunity*, 67(10), 5192-5199.

Swift, S., Karlyshev, A.V., Fish, L., Durant, E. L., Winson, M. K., Chhabra, S. R., Williams, P., Macintyre, S., & Stewart, G. S. A. B. (1997). Quorum Sensing in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida*: Identification of the LuxRI Homologs *AhyRI* and *AsaRI* and Their Cognate *N*-Acylhomoserine Lactone Signal Molecules. *Journal of Bacteriology*, 179(17), 5271-5281. DOI: 10.1128/jb.179.17.5271-5281.1997

Timur, G., & Timur, M. (2003). Balık Hastalıkları, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No: 5, s.538, İstanbul.

Ulusoy, S. (2007). Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında *N*-Açil Homoserin Lakton Üretiminin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 100s, Isparta.

Yılmaz-Yıldıran, H., Karahan, A.G. & Başyiğit-Kılıç, G. (2015). Laktik asit bakterilerinde çoğunluğu algılama mekanizması. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72(1), 79 – 90. DOI: 10.5505/TurkHijyen.2015.04695

Wilson, J.S., Churchill-Angus, A.M., Davies, S.P., Sedelnikova, S.E., Tzokov, S. B., Rafferty, J.B., Bullough, P.A., Bisson, C. & Baker, P.J. (2019). Identification and structural analysis of the tripartite α-pore forming toxin of *Aeromonas hydrophila*. *Nature* Communications, 10(2900), 1-17. DOI: 10.1038/s41467-019-10777-x

Zhang, X., Yang, W., Wu, H., Gong, X. & Li, A. (2014). Multilocus sequence typing revealed a clonal lineage of *Aeromonas hydrophila*, caused motile Aeromonas septicemia outbreaks in pond-cultured cyprinid fish in an epidemic area in central China. *Aquaculture*, 432, 1-6. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.04.017

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 37-41 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.05

RESEARCH ARTICLE ARAŞTIRMA MAKALESİ

Comparison on nutritional properties of wild and cultured brown trout and Atlantic salmon

Doğal ve kültür dere alabalığı ve Atlantik somonunun besinsel özelliklerinin karşılaştırılması

Ömer Alper Erdem[1] ● Başak Alkan[2]* ● Mehmet Tolga Dinçer[3]

[1] Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Fish Capturing and Fish Processing Technology, Section of Fish Processing Technology, 35100 Bornova, Izmir, Turkey http://orcid.org/0000-0002-1745-1751
[2] Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Fish Capturing and Fish Processing Technology, ection of Fish Processing Technology, 35100 Bornova, Izmir, Turkey http://orcid.org/0000-0002-2447-5823
[3] Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Fish Capturing and Fish Processing Technology, Section of Fish Processing Technology, 35100 Bornova, Izmir, Turkey http://orcid.org/0000-0003-1867-4305

*Corresponding author: bas.alkan2@gmail.com
Received date: 28.05.2019 Accepted date: 06.09.2019

How to cite this paper:
Erdem, Ö.A., Alkan, B. & Dinçer, M.T. (2020). Comparison on nutritional properties of wild and cultured brown trout and Atlantic salmon. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 37-41. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.05

Abstract: Brown trout is a fish species that both is caught and is cultured. This study has presented a comparison on proximate composition, fatty acids profile and lipid quality of wild- and cultured brown trout, and Atlantic salmon. Crude protein and crude oil of Atlantic salmon were found highest than wild and cultured brown trout and significantly differences (P<0.05). Although there is no significantly difference (P<0.05) between cultured brown trout and Atlantic salmon on eicosapentaenoic acid (EPA), there are significantly differences (P<0.05) between three fish samples on linoleic acid, linolenic acid and docosahexaenoic acid (DHA) values. Cultured brown trout has given lowest oleic acid (C18:1n9c) value and ΣMUFAs (Mono unsaturated fatty acids) with 28.05% and 35.43%. Atherogenic index and thrombogenic index of all groups were found low values. Although the highest value h/H was found in Atlantic salmon, the highest value of FLQ (Flesh lipid quality) was found in cultured brown trout.

Keywords: Proximate composition, fatty acids, lipid quality, brown trout, Atlantic salmon

Öz: Dere alabalığı hem avlanan hem de yetiştiriciliği yapılan bir balık türüdür. Bu çalışmada, doğal ve kültür dere alabalığı ve Atlantik somonunun temel besinsel kompozisyonları, yağ ve yağ asitleri arasındaki farklılıklar araştırılmıştır. Ham protein ve ham yağ verileri açısından Atlantik somununda daha yüksek ve istatistiki farklılık veren değerler bulunmuştur (P<0.05). Kültür dere alabalığı en düşük oleik asit (C18:1n9c) ve ΣTDYA değerini % 28.05ve % 35.43 ile vermiştir. Eikopentaenoikasit (EPA) açısından kültür dere alabalığı ve Atlantik somonarasında istatistiksel fark (P<0.05) bulunmazken, linoleik asit, linolenik asit ve dokasahekzaeoik asit (DHA) değerleri açısından üç balık örneğinde istatistiksel farklılıklar tespit edilmiştir (P<0.05). Aterojenik indeksve trombojenik indeks değerleri tüm gruplarda düşük olarak tespit edilmiştir. Her ne kadar en yüksek h/H değeri Atlantik somonda tespit edilmiş bile olsa en yüksek ELK (Et Lipit Kalite) değeri kültür dere alabalığında tespit edilmiştir (P<0.05).

Anahtar kelimeler: Besin madde bileşenleri, yağ asitleri, lipit kalitesi, dere alabalığı, Atlantik somon

INTRODUCTION

Nutritionists recommend that fish be eaten at least 2-3 times a week. In developed countries, the human fish consumption is usually higher than it is in developing countries (Lövkvist, 2014). Especially the Mediterranean diet based on a rich intake of fish. It is well known that fish lipids are rich in long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFAs), especially eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). Fish oils are claimed to help prevent childhood asthma, cardio-vascular disease, hypertension, alzheimer's disease and mood disorders. In addition, fish is an important source of animal proteins (rich in essential amino acids). Proteins are important for development and growth of the human body and repairing of worn out tissues (Mohanty, 2015). Fish contains essential vitamins and minerals like selenium, iron, iodine, calcium, vitamin A, D and B12 (Wine et al, 2012). That vitamins and minerals are required for transporting oxygen to all parts of the body, for strong bones, normal vision and the nervous system. In addition, their deficiency is associated with anemia, poor learning ability. Protein content of fish varies from 15 to 20% of the body weight. Besides, fat content of fish varies 5-20% of the body weight (Mohanty, 2015). There are three types of fatty acids; saturated fatty acids (SFAs), monounsaturated fatty acids (MUFAs) and polyunsaturated fatty acids (PUFAs).

Fish with high n-3 content, like salmon, is a primary source of the long chain n-3 fatty acids EPA and DHA (Lövkvist, 2014) .One of the commercially important species among Salmonids is the Atlantic salmon, which inhabits

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

riverine ecosystems at high latitudes.The main producer countries of Atlantic salmon (*Salmo salar*) are Norway, United Kingdom, Finland, Ireland, Russian Federation, Iceland, Denmark, Canada, United States of America, Chile and Australia. The major markets for farmed Atlantic salmon are Japan, the European Union and North America (FAO, 2019). In 2016, global aquaculture production value of Atlantic salmon was 2.247.759 tons. On the other hand, global capture production value was 2.319 tons in 2014 (FAO, 2019).

Brown trout is a close relative of the Atlantic salmon. Brown trout live in cold rivers and lakes, and spawn in rivers and streams with clean gravel beds. Migrating forms grow in lakes and the sea to a large size, but migrate upwards to spawn in rivers (FAO). Brown trout is one of the most preferred wild freshwater fish species in east Black Sea Region (Turkey) due to its nutritional value, palatable aroma and as well as being popular in sport fishing (Kaya and Erdem, 2009). For brown trout, global aquaculture value was 4.189 tons in 2016 (FAO, 2019). In Turkey, aquaculture production value of trout (*Salmo* sp.) was 980 tons for marine water and 1.944 tons for inland water in 2017 (TUİK, 2017).

The objective of this study is to investigate the potential of a new alternative species, which can be preferred by consumers, by comparing proximate composition, fatty acids profile and lipid quality of wild- and cultured brown trout (*Salmo trutta fario*) with those of Atlantic salmon (*Salmo salar*) known as a rich source of polyunsaturated fatty acids.

MATERIALS AND METHODS

Fish samples

In the current study, three fish fillet samples were used as materials; wild brown trout (*Salma trutta fario*), cultured brown trout (*Salmo trutta fario*) and cultured Atlantic salmon (*Salmo salar*). Ten individuals for each group were used during analyses. After fish were filleted, dorsal part of right fillet of fish was partitioned from ventral part and was used during analyses. Wild brown trout (*Salmo truttafario*) was purchased from a fish supplier in Izmir, Turkey. Cultured brown trout was taken from a fish farm in Giresun, Turkey. Cultured Atlantic salmon (*Salmo salar*) was bought from a fishery products' importer.

Proximate composition

Moisture value and crude fat analysis wererespectively reported by Ludorff and Meyer (1973) and Bligh and Dyer (1959), ash analysis and the protein assay were performedby a method of 935.47 AOAC(1984) and the Kjeldahl method of AOAC(1984), respectively. Carbohydrate value was determined by difference method (Atwater &Braynt, 1900). Energy value was calculated according to Merrill and Watt (1955).

Fatty Acids Analysis

Fatty acid compositions of fat extracted from the samples were determined by GC. Methyl esters were prepared by trans-methylation using 2 M KOH in methanol and n -heptane according to the method described by Ichihara et al. (1996). Moreover, HP - Agilent 6890 (Santa Clara, CA, USA) model gas chromatographer (GC) was used for the measurements. The GC analyses were performed in triplicate, and the results expressed as percentage of total FAME area as the mean value of a percentage.

Lipid quality indices

Using Ulbricht and Southgate equations (1991), the atherogenic and thrombogenic indices (AI and TI, respectively) were calculated to measure the risk of cooked samples to the incidence of coronary heart disease. On the other hand, to determine the healthiness priority of cooking technique.

$$Atherogenicindex = \frac{[(12:0) + (4 \times 14:0) + (16:0)]}{[\sum MUFA + \sum PUFA(n-6) + (n-3)]}$$

$$Thrombogenicindex = \frac{[(14:0) + (16:0) + (18:0)]}{\left[\begin{array}{c}(0.5 \times \sum MUFA) + (0.5 \times \sum PUFA(n-6)) + \\ (3 \times \sum PUFA(n-3)) + \left(\frac{n-3}{n-6}\right)\end{array}\right]}$$

Flesh lipid quality indices the percentage relationship between the main PUFAs n-3 eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) in flesh and total lipid in flesh (Abrami et al., 1992; Senso et al., 2007). Hypocholesterolemic/ Hypercholesterolemic ratio (h/H) was calculated according to Santos-Silva et al. (2002).

Statistical analysis

The results were presented as mean ± standard deviation. The differences between the means were described by using one-way ANOVA analysis. Tukey and Duncan tests on SPSS 20 program was used to look for significant differences between the mean values of the different outcomes. Significance level was determined as $P<0.05$ for all groups.

RESULTS AND DISCUSSION

Proximate composition

The proximate composition of wild brown trout, cultured brown trout and Atlantic salmon is shown in Table 1. Nostatistically significant difference ($P<0.05$) was determined between the parameters of protein, fat, ash and moisture between wild brown trout and cultured brown trout. The difference was determined in carbohydrate values of the samples ($P<0.05$).In the study performed by Antão-Geraldes et al (2018), all compositional parameters were found

significantly different between wild and cultured brown trout. They found the highest crude protein content, lipid content and dry matter in cultured samples. In farmed rainbow trout, crude protein content was found significantly same in wild brown trout and crude lipid content was found the highest and significantly different in all groups (Antão-Geraldes et al., 2018). Barylo and Loboiko (2018) were found protein and lipid content higher in rainbow trout than brown trout in their study. But also inverse results can be seen in the literature, protein and lipid content were found lower in rainbow trout in the study of Cano-Estrada et al (2018). In another study, the highest protein was found in wild brown trout but there was not a significantly different ($P<0.05$) between wild and cultured samples. Lipid content of wild brown trout was found lower than cultured one ($P<0.05$) (Erdem, 2006). In another study performed by Tilami et al. (2018), their results showed that protein content was found to be higher and lipid content was lower than our brown trout samples. In another study, wild brown trout significantly higher than farmed trout ($P<0.05$) (Kaya et al, 2014). Average protein content was higher in wild one and lower in cultured one than this study. In the wild brown trout crude lipid content was higher than farmed brown trout ($P<0.05$) (Kaya et al, 2014).

In this study, crude fat and crude protein values were significantly different between brown trout samples and Atlantic salmon ($P<0.05$).The study showed that these two values (crude protein and crude oil) were higher in Atlantic salmon ($P<0.05$). Similar results were also determined by Bastias et al. (2017). Holland et al.(1993) also determined the proximate composition of Atlantic salmon. In their study, these researchers found lower protein content and higher fat content than our findings. In the study also calorie contents of the samples were calculated. Highest calorie was determined from Atlantic salmon samples with the value of 147.82 kcal g^{-1}. The lowest value was determined (129.27 kcal g^{-1}) from the wild brown trout samples. The maximum amount of carbohydrate content was observed in wild brown trout (3.6%). That content was found 2.76 and 2.05 for cultured brown trout and Atlantic salmon, respectively. Kaya et al. (2014) reported that maximum energy values for wild and cultured brown trout were found as 140 kcal/100g. The highest carbohydrate amount was 2.97(g/100g in cultured brown trout and 1.17 (g/100g) in wild brown trout. Tilami et al. (2018), they found energy value 148kcal/100g in brown trout. In another study, Holland et al.(1993) were found energy value 180g/100g in Atlantic salmon.

Table 1. Proximate composition results

	Wild Brown Trout	Cultured Brown Trout	Atlantic Salmon
Protein (%)	17.22±0.25^{b}	17.36±1.10^{b}	20.88±0.88^{a}
Fat (%)	5.21±0.44^{b}	6.42±1.38^{b}	9.29±1.21^{a}
Moisture (%)	72.84±0.23^{a}	72.34±0.76^{a}	66.65±0.12^{b}
Ash (%)	1.13±0.07^{a}	1.12±0.03^{a}	1.13±0.06^{a}
Carbohydrate (%)	3.6±0.03^{a}	2.76±0.01^{b}	2.05±0.04^{c}
Calorie (kcal/g)	129.27	137.57	147.82

* Means in the same row with the same letter do not different significantly at the level of $P<0.05$ significance.

Fatty acid composition

The fatty acid composition of wild brown trout, cultured brown trout and Atlantic salmon are shown in Table 2.Total saturated fatty acids (SFA) was found higher in the wild brown trout compared with cultured brown trout and Atlantic salmon. Total monounsaturated fatty acids (MFAs) and polyunsaturated fatty acids (PUFAs) were higher in the Atlantic salmon and cultured brown trout, respectively. Oleic acid (C18:1n9c) was the most common fatty acid in all fish groups in this study. In oleic acid, there were significantly difference ($P<0.05$) between all groups and the highest value was found in Atlantic salmon. In linoleic acid (C18:2n6c), the highest value was found in cultured brown trout and that value was significantly different ($P<0.05$) in all groups. Eicosapentaenoic Acid (EPA) in the both cultured and Atlantic salmon were found similar ($P>0.05$). The highest EPA was found in Atlantic salmon and the lowest value was found in wild brown trout. Significant differences in docasahexaenoic acid (DHA) content were observed in wild brown trout, cultured brown trout and Atlantic salmon. The highest and the lowest DHA was observed in cultured brown trout and wild brown trout, respectively. The highest DHA/EPA ratio was found in cultured brown trout and the highest n-3/n-6 ratio was found in Atlantic salmon. In the study of Antão-Geraldes et al. (2018), they found the highest oleic acid value in cultured brown trout between cultured brown, wild brown and rainbow trout. There were significantly difference ($P<0.05$) between all groups. In wild brown, our oleic acid result was higher than the above mentinoed study. In linoleic acid they found the highest value in rainbow trout and there was significantly difference ($P<0.05$) between all groups. In wild and cultured brown trout, linoleic acid content was lower than results of current study on the other hand n-6 values were lower than results of our study. In the current study DHA/EPA value was also higher than their study. In another study, oleic acid values were lower than our results of study in wild and cultured brown trout (Erdem, 2006). In linoleic acid, our result was higher in cultured brown trout and lower in wild brown trout than that study. The highest DHA-EPA ratio was found in cultured brown trout but our ratio was higher than that value (Erdem, 2006). Tilami et al. (2018) reported that oleic acid in brown trout was found 22.94% in total fatty acids. The value is lower than our results in wild and cultured brown trout.Inlinolec acid, their results substantially lower than our results and their n-6 value lower than our values (Tilami et al., 2018).

Total amount of n-3 acids in Atlantic salmon were higher than other samples. On the other hand, total amount of n-6 acids in Atlantic salmon were lower than other samples. Cultured brown trout had the highest content of n-6 acids. In another study that performed by Bastias et al. (2017), oleic acid and linoleic acid values were lower than results of our study in Atlantic salmon. Additionally, DHA/EPA ratio and n-3/n-6 ratio were lower than our results. The results of Lövkvist's (2014) study, the highest linoleic acid value was

found lower than our salmon result. DHA/EPA ratio was found lower than our results. n-3 and n-6 results usually found lower than our study like other results. In another study, oleic acid value was found higher than our results but linoleic acid value was lower than our results in Atlantic salmon (Dadras, 2013). n-3/n-6 ratio was found same as our results but total n-3 and n-6 values were lower than our results.

Table 2. Fatty acids composition comparison of the samples

	Wild Brown Trout	Cultured Brown Trout	Atlantic Salmon
C4:0	0.07±0.00^{a}	0.05±0.00^{a}	0.04±0.00^{a}
C8:0	0.08±0.01^{a}	0.02±0.00^{b}	0.01±0.00^{b}
C12:0	0.03±0.00^{a}	0.03±0.00^{a}	0.03±0.00^{a}
C13:0	0.01±0.00^{b}	0.02±0.00^{a}	0.01±0.00^{b}
C14:0	1.91±0.01^{a}	2.51±0.01^{b}	1.84±0.01^{c}
C15:0	0.21±0.01^{b}	0.29±0.01^{a}	0.16±0.00^{c}
C16:0	17.98±0.04^{a}	15.86±0.10^{b}	10.53±0.05^{c}
C17:0	0.25±0.00^{b}	0.32±0.00^{a}	0.17±0.00^{c}
C18:0	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	3.24±0.02^{a}
C20:0	0.28±0.01^{b}	0.31±0.02^{b}	0.48±0.02^{a}
C21:0	0.03±0.01^{a}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
C22:0	0.25±0.01^{a}	0.24±0.03^{a}	0.21±0.00^{a}
C23:0	0.56±0.00^{b}	0.68±0.05^{a}	0.33±0.00^{c}
C24:0	0.09±0.01^{a}	0.12±0.04^{a}	0.11±0.01^{a}
∑SFA	21.75	20.45	20.4
C14:1	0.02±0.00^{a}	0.03±0.00^{a}	0.00±0.00^{b}
C16:1	3.48±0.02^{b}	3.82±0.02^{a}	2.03±0.01^{c}
C18:1n9t	0.10±001^{a}	0.09±0.01^{a}	0.04±0.00^{b}
C18:1n9c	34.78±0.15^{b}	28.05±0.07^{c}	37.78±0.18^{a}
C20:1	1.96±0.03^{b}	1.94±0.04^{b}	5.11±0.04^{a}
C22:1n9	0.23±0.00^{b}	0.27±0.06^{b}	0.78±0.02^{a}
C24:1	0.29±0.01^{b}	0.33±0.05^{b}	0.45±0.02^{a}
∑MFA	40.86	34.53	46.19
C18:2n6c	26.31±0.07^{b}	27.60±0.12^{a}	16.18±0.20^{c}
C18:3n6	0.49±0.02^{a}	0.39±0.02^{b}	0.09±0.01^{c}
C18:3n3	3.44±0.00^{c}	3.50±0.01^{b}	9.54±0.03^{a}
C20:2	1.66±0.01^{b}	1.62±0.04^{b}	1.83±0.01^{a}
C20:3n6	0.78±0.01^{a}	0.71±0.02^{a}	0.26±0.00^{b}
C20:3n3	0.25±0.00^{a}	0.27±0.03^{a}	1.14±0.02^{b}
C22:2	0.16±0.01^{a}	0.15±0.02^{a}	0.15±0.01^{a}
C20:5	1.03±0.01^{b}	2.44±0.07^{a}	2.49±0.02^{a}
C22:6	3.32±0.02^{c}	8.35±0.06^{a}	5.00±0.05^{b}
∑PUFA	37.44	45.03	36.68
PUFA/SFA	1.72	2.20	1.80
Σn6	27.58±0.02	28.70±0.04	16.53±0.05
Σn3	8.03±0.01	14.56±0.04	18.17±0.03
Σn3/Σn6	0.29	0.51	1.1
DHA/EPA	3.22	3.42	2.01

* Means in the same row with the same letter do not different significantly at the level of P<0.05 significance

Lipid quality indices

It is important that AI and TI have lower values for lipid quality because of coronary diseases' indices of them. Although three fish group showed lower values, AI and TI of wild and cultured brown trouts were higher than that of Atlantic salmon (P<0.05).Secci et al. (2015) reported that AI and TI values for Atlantic salmon were respectively 0.22 and 0.13. The AI values were the same as current study. TI value of wild rainbow trout (0.20) was lower than cultured rainbowtrout (0.30) found by Fallah et al. (2011). However, there is no similar situation in the present study. h/H ratio provides effects of fatty acids being apprehensible on cholesterol metabolism. Thus, it is preferred that the ratio shows higher value (Santos et al., 2014; Pleadin et al., 2017). h/H was lower in wild and cultured brown trout than in Atlantic salmon (Table 3). Dal Basco et al. (2013) informed on h/H ratios of wild and cultured brown trout, 0.18 and 2.16, respectively. These values were quite lower than those of the present study. Although Atlantic salmon is known as a good n-3 fatty acids source, DHA value of cultured brown trout was found higher than Atlantic salmon in this study. As a consequence, FLQ related to EPA and DHA percentage in total lipids was highest in cultured brown trout (P<0.05).

Table 3. Lipid quality indices

	Wild Brown Trout	Cultured Brown Trout	Atlantic Salmon
AI	0.34±0.01^{a}	0.33±0.02^{a}	0.22±0.01^{b}
TI	0.34±0.01^{a}	0.24±0.02^{b}	0.18±0.01^{c}
FLQ	4.34±0.02^{c}	10.79±0.06^{a}	7.49±0.08^{b}
h/H	3.46±0.15^{c}	3.80±0.21^{b}	5.74±0.03^{a}

* Means in the same row with the same letter do not differ significantly at the level of P<0.05 significance

CONCLUSIONS

In this study, proximate composition, fatty acids and lipid quality indices results of wild and cultured of brown trout and Atlantic salmon were compared. The highest ΣMUFAs value was found in Atlantic salmon, and the lowest was found in cultured brown trout. Nevertheless, the highest ΣPUFAs value was found in cultured brown trout, and the lowest was found in Atlantic salmon. Unsurprisingly, Atlantic salmon showed a good performance for Σn3, Σ3/Σ6,and h/H. However, the highest values of PUFAs/SFAs, DHA/EPA and FLQ were found in cultured brown trout. These findings can give an alternative fish species, which can be preferred by consumers who also care about healthy diet.

REFERENCES

Abrami, G., Natiello, F., Bronzi, P., McKenzie, D., Bolis, L. &Agradi, E. (1992). A comparison of highly unsaturated fatty acid levels in wild and farmed eels (*Anguilla Anguilla*). ComparativeBiochemistryand Physiology, 101B (1/2), 79–81. DOI: 10.1016/0305-0491(92)90161-J

Antão-Geraldes, A.M., Hungulo, S.R., Pereira, E., Teixeira, A., Teixeira, A. & Rodrigues, S. (2018). Body composition and sensory quality of wild and farmed brown-trout (Salmo trutta) and of farmed rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ciência Rural*, *48*(9). DOI: 10.1590/0103-8478cr20180190

AOAC, (1984). Association of Official Analytical Chemists, 14th ed., Washington, DC, U.S.A., Method 935.47.

AOAC, (1995). Association of Official Analytical Chemists International, 16th ed., Gaithersburg, MD, sec. 33.2.11, Method 991.20.

Atwater, W.O. & Bryant, A.P. (1900). The availability and fuel values of food materials. *Connecticut (Storrs) Agricultural Experiment Station 12th Annual Report,* 1899.

Barylo, Y.O. & Loboiko, Y.V. (2018). The comparison of qualitative composition of the muscle tissue of brown trout, rainbow trout and brook trout. *The Animal Biology*, *20*(1), 16-22. DOI: 10.15407/animbiol20.01.016

Bastías, J.M., Balladares, P, Acuña, S., Quevedo, R. & Muñoz, O. (2017). Determining the effect of different cooking methods on the nutritional composition of salmon (*Salmo salar*) and chilean jack mackerel (*Trachurusmurphyi*) fillets. *PLOS ONE*,*12*(7). DOI: 10.1371/journal.pone.0180993

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification, *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology37*(8), 911-917.

Cano-Estrada, A., Castañeda-Ovando, A., Ramírez-Godinez, J. & Contreras-López, E. (2018). Proximate and fatty acid composition in raw and cooked muscle tissue of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with commercial fishmeal. *Journal of Food Processing and Preservation*,*42*(8). DOI: 10.1111/jfpp.13674

Dadras, S. (2013). Composition and morphology of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) as affected by dietary oil.Master thesis,Norwegian University ofLife Sciences.

Dal Bosco, A., Mugnai, C., Roscini, V. & Castellini, C. (2013). Fillet Fatty Acid Composition, Estimated Indexesof Lipid Metabolismand Oxidative Statusof Wildand Farmed Brown Trout (*Salmo trutta* L.). *Italian Journal of Food Science*, *25*(1), 83-89.

Erdem, M.E. (2006). Doğu Karadeniz bölgesinde doğadan avlanan ve yetiştiriciliği yapılan dere alabalığının (*Salmo trutta forma fario* Linneaus, 1758) et kalitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Doktora tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Fallah, A.A., SiavashSaei-Dehkordi, S. & Nematollahi, A. (2011). Comparative assessment of proximate composition, physicochemical parameters, fatty acid profile and mineral content in farmed and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(4), 767-773. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2011.02554.x

FAO (2019). FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *Salmo salar* (Linnaeus, 1758) (accessed 10.08.2019) http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Salmo_salar/en

Holland, B., Brown, J. & Buss, D.H. (1993). Ministry of Agriculture; Fisheries and Food. *Fish and Fish Products: Third supplement to the fifth edition of McCance and Widdowson's*, The composition of foods. DOI: 10.1039/9781849732611-FP001

Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K. & Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. Lipids, *31*(5), 535-539. DOI: 10.1007/BF02522648

Kaya, Y. & Erdem, M.E. (2009). Seasonal comparison of wild and farmed brown trout (*Salmo trutta forma fario* L., 1758): crude lipid, gonadosomatic index and fatty acids. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(5), 413-423. DOI: 10.1080/09637480701777886

Kaya, Y., Erdem, M.E. & Turan, H. (2014). Monthly Differentiation in Meat Yield, Chemical and Amino Acid Composition of Wild and Cultured Brown Trout (*Salmo trutta forma fario*Linneaus, 1758). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*,*14*(2). DOI: 10.4194/1303-2712-v14_2_19

Ludorff, W. & Meyer, V. (1973). Fische und Fischerzeugnisse. 2nd edition. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey.

Lövkvist, S. (2014). An investigation of the lipid content and lipid composition in Atlantic salmon, pink salmon and striped catfish, obtained at the local retailer in Uppsala, Sweden. Master thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.

Merrill, A.L. & Watt, B.K. (1955). Energy value of Foods, basis and derivation. United States Department of Agriculture, *Agriculture handbook*, 74p.

Mohanty, B. P. (2015). Nutritional value of food fish. *Conspectus of Inland FisheriesManagement*, *4*, 15-21.

Pleadin, J., Lešić, T., Barić, R., Bogdanović, T., Oraić, D., Vulić, A., Legac, A. & Zrnčić, S. (2017). Nutritional Quality of Different FishSpecies Farmed in the Adriatic Sea. *Italian Journal of Food Science, 29*, 537-549.

Santos-Silva, J., Bessa, R.J. & Santos-Silva, F. (2002). Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. *Livestock Production Science*, *77*, 187–194. DOI: 10.1016/S0301-6226(02)00059-3

Santos, H.M.C, Nishiyama, M.F., Bonafe, E.G., Oliveira, C.A.L., Matsushita, M., Visentainer, J.V. & Ribeiro, R.P. (2014). Influence of a Diet Enriched with Perilla Seed Branon the Composition of Omega-3 Fatty Acid in Nile Tilapia. *Journal of the American Society,91*(11). DOI: 10.1007/s11746-014-2545-8

Secci, G., Serra, A., Concollato, A., Conte, G., Mele, M., Olsen, R.E. & Parisi, G. (2015). Carbon monoxide as stunning/killing method on farmed Atlantic salmon (*Salmosalar*): effects on lipid and cholesterol oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 96(*7), 2426-2432. DOI: 10.1002/jsfa.7362

Senso, L., Suarrez, M. D., Ruiz-Cara, T. & Garcıŕa-Gallego, M. (2007). On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparusaurata*). *Food Chemistry*, 101, 298–307.

Tilami, S.K., Sampels, S., Zajíc, T., Krejsa, J., Másílko, J. & Mráz, J. (2018), Nutritional value of several commercially important river fish species from the Czech Republic. *PeerJ*. DOI: 10.7717/peerj.5729

TUİK, (2017). TürkiyeİstatistikKurumu. Avlanan deniz balıkları miktarı (accessed 9.4.2018) https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr

Ulbricht, T.L.V., & Southgate, D.A.T. (1991) Coronary heart disease: seven dietary factors. *The Lancet,* 338, 985-992.

Wine, O., Osornio-Vargas, A.R. & Buka, I.S. (2012). Fish consumption by children in Canada: Review of evidence, challenges and future goals. *Paediatrics & Child Health*, 17(5), 241-245. DOI: 10.1093/pch/17.5.241

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 43-51 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.06

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

Farklı konsantrasyonlarda kullanılan nisinin vakum paketlenerek soğukta (4±2°C) depolanan levrek (*Dicentrarchus labrax*) filetolarının yağ asit profili üzerine etkileri

The effects of nisin used at different concentrations on fatty acids profile of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets under chilled (4±2°C) and vacuum-packed conditions

Yılmaz Uçar[1,2*] ● Fatih Özoğul[3] ● Mustafa Durmuş[4] ● Ali Rıza Köşker[5] ● Yeşim Özoğul[6]

[1] Fatsa Faculty of Marine Science, Ordu University, Ordu, Turkey
[2] Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Cukurova University, Balcalı, 011330 Adana, Turkey http://orcid.org/0000-0002-6770-6652
[3] Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Cukurova University, Balcalı, 011330 Adana, Turkey http://orcid.org/0000-0002-0655-0105
[4] Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Cukurova University, Balcalı, 011330 Adana, Turkey http://orcid.org/0000-0002-2836-5154
[5] Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Cukurova University, Balcalı, 011330 Adana, Turkey http://orcid.org/0000-0002-6148-725X
[6] Department of Seafood Processing Technology, Faculty of Fisheries, Cukurova University, Balcalı, 011330 Adana, Turkey http://orcid.org/0000-0001-7769-9225

*Corresponding author: yucar@cu.edu.tr
Received date: 29.05.2019 Accepted date: 06.09.2019

How to cite this paper:
Uçar, Y., Özoğul, F., Durmuş, M., Köşker A.R. & Özoğul, Y. (2020). The effects of nisin used at different concentrations on fatty acids profile of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets under chilled (4±2°C) and vacuum-packed conditions. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 43-51.
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.06

Öz: Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (% 0.2, % 0.4 ve % 0.8) kullanılan nisinin vakum paketlenerek soğukta depolanan levrek (*Dicentrarchus labrax*) filetolarının yağ asitleri profilleri üzerine etkileri 18 günlük depolama süresi boyunca araştırılmıştır. Depolama günleri boyunca yapılan yağ asidi analizleri sonucunda yüksek oranlarda tespit edilen doymuş yağ asitleri (SFA) miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0) olarak belirlenmişken, yüksek oranlarda belirlenen tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) palmitoleik asit (C16:1), oleik asit (C18:1n9), vaksenik asit (C18:1n7), eikozenoik asit (C20:1n9) olarak belirlenmiştir. Yüksek oranlarda tespit edilen çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ise linoleik asit (C18:2n6), linolenik asit (C18:3n3), eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5n3) ve dekosaheksaenoik asit (DHA, C22:6n3) olmuştur. Depolama periyodunun sonunda, kontrol ve nisin muamele gruplarındaki doymuş yağ asidi seviyeleri artmış ve tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asidi seviyeleri genel olarak düşmüştür. Bu durum, özellikle doymamış yağ asitlerinin oto-oksidasyon reaksiyonlarının bir sonucu olarak ilk olarak peroksitlere ve ikincil olarak da aldehitler, ketonlar ve alkollere dönüşmesi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, kontrol grubunda depolama süresinin son günü en düşük çoklu doymamış yağ asidi seviyeleri bulunmuştur. Muamele grupları arasında, % 0.8 nisin grubu en yüksek PUFA içeriğine sahip olmuştur. Nisin uygulanmasının, doymamış yağ asitlerinin oto-oksidasyon reaksiyonlarını geciktirdiği düşünülmektedir. Nisinin kullanılan doza bağlı olarak levrek filetolarının yağ asidi bileşimleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Nisin, levrek, vakum paketleme, yağ asitleri, PUFA

Abstract: In this study the effects of nisin used at different concentrations (0.2%, 0.4% and 0.8% w/v) on the fatty acids profile of vacuum-packed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets were investigated during the 18 day of cold storage period. As a result of the fatty acid analysis throughout storage high concentration saturated fatty acids (SFA) were determined as myristic acid (C14:0), palmitic acid (C16:0) and stearic acid (C18:0) and high concentrations of monounsaturated fatty acids (MUFA) were determined as palmitoleic acid (C16:1), oleic acid (C18:1n9), waxenic acid (C18:1n7), eicozenoic acid (C20:1n9). Polyunsaturated fatty acids (PUFA) which were determined at high concentration were linoleic acid (C18:2n6), linolenic acid (C18:3n3), eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5n3) and decosahexaenoic acid (DHA, C22:6n3). At the end of the storage period, saturated fatty acid levels in the control and nisin treatment groups increased and monounsaturated and polyunsaturated fatty acid levels generally decreased. This is thought to be related to the transformation of especially unsaturated fatty acids to peroxides and aldehydes, ketones and alcohols as a result of auto-oxidation reactions. In the present study, lowest polyunsaturated fatty acid levels were found in the control group on the last day of the storage period. Among treatment groups, 0.8% nisin group gave the highest PUFA content. It was thought that the application of nisin delay the auto-oxidation reactions of unsaturated fatty acids. It was thought that the type of oil used to prepare nanoemulsions can have a positive effect on fatty acid compositions. As a result, it is thought that the nisin depending on the dose used can have a positive effect on fatty acid compositions of seabass fillets.

Keywords: Nisin, sea bass, vacuum packaging, fatty acids, PUFA

GİRİŞ

Balıklar, sınırlı raf ömrüne sahip, en çok bozulan gıda ürünlerinden biridir Mikrobiyal ve kimyasal bozulma, balık ölür ya da yakalanır yakalanmaz başlar. Bu durum ölü balıklarda meydana gelen bir dizi karmaşık değişimin temel olarak bakteriler ve enzimler tarafından oluşturulmasının bir sonucudur. Su ürünlerinde mikrobiyolojik büyümenin yanı sıra, diğer kimyasal indeksler, bozulma seviyesini ve ürünün tazeliğini yansıtabilir. Örneğin, lipid oksidasyonu ve yağ asitlerinde meydana gelen değişimler kimyasal bozulmayı göstererek ürünün tazeliği hakkında bilgi vermektedir (Gökoğlu vd., 2004; Erkan ve Özden, 2008).

Balık yağı, eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) gibi esansiyel yağ asitleri içermesinden dolayı

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

balık tüketimi insan sağlığı için oldukça önemli olmaktadır. Bu esansiyel yağ asitlerinin kalp krizi, kalp-damar hastalıkları, depresyon, migren, eklem romatizması, diyabet, yüksek kolesterol, hipertansiyon, kanser ve alerji gibi birçok hastalığın önlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Kinsella, 1987; Leaf ve Weber, 1988; Simopoulos, 1991; Rendeiro vd., 2016; Palmquist, 2009; Stoll, 2002; Itsiopoulos vd., 2009). Buna ek olarak, omega-3 yağ asitleri, beyin ve bağışıklık sisteminin gelişiminde önemli bir role sahiptir. Beyin hücrelerinde düşük DHA düzeyi, depresyon, hafıza kaybı, Alzheimer, şizofreni ve görme problemleri gibi sorunlara yol açabilmektedir (Kaya vd. 2004). Haftada en az iki kez balık tüketen çocukların duygusal ve davranışsal bozukluklar geliştirme olasılığının daha düşük olduğu bildirilmiştir (Llaurado vd., 2016).

Pek çok gıda ürününde lipit oksidasyonu istenmeyen bir durumdur. Bu durum toksik reaksiyon ürünlerinin neden olduğu bozulmalara ve istenmeyen tatlara yol açabilmektedir (Halliwell vd., 1995). Bu sorunu önlemek amacıyla sentetik veya doğal antioksidanlar, lipit oksidasyonunu geciktirmek için kullanılmaktadır. Özellikle sentetik antioksidanların insan sağlığına zararlı etkilerinden dolayı son zamanlarda doğal antioksidanların kullanımı hem tüketiciler hem de gıda endüstrisi tarafından tercih edilmektedir. Sonuç olarak, sentetik yöntemleri değiştirebilecek daha güvenli ve daha etkili doğal malzemelerin kullanılmasına izin veren yeni yöntemlerin kullanımında artış gözlenmektedir. Sentetik koruyucuların gıda ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, antibiyotiğe dirençli suşları geliştirmesi ve tüketicilerin sentetik koruyuculara karşı olumsuz algıları nedeniyle daha "doğal" ve "minimum düzeyde işlenmiş" gıdalara yönelik bir talep yaratmıştır. Doğal olarak üretilen antimikrobiyal ve antioksidan ajanlara büyük ilgi olmuştur. Son zamanlarda ise nisin bakteriyosini gıda muhafaza için kullanılan yöntemlerden biri haline gelmiştir.

Lactococcus lactis subsp. *lactis* tarafından üretilen antimikrobiyal aktiviteye sahip bir peptit olan nisin, genellikle güvenli olarak kabul edilir ve gıdalardaki patojenleri kontrol etmek için çeşitli şekillerde kullanılmıştır (Juneja vd., 2012; Mills vd., 2011). Nisinin soğukta depolanmış balıklarda *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas* sp. dahil olmak üzere yaygın olarak bulunan bakteriler üzerinde inhibitör etkileri vardır. Nisinin antimikrobiyal mekanizması, sitoplazmik içeriğin sızmasını indükleyen gözeneklerin oluşmasıyla birlikte, bakteriyel plazma membranındaki lipit II ile etkileşimine bağlıdır (Bauer ve Dicks, 2005). Bazı antioksidant ekstraktlarla nisin etkileşimi veya duyusal değişiklikler olmaksızın gıdaya uygulandığında sinerjik etki gösteren bileşikler üzerine yapılmış çalışmalar da mevcuttur (Abdollahzadeh vd., 2014; Gao vd., 2014).

Türkiye'nin genelinde olduğu gibi Akdeniz Bölgesinde de en çok üretimi yapılan levrek balığının 2017 yılı içerisindeki üretim miktarı 99.971 ton olarak o yılki üretimin % 36.16'sını oluşturmuştur (TÜİK, 2017). Yetiştiricilik yoluyla elde edilen üretimin son 10 yıl içerisinde giderek arttığı göz önüne alındığında levrek üretiminin bu artışın en büyük paydaşı olduğu görülmektedir. Bu tür, genel olarak, tüm ya da filetolanmış halde, Türkiye'deki pazarın büyük bir kısmı tarafından tüketilmektedir. Deniz levreği normalde buzdolabında depolandığında oldukça sınırlı raf ömrüne sahip olduğundan, yurt içinde tüketildiği ve büyük miktarlarda ihraç edildiği için, raf ömrünü uzatmak oldukça önemlidir. Bu nedenlerde dolayı bu çalışmada, ticari olarak temin edilen ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan nisin gruplarının vakum paketleme teknolojisi ile kombine kullanımının soğukta depolanmış levrek filetoları yağ asit profilleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada kullanılan nisin, ticari olarak Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA) firmasından temin edilmiştir. *Lactococcus lactis* tarafından üretilen nisin %2.5 konsantrasyonda sodyum klorid ve denature süt tozları (10^6 IU/g) ile dengelenmiştir. Nisin solüsyonları % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 konsantrasyonlarında sterilize edilmiş saf su kullanılarak hazırlanmıştır.

Çalışmada ekonomik değeri yüksek ve yaygın bir şekilde kültürü yapılan levrek (*Dicentrarchus labrax*) kullanılmıştır. Balıklar Ocak 2018 tarihinde Mersin'de üretim yapan Çamdere Deniz Ürünleri firmasından temin edilmiştir. Balıklar hasat edilir edilmez hipotermi uygulanarak öldürülmüş ve içi buz dolu izole straforlar içinde Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojileri Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Balıkların ortalama boy ve ağırlıkları sırasıyla 29.77±1.02 cm ve 312.06±26.85 g olarak ölçülmüştür. Buzlu strafor kutularda Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojileri Laboratuvarına getirilen balıkların, iç organları temizlendikten sonra filetoları çıkarılmıştır Levrek filetoları yıkanarak kontrol ve muamele grupları olmak üzere 4 gruba ayrılmış, nisin uygulaması için buzda muhafaza edilmişlerdir.

Metot

Balıklara nisin uygulaması ve depolama koşulları

Nisin solüsyonlarının levrek filetolarına uygulanması Ceylan (2014) yönteminde yapılan bazı modifikasyonlara göre gerçekleştirilmiştir. Nisin solüsyonlarının balık filetosuna uygulanması daldırma yöntemiyle yapılmıştır. Filetolar 10 dakika boyunca farklı konsantrasyonlarda hazırlanan nisin solüsyonlarının içerisinde bekletilmiştir. Muamele edilen filetolar vakum paketlenerek 4±2°C'de buzdolabında depolanmıştır. Paketleme materyali olarak polyamid bazlı poşetler (Polinas, Manisa, Türkiye) kullanılmıştır. Poşetlerin kalınlığı 90 µm olup, su ve oksijen geçirgenliği sırasıyla 8.5 g/m^2/24 saat ve 160 cm^3/m^2/24 saattir. Balık filetolarının vakumlanmasında Reepack RV50 (Seriate (BG), Italya) marka vakum paketleme cihazı kullanılmıştır. Vakum paketlenerek soğukta depolamada kontrol ile beraber toplam 4 grup oluşturulmuştur. İlk aşamayla benzer şekilde bu aşamada da depolama boyunca düzenli aralıklarla 0, 3, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18. günlerinde yağ asitleri analizleri yapılmıştır.

Yağ asitleri analizi

Eksrakte edilmiş lipitten, yağ asidi metil esterleri Ichihara vd. (1996) metoduna göre yapılmıştır. 25 mg eksrakte edilmiş yağ örneği üzerine 4mL 2M'lık KOH (Merck) ve 2mL n-heptan (Merck) ilave edilmiştir. Daha sonra oda sıcaklığında 2 dakika vortekste karıştırılmış, 4000 rpm' de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve heptan tabakası gaz kromotografisinde analiz için viallere alınmıştır. Yağ asidi analizi, bir gaz kromatografi (GC) Clarus 500 cihazı (Perkin–Elmer, USA), bir adet alev iyonizasyon detektörü ve SGE (60 m Length x 0.32 mm I.D. x 0.25 Film BPX70, USA) kapillar kolonu kullanılarak analiz edilmiştir. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırası ile önce 220 °C 'ye sonra 260 °C'ye ayarlanmıştır. Bu esnada fırın sıcaklığı 8 dakika 140°C'de tutulmuştur. Sonrasında her dakika 4 °C arttırılarak 220 °C'ye kadar, 220 °C'den 230 °C'ye de her dakika 4°C arttırılarak getirilmiştir ve burada 15 dakika tutularak analiz 45.50 dakikada tamamlanmıştır. Numune ölçüsü 1µl ve taşıyıcı gazda 26.9 psi'de kontrol edilmiştir. Split 1:40 oranında kullanılmıştır. Yağ asitleri standart 37 bileşenden oluşan FAME mix (Supelco) karışımının gelme zamanlarına bağlı olarak karşılaştırılmasıyla tanımlanmıştır.

İstatistik analizleri

Araştırmanın sonunda elde edilen veriler SPSS 22.0 paket programı kullanılarak, kontrol grubu ve nisin grupları arasındaki zamana bağlı değişimler Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir. Önem seviyesi $p<0.05$ olarak alınmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), palmitoleik asit (C16:1), oleik asit (C18:1n9), vaksenik asit (C18:1n7), eikozenoik asit (C20:1n9), linoleik asit (C18:2n6), linolenik asit (C18:3n3), eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5n3) ve dekosaheksaenoik asit (DHA, C22:6n3) tüm gruplarda araştırma süresince gözlemlenmiştir. Levrek ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda da benzer şekilde temel yağ asidi bileşenlerinin bu yağ asitlerinden oluştuğu rapor edilmiştir (Yıldız vd., 2008; Yazgan, 2013; Ozogul vd., 2017).

Nisin uygulanarak vakum paketlenip soğukta depolanan levrek filetolarının depolama süresince doymuş yağ asitleri (SFA) kompozisyonu değişimleri Tablo 1'de verilmiştir.

Depolamanın başlangıcında toplam SFA oranları kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 21.07, % 21.59, % 21.34 ve % 21.22 olarak tespit edilmiştir. Tüm gruplarda depolama süresi boyunca günler arasında istatistiksel farklılık gözlenmiştir ($p<0.05$). Muamele gruplarını ele aldığımızda ise depolamanın son günü hariç diğer depolama günlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Depolama süresi ile birlikte toplam SFA oranında düşüş gözlenmiştir. Depolamanın sonunda en düşük ve en yüksek SFA oranları sırasıyla % 0.2 (% 20.37) ve % 0.4 nisin gruplarında (% 20.96) gözlenmiştir. Doymuş yağ asitleri arasında en yüksek değere sahip yağ asitleri tüm gruplarda miristik asit (C14:0), palmitik asit (C16:0) ve stearik asit (C18:0) olduğu belirlenmiştir. Depolamanın başlangıcında miristik asit değerleri kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 2.06, % 1.99, % 2.09 ve % 2.10 olarak tespit edilmiştir. Depolamanın sonunda en yüksek miristik asit değerinin kontrol grubunda, en düşük değerin ise % 0.8 nisin grubunda olduğu belirlenmiştir. Diğer önemli bir yağ asidi olan palmitik asit (C16:0) oranlarının kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 13.44-14.44, % 13.40-14.80, % 13.30-14.80 ve % 13.30-14.51 arasında değiştiği gözlenmiştir. Stearik asit oranları depolamanın başlangıcında kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 3.80, % 3.96, % 3.88 ve % 3.99 olarak belirlenmiştir. Genel olarak depolama süresi ile birlikte tüm gruplarda stearik asit oranlarında artış gözlenmiştir.

Ozogul vd. (2017), depolamanın başlangıcında toplam doymuş yağ asitleri (SFA) oranını % 17.64 olarak rapor ederken depolama süresi boyunca SFA değerinde artışlar olduğunu, kontrol grubunun duyusal olarak reddedildiği gün olan depolamanın 12. gününde toplam SFA değerinin % 20.41' e çıktığı ve depolamanın sonunda (18. gün) ise bu değerin % 21.89 olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmadan elde edilen SFA değerlerinin, diğer araştırmacıların bildirdiği sonuçlardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ancak depolama süresiyle birlikte SFA değerlerinde ise genel olarak düşüşler gözlenmiştir. Doymuş yağ asitleri arasında en çok miristik asit, palmitik asit ve stearik asit olduğunu bildiren Ozogul vd. (2017), depolamanın başlarında bu yağ asitlerinin oranlarını kontrol grubu için sırasıyla % 2.15, % 12.13 ve % 2.87 olarak bildirmiştir. Benzer şekilde yapmış olduğumuz çalışmada da en çok gözlenen yağ asitlerinin miristik, palmitik ve oleik asit olduğu ve bunların oranlarının ise çok az farklılık göstermekle birlikte hemen hemen araştırmacıların sonuçları ile benzer olduğu gözlenmiştir. Ayrıca SFA içerisinde en yüksek oranda bulunan yağ asidinin de palmitik asit olduğunu ve çalışmamız ile de benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Behnama vd. (2015), 4°C'de 16 gün depolanan vakum paketlenmiş örneklerin tümünde, önemli yağ asitlerinin depolama süresince azalan bir trend gösterdiğini bildirmiştir. İstatistiksel sonuçlara göre, MUFA'lar ve PUFA'lar depolama süresinin artmasıyla keskin bir azalma gösterirken, depolama süresince elde edilen SFA değerlerinde anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır. Bu sonuçlar çalışmamızdaki istatistiksel sonuçlarla benzerlik göstermiştir. Genel olarak bakıldığında nisin ve vakum paket uygulamalarının soğuk depolama birlikte kullanımının SFA değerlerinde çok fazla değişime sebep olmadığını, dolayısıyla mevcut değerleri koruduğunu göstermiştir.

Nisin uygulanarak vakum paketlenip soğukta depolanan levrek filetolarının toplam tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) Tablo 2' de verilmiştir.

Depolama süresi boyunca MUFA değerlerinde genel olarak azalmalar tespit edilmiştir. Depolamanın başlangıcında toplam MUFA değerleri kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 32.42, % 33.14, % 33.67 ve % 33.55 olarak tespit edilmiştir. Depolama sonunda ise MUFA değeri kontrol grubunda % 30.35, % 0.2 nisin grubunda % 31.60, % 0.4 nisin grubunda % 32.40 ve % 0.8 nisin grubunda % 33.70 olarak tespit edilmiştir ($p<0.05$). Tüm gruplarda toplam MUFA içeriği bakımından depolama süresi boyunca günler ve gruplar arasında istatistiksel farklılık olduğu gözlenmiştir. Depolamanın sonunda en yüksek MUFA değerinin % 0.8 nisin grubunda olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 1. Farklı konsantrasyonlarda nisin uygulanarak vakum paketlenen levrek filetolarının soğukta depolanması süresince meydana gelen doymuş yağ asitleri (SFA) değişimleri

Table 1. The changes in saturated fatty acids (SFA) of vacuum-packed sea bass fillets during cold storage by applying nisin at different concentrations

Yağ Asitleri	Depolama Günleri									Gruplar
	0	3	6	8	10	12	14	16	18	
C12:0	0,37±0,04^{Bb}	0,24±0,02^{Cd}	0,86±0,01^{Aa}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	**Kontrol**
	0,82±0,12^{Aa}	0,42±0,02^{Cb}	0,68±0,03^{Bb}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	**% 0,2**
	0,90±0,11^{Aa}	0,33±0,00^{Cc}	0,61±0,03^{Bb}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	0,02±0,00^{Da}	**% 0,4**
	0,92±0,08^{Aa}	0,96±0,04^{Aa}	0,66±0,05^{Bb}	0,02±0,00^{Ca}	0,02±0,00^{Ca}	0,02±0,00^{Ca}	0,02±0,00^{Ca}	0,02±0,00^{Ca}	0,02±0,00^{Ca}	**% 0,8**
C14:0	2,06±0,05^{ABCa}	2,06±0,01^{ABCa}	1,99±0,00^{Ca}	2,07±0,01^{ABCa}	2,12±0,01^{ABa}	2,05±0,10^{BCa}	2,08±0,07^{ABCa}	2,08±0,01^{ABCab}	2,17±0,04^{Aa}	**Kontrol**
	1,99±0,05^{BCDa}	2,13±0,04^{Aa}	1,96±0,04^{CDa}	2,07±0,01^{ABa}	2,08±0,04^{ABa}	2,06±0,06^{ABa}	2,02±0,03^{BCa}	1,92±0,05^{Dc}	2,15±0,01^{Aa}	**% 0,2**
	2,09±0,01^{ABa}	2,07±0,08^{ABa}	1,94±0,06^{Ba}	2,10±0,01^{Aa}	2,14±0,07^{Aa}	2,09±0,03^{ABa}	2,03±0,11^{ABa}	2,14±0,07^{Aa}	2,09±0,04^{ABa}	**% 0,4**
	2,10±0,08^{Aa}	2,02±0,01^{ABa}	1,93±0,13^{Ba}	2,11±0,04^{Aa}	2,07±0,04^{Aa}	1,93±0,01^{Ba}	1,92±0,01^{Ba}	1,98±0,05^{ABbc}	2,08±0,04^{Aa}	**% 0,8**
C15:0	0,25±0,00^{Bab}	0,26±0,00^{ABb}	0,26±0,00^{ABa}	0,27±0,00^{Aab}	0,28±0,01^{Aa}	0,26±0,01^{ABa}	0,26±0,01^{ABa}	0,27±0,01^{ABa}	0,28±0,01^{Aa}	**Kontrol**
	0,25±0,01^{Db}	0,28±0,01^{Aa}	0,25±0,01^{Da}	0,26±0,00^{BCb}	0,26±0,00^{BCb}	0,26±0,01^{CDa}	0,27±0,01^{ABCa}	0,26±0,00^{BCa}	0,27±0,00^{ABa}	**% 0,2**
	0,27±0,01^{ABa}	0,27±0,01^{ABab}	0,25±0,01^{Ca}	0,28±0,01^{Aa}	0,28±0,01^{Aa}	0,27±0,01^{ABa}	0,26±0,01^{BCa}	0,27±0,00^{ABa}	0,28±0,01^{Aa}	**% 0,4**
	0,27±0,01^{ABa}	0,26±0,00^{ABb}	0,25±0,01^{Ba}	0,26±0,00^{ABb}	0,27±0,00^{Aab}	0,27±0,01^{ABa}	0,26±0,01^{ABa}	0,26±0,00^{ABa}	0,27±0,00^{Aa}	**% 0,8**
C16:0	13,89±0,33^{Ba}	13,80±0,00^{Ba}	13,44±0,06^{Ba}	14,44±0,48^{Aa}	13,89±0,06^{Ba}	13,77±0,10^{Ba}	13,99±0,18^{ABa}	13,93±0,18^{ABa}	13,69±0,18^{Bab}	**Kontrol**
	13,89±0,04^{Ba}	13,77±0,18^{BCDa}	13,40±0,08^{Da}	14,80±0,02^{Aa}	13,75±0,16^{BCDa}	13,80±0,10^{BCa}	13,64±0,04^{BCDa}	13,66±0,37^{BCDa}	13,47±0,11^{CDb}	**% 0,2**
	13,55±0,20^{Cab}	13,77±0,06^{BCa}	13,30±0,08^{Da}	14,80±0,02^{Aa}	13,90±0,01^{Ba}	13,73±0,08^{BCa}	13,91±0,16^{Ba}	13,85±0,10^{Ba}	13,93±0,04^{Ba}	**% 0,4**
	13,30±0,09^{Db}	13,63±0,10^{Ca}	13,30±0,16^{Da}	14,51±0,11^{Aa}	13,84±0,12^{BCa}	13,84±0,05^{BCa}	13,82±0,06^{BCa}	14,15±0,20^{Ba}	13,96±0,24^{BCa}	**% 0,8**
C17:0	0,27±0,01^{Ba}	0,28±0,00^{Aa}	0,28±0,01^{ABa}	0,29±0,01^{Aa}	0,29±0,01^{Aa}	0,28±0,01^{ABa}	0,28±0,01^{ABa}	0,28±0,00^{Aa}	0,28±0,00^{Aab}	**Kontrol**
	0,26±0,01^{Ba}	0,28±0,00^{ABa}	0,27±0,01^{ABa}	0,28±0,01^{ABab}	0,30±0,04^{Aa}	0,27±0,00^{ABa}	0,27±0,00^{ABa}	0,28±0,00^{ABa}	0,27±0,00^{ABb}	**% 0,2**
	0,28±0,01^{BCa}	0,28±0,00^{ABCa}	0,26±0,00^{Ea}	0,28±0,00^{ABCab}	0,29±0,00^{Aa}	0,27±0,00^{CDa}	0,27±0,01^{DEa}	0,28±0,00^{ABCa}	0,29±0,01^{ABa}	**% 0,4**
	0,28±0,01^{ABa}	0,27±0,00^{BCa}	0,27±0,01^{Ca}	0,27±0,00^{BCb}	0,28±0,00^{Aa}	0,28±0,00^{Aa}	0,27±0,00^{BCa}	0,28±0,00^{Aa}	0,28±0,00^{Aab}	**% 0,8**
C18:0	3,80±0,03^{Ba}	3,81±0,02^{Bb}	3,95±0,06^{Bb}	3,97±0,03^{Ba}	3,98±0,05^{Ba}	4,19±0,18^{Aa}	3,87±0,04^{Bb}	3,84±0,04^{Ba}	3,83±0,13^{Ba}	**Kontrol**
	3,96±0,16^{ABCa}	3,87±0,07^{BCab}	4,02±0,01^{ABCab}	3,99±0,05^{ABCa}	4,02±0,09^{ABCa}	3,86±0,00^{BCb}	4,12±0,12^{ABab}	4,21±0,19^{Aa}	3,84±0,10^{Ca}	**% 0,2**
	3,88±0,20^{ABa}	4,02±0,01^{ABa}	4,11±0,06^{Aa}	3,77±0,08^{Bb}	3,91±0,11^{ABa}	4,09±0,01^{ABab}	4,12±0,28^{Aab}	3,88±0,14^{ABa}	3,84±0,05^{ABa}	**% 0,4**
	3,99±0,05^{BCDa}	3,86±0,08^{Dab}	4,02±0,01^{BCDab}	3,94±0,00^{CDa}	3,88±0,04^{Da}	4,08±0,00^{BCab}	4,42±0,13^{Aa}	4,15±0,14^{Ba}	3,93±0,02^{CDa}	**% 0,8**
C20:0	0,24±0,00^{Da}	0,26±0,00^{ABCa}	0,26±0,01^{ABCDa}	0,27±0,01^{ABa}	0,26±0,00^{ABCab}	0,25±0,00^{BCDab}	0,25±0,01^{BCDa}	0,25±0,01^{CDa}	0,27±0,00^{Aa}	**Kontrol**
	0,24±0,01^{Ba}	0,25±0,00^{ABa}	0,25±0,01^{ABa}	0,25±0,00^{ABb}	0,26±0,00^{Aab}	0,25±0,01^{ABb}	0,25±0,00^{ABa}	0,26±0,01^{ABa}	0,26±0,00^{Aa}	**% 0,2**
	0,25±0,00^{ABa}	0,26±0,01^{ABa}	0,25±0,01^{Ba}	0,25±0,00^{ABb}	0,27±0,00^{Aa}	0,26±0,00^{ABa}	0,25±0,01^{ABa}	0,27±0,01^{Aa}	0,27±0,01^{ABa}	**% 0,4**
	0,26±0,01^{Aa}	0,26±0,01^{Aa}	0,24±0,01^{Aa}	0,26±0,00^{Aab}	0,26±0,01^{Ab}	0,25±0,01^{Ab}	0,25±0,00^{Aa}	0,25±0,01^{Aa}	0,26±0,00^{Aa}	**% 0,8**
C22:0	0,09±0,00^{Aa}	0,05±0,06^{Aa}	0,05±0,00^{Aa}	0,05±0,01^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,05±0,01^{Aa}	0,09±0,01^{Aa}	0,01±0,00^{Aa}	0,05±0,00^{Aa}	**Kontrol**
	0,09±0,01^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,09±0,01^{Aa}	0,09±0,01^{Aa}	0,13±0,00^{Aa}	0,08±0,00^{Aa}	0,09±0,01^{Aa}	0,05±0,00^{Aa}	0,05±0,00^{Aa}	**% 0,2**
	0,09±0,00^{Aa}	0,05±0,06^{ABa}	0,01±0,00^{Ba}	0,08±0,00^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,01±0,00^{Ba}	0,09±0,00^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	**% 0,4**
	0,10±0,01^{Aa}	0,01±0,00^{Ba}	0,09±0,01^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	0,09±0,01^{Aa}	0,04±0,00^{ABa}	0,09±0,01^{Aa}	0,05±0,01^{ABa}	0,09±0,00^{Aa}	**% 0,8**
C24:0	0,11±0,09^{Aa}	0,15±0,16^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,05±0,01^{Aa}	0,05±0,00^{Aa}	**Kontrol**
	0,11±0,10^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,17±0,01^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,05±0,01^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,05±0,01^{Aa}	0,05±0,01^{Aa}	0,05±0,01^{Aa}	**% 0,2**
	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,16±0,00^{Aa}	**% 0,4**
	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	**% 0,8**
∑SFA	21,07±0,53^{Aa}	20,90±0,16^{ABa}	21,11±0,20^{ABa}	21,41±0,42^{Aa}	20,95±0,01^{ABa}	20,90±0,16^{ABa}	20,87±0,26^{ABa}	20,71±0,12^{ABa}	20,63±0,09^{Bab}	**Kontrol**
	21,59±0,13^{ABa}	21,11±0,27^{BCa}	21,05±0,08^{Ca}	21,78±0,06^{Aa}	20,85±0,24^{CDa}	20,63±0,18^{CDa}	20, 71±0,11^{CDa}	20,69±0,49^{CDa}	20,37±0,20^{Db}	**% 0,2**
	21,34±0,40^{ABa}	21,08±0,09^{BCa}	20,76±0,18^{Ca}	21,61±0,08^{Aa}	20,93±0,19^{BCa}	20,77±0,11^{Ca}	20,98±0,29^{BCa}	20,85±0,15^{BCa}	20,96±0,19^{BCa}	**% 0,4**
	21,22±0,07^{ABCa}	21,30±0,21^{ABa}	20,78±0,29^{Ca}	21,50±0,06^{Aa}	20,73±0,14^{Ca}	20,73±0,06^{Ca}	21,08±0,05^{ABCa}	21,17±0,40^{ABCa}	20,92±0,25^{BCa}	**% 0,8**

$^{a-d}$ Her bir gün için gruplar arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir
$^{A-E}$ Her bir grup için günler arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir

Toplam MUFA arasında en yüksek orana sahip yağ asitleri tüm gruplarda palmitoleik asit (C16:1), oleik asit (C18:1n9), vaksenik asit (C18:1n7) ve eikozenoik asit (C20:1n9) olarak belirlenmiştir. Depolamanın başlangıcında palmitoleik asit oranları kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 2.93, % 2.84, % 2.88 ve % 2.87 olarak tespit edilmiştir. Balık etinde en fazla bulunan MUFA'nın oleik asit (C18:1n9) olduğu tespit edilmiştir. Oleik asit oranı depolama süresi ile birlikte azalmıştır. Depolama sonunda en yüksek oleik asit oranı % 0.8 nisin grubunda % 25.71 olarak tespit edilmiştir. Diğer bir önemli MUFA olan vaksenik asit, depolamanın başlangıcında kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 2.34, % 2.34, % 2.36 ve % 2.40 olarak tespit edilmiştir. Bir diğer önemli MUFA olan eikozenoik asit oranına bakıldığında ise en düşük değerin depolamanın başlangıcında % 2.05 ile kontrol grubunda olduğu tespit edilmiştir. En yüksek değerin ise yine depolamanın başlangıcında % 0.8 nisin grubunda % 2.27 olarak tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca tüm gruplarda bu yağ asidinde günler arasında istatistiksel farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Gruplar arasını ele aldığımızda ise depolamanın 6. ve 8. günlerinde kontrol ve muamele grupları arasında istatistiksel fark olmadığı, diğer günlerde ise tüm gruplarda istatistiksel fark olduğu gözlenmiştir.

Ozogul vd. (2017), depolamanın başlangıcında levrek filetolarında toplam MUFA oranını % 41.07 olarak rapor ederken depolama süresi boyunca MUFA değerinde azalışlar olduğunu, kontrol grubunun duyusal olarak reddedildiği depolamanın 12. gününde % 38.87' ye düştüğünü ve depolamanın sonunda (18. gün) ise bu değerin % 36.41 olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen MUFA değerleri araştırmacıların sonuçlarından daha düşük olduğu

tespit edilmiştir. Ancak depolama süresiyle birlikte MUFA değerlerinin azalması ile benzer sonuçlar göstermiştir. Behnama vd. (2015)' de nisin uyguladıkları ve vakum paketlenerek depoladıkları alabalık filetolarının MUFA değerlerinde depolama süresiyle birlikte keskin bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarını destekler nitelikte olmuştur. MUFA'lar arasında en çok palmitoleik ve oleik asit olduğunu bildiren Ozogul vd. (2017), depolamanın başlangıcında bu yağ asitlerini kontrol grubu için sırasıyla % 4.69 ve % 35.60 olarak bildirmiştir. Depolamanın 12. gününde bu yağ asitlerinin oranının genel olarak düşmesiyle birlikte sırasıyla % 3.91 ve % 34.21'e düştüğünü ve depolamanın sonunda ise % 4.26 ve % 31.42 olduğunu bildirmiştir. Ayrıca MUFA içerisinde en yüksek oranda bulunan yağ asidinin de oleik asit olduğunu bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar yapmış olduğumuz çalışmada da gözlenmiştir.

Tablo 2. Farklı konsantrasyonlarda nisin uygulanarak vakum paketlenen levrek filetolarının soğukta depolanması süresince meydana gelen tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) değişimleri

Table 2. The changes in monosaturated fatty acids (MUFA) of vacuum-packed sea bass fillets during cold storage by applying nisin at different concentrations

Yağ Asitleri	Depolama Günleri									Gruplar
	0	3	6	8	10	12	14	16	18	
C14:1	0,05±0,06^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	0,03±0,00^{Aa}	0,07±0,01^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	**Kontrol**
	0,02±0,02^{Ca}	0,10±0,01^{Aa}	0,09±0,01^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	0,06±0,00^{ABa}	0,03±0,00B^{Ca}	0,09±0,01^{Aa}	0,10±0,00^{Aa}	**% 0,2**
	0,09±0,00^{ABa}	0,09±0,00^{ABa}	0,09±0,01^{ABa}	0,09±0,00^{ABa}	0,10±0,00^{Aa}	0,03±0,00^{Ca}	0,03±0,00^{Ca}	0,06±0,00^{BCa}	0,10±0,00^{Aa}	**% 0,4**
	0,09±0,00^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,09±0,01^{Aa}	0,09±0,00^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	0,03±0,00^{Ba}	0,06±0,00^{ABa}	0,09±0,01^{Aa}	0,10±0,01^{Aa}	**% 0,8**
C15:1	0,00±0,00^{Bb}	0,04±0,01^{Aa}	0,04±0,01^{Aa}	0,04±0,01^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,03±0,00^{Aa}	0,04±0,01^{Aa}	0,04±0,01^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	**Kontrol**
	0,02±0,01^{BCa}	0,04±0,01^{ABa}	0,03±0,00^{ABa}	0,03±0,00^{ABa}	0,05±0,01^{Aa}	0,04±0,01^{ABa}	0,00±0,00^{Ca}	0,04±0,01^{ABa}	0,04±0,01^{ABa}	**% 0,2**
	0,00±0,00^{Cb}	0,04±0,00^{Aa}	0,03±0,00^{ABa}	0,04±0,01^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	0,03±0,00^{ABa}	0,02±0,01^{BCa}	0,04±0,01^{Aa}	0,04±0,00^{Aa}	**% 0,4**
	0,00±0,00^{Cb}	0,04±0,01^{ABa}	0,03±0,00^{ABa}	0,03±0,00^{ABa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,01^{ABa}	0,02±0,01^{BCa}	0,04±0,00^{Aa}	0,04±0,01^{ABa}	**% 0,8**
C16:1	2,93±0,08^{ABa}	2,87±0,00^{ABa}	2,76±0,03^{BCa}	2,87±0,01^{ABa}	2,92±0,01^{ABa}	2,84±0,13^{ABa}	2,64±0,07^{CDa}	2,48±0,12^{Dab}	3,00±0,06^{Aa}	**Kontrol**
	2,84±0,11^{BCa}	2,97±0,12^{ABa}	2,75±0,01^{CDa}	2,89±0,03^{ABCa}	2,89±0,04^{ABCa}	2,91±0,06^{ABCa}	2,77±0,04^{CDa}	2,67±0,06^{Da}	3,04±0,02^{Aa}	**% 0,2**
	2,88±0,01^{ABa}	2,84±0,07^{ABa}	2,75±0,09^{Ba}	2,91±0,00^{ABa}	2,95±0,03^{Aa}	2,89±0,06^{ABa}	2,84±0,15^{ABa}	2,38±0,04^{Cb}	2,94±0,04^{Aa}	**% 0,4**
	2,87±0,10^{ABa}	2,80±0,00^{ABa}	2,69±0,18^{Ba}	2,89±0,03^{ABa}	2,90±0,04^{ABa}	2,80±0,07^{ABa}	2,69±0,01^{Ba}	2,44±0,13^{Cab}	2,91±0,06^{Aa}	**% 0,8**
C17:1	0,11±0,08^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	**Kontrol**
	0,12±0,08^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,13±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	**% 0,2**
	0,05±0,00^{Ba}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,07±0,01^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,07±0,01^{Aa}	**% 0,4**
	0,06±0,00^{Aa}	0,13±0,01^{Aa}	0,12±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,07±0,01^{Aa}	**% 0,8**
C18:1n9	24,65±0,28^{Db}	25,81±0,13^{ABa}	25,09±0,23^{CDa}	25,32±0,17^{BCa}	25,94±0,16^{Aab}	25,31±0,33^{BCb}	23,24±0,23^{Eb}	22,98±0,11^{Ec}	22,24±0,19^{Fd}	**Kontrol**
	25,37±0,03^{CDa}	25,65±0,40^{BCa}	24,95±0,04^{DEa}	25,70±0,06^{BCa}	26,60±0,48^{Aa}	26,14±0,30^{ABa}	25,02±0,13^{DEa}	24,58±0,08^{Eb}	23,16±0,04^{Fc}	**% 0,2**
	25,86±0,09^{Aa}	25,81±0,01^{Aa}	25,29±0,56^{ABa}	25,28±0,38^{ABa}	25,73±0,10^{Ab}	25,86±0,09^{Aab}	24,90±0,67^{BCa}	25,14±0,13^{ABa}	24,33±0,07^{Cb}	**% 0,4**
	25,55±0,21^{ABa}	25,90±0,01^{ABa}	25,55±0,56^{ABa}	25,66±0,36^{ABa}	26,17±0,12^{Aab}	25,61±0,36^{ABab}	25,12±0,53^{Ba}	25,38±0,06^{ABa}	25,71±0,21^{ABa}	**% 0,8**
C18:1n7	2,34±0,00^{ABa}	2,35±0,00^{ABa}	2,32±0,02^{BCa}	2,36±0,04^{ABa}	2,39±0,01^{Ab}	2,35±0,01^{ABb}	2,08±0,01^{Db}	2,28±0,04^{Ca}	2,12±0,01^{Dd}	**Kontrol**
	2,34±0,04^{BCa}	2,34±0,01^{Cab}	2,34±0,08^{Ca}	2,38±0,01^{BCa}	2,43±0,03^{ABa}	2,39±0,01^{ABCa}	2,37±0,01^{BCa}	2,34±0,06^{BCa}	2,47±0,00^{Aa}	**% 0,2**
	2,36±0,01^{Aa}	2,32±0,01^{Aab}	2,32±0,05^{Aa}	2,34±0,01^{Aa}	2,38±0,01^{Ab}	2,36±0,01^{Aab}	2,39±0,05^{Aa}	2,34±0,19^{Aa}	2,40±0,01^{Ab}	**% 0,4**
	2,40±0,04^{Aa}	2,30±0,03^{BCb}	2,29±0,05^{Ca}	2,39±0,02^{Aa}	2,41±0,01^{Aab}	2,35±0,01^{ABb}	2,34±0,01^{ABCa}	2,36±0,03^{ABa}	2,38±0,00^{Ac}	**% 0,8**
C20:1n9	2,05±0,01^{Dc}	2,17±0,01^{BCa}	2,23±0,01^{Ba}	2,24±0,08^{ABa}	2,18±0,00B^{Cb}	2,19±0,00^{BCb}	2,11±0,00^{CDb}	2,25±0,05^{ABa}	2,32±0,06^{Aab}	**Kontrol**
	2,15±0,02^{BCb}	2,08±0,02^{Cb}	2,21±0,15^{BCa}	2,11±0,01^{BCab}	2,43±0,06^{Aa}	2,16±0,01^{BCbc}	2,14±0,00^{BCb}	2,27±0,14^{ABa}	2,42±0,02^{Aa}	**% 0,2**
	2,13±0,06^{CDEbc}	2,05±0,00^{DEb}	2,20±0,08^{BCa}	2,02±0,04^{Eb}	2,14±0,03^{CDb}	2,30±0,02^{ABa}	2,19±0,06^{BCab}	2,36±0,08^{Aa}	2,22±0,04^{BCbc}	**% 0,4**
	2,27±0,01^{Aa}	2,09±0,05^{BCb}	2,06±0,03^{Ca}	2,20±0,06^{Aa}	2,18±0,00^{ABb}	2,09±0,06^{BCc}	2,25±0,04^{Aa}	2,23±0,07^{Aa}	2,20±0,00^{Ac}	**% 0,8**
C22:1n9	0,23±0,01^{Ab}	0,23±0,00^{Aa}	0,24±0,00^{Aa}	0,24±0,00^{Aa}	0,24±0,00^{Aa}	0,24±0,01^{Aa}	0,23±0,01^{Ab}	0,25±0,01^{Aa}	0,22±0,01^{Aa}	**Kontrol**
	0,23±0,00^{Aab}	0,22±0,00^{Aa}	0,24±0,01^{Aa}	0,23±0,00^{Ab}	0,23±0,00^{Aa}	0,24±0,01^{Aa}	0,25±0,01^{Aa}	0,25±0,01^{Aa}	0,26±0,01^{Aa}	**% 0,2**
	0,24±0,01^{Bab}	0,22±0,00^{Ca}	0,24±0,01^{Ba}	0,22±0,00^{Cc}	0,22±0,00^{Ca}	0,25±0,00^{Aa}	0,24±0,00^{Bab}	0,25±0,00^{Aa}	0,24±0,00^{Ba}	**% 0,4**
	0,25±0,01^{ABa}	0,23±0,01^{Ca}	0,24±0,01^{BCa}	0,25±0,01^{ABa}	0,24±0,00^{ABCa}	0,24±0,01^{BCa}	0,26±0,01^{Aa}	0,25±0,01^{ABa}	0,24±0,01^{BCa}	**% 0,8**
C24:1n9	0,07±0,00^{Aa}	0,07±0,01^{Ab}	0,06±0,00^{Aa}	0,07±0,00^{Aa}	0,07±0,00^{Aa}	0,07±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,07±0,00^{Aa}	**Kontrol**
	0,07±0,00^{Ba}	0,15±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Ba}	0,06±0,00^{Ba}	0,07±0,01^{Ba}	0,06±0,00^{Ba}	0,06±0,01^{Ba}	0,05±0,00^{Ba}	0,07±0,00^{Ba}	**% 0,2**
	0,07±0,00^{Aa}	0,06±0,01^{Ab}	0,06±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,07±0,00^{Aa}	0,08±0,00^{Aa}	0,06±0,00^{Aa}	0,07±0,00^{Aa}	0,07±0,00^{Aa}	**% 0,4**
	0,07±0,01^{BCa}	0,17±0,00^{Aa}	0,06±0,01^{Ca}	0,06±0,00^{BCa}	0,06±0,00^{BCa}	0,06±0,00^{BCa}	0,06±0,00^{BCa}	0,06±0,00^{BCa}	0,07±0,00^{Ba}	**% 0,8**
∑MUFA	32,42±0,18^{Dc}	33,65±0,15^{ABa}	32,88±0,30^{CDa}	33,28±0,04^{ABCa}	33,92±0,18^{Abc}	33,11±0,45^{BCa}	30,52±0,32^{Eb}	30,46±0,04^{Eb}	30,35±0,22^{Ed}	**Kontrol**
	33,14±0,13^{CDb}	33,59±0,56^{BCa}	32,71±0,17^{DEa}	33,54±0,08^{BCa}	35,22±0,43^{Aa}	34,05±0,36^{Ba}	32,68±0,16^{DEa}	32,34±0,19^{Ea}	31,60±0,08^{Fc}	**% 0,2**
	33,67±0,02^{Aa}	33,48±0,06^{ABa}	33,01±0,79^{ABCa}	33,01±0,44^{ABCa}	33,69±0,10^{Ac}	33,85±0,18^{Aa}	32,71±0,41^{BCa}	32,68±0,17^{BCa}	32,40±0,02^{Cb}	**% 0,4**
	33,55±0,06^{ABa}	33,73±0,10^{ABa}	33,10±0,68^{ABa}	33,62±0,47^{ABa}	34,14±0,16^{Ab}	33,27±0,52^{ABa}	32,84±0,61^{Ba}	32,90±0,28^{Ba}	33,70±0,29^{ABa}	**% 0,8**

$^{a-d}$ Her bir gün için gruplar arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir. $^{A-E}$ Her bir grup için günler arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir.

Tablo 3. Farklı konsantrasyonlarda nisin uygulanarak vakum paketlenen levrek filetolarının soğukta depolanması süresince meydana gelen çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) değişimleri
Table 3. The changes in polysaturated fatty acids (PUFA) of vacuum-packed sea bass fillets during cold storage by applying nisin at different concentrations

Yağ Asitleri	Depolama Günleri									Gruplar
	0	3	6	8	10	12	14	16	18	
C18:2n6	18,21±0,09^{Aa}	18,54±0,08^{Ab}	18,33±0,27^{Aa}	18,54±0,18^{Aa}	17,63±0,13^{Bc}	17,31±0,05^{Bb}	17,49±0,18^{Bb}	17,36±0,04^{Bc}	17,44±0,16^{Bc}	**Kontrol**
	18,59±0,16^{ABa}	18,98±0,01^{Aa}	18,52±0,06^{ABa}	18,63±0,10^{ABa}	18,13±0,11^{BCDb}	18,55±0,28^{ABa}	18,20±0,13^{BCa}	17,61±0,50^{Dbc}	17,69±0,22^{CDbc}	**% 0,2**
	18,65±0,20^{Aa}	18,39±0,08^{Ab}	18,66±0,47^{Aa}	18,56±0,01^{Aa}	18,34±0,09^{Ab}	18,38±0,06^{Aa}	18,46±0,31^{Aa}	18,76±0,14^{Aa}	18,62±0,17^{Aa}	**% 0,4**
	18,63±0,27^{ABa}	18,35±0,19^{BCb}	18,50±0,11^{ABCa}	18,69±0,02^{ABa}	18,75±0,15^{Aa}	18,66±0,09^{ABa}	17,48±0,14^{Db}	18,25±0,12^{Cab}	18,18±0,15^{Cab}	**% 0,8**
C18:3n3	3,16±0,04^{Dbc}	3,28±0,00^{ABa}	3,19±0,04^{CDa}	3,26±0,01^{ABb}	3,13±0,01^{Db}	3,26±0,04^{ABab}	3,24±0,03^{BCa}	3,31±0,00^{Aa}	3,22±0,03^{BCc}	**Kontrol**
	3,11±0,04^{Cc}	3,24±0,00^{BCa}	3,14±0,00^{Ca}	3,31±0,04^{Bb}	3,33±0,11^{Ba}	3,27±0,05^{BCab}	3,24±0,01^{BCa}	3,15±0,13^{Ca}	3,48±0,01^{Aa}	**% 0,2**
	3,27±0,06^{Aab}	3,21±0,08^{Aa}	3,23±0,09^{Aa}	3,31±0,01^{Ab}	3,21±0,04^{Aab}	3,35±0,04^{Aa}	3,26±0,02^{Aa}	3,37±0,10^{Aa}	3,33±0,04^{Ab}	**% 0,4**
	3,32±0,06^{ABCa}	3,17±0,04^{Da}	3,11±0,10^{Da}	3,42±0,06^{Aa}	3,33±0,01^{ABa}	3,19±0,02^{Db}	3,22±0,01^{BCDa}	3,20±0,04^{CDa}	3,34±0,01^{ABb}	**% 0,8**
C20:2 cis	0,11±0,04^{Aa}	0,13±0,00^{Aa}	0,11±0,01^{Aa}	0,13±0,00^{Aa}	0,13±0,00^{Aab}	0,10±0,01^{Aa}	0,14±0,00^{Aa}	0,11±0,01^{Aa}	0,11±0,00^{Aa}	**Kontrol**
	0,10±0,04^{ABCa}	0,11±0,01^{ABCa}	0,12±0,00^{ABa}	0,13±0,00^{Aa}	0,13±0,01^{ABb}	0,14±0,01^{Aa}	0,08±0,01^{BCc}	0,10±0,01^{ABCa}	0,06±0,00^{Ca}	**% 0,2**
	0,11±0,04^{ABa}	0,11±0,01^{ABa}	0,07±0,00^{Ba}	0,14±0,01^{ABa}	0,14±0,00^{Aa}	0,11±0,01^{ABa}	0,13±0,01^{ABab}	0,09±0,01^{ABa}	0,10±0,01^{ABa}	**% 0,4**
	0,10±0,04^{Aa}	0,10±0,00^{Aa}	0,09±0,04^{Aa}	0,13±0,00^{Aa}	0,13±0,00^{Aab}	0,11±0,01^{Aa}	0,12±0,01^{Ab}	0,08±0,00^{Aa}	0,14±0,01^{Aa}	**% 0,8**
C20:3n6	0,28±0,01^{Ba}	0,29±0,01^{ABa}	0,30±0,01^{ABa}	0,29±0,01^{ABa}	0,29±0,00^{ABa}	0,29±0,00^{ABa}	0,27±0,01^{Ba}	0,30±0,01^{ABa}	0,51±0,01^{Aa}	**Kontrol**
	0,28±0,01^{Ba}	0,27±0,01^{Ba}	0,29±0,01^{ABa}	0,28±0,01^{Ba}	0,50±0,01^{Aa}	0,28±0,01^{Bb}	0,28±0,01^{Ba}	0,31±0,01^{ABa}	0,32±0,00^{ABa}	**% 0,2**
	0,28±0,01^{BCa}	0,28±0,00^{BCa}	0,28±0,01^{BCa}	0,26±0,00^{Ca}	0,28±0,00^{BCa}	0,30±0,00^{ABa}	0,28±0,01^{BCa}	0,31±0,01^{Aa}	0,30±0,01^{ABa}	**% 0,4**
	0,30±0,01^{Aa}	0,44±0,00^{Aa}	0,27±0,01^{Aa}	0,30±0,01^{Aa}	0,29±0,01^{Aa}	0,27±0,01^{Ab}	0,28±0,01^{Aa}	0,29±0,01^{Aa}	0,29±0,00^{Aa}	**% 0,8**
C20:4n6	0,98±0,00^{Db}	1,07±0,01^{BCa}	1,11±0,01^{ABa}	1,12±0,02^{Aa}	1,10±0,01^{ABCa}	1,06±0,04^{Ca}	1,01±0,01^{Db}	1,07±0,01^{BCa}	1,10±0,02^{ABCab}	**Kontrol**
	1,05±0,02^{Ba}	1,02±0,03^{Bab}	1,08±0,08^{ABab}	1,04±0,01^{Bb}	1,09±0,02^{ABab}	1,08±0,02^{ABa}	1,02±0,00^{Bb}	1,10±0,01^{ABa}	1,14±0,01^{Aa}	**% 0,2**
	1,00±0,01^{Cb}	1,01±0,01^{Cb}	1,08±0,03^{Bab}	1,02±0,01^{Cb}	1,13±0,00^{Aa}	1,09±0,00^{ABa}	1,03±0,00^{Cb}	1,13±0,01^{Aa}	1,07±0,01^{Bb}	**% 0,4**
	1,06±0,01^{Ca}	1,00±0,01^{DEb}	0,98±0,01^{Eb}	1,03±0,01^{CDb}	1,04±0,02^{CDb}	1,05±0,01^{Ca}	1,11±0,03^{ABa}	1,14±0,01^{Aa}	1,10±0,02^{Bab}	**% 0,8**
C20:5n3	4,01±0,01^{Ca}	4,09±0,01^{BCb}	4,02±0,05^{Cb}	4,15±0,01^{BCc}	4,25±0,06^{ABa}	4,36±0,15^{Aa}	4,22±0,16^{ABCa}	4,03±0,01^{Ca}	3,48±0,11^{Db}	**Kontrol**
	3,99±0,06^{CDa}	4,19±0,03^{BCa}	4,18±0,21^{BCab}	4,20±0,06^{BCbc}	4,08±0,11^{CDb}	4,34±0,01^{Ba}	4,57±0,02^{Aa}	4,14±0,01^{BCDa}	3,91±0,08^{Da}	**% 0,2**
	3,98±0,08^{CDa}	4,14±0,02^{BCab}	4,13±0,04^{BCab}	4,48±0,13^{Aa}	4,06±0,01^{BCb}	4,23±0,00^{Ba}	4,44±0,12^{Aa}	3,97±0,04^{CDa}	3,85±0,07^{Da}	**% 0,4**
	3,94±0,01^{Ca}	4,08±0,03^{BCb}	4,42±0,01^{Aa}	4,44±0,11^{Aab}	4,22±0,01^{ABCab}	4,27±0,11^{ABa}	4,43±0,31^{Aa}	4,11±0,12^{BCa}	4,07±0,06^{BCa}	**% 0,8**
C22:2 cis	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,01±0,01^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Ab}	0,01±0,01^{Aa}	**Kontrol**
	0,00±0,00^{Ba}	0,00±0,00^{Ba}	0,01±0,01^{Ba}	0,00±0,00^{Ba}	0,00±0,00^{Ba}	0,00±0,00^{Ba}	0,00±0,00^{Ba}	0,02±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Ba}	**% 0,2**
	0,00±0,00^{Ba}	0,00±0,00^{Ba}	0,01±0,01^{Ba}	0,00±0,00^{Ba}	0,01±0,00^{ABa}	0,02±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Ba}	0,00±0,00^{Bb}	0,00±0,00^{Ba}	**% 0,4**
	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,01±0,01^{Aa}	0,00±0,00^{Aa}	0,01±0,01^{Ab}	0,00±0,00^{Aa}	**% 0,8**
C22:6n3	8,83±0,28^{BCa}	8,67±0,05^{Cb}	9,53±0,27^{Aa}	9,19±0,15^{ABa}	9,20±0,01^{ABc}	9,17±0,01^{ABb}	8,53±0,04^{Cc}	8,05±0,07^{Dc}	7,87±0,16^{Dc}	**Kontrol**
	8,93±0,11^{BCDa}	8,73±0,16^{Db}	9,65±0,11^{Aa}	9,51±0,06^{Aa}	9,60±0,01A^{ab}	9,11±0,10^{BCb}	9,15±0,04^{Bb}	8,83±0,18^{CDb}	8,19±0,06^{Eb}	**% 0,2**
	9,18±0,04^{BCa}	9,54±0,16^{ABa}	9,34±0,32^{ABa}	9,37±0,49^{ABa}	9,71±0,08^{Aa}	9,33±0,06^{ABab}	9,11±0,01^{BCb}	8,73±0,04^{Cb}	8,15±0,06^{Dbc}	**% 0,4**
	9,50±0,52^{Aa}	9,82±0,04^{Aa}	9,46±0,04^{Aa}	9,30±0,33^{ABa}	9,32±0,23^{ABbc}	9,45±0,13^{Aa}	9,86±0,11^{Aa}	9,74±0,30^{Aa}	8,80±0,10^{Ba}	**% 0,8**
∑PUFA	35,56±0,20^{Bb}	36,06±0,13^{ABb}	36,57±0,54^{Aa}	36,66±0,08^{Aa}	35,72±0,06^{Bb}	35,53±0,21^{BCb}	34,89±0,33^{Cb}	34,21±0,07^{Dc}	33,72±0,16^{Dc}	**Kontrol**
	36,03±0,31^{Cab}	36,52±0,11^{BCab}	36,97±0,16^{ABa}	37,08±0,18^{Aa}	36,83±0,11^{ABa}	36,74±0,41^{ABa}	36,53±0,08^{BCa}	35,24±0,15^{Db}	34,77±0,23^{Db}	**% 0,2**
	36,46±0,21^{Bab}	36,66±0,33^{ABa}	36,78±0,25^{ABa}	37,12±0,35^{Aa}	36,87±0,11^{ABa}	36,80±0,09^{ABa}	36,69±0,24^{ABa}	36,35±0,25^{Ba}	35,41±0,23^{Cab}	**% 0,4**
	36,83±0,69^{Aa}	36,96±0,18^{Aa}	36,82±0,28^{Aa}	37,29±0,28^{Aa}	37,06±0,41^{Aa}	36,98±0,10^{Aa}	36,49±0,07^{ABa}	36,80±0,23^{Aa}	35,90±0,18^{Ba}	**% 0,8**

$^{a-d}$ Her bir gün için gruplar arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir
$^{A-E}$ Her bir grup için günler arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir

Depolama süresi boyunca PUFA değerlerinde MUFA ve SFA değerlerinde olduğu gibi azalmalar tespit edilmiştir (Tablo 3). Depolamanın başlangıcında toplam PUFA değerleri kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için sırasıyla % 35.56, % 36.03, % 36.46 ve % 36.83 olarak tespit edilmiştir. Depolama sonunda ise en düşük PUFA değeri kontrol grubunda %33.72 olarak gözlenmiştir. Depolama süresi boyunca tüm muamele grupları arasında günler arasında istatistiksel farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Gruplar arasına bakıldığında ise depolamanın 6. ve 8. günlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık gözlenmezken depolamanın diğer günlerinde gruplar arasında istatistiksel farklılık belirlenmiştir ($p<0.05$). Depolamanın sonunda en yüksek toplam PUFA değeri % 35.90 ile % 0.8 nisin grubunda en düşük değerin ise kontrol grubunda % 33.72 olduğu gözlenmiştir.

Toplam PUFA arasında en yüksek değere sahip yağ asitleri tüm gruplarda linoleik asit (C18:2n6), linolenik asit (C18:3n3), eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5n3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6n3) olduğu belirlenmiştir. PUFA'yı oluşturan en önemli yağ asitlerinin başında linoleik asit (C18:2n6) gelmektedir. Depolama süresi ile birlikte bu yağ asidinde düşüşler meydana gelmiştir. Depolamanın sonunda ise en yüksek linoleik asit (C18:2n6) oranı % 18.62 ile % 0.4 nisin grubunda tespit edilmiştir. Depolamanın başlangıcında en yüksek linolenik asidin % 3.32 ile % 0.8 nisin grubunda olduğu belirlenmiştir.

İnsan sağlığı ve gelişimi açısından esansiyel olan PUFA'lardan biri eikosapentaenoik (EPA) asittir. Depolama başlangıcında EPA oranı en yüksek ve en düşük değerleri sırasıyla % 4.01 ile kontrol grubunda, 3.94 ile % 0.8 nisin grubunda olduğu tespit edilmiştir. Depolamanın sonunda ise kontrol grubunun en düşük, % 0.8 nisin grubunun ise en yüksek EPA değerine sahip olduğu belirlenmiştir. PUFA'lar içerisinde insan sağlığı açısından önemli olan diğer bir yağ asidi de dokosahekzaenoik asit (DHA)'tir. Kontrol, % 0.2, % 0.4 ve % 0.8 nisin muamele grupları için DHA oranları sırasıyla % 7.87-9.53, % 8.19-9.65, % 8.15-9.71 ve % 8.80 - 9.86 arasında değiştiği ve depolama süresince genel olarak azaldığı gözlenmiştir. Sonuç olarak depolama süresi sonunda kontrol grubunun nisin muamele gruplarından daha düşük DHA oranına sahip olduğu, nisin uygulamasının kullanılan konsantrasyona bağlı olmakla birlikte kontrol grubundan daha yüksek DHA oranına sahip olduğu gözlenmiştir. Nisin uygulaması balık yağındaki DHA oranını kontrol grubuna göre daha iyi koruduğu belirlenmiştir.

Özogul vd. (2017), depolamanın başlangıcında toplam PUFA oranını % 30.11 olarak rapor ederken depolama süresi boyunca PUFA değerinde düşüşler olduğunu, kontrol grubunun duyusal olarak reddedildiği depolamanın 12. gününde toplam PUFA değerinin % 22.47'e düştüğü ve depolamanın sonunda (18. gün) ise bu değerin % 19.31 olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen PUFA değerlerinin araştırmacıların sonuçlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Behnama vd. (2015) depolama süresiyle birlikte PUFA değerlerinde keskin bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızın sonuçlarını destekler nitelikte olmuştur. PUFA'lar arasında en çok linoleik asit, araşidonik asit, EPA ve DHA olduğunu bildiren Özogul vd. (2017), depolamanın başlarında bu yağ asitlerini kontrol grubu için sırasıyla % 15.46, % 1.59, % 4.53 ve % 7.07 olarak bildirmiştir. Depolamanın 12. gününde bu yağ asitlerinin oranlarının genel olarak azalmasıyla birlikte sırasıyla % 13.77, % 1.11, % 2.43 ve % 3.85 olduğunu ve depolamanın sonunda ise % 12.39, % 1.03, % 2.09 ve % 2.58 olduğunu bildirmiştir. Ayrıca PUFA içerisinde en yüksek oranda bulunan yağ asidinin de linoleik asit olduğunu gözlemlemiştir. Benzer sonuçlar yapmış olduğumuz çalışmada da gözlenmiştir. Fakat EPA ve DHA açısından oransal farklılıklar gözlenmiştir. Behnama vd. (2015) kontrol ve nisin grupları için EPA+DHA'nın başlangıç değerleri (0. gün için) sırasıyla % 5.93 ve % 6.36 olarak bildirmiştir. Depolama süresiyle birlikte bu yağ asitlerinde azalma tespit eden araştırmacılar, muamele grubunda belirledikleri daha yüksek değerlerin, nisinin antioksidan aktivitesine bağlı olabileceğini bildirmişlerdir.

Depolama süresi boyunca tüm gruplarda kantitatif olarak en yüksek yağ asitlerini sırasıyla PUFA, ardından MUFA ve son olarak SFA oluşturmaktadır. Ozogul vd. (2017) ise en yüksek yağ asitleri sıralamasını MUFA>PUFA>SFA olarak bildirmişlerdir. Behnama vd. (2015), kontrol grubu ve nisin ile muamele edilerek vakum paketlenmiş gökkuşağı alabalığı filetolarının yağ asitleri içeriklerini karşılaştırdıkları çalışmada tüm gruplarda en yüksek yağ asitleri grubunu sırasıyla MUFA, ardından PUFA ve son olarak SFA oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar çiftlik üretimi olan gökkuşağı alabalıklarının yağ asitleri kompozisyonu üzerinde çalışan Blanchet vd. (2005) ve Timberg vd. (2011)' nın sonuçları ile ters düşmektedir. Bu araştırmacıların çalışmasında ise mevcut çalışmaya benzer olarak balık etindeki en yüksek yağ asitleri oranını PUFA'lar oluşturmaktadır. Bu farklılıklar muhtemelen balık yemi bileşimi, çevresel koşullar, balık yaşı ve hatta yem katkı maddelerinden kaynaklanmaktadır.

Nisin uygulanarak vakum paketlenip soğukta depolanan levrek filetolarının ΣPUFA/ΣSFA, Σn-3, Σn-6, Σn-6/n-3, DHA/EPA içerikleri Tablo 4' te verilmiştir. PUFA/SFA oranına baktığımız zaman depolamanın başlangıcında ve sonunda en yüksek değerin % 0.8 nisin grubunda (sırasıyla % 1.74 ve % 1.72) olduğu gözlenmiştir. Benhama vd. (2015), PUFA/SFA oranının 16 günlük depolama süresince incelenen tüm örneklerde tavsiye edilen minimum limitin (0.45) üstünde olduğunu bildirmişlerdir. Toplam Σn3 yağ asitleri miktarına baktığımızda depolamanın başlangıcında ve sonunda en yüksek Σn3 miktarının % 0.8 nisin grubunda olduğu, en düşük değerin ise kontrol grubunda olduğu gözlenmiştir.

Nisin muamele gruplarında kontrol grubuna kıyasla depolama sonunda Σn3 miktarının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Σn6 oranını ele aldığımızda ise Σn3 miktarında olduğu gibi nisin muamele gruplarının kontrol grubundan daha iyi bir sonuç verdiği gözlenmiştir. DHA/EPA oranlarına bakıldığında depolamanın başlangıcında en yüksek değerin % 0.8 nisin grubunda olduğu en düşük değerin ise kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir. Depolama süresiyle birlikte günler arasında istatistiksel farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Depolama sonunda ise en düşük DHA/EPA değerinin % 0.2 nisin grubunda, en yüksek değerin ise kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir. Birçok araştırmacı tarafından önerilen Σn6/n3 oranı 1, 2 ve maksimum 4 olarak belirtilmiştir (Candela vd., 2011; Granados vd., 2006; HMSO, 1994). Benhama vd. (2015), tüm örneklerin depolama süresi boyunca n6/n3 oranı tavsiye edilen aralıkta olduğunu bildirmişlerdir. Depolama süresi ile nisin muamelesinin gökkuşağı alabalığı filetolarında n6/n3 değerleri arasında istatistiksel önemde bir fark olmadığı bulunmuştur ($p<0.05$). Mevcut çalışmada ise Σn6/n3 oranının 1.11 ile 1.31 aralığında olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçların araştırmacılar tarafından önerilen limit değerlerin içerisinde olduğu tespit edilmiştir. En yüksek Σn6/n3 değerinin depolamanın sonunda kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4. Farklı konsantrasyonlarda nisin uygulanarak vakum paketlenen levrek filetolarının soğukta depolanması süresince meydana gelen ΣPUFA/ΣSFA, Σn-3, Σn-6, n-6/n-3, DHA/EPA içerikleri

Table 4. The contents in ΣPUFA/ΣSFA, Σn-3, Σn-6, n-6/n-3, DHA/EPA of vacuum-packed sea bass fillets during cold storage by applying nisin at different concentrations

Yağ Asitleri	Depolama Günleri									Gruplar
	0	3	6	8	10	12	14	16	18	
∑SFA	21,07±0,53^{Aa}	20,90±0,16^{ABa}	21,11±0,20^{ABa}	21,41±0,42^{Aa}	20,95±0,01^{ABa}	20,90±0,16^{ABa}	20,87±0,26^{ABa}	20,71±0,12^{ABa}	20,63±0,09^{Bab}	**Kontrol**
	21,59±0,13^{ABa}	21,11±0,27^{BCa}	21,05±0,08^{Ca}	21,78±0,06^{Aa}	20,85±0,24^{CDa}	20,63±0,18^{CDa}	20, 71±0,11^{CDa}	20,69±0,49^{CDa}	20,37±0,20^{Db}	**% 0,2**
	21,34±0,40^{ABa}	21,08±0,09^{BCa}	20,76±0,18^{Ca}	21,61±0,08^{Aa}	20,93±0,19^{BCa}	20,77±0,11^{Ca}	20,98±0,29^{BCa}	20,85±0,15^{BCa}	20,96±0,19^{BCa}	**% 0,4**
	21,22±0,07^{ABCa}	21,30±0,21^{ABa}	20,78±0,29^{Ca}	21,50±0,06^{Aa}	20,73±0,14^{Ca}	20,73±0,06^{Ca}	21,08±0,05^{ABCa}	21,17±0,40^{ABCa}	20,92±0,25^{BCa}	**% 0,8**
∑MUFA	32,42±0,18^{Dc}	33,65±0,15^{ABa}	32,88±0,30^{CDa}	33,28±0,04^{ABCa}	33,92±0,18^{Abc}	33,11±0,45^{BCa}	30,52±0,32^{Eb}	30,46±0,04^{Eb}	30,35±0,22^{Ed}	**Kontrol**
	33,14±0,13^{CDb}	33,59±0,56^{BCa}	32,71±0,17^{DEa}	33,54±0,08^{BCa}	35,22±0,43^{Aa}	34,05±0,36^{Ba}	32,68±0,16^{DEa}	32,34±0,19^{Ea}	31,60±0,08^{Fc}	**% 0,2**
	33,67±0,02^{Aa}	33,48±0,06^{ABa}	33,01±0,79^{ABCa}	33,01±0,44^{ABCa}	33,69±0,10^{Ac}	33,85±0,18^{Aa}	32,71±0,41^{BCa}	32,68±0,17^{BCa}	32,40±0,02^{Cb}	**% 0,4**
	33,55±0,06^{ABa}	33,73±0,10^{ABa}	33,10±0,68^{ABa}	33,62±0,47^{ABa}	34,14±0,16^{Ab}	33,27±0,52^{ABa}	32,84±0,61^{Ba}	32,90±0,28^{Ba}	33,70±0,29^{ABa}	**% 0,8**
∑PUFA	35,56±0,20^{Bb}	36,06±0,13^{ABb}	36,57±0,54^{Aa}	36,66±0,08^{Aa}	35,72±0,06^{Bb}	35,53±0,21^{BCb}	34,89±0,33^{Cb}	34,21±0,07^{Dc}	33,72±0,16^{Dc}	**Kontrol**
	36,03±0,31^{Cab}	36,52±0,11^{BCab}	36,97±0,16^{ABa}	37,08±0,18^{Aa}	36,83±0,11^{ABa}	36,74±0,41^{ABa}	36,53±0,08^{BCa}	35,24±0,15^{Db}	34,77±0,23^{Db}	**% 0,2**
	36,46±0,21^{Bab}	36,66±0,33^{ABa}	36,78±0,25^{ABa}	37,12±0,35^{Aa}	36,87±0,11^{ABa}	36,80±0,09^{ABa}	36,69±0,24^{ABa}	36,35±0,25^{Ba}	35,41±0,23^{Cab}	**% 0,4**
	36,83±0,69^{Aa}	36,96±0,18^{Aa}	36,82±0,28^{Aa}	37,29±0,28^{Aa}	37,06±0,41^{Aa}	36,98±0,10^{Aa}	36,49±0,07^{ABa}	36,80±0,23^{Aa}	35,90±0,18^{Ba}	**% 0,8**
∑PUFA/SFA	1,69±0,05^{ABCa}	1,73±0,01^{ABa}	1,73±0,04^{Aa}	1,71±0,04^{ABCa}	1,70±0,00^{ABCb}	1,70±0,00^{ABCb}	1,67±0,04^{ABCb}	1,65±0,01^{BCb}	1,63±0,00^{Cb}	**Kontrol**
	1,67±0,02^{Da}	1,73±0,03^{BCa}	1,76±0,00^{ABa}	1,70±0,00^{CDa}	1,77±0,03^{ABa}	1,78±0,00^{Aa}	1,76±0,01^{ABa}	1,70±0,03^{CDab}	1,71±0,01^{CDa}	**% 0,2**
	1,71±0,02^{BCa}	1,74±0,01^{ABCa}	1,77±0,00^{Aa}	1,72±0,02^{ABCa}	1,76±0,02^{Aa}	1,77±0,01^{Aa}	1,75±0,04^{ABab}	1,74±0,02^{ABCa}	1,69±0,01^{Ca}	**% 0,4**
	1,74±0,04^{ABCa}	1,74±0,01^{ABCa}	1,77±0,01^{ABCa}	1,73±0,02^{ABCa}	1,79±0,03^{Aa}	1,78±0,01^{ABa}	1,73±0,00^{BCab}	1,74±0,04^{ABCa}	1,72±0,01^{Ca}	**% 0,8**
∑n6	19,46±0,10^{BCb}	19,90±0,06^{ABb}	19,73±0,28^{ABa}	19,94±0,21^{Aa}	19,01±0,13^{CDb}	18,65±0,08^{Db}	18,77±0,16^{Db}	18,72±0,01^{Dc}	19,04±0,13^{CDb}	**Kontrol**
	19,91±0,13^{ABab}	20,26±0,01^{Aa}	19,88±0,15^{ABa}	19,94±0,10^{ABa}	19,71±0,09^{ABa}	19,90±0,26^{ABa}	19,50±0,12^{BCa}	19,01±0,49^{Cbc}	19,14±0,23^{Cb}	**% 0,2**
	19,93±0,18^{Aab}	19,68±0,08^{Ac}	20,02±0,51^{Aa}	19,83±0,01^{Aa}	19,75±0,09^{Aa}	19,77±0,06^{Aa}	19,77±0,33^{Aa}	20,20±0,15^{Aa}	19,99±0,19^{Aa}	**% 0,4**
	19,98±0,25^{ABa}	19,79±0,21^{ABCbc}	19,75±0,11^{ABCa}	20,01±0,00^{ABa}	20,07±0,18^{Aa}	19,97±0,11^{ABa}	18,87±0,13^{Db}	19,67±0,13^{BCab}	19,56±0,13^{Cab}	**% 0,8**
∑n3	16,00±0,26^{Ba}	16,04±0,06^{Bb}	16,73±0,25^{Aa}	16,59±0,13^{Aa}	16,58±0,06^{Aa}	16,78±0,11^{Aa}	15,99±0,16^{Bc}	15,39±0,08^{Cc}	14,57±0,02^{Dd}	**Kontrol**
	16,03±0,22^{Ba}	16,16±0,13^{Bb}	16,97±0,32^{Aa}	17,01±0,08^{Aa}	17,00±0,21^{Aa}	16,71±0,14^{Aa}	16,96±0,05^{Ab}	16,12±0,33^{Bb}	15,57±0,01^{Cb}	**% 0,2**
	16,43±0,07^{DEa}	16,88±0,25^{ABa}	16,69±0,26^{BCa}	17,16±0,35^{Aa}	16,98±0,02^{ABa}	16,91±0,02^{ABa}	16,80±0,09^{ABCb}	16,07±0,09^{Eb}	15,33±0,05^{Fc}	**% 0,4**
	16,76±0,47^{BCa}	17,07±0,03^{ABa}	16,99±0,13^{ABa}	17,15±0,28^{ABa}	16,87±0,23^{Ba}	16,90±0,21^{ABa}	17,51±0,19^{Aa}	17,05±0,37^{ABa}	16,21±0,05^{Ca}	**% 0,8**
∑n6/n3	1,22±0,03^{Ba}	1,24±0,00^{Ba}	1,18±0,00^{CDEa}	1,20±0,02^{BCDa}	1,15±0,01^{Ea}	1,11±0,00^{Fb}	1,17±0,00^{DEa}	1,22±0,01^{BCab}	1,31±0,01^{Aa}	**Kontrol**
	1, 24±0,01^{Aa}	1,25±0,01^{Aa}	1,17±0,03^{Ca}	1,17±0,00^{Ca}	1,16±0,02^{Ca}	1,19±0,01^{BCa}	1,15±0,01^{Ca}	1,18±0,05^{BCb}	1,23±0,01^{ABb}	**% 0,2**
	1,21±0,01^{BCa}	1,17±0,01^{CDb}	1,20±0,05^{CDa}	1,16±0,02^{Da}	1,16±0,00^{CDa}	1,17±0,00^{CDa}	1,18±0,03^{CDa}	1,26±0,00^{ABa}	1,30±0,01^{Aa}	**% 0,4**
	1,19±0,02^{ABa}	1,16±0,01^{Bb}	1,16±0,00^{Ba}	1,17±0,02^{ABa}	1,19±0,01^{ABa}	1,18±0,02^{ABa}	1,08±0,02^{Cb}	1,15±0,03^{Bb}	1,21±0,00^{Ab}	**% 0,8**
DHA/EPA	2,20±0,06^{Ba}	2,12±0,00^{BCDc}	2,37±0,10^{Aa}	2,22±0,04^{Ba}	2,16±0,03^{BCb}	2,11±0,07^{BCDa}	2,02±0,07^{CDa}	2,00±0,01^{Dc}	2,26±0,12^{ABa}	**Kontrol**
	2,24±0,01^{ABa}	2,08±0,05^{Cc}	2,31±0,09^{Aab}	2,26±0,02^{ABa}	2,36±0,06^{Aa}	2,10±0,03^{Ca}	2,00±0,00^{Da}	2,13±0,04^{BCbc}	2,10±0,06^{Ca}	**% 0,2**
	2,31±0,04^{ABa}	2,31±0,03^{ABb}	2,26±0,06^{ABCab}	2,09±0,17^{Da}	2,39±0,03^{Aa}	2,20±0,02^{BCDa}	2,05±0,06^{Da}	2,20±0,03^{BCDb}	2,12±0,06^{CDa}	**% 0,4**
	2,41±0,12^{Aa}	2,41±0,01^{Aa}	2,14±0,01^{Cb}	2,10±0,13^{Ca}	2,21±0,05^{ABCb}	2,22±0,03^{ABCa}	2,23±0,18^{ABCa}	2,37±0,00^{ABa}	2,16±0,05^{BCa}	**% 0,8**

$^{a-d}$ Her bir gün için gruplar arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir.
$^{A-E}$ Her bir grup için günler arası önemli farklılıkları ($p<0.05$) göstermektedir.

SONUÇ

Nisin ve vakum paketleme uygulamalarının soğukta (4±2°C) depolanan levrek filetolarında lipit oksidasyonunu kontrol grubuna kıyasla geciktirdiği ve en yüksek PUFA içeriğinin % 0.8 nisin (% 35.90) muamele grubunda olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda nisin uygulamanın kontrol grubuna kıyasla yağ asitlerinin oto-oksidasyon reaksiyonunu geciktirdiği düşünülmektedir. Nisinin vakum paketleme ile birlikte kullanılması, balıkların yağ asitleri içeriğini koruduğu ve su ürünleri için koruyucu olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

REFERENCES

Abdollahzadeh, E., Rezaei, M. & Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of Thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control,* 35(1), 177e183. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.07.004.

Anonim, 2000. "http://rraids.medscape.comrreutersrprofr1999r10r10.28rpb10289b.html", 2000. Marathon Enterprises Recalls Hotdogs Due to Possible Listeria Contamination.

Bauer, R. & Dicks, L.M.T. (2005). Mode of action of lipid II-targeting lantibiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 101(2), 201-216. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.007

Behnama, S., Anvari, M., Rezaei, M., Soltanian, S. & Safari, R. (2015). Effect of nisin as a biopreservative agent on quality and shelf life of vacuum packaged rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) stored at 4ºC. *Journal of Food Science and Technology*, 52(4), 2184-2192. " DOI: 10.1007/s13197-013-1241-2

Blanchet, C., Lucas, M., Julienc, P., Morind, R., Gingrasa, S. & Dewailly, É. (2005). Fatty acid composition of wild and farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Lipids,* 40, 529–531. DOI: 10.1007/s11745-005-1414-0

Candela, C.G., López, L.B. & Kohen, V.L. (2011). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. *Nutricion Hospitalaria*, 26(2), 323-329. DOI: 10.1590/S0212-16112011000200013.

Ceylan, Z. (2014). Nisin ve ışınlama uygulamalarının birlikte kullanılmasının soğukta depolanan balığın raf ömrüne etkisi. *İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüksek Lisans Tezi. 104.

Erkan, N. & Özden, Ö. (2008). Quality assessment of whole and gutted sardines (*Sardina pilchardus*) stored in ice. *International Journal of Food Science and Technology*, 43(9), 1549-1559. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2007.01579.x

Gao, M., Feng, L., Jiang, T., Zhu, J., Fu, L., Yuan, D. & Li, J. (2014). The use of rosemary extract in *combination with nisin to extend the shelf life of pompano (Trachinotus* ovatus) fillet during chilled storage. *Food Control*, 37(0), 1e8. DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.09.010

Ghomi, M.R., Nikoo, M., Heshmatipour, Z., Jannati, A.A., Ovissipour, M., Benjakul, S., Hashemi, M., Faghani Langroudi, H., Hasandoost, M. & Jadiddokhan, D. (2011). Effect of sodium acetate and nisin on microbiologicaland chemical changes of cultured grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) during refrigerated storage. *Journal of Food Safety*, 31, 169–175. DOI: 10.1111/j.1745-4565.2010.00281.x

Gökoğlu, N., Cengız, E. & Yerlıkaya, P. 2004. Determination of the shelf life of marinated sardine (Sardina pilchardus) stored at 4°C. Food Control, 15(1), 1-4. DOI: 10.1016/S0956-7135(02)00149-4

Granados, S., Quiles, J.L., Gil, A. & Ramírez-Tortosa, M.C. (2006). Lípidos de la dieta y cáncer. *Nutrición Hospitalaria*, 21,44-54.

Halliwell, B., Murcia, M. A., Chirico, S. & Aruoma, O. I. (1995). Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 7–20. DOI: 10.1080/10408399509527682

HMSO. (1994). Nutritional aspects of cardiovascular disease: Report on health and social subjects. Committee of Medical Aspects of Food Policy, 46; Department of Health, London, UK.

Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K. & Nakayama, T. (1996). An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31, 535–539. DOI: 10.1007/BF02522648

Itsiopoulos, C., Hodge, A. & Kaimakamis, M. (2009). Can the Mediterranean diet prevent prostate cancer? *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(2), 227-239. DOI: 10.1002/mnfr.200800207

Juneja, V.K., Dwivedi, H.P. & Yan, X. (2012). Novel natural food antimicrobials. *Annual Review of Food Science and Technology,* 3(1), 381e403. DOI: 10.1146/annurev-food-022811-101241

Kaya, Y., Duyar, H.A. & Erdem, M.E. (2004). The importance of fish fatty acids on human health. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 21(3/4), 365-370.

Kinsella, J.E. (1987). Seafoods and fish oils in human health and disease. Marcel Dekker, Inc. New York, 231-236. DOI: 10.1016/0167-5273(89)90287-8

Leaf, A. & Weber, P.C. (1988). Cardiovascular Effects of n-3 Fatty Acids. *New England Journal of Medicine,* 318(9), 549-557.

Llauradó, E., Albar, S.A., Giralt, M., Solà, R. & Evans, C.E.L. (2016). The effect of snacking and eating frequency on dietary quality in British adolescents. *European Journal of Nutrition*, 55(4), 1789-1797. DOI: 10.1007/s00394-015-0997-8

Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.F., Shapiro, C., Griffin, P.M. & Tauxe, R.V. (1999). Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases,* 5Ž.5, 607–625. DOI: 10.3201/eid0505.990502

Mills, S., Stanton, C., Hill, C. & Ross, R.P. (2011). New developments and applications of bacteriocins and peptides in foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2, 299e329. DOI: 10.1146/annurev-food-022510-133721

Özden, Ö. & Erkan, N. (2008). Comparison of biochemical composition of three aquacultured fishes (*Dicentrarchus labrax, Sparus aurata, Dentex dentex*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7-8), 545-557.

Özogul, Y., Durmus, M., Uçar, Y., Köşker, A.R. & Ozogul, F. (2017). The combined impact of nanoemulsion based on commercial oils and vacuum packing on the fatty acid profiles of sea bass fillets. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(6), e13222. DOI: 10.1111/jfpp.13222

Palmquist, D.L. (2009). Omega-3 fatty acids in metabolism, health, and nutrition and for modified animal product foods. *The Professional Animal Scientist*, 25(3), 207-249. DOI:10.15232/S1080-7446(15)30713-0

Rendeiro, C., Sheriff, A., Bhattacharya, T.K., Gogola, J.V., Baxter, J.H., Chen, H. & Rhodes, J.S. (2016). Long-lasting impairments in adult neurogenesis, spatial learning and memory from a standard chemotherapy regimen used to treat breast cancer. *Behavioural Brain Research,* 315, 10-22. DOI: 10.1016/j.bbr.2016.07.043

Simopoulos, A.P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 54(3), 438-463. DOI: 10.1093/ajcn/54.3.438

Stoll, B.A. (2002). N-3 fatty acids and lipid peroxidation in breast cancer inhibition. *British Journal of Nutrition,* 87(3), 193-198. DOI: 10.1079/BJN2001512

Timberg, L., Kuldjärv, R., Koppel, K. & Paalme, T. (2011). Rainbow trout composition and fatty acid content in Estonia. *Agronomy Research*, 9, 495–500

TÜİK. (2017). Turkish Statistical Institute, Fisheries statistics—2009. Prime Ministry Publications, Publication Number; 3624, 58p, Ankara, Turkey.

Türkkan, A.U., Cakli, S. & Kilinc, B. (2010). Changes in quality during storage of vacuum-packed sea bass (*Dicentrarchus labrax*, Linnaeus, 1758) cooked by different methods. *Journal of Muscle Foods*, 21(1), 1-14. DOI: 10.1111/j.1745-4573.2009.00164.x

Yazgan, H. (2013). yçiçek yağı ile hazırlanan nanoemülsiyonun soğukta (2±2°C) depolanan levrek (*Dicentrarchus labrax*) ve çipura (*Sparus aurata*) filetolarının duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi üzerine etkisi. *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, 100.

Yıldız, M., Şener, E. & Timur, M. (2008). Effects of differences in diet and seasonal changes on the fatty acid composition in fillets from farmed and wild sea bream (*Sparus aurata* L.) and sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *International Journal of Food Science & Technology,* 43(5), 853-858. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2007.01526

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 53-58 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.07

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardina pilchardus*) iç organlarından tripsin eldesi ve bazı fonksiyonel özelliklerinin tespiti

Extraction of trypsin enzyme from visceral organs of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus)* and determination of some functional characteristics

Boğaçhan Burak Erkan[1] ● Şükran Çaklı[2]*

[1] Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Bornova-İzmir, Türkiye
[2] Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Bornova-İzmir, Türkiye

http://orcid.org/0000-0002-0924-2116
http://orcid.org/0000-0002-2419-9064

*Corresponding author: sukrancakli@gmail.com

Received date: 12.07.2019 Accepted date: 01.10.2019

How to cite this paper:
Erkan, B.B. & Çaklı, Ş. (2020). Extraction of trypsin enzyme from visceral organs of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus)* and determination of some functional characteristics. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 53-58. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.07

Öz: Bu araştırmada hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardina pilchardus*) iç organlarının besinsel kompozisyonu, iç organlardan elde edilen tripsin enziminin protein konsantrasyonu, tripsin aktivite tespiti, protein çözünürlüğü ve toz tripsinin renk değerleri incelenmiştir. İç organlar aseton ile homojenize edilip, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz işlemleri sonucunda tripsin enzimi geri kazanılmıştır. İç organların besinsel kompozisyonu; hamsi iç organlarının nem oranı % 78,92 ± 0,11, kül oranı oranı % 2,26 ±, 0,55, protein oranı % 10,82 ±, 2,05, yağ oranı % 6,49 ± 0,55 olarak bulgulanmıştır. Sardalya iç organlarının nem oranı % 81,07 ± 1,03, kül oranı oranı % 0,71 ±, 0,04, protein oranı % 5,08 ±, 2,08, yağ oranı % 2,01 ± 0,17 olarak bulgulanmıştır. Hamsi iç organlarından elde edilen tripsinin enzim aktiviesi 0,064 U/ml, spesifik aktivitesi 0,17 U/mg, sardalya tripsinin enzim aktivitesi 0,051 U/ml, spesifik aktivitesi 0,19 U/mg olarak bulgulanmıştır. Enzim saflaştırma basamağında 1 kg hamsi iç organlarından 13,6 gr ve 1 kg sardalya iç organlarından 18,9 gr toz tripsin elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Tripsin enzimi, balık iç organı, hamsi, sardalya

Abstract: In this study, nutritional composition analysis of internal organs of anchovy (*Engraulis encrasicolus)* and sardine (*Sardina pilchardus*), trypsin activity determination of trypsin enzyme obtained from internal organs, protein solubility and color values of extracted trypsin parameters examined. Nutritional composition of internal organs: the moisture content of the anchovy internal organs 78.92±0.11 %, the ash 2.26±0.55 %, the protein 10.82±2.05 %, the fat 6.49±0.55 % were estimated. The moisture content of the sardine internal organs 81.07±1.03 %, the ash 0.71±0.04 %, the protein 5.08±2.08 %, the fat 2.01±0.17 % were estimated. Enzyme activity and spesicific activity of anchovy trypsin which are 0.064 U/mg, 0.17 U/ml were estimated, respectively. Enzyme activiy of sardine trypsin as 0.051 U/ml and spesific activity as 0.19 U/mg were estimated. In the enzyme purification step, 13.6 g of 1 kg anchovy and 18.9 g of powder trypsin were obtained from 1 kg sardine.

***Keywords*:** Trypsin enzyme, fish internal organs, sardine, anchovy

GİRİŞ

Dünyada hamsi (*Engraulis sp.*) ve sardalya (*Sardina sp.*) türleri avcılığı yoğun yapılan türler arasında yer alır. Dünyada *Engraulis encrasicolus* türü 342609 ton ve *Sardina pilchardus* türü 1281391 ton avlanmıştır (FAO, 2016). Su ürünleri işleme tesisleri ve fabrikaları büyük miktarlarda katı atık ve atık su üretirler. Katı atıklar işlenme yöntemine göre ham maddenin %15-60'ını oluşturabilir ve insan tüketimi için kullanılmayan; iç organlar, kafa, pul, deri, kan ve kılçıklardır. Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardina pilchardus*) için de atık oranları üretilen son ürün için işleme yöntemine bağlı olarak %15-55 arasında değişmektedir. Çevre sorunlarına neden olan bu atıklar çoğu zaman yakılmakta veya denizlere atılmaktadır (Bozzano ve Sarda, 2002). Ülkemizde ise bu atıklar ya hiç kullanılmadan atılmakta ya da düşük ticari değerle yem sanayinde kullanılmaktadır. Günümüzde, balıklardan elde edilen atıklar, yüksek protein, yağ ve mineraller açısından zengin ve bir çok biyaktif bileşikleri içerdiği için, yeni katı atık bertaraf yöntemleri geliştirilmeye başlanmıştır (Toppe vd., 2007; Kacem vd., 2011). Faid vd. (1997) yaptığı çalışmalar da atıklardan hayvanlar için protein değeri yüksek yemler üretmiştir. Endüstriyel biyoteknolojide ise; balık atıklarından, insan sağlığına yararlı balık yağları üretilmiştir (Kim vd., 2006; Zampolli vd., 2006; Chen vd., 2006). Üretilen bu yağlar gıda ürünleri ve içeceklerine ilave edilmiştir (Rubio-Rodriguez vd., 2010). Balıklardan çıkan deriler ve kılçıkların gıda, ilaç sanayi ve kozmetik sanayinde faydalı jelatin veya kondroitin sülfat üretimi için yararlı hammadde olabileceği belirtilmiştir (Blanco vd., 2006; Karim ve Bhat, 2009). Balık atıklarından iç organlar, proteazları içerirler ve proteazlar dünyada satılan enzimlerin %50'sini oluştururlar. (Khangembam vd., 2015; Klomklao vd., 2007). Zengin enzim kaynağı olan balık iç organları, düşük

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

konsantrasyonlarda yüksek katalitik aktivite sergilerler. Tripsin, pepsin, kimotripsin ve kollajenler balıklarda bulunan enzimlerdir. Balık iç organlarından çıkarılan bu enzimler ticari değere sahiptirler. Hayvansal sindirim sisteminde ki önemli proteazlardan biri de tripsindir (E.C. 3.4.21.4) Memelilerden elde edilen tripsin ile deniz canlılarından elde edilen tripsin arasında benzerlikler vardır. Amino asit bileşimi ve inhibitörlere duyarlılık bu benzerliklerdendir (Klomklao, 2008). Ayrıca tripsin iç organlarda bulunan önemli serin proteazlardan biridir. Arginin ve lisinin karboksil yanında ki peptit bağlarında parçalanan tripsinin molekül ağırlığı 22-28 kDa arasında değişmektedir (Klomklao vd., 2007; Simpson, 2000). Tripsinin moleküler ağırlığı arasındaki farklar türler arası genetiğe bağlı olabilir (Lu vd., 2008). Tripsinler, çeşitli denizel canlılardan fiziksel, kimyasal ve enzimatik özelliklerine göre iyice izole edilmiş ve karakterize edilmiştir. Nil tilapyası (Menezes Estevam Alves ve Nascimento, 2016), altınbaş kefali (Bkhairia vd., 2015), beyaz ton balığı (Simpson vd., 2016), patlakgöz ton balığı (Poonsin vd., 2017), dikenli çütre gibi (Zamani ve Benjakul 2016). Khangembam vd., 2015'de yaptığı çalışamada tripsinin biyoteknolojideki önemini vurgulamıştır. Proteazların kullanım alanı oldukça geniştir. Deterjan sanayi, gıda, ziraat kimyası ve ilaç endüstrileri gibi çeşitli endüstrilerde farklı uygulama alanlarına sahiptir (Gupta vd., 2002; Zukowski, 1992). Bu çalışma kapsamında Türkiye'de yoğun bir şekilde avcılığı yapılan hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardina pilchardus*) balıklarının işleme sonrasında geriye kalan iç organlarından tripsin enzimini elde edilerek bazı fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırma için kullanılan materyal; hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardina pilchardus*) türlerine ait iç organlardır. Hamsi ve sardalya balıklarına ait iç organlar; Ege denizinden 2018 yılı kış mevsiminde gırgır avcılık yolu ile yakalanan balıklardan İzmir- Buca'da bulunan bir işleme tesisinden elde edilmiştir. Temiz poşetler içersinde 1 er kg'lık olarak ayrılmış ve strafor kutular ile, 1-1 buz oranı eklenerek Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İşleme Laboratuvarı'na nakledilmiş ve -80 °C'de muhafazaya alınmıştır. Muhafazaya alınmasını takiben 1 hafta içerisinde iç organlardan tripsin üretimi gerçekleştirilmiştir.

Üretim metodu

Ham tripsin enzim ekstraktının hazırlanması

-80 °C'de depolanan iç organlar 4 °C'de çözdürüldükten sonra bıçak ile küçük parçalara ayrılarak üretime hazır hale getirilmiştir. Hamsi ve sardalya iç organları sıvı azot yardımı ile kurutulmuş ve Kishimura ve Hayashi (2002)'nin modifiye edilmiş metoduna göre (1:3) oranında aseton ile -20 °C'de 30 dk. homojen hale getirilmişdir. Homojen hale getiren örnekler whatman No. 4 filtre kağıdından geçirilerek filtre edilmiştir. Filtre kağıdından elde edilen kalıntı (1:2) oranında aseton ile -20 °C'de 30 dk. tekrar homojenize edilmiştir ve homojenize kalıntı kuruyuncaya ve aseton kokusu gidene kadar oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ham ekstraktı hazırlamak için, aseton ile muamele edilerek hazırlanmış olan toz, "başlangıç tamponu" olarak adlandırılan ve 1mM $CaCl_2$ içeren (1:50) oranındaki 10 mM Tris-HCl, pH 8.0 içinde süspansiyon halinde tutularak ve 4 °C'de 3 saat boyunca sürekli karıştırılmıştır. Daha sonra süspansiyon 4 °C'de 10000 x g de 10 dk. süreyle doku kalıntılarının uzaklaştırılması için santrifüj edilerek elde edilen süpernatant toplanmıştır ve bu solüsyon "ham ekstrakt" olarak kullanılmıştır. Santrifüj işlemi tamamlandığında aseton basamağında uzaklaştırılamayan lipitler süpernatantın üst kısmında faz olarak ayrılmaktadır. Bu faz damlalık yardımıyla uzaklaştırılır. Lipitlerin iyi uzaklaştırılması gerekmektedir. Amonyum sülfat çöktürmesi basamağında santrifüj aşamasında pelletin toplanmasında sorun oluşturmaktadır. Pelletin bir kısmı dipte bir kısmı da yüzeyde toplanmaktadır. Kullanmadan önce liyofilize edilen örnek (10 gr) 50 mL soğuk distile su (4 °C) içinde çözdürülerek ve bu solüsyon "ham ekstrakt" olarak kullanılmıştır. Süpernatant liyofilize edilip saf suda çözülerek amonyum sülfat fraksiyonlamasına tabi tutulması aşaması çıkarılmıştır. Liyofilize edilip saf suda çözülmesi aşamasın da aktivitede %40 civarında düşüş gözlendiği için bu aşama çıkarılmıştır.

Amonyum sülfat çöktürmesi ile fraksiyonların hazırlanması

Farklı doygunluk aralıklarındaki (% 0-20, 20-40, 40-60, 80-100) ham ekstrakt amonyum sülfat çöktürmesi işlemi uygulanmıştır. Amonyum sülfat eklendikten sonra karışım 4 °C'de ve 30 dk yavaşça karıştırılmıştır. Bundan sonra karışım 8000 x g de 4 °C ve 30 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen peletler en az hacimdeki 50 mM Tris-HCl, pH 8 'de çözdürülmüştür. Çözelti (1:20) oranında ekstraksiyon tamponuna karşı gece boyunca diyaliz tamponu 3 kez değiştirilmek suretiyle 4 °C'de diyalize edilmiştir. Diyalize edilmiş örnek buz içinde muhafaza edilmiştir ve bu örnek "amonyum sülfat fraksiyonu" olarak adlandırılmıştır (Khantaphant ve Benjakul, 2008).

Analizler

Tripsin aktivitesi tespiti

BAPNA subtratı kullanılarak amidaz aktivitesi ölçülmüştür (Klomklao vd., 2006). Amidaz aktivitesi BAPNA substratı kullanılarak ölçülmüştür. 200 µl örnek 200 µl distile su ve 1000 µl reaksiyon tamponu (1mM $CaCl_2$ içeren, 50 mM Tris-HCl (pH 8) ile karıştırılarak ve reaksiyon, karışıma 200 µl 2 mg/ml BAPNA eklenerek başlatılmıştır. 60 °C'de ve 20 dk inkübasyondan sonra, 200 µl %30 asetik asit (v/v) ekleneren reaksiyon sonlandırılmıştır. P-nitroanilin üretimi reaksiyon karışımının 410 nm'de absorbansı izlenerek ölçülmüştür. Kör örnek, aynı işlem sırası izlenerek fakat örnek %30 asetik asit eklendikten sonra eklenmek suretiyle hazırlanmıştır. 1 birim amidaz aktivitesi 410 nm'de absorbansta meydana gelen 1.0 artışa yol açan miktar olarak tanımlanmaktadır.

Tripsin aktivite ölçümü aşağıdaki formül kullanılarak yapılmıştır.

$$\text{Activite}\ (\text{U/mL}) = \frac{(\text{A-A}_0) \times \text{Final volume of the mixture (ml)} \times 100}{8800 \times \text{Time of the reaction (min)} \times 0{,}2\ (\text{ml})}$$

A : Absorbans değeri

A_0 : Kör örneğin değeri

8800 : p-nitroaniline katsayısı

Protein konsantrasyonu

Protein konsantrasyonu tespiti Lowry vd. (1951) metoduna göre Bovin Serum Albumin standartı kullanılarak yapılmıştır.

Protein çözünürlüğü

Sıvı kısmın protein miktarını tespit etmek için Lowry metodu kullanılmıştır. Materyaldeki toplam protein miktarı 0.5 M NaOH de örneğin çözülmesinden sonra tespit edilmiş ve değerler aşağıdaki formül üzerinden hesaplanarak verilmiştir;

$$\text{Çözünürlük(\%)}: \frac{\text{Sıvı kısmın protein miktarı}}{\text{Örneğin toplam protein miktarı}} \times 100$$

Renk ölçümü

Spektropen (Hach-Lange GmbH & Co., Dusseldorf, Germany) renk ölçüm cihazı kullanılarak Schubring (2002) metodu ile gerçekleştirilmiştir. Renk ölçümü toz haldeki tripsin ekstratı üzerinden gerçekleştirilmiştir. Petri kaplarına yüzeyi pürüzsüz olacak şekilde aktarılarak toz örneklerde renk ölçümleri 10 tekerrür ile gerçekleşemiştir. Sonuçlar CIE Lab sisteminde L*parlaklığı (0'dan 100'e kadar derecelendirme siyahtan beyaza); a*, (+) kırmızı veya (-) yeşil ve b*, (+) sarı veya (-) mavi skalasında verilmiştir.

Besinsel kompozisyon analizleri

Nem analizi Ludorf ve Meyer (1973)' e göre; kül analizleri AOAC, 935.47, (1984a)' ye göre; ham protein AOAC, 981.10 (1984b)' e göre; yağ analizi Bligh ve Dyer (1959)' a göre yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Tripsin aktivite tespiti

Enzim saflaştırma basamağında 1 kg hamsi iç organlarından 13,6 gr ve 1 kg sardalya iç organlarından 18,9 gr toz tripsin elde edilmiştir (Tablo 1). İki türünde yağlı olması elde edilen verimi olumlu yönde etkilerken diğer bir yandan enzim saflaştırma basamaklarından olan amonyum sülfat çöktürmesi işleminde, santrifüj işleminden sonra dipte değil üst tarafta toplanmasına neden olmuştur. Bu durum tuz uzaklaştırması için yapılan diyaliz basamağında membran gözeneklerinin tıkanmasına neden olduğu için sorun çıkartmıştır. Bu sorun diyaliz süresinin uzatılması ile çözülmüştür.

Tablo 1. 1 kg iç organdan elde edilen toz Tripsin miktarları (gr)
Table 1. Amount of powder trypsin obtained in 1 kg of internal organs (g)

Türe Göre Elde Edilen Tripsin Miktarı (gr)	
Hamsi	***Sardalya***
13,6	18,9

Toz haldeki tripsin enzimi elde edildikten sonraki ilk gün aktivite tespiti yapılmıştır. Hamsi için tripsin enzim aktivitesi 0,064 U/ml, sardalya için 0,051 U/ml olarak bulgulanmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Hamsi ve sardalya'dan elde edilen enzim aktivite değerleri (U/ml)
Table 2. Enzyme activity values obtained from anchovy and sardine

Tripsin Enzimi Aktivitesi	
Hamsi (U/ml)	**Sardalya (U/ml)**
0.064	0.051

Protein konsantrasyonu

1 mg katıda hamsi ve sardalyadan elde edilen protein (mg/ml) sırasıyla 0,38 ve 0,27'dir. Spesifik aktivite değerleri ise hamsi 0,17 U/mg, sardalya 0,19 U/mg olarak ölçülmüştür (Tablo 3).

Tablo 3. 1 mg toz tripsindeki protein (mg/ml) ve spesifik aktivite (U/mg) değerleri
Table. 3. Protein (mg / ml) and specific activity (U / mg) values in 1 mg powder trypsin

Örnek	Protein (mg/ml)	Spesifik Aktivite (U/mg)
Hamsi	0,38	0,17
Sardalya	0,27	0,19

Protein çözünürlülüğü

Hamsi ve sardalya balığından elde edilen tripsinin protein çözünürlüğü hamsi için % 83,2, sardalya için % 78,3 olarak tespit edilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Hamsi ve sardalya'dan elde edilen toz tripsinin protein çözünürlüğü (%)
Table 4. Protein solubility of powdered trypsin obtained from anchovy and sardine (%)

Protein Çözünürlüğü %	
Hamsi	***Sardalya***
% 83,2	% 78,3

Çaklı vd., (2018) çalışmasında çipura, levrek ve alabalık iç organlarından elde edilen enzimin mevsimsel depolama değerlerini, protein çözünürlüğünü, aktivite, spesifik aktivite ve protein değerlerini incelemiştir. Türlerin kış dönemine ait enzim aktiviteleri, çipura 0,030 U/ml, levrek 0,0254 U/ml, alabalık 0,021 U/ml olarak bulgulanmıştır. Spesifik aktivite, çipura için 0,043 U/mg, levrek için 0,05 U/mg ve alabalık için 0,037 U/mg olarak hesaplanmıştır. Protein miktarı, levrek 0,35 mg/ml, çipura 0,69 mg/ml ve alabalık için 0,57 mg/ml olarak ölçülmüştür. Protein çözünürlükleri, alabalık %87,68±0,08, levrek %91,11±0,35 ve çipura için %89,97±0,55 olarak bulgulanmıştır. Sila vd., (2012) yaptığı çalışmada, *Barbus callensis* iç organlarından tripsini 27 kat saflaştırmış ve %31'lik geri kazanım ile tripsinin sepesifik aktivitesini 79 U/mg olarak bulmuştur. Aynı zamanda çalışmasında karides atıklarından elde edilen karotenoproteinin besinsel kompozisyonunu %71.09 protein, % 16.47 lipit, % 7.78 kül ve % 1.79 kitin olarak bulgulamıştır. Castillo-Yáñez vd., (2005), Monterey sardalyanın pilorik kesesinden, tripsinin amonyum sülfat, jel filtrasyon, afinite ve iyonik değişim kromatografisi ile fraksiyonlama ile saflaştırıldığını bildirmiştir. Heu vd., (1995), çalışmalarında hamsi iç organlarından saflaştırılarak elde edilen tripsin ve kymotripsin enzimlerinin SDS-PAGE ile tespit edilen moleküler ağırlıkları 25.6 ve 26.1 kDa olarak tespit edilmiştir. Bütün enzimler maksimal aktiviteyi kazein için pH 9.0 ve 45 °C'de gösterirken, sentetik özgenil için pH 8.0 ve 45 °C olarak tespit edilmiştir. Khaled vd., (2008) yaptıkları çalışmada sardalyanın iç organından amonyum sülfat fraksiyonu, Sephadex G-75 jel filtrasyonu, Sepharose mono Q anyon değişim kromotografisi, ultrafiltrasyon ve ikinci Sephadex G-75 jel filtrasyonu fraksiyonları ile tripsin enzimi saflaştırılmıştır ve spesifik aktivitesi 5,42 kat spesifik aktivitede yükselmiş ve %6.1 geri kazanım gerçekleşmiştir. Saflaştırılmış enzimin moleküler ağırlığı ekslüzyon kromotografisi ve SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat polikrilamid jel) elektroforezi kullanılarak 24 kDa olarak tespit edilmiştir. Bu saflaştırılmış enzim esterase-spesifik aktiviteyi N-α-benzoyl-L-arginine ethyl ester (BAEE) göstermiştir ki bu N-α-benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide (BAPNA) üzerindeki amidase-spesifik activitesinden 4 kat daha büyüktür. Enzim aktivitesi için optimal pH ve sıcaklık BAEE substrat kullanılarak sırasıyla 8 ve 55 °C olarak tespit edilmiştir. Tripsinin BAPNA üzerindeki sabitli kinetikleri Km ve kcat sırasıyla 1.67mmol L−1 ve 3.87 s−1 olarak tespit edilirken katalitik verim 2.31 s−1 L mmol−1 olarak tespit edilmiştir.

Besinsel kompozisyon

Hamsi ve sardalya iç organlarının besinsel kompozisyon verileri Tablo 5'te verilmiştir. Hamsi ve sardalya türlerinin iç organlarının ham protein oranları sırasıyla % 10,82 ve % 5,08 olarak bulgulanmıştır. Her iki iç organlarda yağ oranı hamsi için % 6,49 iken sardalya için % 2,00 bulgulanmıştır. Bunun yanında iç organların nem oranları hamsi için % 78,92 ve sardalya için % 81,07 bulunmuştur. Hamsi iç organlarında kül oranı % 2,26, sardalya iç organlarında kül oranı % 0,71 olarak bulunmuştur.

Tablo 5. Hamsi ve sardalya balığının besinsel komposizyon oranları (%)
Table 5. Nutritional composition of anchovy and sardine (%)

Besinsel Komposizyon	Hamsi	Sardalya
Nem	78,9279± 0,1123	81,0792± 1,0392
Kül	2,2681± 0,5510	0,7185± 0,0431
Protein	10,8241± 2,0506	5,0868± 2,0850
Yağ	6,4988± 0,5587	2,0064 ± 0,1798

Tengku-Rozaına vd (2018) sardalya fileto ve işleme yan ürünlerinin besinsel bileşimini nem, protein, yağ ve kül oranlarını (%) sırasıyla filetoda 73.64; 19.43; 3.06 ve 1.49 olarak baş ve iskelet kısmında ise; 63.65; 13.64; 10.38 ve 11.47 olarak tespit etmişlerdir.

Balık iç organları, tripsin kaynağı olarak geniş bir biyoteknolojik potansiyele sahiptir. Bu enzimler, sıcaklıkları ve diğer özellikleri sıcakkanlı hayvanlardan gelen homolog proteinazlardan farklı olduğundan, gıda endüstrisi için birçok avantajlara sahip olabilir. Bu nedenle, visseral proteinazlar balık yetiştiriciliğinden katma değerli bir ürün olarak izole edilebilir ve deniz kaynaklarının kullanımını en üst düzeye çıkarmak için gıda endüstrisinde işleme yardımcıları olarak kullanılabilir (Bougatef, 2013).

Renk

Hamsi ve sardalya iç organlarından elde edilen tripsin enziminin L*, a* ve b* renk değişimleri Tablo 6'da verilmiştir. Hamsi'den elde edilen tripsin enziminin L* renk değeri 82,53 tespit edilmiştir. Sardalyadan elde edilen tripsin enziminin L* renk değeri 73,69 tespit edilmiştir. Hamsi'den elde edilen tripsinin a* renk değeri 2,29, sardalyadan elde edilen tripsinin a* değeri 2,08 olarak tespit edilmiştir. Sardalya'dan elde edilen b* değeri 24,01 hamsiden elde edilen b* değeri 21,24 tespit edilmiştir. Çaklı vd., (2018) levrek, çipura ve alabalıktan elde edilen tripsinin mevsimsel renk ve depolama kararlılığını incelemiştir. Türlerin kış dönemine ait örneklerinin üretimden hemen sonra ölçülen renk değerleri, alabalık için L* değeri 49,70±0,46, a* değeri 4,97±0,24 ve b* değeri 21,31±1,15, çipura için L* değeri 65,02±0,52, a* değeri 5,20±0,16 ve b* değeri 27,59±0,48, levrek için L* değeri 68,73±0,81, a* değeri 4,90±0,16 ve b* değeri 23,93±1,22 olarak bulgulanmıştır.

Tablo 6. Hamsi ve sardalya iç organlarından elde edilen tripsin enziminin renk değerleri
Table 6. Color values of trypsin enzyme obtained from anchovy and sardine internal organs

	L*	a*	b*
Hamsi	82,53 ± 0,81	2,29 ± 0,17	21,24 ± 0,61
Sardalya	73,69 ± 1,48	2,08 ± 0,24	24,01 ± 0,88

SONUÇ

Bu araştırmada hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve sardalya (*Sardina pilchardus*) iç organlarının besinsel kompozisyonu, iç organlardan elde edilen tripsin enziminin protein konsantrasyonu, tripsin aktivite tespiti, protein çözünürlüğü ve toz tripsinin renk değerleri incelenmiştir. Hamsi iç organlarından elde edilen tripsinin enzim aktiviesi 0,064 U/ml, spesifik aktivitesi 0,17 U/mg, sardalya tripsinin enzim aktivitesi 0,051 U/ml, spesifik aktivitesi 0,19 U/mg olarak bulgulanmıştır. İç organların besinsel kompozisyonu; hamsi iç organlarının nem % 78,92 ± 0,11, kül % 2,26 ±, 0,55, protein % 10,82 ±, 2,05, yağ % 6,49 ± 0,55 olarak bulgulanmıştır. Sardalya iç organlarının nem % 81,07 ± 1,03, kül % 0,71 ±, 0,04, protein % 5,08 ±, 2,08, yağ % 2,01 ± 0,17 olarak bulgulanmıştır. Enzim saflaştırma basamağında 1 kg hamsi iç organlarından 13,6 gr ve 1 kg sardalya iç organlarından 18,9 gr toz tripsin elde edilmiştir.

Hidrolitik enzimler balıkların sindirim sisteminde bolca bulunur. Balık iç organları tripsin proteazları gibi önemli bir sinirim enzimi kaynağıdır. Bu enzimler gıda sanayinde, çözünürlük, dayanıklılık ve kalite üretimini geliştirmek için kullanılırlar. Hamsi ve sardalya tripsininin fonksiyonel özellikleri, bu enzimin gıda sanayi ve işleme sanayinde biyoteknolojik araç olarak kullanılabilceğini göstermektedir. Biyolojik katalizör olarak ilaç, deterjan, gıda ve çevre uygulamalarnda tripsin enziminin kullanımı mümkündür.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 16-BİL-013. Bu çalışma ayrıca "49th West European Fish Technologists Association (WEFTA) Conference" da poster olarak sunulmuştur.

KAYNAKÇA

AOAC, (1984a). Official Methods of Analyses, Method 935.47. *Association Official Analytical Chemists*, Washington, DC., USA.

AOAC, (1984b.) Official Methods of Analyses, Method 981.10. *Association of Official Analytical Chemists*, Washington, DC., USA.

Bkhairia, I., Khaled, H.B., Ktari, N., Miled, N., Nasri, M. & Ghorbel, S. (2015). Biochemical and molecular characterisation of a new alkaline trypsin from *Liza aurata*: Structural features explaining thermal stability. *Food Chemistry*, 196, 1346-1354. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.10.058

Blanco, M., Sotelo, C.G., Chapela, M.J. & Perez-Martin, R.I. (2006). Towards sustainable and efficient use of fishery resources: present and future trends. *Trends Food Science Technology*, 18, 29–36. DOI: 10.1016/j.tifs.2006.07.015

Bligh, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917. DOI: 10.1139/y59-099

Bougatef, A. (2013). Trypsins from Fish Processing Waste: Characteristics and Biotechnological Applications-Comprehensive Review. *Journal of Cleaner Production*, 57, 257–265. DOI: 10.1016/j.jclepro.2013.06.005

Bozzano, A. & Sarda, F. (2002). Fishery Discard Consumption Rate and Scavenging Activity in the Northwestern Mediterranean Sea. *The International Council for the Exploration of the Sea Journal of Marine Science,* 59, 15–28. DOI: 10.1006/jmsc.2001.1142

Çaklı, Ş., Yünlü, A.C., Yılmaz, Ş.T. & Yılmaz, Ş.B. (2018). Kültür Çipura (Sparus aurata), Levrek (*Dicentrarchus labrax*), ve Alabalığın (*Oncorhynchus mykiss*) İç Organlarından Tripsin Eldesi ve Farklı Depolama Sıcaklıklarının ve Mevsimsel Farklılıklarının Elde Edilen Toz Haldeki Tripsinin Depolama Kararlılığı Üzerindeki Etkisi. TUBİTAK Program Kodu 1001, Proje No: 214O569.

Castillo-Yáñez, F.J., Pacheco-Aguilar, R., García-Carreño, F.L. & Navarrete-Del Toro, M. de los Á. (2005). Isolation and Characterization of Trypsin from Pyloric Caeca of Monterey Sardine sardinops sagax caerulea. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 140(1), 91–98. DOI: 10.1016/j.cbpc.2004.09.031

Chen, C.C., Chaung, H.C., Chung, M.Y. & Huang, L.T. (2006). Menhaden fish oil improves spatial memory in rat pups following recurrent pentylenetetrazole-induced seizures. *Epilepsy & Behavior*, 8, 516–521. DOI: 10.1016/j.yebeh.2006.01.004

Faid, M., Zouiten, A., Elmarrakchi, A. & Achkari-Begdouri, A. (1997). Biotransformation of fish waste into a stable feed ingredient. *Food Chemistry*, 60, 13–18. DOI: 10.1016/S0308-8146(96)00291-9

FAO. (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture. SOFIA, Roma.

Gupta, R., Gupta, K., Saxena, R.K. & Khan, S. (1999). Bleach-Stable, Alkaline Protease from Bacillus sp. *Biotechnology Letters*, 21, 135–138. DOI: 10.1023/A:1005478117918

Hau, P.V. & Benjakul, S. (2006). Purification and Characterization of Trypsin from Pyloric Caeca of Bigeye Snapper (*Pricanthus macracanthus*). *Journal of Food Biochemistry*. 30, 478–495. DOI: 10.1111/j.1745-4514.2006.00089.x

Heu, M.S., Kim, H.R. & Pyeun, J.H. (1995). Comparison of trypsin and chymotrypsin from the viscera of anchovy, Engraulis japonica. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 112(3), 557-567. DOI: 10.1016/0305-0491(95)00111-5

Hjelmeland, K. & Raa, J. (1982). Characteristics of Two Trypsin Type Isozymes Isolated from Arctic Capelin (*Mallotus villosus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 71B, 557–562. DOI: 10.1016/0305-0491(82)90462-X

Kacem, M., Sellami, M., Kammoun, W., Frikha, F., Miled, N. & Ben Rebah F. (2011). Seasonal variations of chemical composition and fatty acid profiles of viscera of three marine species from the Tunisian coast. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20, 233–246. DOI: 10.1080/10498850.2011.560365

Karim, A.A. & Bhat, R. (2009). Fish Gelatin: Properties, Challenges, and Prospects as an Alternative to Mammalian Gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23, 563–576. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.07.002

Khaled, H.B., Bougatef, A., Balti, R., Triki-Ellouz, Y. & Souissi, N. (2008). Isolation and Characterization of Trypsin from Sardinelle (*Sardinella aurita*) Viscera. *Journal of the Science Food and Agriculture*, 88, 2654–2662. DOI: 10.1002/jsfa.3386

Khangembam, B.K. & Chakrabarti, R. (2015). Trypsin from the Digestive System of Carp *Cirrhinus mrigala*: Purification, Characterization and its Potential Application. *Food Chemistry*, 175, 386–394. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.11.140

Khantaphant, S. & Benjakul S. (2008). Comparative study on the proteases from fish pyloric caeca and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 151(4), 410-419. DOI: 10.1016/j.cbpb.2008.08.011

Kim, Y.J., Kim, H.J., No, J.K., Chung, H.Y. & Fernandes, G. (2006). Anti-inflammatory action of dietary fish oil and calorie restriction. *Life Sciences*, 78, 2523–2532. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.10.034

Kim, S.K. & Mendis, E. (2005). Bioactive Compounds from Marine Processing Byproducts – A Review. *Food Research Internat*ional, 39, 383-393. DOI: 10.1016/j.foodres.2005.10.010

Kismuhara, H. & Hayashi, K. (2002). Isolation and characteristics of trypsin from the pyloric caeca of the starfish *Asterina pectinifera*. *Comparative Biochemistry & Physiology*. 132B, 485–490. DOI: 10.1016/S1096-4959(02)00062-3

Khandagale, A.S., Sarojini, B.K., Kumari, S.N., Joshi, S.D.S. & Nooralabettu, K. (2015). Isolation, purification, and biochemical characterization of trypsin from indian mackerel (*Rastralliger kanagurta*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24(4), 354-367. DOI: 10.1080/10498850.2013.777864

Klomklao, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H. & Simpson, B.K. (2006). Purification and Characterization of Trypsin from the Spleen of Tongol Tuna (*Thunnus tanggol*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(15), 5617–5622. DOI: 10.1021/jf060699d

Klomklao, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H. & Simpson, B.K. (2007). Extraction of Carotenoprotein from Black Tiger Shrimp Shells with the Aid of Bluefish trypsin. *Journal of Food Chemistry*, 33, 201–217. DOI: 10.1111/j.1745-4514.2009.00213.x

Klomklao, S., Kishimura, H. & Benjakul, S. (2008). Endogenous Proteinases in True Sardine (*Sardinops melanostictus*). *Food Chemistry*, 107, 213–220 DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.08.007

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Fan, A.L. & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193, 256–275.

Lu, B.J., Zhou, L.G., Cai, Q.F., Hara, K., Maeda, A., Su, W.J. & Cao, M.J. (2008). Purification and Characterisation of Trypsins from the Pyloric Caeca of Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*). *Food Chemistry*. 110(2), 352–360 DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.02.010

Ludorff, W. & Meyer, V. (1973). Fische und Fisherzeugnisse. Z. Auflage, Verlag Paul Parey In Berlin und Hamburg, 209-210.

Menezes Estevam Alves, M.H. & Nascimento, G.A. (2016). Trypsin Purification Using Magnetic Particles of Azocasein-Iron Composite. *Food Chemistry*. 226, 75–78. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.12.094

Rubio-Rodriguez, N., Beltran, S., Jaime, I., de Diego, S.M., Sanz, M.T. & Carballido, J.R. (2010). Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A Review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11,1–12 DOI: 10.1016/j.ifset.2009.10.006

Schubring, R. (2002). Double freezing of cod fillets: Influence on sensory, physical and chemical attributes of battered and breaded fillet portions. *Nahrung / Food*, 46(4): 227-232. DOI: 10.1002/1521-3803

Shahidi, F. & Janak Kamil, J.Y.V.A. (2001). Enzymes from Fish and Aquatic Invertebrates and their Application in the Food Industry. *Trends Food Science Technologie*. 12, 435–464. DOI: 10.1016/S0924-2244(02)00021-3

Sila, A., Nasri, R., Jridi, M., Balti, R., Nasri, M. & Bougatef, A. (2012). Characterisation of trypsin purified from the viscera of Tunisian barbel (*Barbus callensis*) and its application for recovery of carotenoproteins from shrimp wastes. *Food Chemistry*, 132(3), 1287-1295. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.11.105

Simpson, B.K. (2000). Digestive Proteinases from Marine Animals. In: Seafood Enzymes: Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality. Haard, N.F., and Simpson, B. K. (Eds.) New York, NY: Mercel Dekker. 531–540.

Poonsin, T., Sripokar, P., Benjakul, S., Simpson, B.K., Visessanguan, W. & Klomklao, S. (2017). Major trypsin like-serine proteinases from albacore tuna (*Thunnus alalunga*) spleen: Biochemical characterization and the effect of extraction media. *Journal of Food Biochemistry*, 41(2), e12323. DOI: 10.1111/jfbc.12323

Tengku-Rozaina, T.M., Jeng, W.W. & Amiza, M.A. (2018). Nutritional composition and thermal properties Of goldstripe sardinella (*Sardinella gibbosa*) fillets and by-products. Journal of *Aquatic Food Product Technology,* 27(6), 667–679. DOI: 10.1080/10498850.2018.1483991

Toppe, J., Albrektsen, S., Hope, B. & Aksnes, A. (2007). Chemical composition, mineral content and amino acid and lipid profiles in bones from various fish species. Comparative *Biochemistry & Physiology*, 146(3), 395-401. DOI: 10.1016/j.cbpb.2006.11.020

Zamani, A. & Benjakul, S. (2016). Trypsin from unicorn leatherjacket (Aluterus monoceros) pyloric caeca: purification and its use for preparation of fish protein hydrolysate with antioxidative activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture,* 96(3), 962-969. DOI: 10.1002/jsfa.7172

Zampolli, A., Bysted, A., Leth, T., Mortensen, A., De Caterina, R. & Falk, E. (2006). Contrasting effect of fish oil supplementation on the development of atherosclerosis in marine models. *Atherosclerosis,* 184, 78. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2005.04.018

Zhou, L., Budge, S.M., Ghaly, A.E., Brooks, M.S. & Dave, D. (2011). Extraction, Purification and Characterization of Fish Chymotrypsin. A Review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 7(3), 104-123. DOI: 10.3844/ajbbsp.2011.104.125

Zukowski, M.M. (1992). Production of Commercially Valuable Products. In: Doi, R.H., Mc Gloughlin, M. (Eds.), Biology of Bacilli: Application to Industry. Butterworth-Heinemann, London. 311–337.

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 59-64 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.08

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

Melendiz Çayı (Konya Kapalı Havzası) *Squalius cappadocicus* Özuluğ & Freyhof, 2011 popülasyonu için bazı popülasyon dinamiği parametrelerinin belirlenmesi

Determination of some population dynamical parameters of *Squalius cappadocicus* Özuluğ & Freyhof, 2011 for Melendiz River (Konya Endorheic Basin)

Burak Seçer[1] ● **Umut Cömertpay**[2] ● **Sevil Sungur**[3] ● **Erdoğan Çiçek**[4*]

[1] Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Nevşehir http://orcid.org/0000-0002-8763-131X
[2] Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Nevşehir http://orcid.org/0000-0002-3020-1466
[3] Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Nevşehir http://orcid.org/0000-0003-4018-6375
[4] Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Nevşehir http://orcid.org/0000-0002-5334-5737

*Corresponding author: erdogancicek@nevsehir.edu.tr

Received date: 12.08.2019 *Accepted date: 15.10.2019*

How to cite this paper:
Seçer, B., Cömertpay, U., Sungur, S. & Çicek, E. (2020). Determination of some population dynamical parameters of *Squalius cappadocicus* Özuluğ & Freyhof, 2011 for Melendiz River (Konya Endorheic Basin). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 59-64. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.08

Öz: Bu çalışma, Melendiz Çayı'ndaki *Squalius cappadocicus* popülasyonuna ait bazı popülasyon dinamiği değişkenlerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Örnekleme çalışmaları Haziran 2016 - Ağustos 2017 dönemlerinde gerçekleştirilmiş olup toplam 357 birey incelenmiştir. İncelenen bireylerin 0-VI yaş grupları arasında değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Örneklenen bireyler içerisinde I. yaş grubunun en baskın (%30,53) olduğu bunu sırasıyla 0. (%28,29) ve II. (%20,44) yaş gruplarının izlediği görülmüştür. İncelenen bireylerin boy değerlerinin 2,6-24,5 cm, ağırlık değerlerinin ise 0,44-202,99 g arasında değişim gösterdiği belirlenmiş ve ortalama boy ve ağırlık değerleri sırasıyla 11,27±3,88 cm, 23,57±25,32 g olarak hesaplanmıştır. Boy-ağırlık ilişkisi W=0,0120*$L^{2,9882}$ olarak belirlenmiştir. Populasyon değişkenlerinden L_∞: 44,21 cm, k: 0,098, t_0: -1,47, Φ': 2,28 ve K: 1,13 olarak hesaplanmıştır. Ölüm oranları ve stoktan yararlanma düzeyi ise Z: 0,37, M: 0,32, F: 0,05 ve E: 0,13 olarak tahmin edilmiştir. Tahmin edilen bu değerler ışığında popülasyon üzerinde aşırı avcılık baskısının bulunmadığı kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Konya Kapalı Havzası, Melendiz Çayı, yaş ve büyüme, ölüm oranları, sömürülme oranı

Abstract: The aim of this study was to determine population parameters of *Squalius cappadocicus* in Melendiz River. A total of 357 specimens, collected 2016 June-2017August. Age of the specimens ranged from 0th to 5th age groups and dominant age group was found I (30,53%) followed by 0th (%28,29) and 2nd (%20,44) age groups. Total length varied from 2.6-24.5 cm with the mean of 11.27±3.88 cm, total weight ranged from 0.44 to 202.99 with the mean of 23.57±25.32 g. Length-weight relationship were estimated W=0.0120*$L^{2.9882}$. Estimated population parameters were calculated as L_∞: 44.21 cm, k: 0.098, t_0: -1.47, Φ': 2.28 and K: 1.13 for the population. Mortality and exploitation rates estimated as Z: 0.37, M: 0.32, F: 0.05 and E: 0.13, respectively. These values suggested that there is no over fishing pressure on the population.

***Keywords*:** Konya Closed Basin, Melendiz River, age and growth, mortality rates, exploitation rate

GİRİŞ

Önemli bir biyoçeşitliliğe sahip olan ülkemizde tatlı su balık faunası henüz net olarak belirlenmiş değildir. Bunun yanı sıra kayıt altına alınmış olan türlerin coğrafik dağılımlarının kesin olarak belirlendiğini söylemek mümkün değildir (Çiçek vd., 2015). En son yayınlanan çalışmalarla birlikte Türkiye iç su ekosistemlerinde dağılım gösteren tür sayısı 422'e ulaşmış olup bunlardan 205'nin endemik olduğu belirtilmiştir (Çiçek vd., 2018; Freyhof vd., 2018; Turan vd., 2019; Çiçek vd., 2019). Ülkemizde son yıllarda gerek ihtiyoloji alanında yapılan çalışmaların artışı ve gerekse moleküler tekniklerin kullanımının yaygınlaşması nedeniyle yeni tür bildirimlerinde büyük artış görülmüştür. Ülkemizde son yıllarda tanımlanmış olan yeni balık türlerinden birisi de Melendiz Çayı'ndan tanımlanmış olan endemik *Squalius cappadocicus* (Özuluğ ve Freyhof, 2011)'tur.

Cyprinidae familyası içerisinde yer alan *Squalius* Bonaparte, 1837 cinsi 55 adet geçerli tür ile temsil edilmekte olup Türkiye'de 14 adeti endemik olmak üzere 22 tür bulunmaktadır (Çiçek vd., 2015; 2018; van der Laan, 2019). Bu cinse mensup türler Asya ve Avrupa kıtalarında geniş bir alanda dağılım göstermektedirler. Akarsuların yavaş akışlı ve bitkili alanlarında ve göllerde dağılım gösterirler. Omnivor beslenme özelliğine sahip olup her türlü birkisel ve hayvansal besinle beslenebilirler. Su kalitesi bozulmalarına karşı tolerasnlı türlerdir. Yumurtlamak amacıyla akarsuların üst kesimlerine doğru göç ederler. Ticari olarak avcılığı yapılıyor olmasına karşın düşük bir ticari değere sahiptir. Amatör avcılıkta tercih edilen türlerdendir.

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

Popülasyon dinamiği değişkenlerinin belirlenmesi herhangi bir türe ait popülasyonun sağlığı hakkında bilgi sahibi olmamıza katkı sağlar. Söz konusu popülasyon ekonomik olarak sömürülen ve avcılığı yapılan bir tür ise ölüm oranları ve buna bağlı olarak stoktan yararlanma düzeyinin bilinmesi stoğun sürdürülebilir idaresi bakımından oldukça önemlidir (Sarıhan vd., 2007). *Squalius cappadocicus* türü üzerinde ve (türün 2011 yılında tanımlanmış olması nedeniyle) bu türün dağılım alanında daha önce yapılmış bir popülasyon dinamiği çalışmasına rastlanmamıştır. Ancak Konya Kapalı Havzasına komşu olan Kızılırmak ve Sakarya havzalarında dağılım gösteren *Squalius* cinsine mensup türler üzerine yapılmış pek çok çalışmaya rastlanmıştır (Şaşı ve Balık, 2003; Yiğit vd., 2008; Bostancı ve Polat, 2009; İnnal, 2010; Ünver ve Kekilli, 2010; Ünver ve Erk'akan, 2012; Benzer, 2013; Kahraman vd., 2014; Sülün vd., 2014; Birecikligil vd., 2016; Zencir ve Korkmaz, 2016; Benzer ve Gül, 2017). Bu nedenle popülasyon parametrelerinin karşılaştırılmasında bu çalışmalar temel alınmıştır.

Squalius cappadocicus türü için IUCN kategorisi CR olarak belirlenmiştir (Freyhof, 2014). Bu çalışma ile Melendiz Çayı'nda endemik olan *S. cappadocicus*'a ait bazı popülasyon dinamiği değişkenlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Daha öncesinde bu türle ilgili olarak büyüme parametreleri konusunda herhangi bir çalışma olmayıp bu çalışması, söz konusu tür üzerinde yapılmış ilk çalışma niteliğini taşımaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Konya Kapalı Havzası'nda yer alan ve Ihlara Vadisi boyunca uzanan Melendiz Çayı'nda (38° 22' 59" K-34° 4' 59" D) gerçekleştirilmiştir. Melendiz Çayı Melendiz dağlarından kaynak aldıktan sonra Ihlara Vadisi'ni boydan boya kat ederek Aksaray Ovası'na ulaşır ve Tuz Gölü'ne dökülür (Baylak, 2017).

Örneklerin toplanması

Örnekleme çalışmaları 2016 Haziran-2017 Ağustos dönemlerinde 34 akarsu istasyonunda gerçekleştirilmiştir. Akarsu istasyonlarında örneklemelerin yapılması sırasında TS EN 14011 (Su Kalitesi-Elektrikle Balık Numunesi Alma) standartlarında belirtilen yöntemler esas alınmış ve SAMUS 725MP marka elektroşoker kullanılarak balık örneklemesi yapılmıştır. Arazi çalışmaları sırasında elde edilen örnekler %20'lik formaldehit çözeltisi ile tespit edildikten sonra %4'lük formaldehit içeren plastik kaplar içerisinde saklanarak, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Hidrobiyoloji Araştırma Laboratuvarına getirilmiştir.

Laboratuvarda örneklere ait standart boy, çatal boy ve tam boy ölçümleri 1mm hassasiyetle, total ağırlık ise 0,01g hassasiyetli elektronik terazi ile belirlenmiştir. Yaş tayini amacıyla, ölçüm değerleri alınmış olan bireylerin predorsal bölgesinden alınan pul örnekleri ışık mikroskobu altında incelenerek yaş halkaları iki farklı okuyucu tarafından sayılmıştır.

Boy-ağırlık ilişki sabitlerinin belirlenmesi amacıyla Regresyon eşitliği: $W = aL^b$ kullanılmıştır.

Bu eşitlikte; *W*: ağırlık (g), *a* ve *b*: regresyon sabitleri ve *L*: tam boyu (cm) göstermektedir (Sparre ve Venema, 1998).

von Bertalanffy boyca ve ağırlıkça büyüme değerleri: $L_t=L_\infty[1-e^{-k(t-to)}]$ ve $W_t=W_\infty[1-e^{-k(t-to)}]$ ile belirlenmiştir. Bu eşitlikte; *Lt*: t yaştaki balığın boyu (cm), L_∞: sonuşmaz uzunluğu (cm), W_∞: sonuşmaz ağırlık (g), *k*: Brody'nin büyüme katsayısı (yıl^{-1}) ve t_o: balığın boyunun 0 olduğu andaki kuramsal yaşını (yıl) ifade etmektedir (Sparre ve Venema, 1998).

Fulton'un Kondisyon Faktörü (*K*) tahmin edilmiştir: $K = 100\frac{W}{L^b}$, bu eşitlikte; *W*: ağırlık (g), *L*: tam boy (cm) ve *b:* regresyon sabitini göstermektedir (Sparre ve Venema, 1998).

Büyüme performans indeksi (Φ') belirlenmiştir (Pauly ve Munro, 1984): $\Phi'=logk+2logL_\infty$, bu eşitlikte; Φ: büyüme performans indeksini, L_∞: sonuşmaz uzunluğu (cm), *k*: Brody'nin büyüme katsayısını (yıl^{-1}) göstermektedir.

S. cappadocicus popülasyonu için doğal ölümlerin üssi katsayısının (*Z*) hesaplanmasında Beverton ve Holt (1957) tarafından önerilen ortalama boy değeri kullanılmıştır: $Z = k\frac{(L_\infty-\bar{L})}{(\bar{L}-L')}$, bu eşitlikte; *Z*: toplam ölümlerin üssi katsayısı, L_∞: sonuşmaz uzunluğu (cm), $\bar{L}$: incelenen bireylerin ortalama boyu (cm), L': incelenen bireylerden en küçük boylu balıkların bulunduğu sınıf aralığı (cm) ve *k*: Brody'nin büyüme katsayısını (yıl^{-1}) göstermektedir.

Balıklarda doğal nedenlerle meydana gelen ölüm oranlarının üssi katsayısının (*M*) belirlenmesinde ise von Bertalanffy büyüme sabitleri ile balıkların yaşadıkları su ortamının yıllık ortalama su sıcaklığına dayalı olarak Pauly (1980) tarafından geliştirilmiş olan deneysel formülden yararlanılmıştır.

$$log10M = -0,0152-0,279\ log\ 10L_\infty + 0,6543log10k + 0,463\ log\ 10T$$

Bu eşitlikte; *M*: doğal nedenlerle olan ölüm oranlarının üssi katsayısı, L_∞: sonuşmaz uzunluğu (cm), *k*: Brody'nin büyüme katsayısı (yıl^{-1}) ve *T*: incelenen popülasyonun yaşadığı yıllık ortalama su sıcaklığı (°C) göstermektedir (Pauly, 1980).

Yukarıdaki eşitlikte ihtiyaç duyulan yıllık ortalama su sıcaklığı değerine ilişkin Melendiz Çayı havzası'nın iklim özelliklerini belirlemek üzere yapılan çalışmada elde edilen bulgular dikkate alınarak Pauly'nin eşitliğinde kullanılacak bu değer 12,0°C olarak kabul edilmiştir (Baylak, 2017).

Balıkçılık nedeniyle meydana gelen ölümlerin üssi katsayısının (*F*) belirlenmesinde ise toplam ölüm oranı ile doğal ölümler arasındaki farktan yararlanılmıştır: $F=Z-M$, bu eşitlikte; *F*: balıkçılığın nedeniyle olan ölümlerin üssi katsayısı, *Z*: toplam ölümlerin üssi katsayısı ve *M*: doğal nedenlerle olan ölüm oranlarının üssi katsayısını ifade etmektedir.

Sömürülme oranı (*E*) stoktan yararlanma düzeyinin belirlenmesi için ise ilgili popülasyon için belirlenmiş olan ölüm oranlarının üssi katsayıları kullanılmıştır: $E = \frac{F}{Z}$, bu eşitlikte; *E*: sömürülme oranı, *Z*: toplam ölümlerin üssi katsayısı ve *F*: balıkçılık nedeniyle meydana gelen ölüm oranlarının üssi katsayısını ifade etmektedir (Sparre ve Venema, 1998).

Yaş okumaları sırasında iki okuyucu arasındaki uyumun belirlenmesi amacıyla yüzde uyum ve Varyasyon Katsayısı (%) hesaplanmıştır.

$VK = \frac{S}{\bar{x}} * 100$, bu eşitlikte; S: Standart sapmayı ve $\bar{x}$: Ortalamayı ifade etmektedir.

Age Bias Plots yöntemi ile okuyucuların aynı birey için belirlemiş oldukları yaş okuma değerleri grafik üzerine yerleştirilerek okuyucular arsındaki farklılıklar ortaya konmuştur (Campana vd., 1995).

Ölçülen ve eşitlikler yardımıyla hesaplanan boy ve ağırlık değerleri arasında istatistiksel anlamda herhangi bir farkın olup olmadığı Khi Kare (X^2) Testi ile belirlenmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Melendiz Çayı ve kollarında toplam 34 istasyonda gerçekleştirilmiş olan saha çalışmaları sonucunda 9 istasyonda *S. cappadocicus*'a ait bireylere rastlanmış olup toplam 357 birey elde edilmiştir.

Yaş, boy ve ağırlık dağılımı

İncelenen bireylere ait yaş, her bir yaş grubu için ortalama tam boy ve total ağırlık değerleri, boy ve ağırlık değerlerinin değişim aralıkları belirlenmiştir (Tablo 1). Buna göre bireylerin yaş dağılmının 0-VI yaş grupları arasında değişim gösterdiği tespit edilmiş olup I. yaş grubunun en baskın (%30,53) yaş grubu olduğu ve bunu %28,29'luk bir oran ile 0. ve %20,44'lik bir oran ile de II. yaş grubunun izlediği, en düşük oranın ise %0,28 ile VI. yaş grubuna ait olduğu belirlenmiştir.

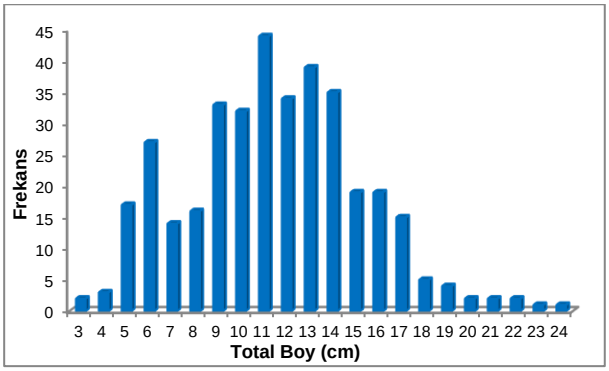
Popülasyona ait ortalama tam boy 11,27±3,88 cm (2,6-24,5 cm) ve ağırlık değerleri ise 23,57±25,32 g (0,44 ile 202,99 g) olarak hesaplanmıştır. Yıllık boyca ve ağırlıkça büyüme oranları dikkate alındığında en yüksek büyüme oranının I. yılda gerçekleştiği, takip eden yıllarda ise gerek boyca ve gerekse ağırlıkça büyümenin oransal olarak azalış gösterdiği tespit edilmiştir.

İncelenen bireylere ait tam boy dağılımına göre en baskın boy grubunun 11 cm olduğu görülmekte olup bunu 13 ve 14 cm boy gruplarının izlediği belirlenmiştir (Şekil 1).

Tablo 1. Melendiz Çayı *Squalius cappadocicus* popülasyonuna ait yaş-boy-frekans dağılımı, yaş grupların göre boy ve ağırlık değerleri ve büyüme oranları

Table 1. Age-total length-frequncy distribution, length and weight in each age with growth rate of *Squalius cappadocicus* from Melendiz River

Yaş	N	%n	Tam boy (cm)			Total Ağırlık (gr)		
			Min-Max	Ortalama Boy	Büyüme oranı (%)	Min-Max	Ortalama	Büyüme oranı (%)
0	101	28,29	2,6-24,5	6,66±1,64		0,44-202,99	4,04±2,7	
I	109	30,53	9,0-14,2	10,77±1,19	61,71	6,43-34,68	14,46±5,94	257,92
II	73	20,44	11,2-19,0	13,24±1,44	22,93	14,41-81,24	28,41±11,4	96,47
III	47	13,16	12,9-18,3	15,21±1,21	14,87	23,82-74,99	44,03±11,68	54,98
IV	23	6,44	15,1-21,8	17,77±1,82	16,83	46,93-136,45	74,97±25,94	70,27
V	3	0,84	19,7-22,6	21,43±1,53	20,59	98,08-147,95	123,95±24,99	65,33
VI	1	0,28	-	24,5	14,32	-	202,99	63,76
Σ	357		2,6-22,6	11,27±3,88		0,44-147,95	23,57±25,32	



Şekil 1. Melendiz Çayı *Squalius cappadocicus* popülasyonuna ait total boy-frekans dağılımı

Figure 1. Total length-frequncy distribution of *Squalius cappadocicus* from Melendiz River

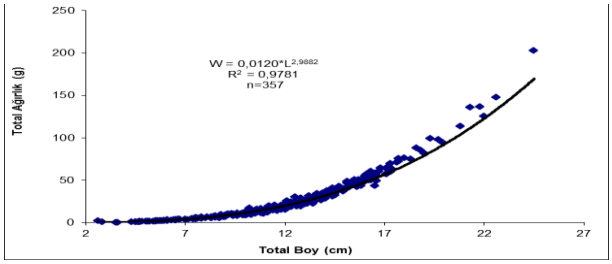
Boy-boy ve boy-ağırlık ilişkisi

İç su balıkları üzerinde çalışma yapan farklı araştırıcılarca çatal boy veya standart boy değerlerinin kullanıldığı görülmüştür. Bu nedenle farklı çalışmalarda elde edilecek sonuçların karşılaştırılması ve yorumlanmasını mümkün kılmak amacıyla tam boy-çatal boy ve tam boy-standart boy arasındaki ilişkileri ÇB=(0,9786*TL)-0,5341, SB=(0,8677*TL)-0,5326 ve ÇB=(0,9138*SB)-0,01 olarak belirlenmiştir.

Çalışma süresince elde edilmiş bireylere ait belirlenmiş boy-ağırlık ilişkisi $W=0{,}0120*L^{2{,}9882}$ olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Bu çalışmada elde edilen bireylerden hesaplanan *b* değerinin %95'lik güven aralığı ile 2,942-3,035 olarak hesaplanmıştır. Buna göre hesaplanan değerin istatistiksel test sonuçlarına göre 3'den farklı sayılamayacağı ve buna

bağlı olarak da büyümenin izometrik özellik sergilediği belirlenmiştir (p<0,05) (Avşar, 2005). Nitekim *S. cappadocicus* türünde vücudun fuziform bir yapıda olması bu durumu doğrulamaktadır.

Boy-ağırlık ilişki sabitlerinden *a* değeri ilgili türün incelenen periyot içindeki kondisyonunu ifade etmektedir. Buna bağlı olarak *a* değeri ne denli yüksekse birey de o denli yüksek kondisyona sahiptir diyebiliriz. Melendiz Çayı *S. cappadocicus* popülasyonu için hesaplanmış olan *a* değeri değerlendirilecek olursa bireylerin iyi bir kondisyona sahip olduğu ileri sürülebilir.



Şekil 2. Melendiz Çayı *Squalius cappadocicus* popülasyonuna ait boy-ağırlık ilişkisi grafiği
Figure 2. Length-weight relationship of *Squalius cappadocicus* from Melendiz River

Konya Kapalı Havzası ile havzayla bağlantılı olan Kızılırmak ve Sakarya havzalarında dağılım gösteren *Squalius* popülasyonları için bazı popülasyon parametreleri Tablo 2'de verilmiştir. Tabloda daha önce verilmiş olan türlerin büyük bir kısmı *Squalius cephalus* olarak verildiği görülmektedir. Ancak gerek Kızılırmak ve gerekse Sakarya havzalarında dağılım gösteren tür *Squalius pursakensis*'tir (Çiçek ve ark., 2015). Daha önceki çalışmalarda *Squalis* cinsine mensup türler için hesaplanmış olan b değeri 2,827 ile 3,34 arasında değişim gösterdiği ve ortanca değerin ise 3,06 olduğu görülmektedir. Bu durumda türün izometrik bir büyüme özelliği sergilediği ileri sürülebilir. Bu çalışmamızda ise b değeri 2,98 (%95 CI 2,8899-3,1354) olarak hesaplanmış olup büyümenin daha önce *Squalis* cinsine mensup türler üzerine yapılan çalışmalardaki sonuçlara benzer şekilde izometrik büyüme özelliği sergilediği görülmüştür.

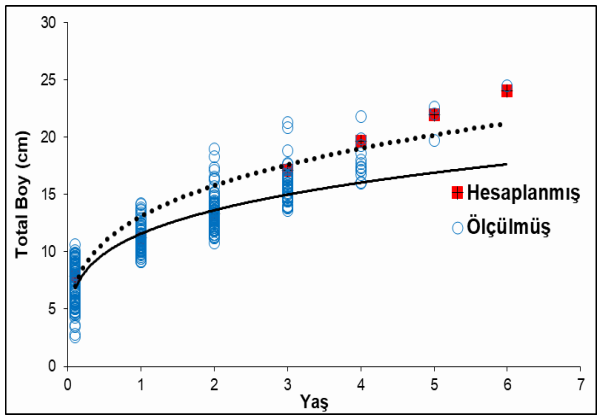
Bu çalışmada L_∞ değeri 44,21 cm olarak belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda *Squalis* cinsine mensup türler bu değerin 27,1 cm ile 45,98 cm arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. K değeri ise 0,12 ile 0,371 arasında değiştiği görülmüş olup bu çalışmada çok daha düşük bir değer (0,098) olarak belirlenmiştir. Bu durumda Melendiz Çayı popülasyonunda yavaş bir büyüme görüldüğüne işaret etmektedir.

Tablo 2. Kızılırmak ve Sakarya havzalarında dağılım gösteren *Squalius* popülasyonları için belirlenmiş olan bazı popülasyon parametleri
Table 2. Some population parameters of *Squalius* population distributed in Kızılırmak and Sakarya basins

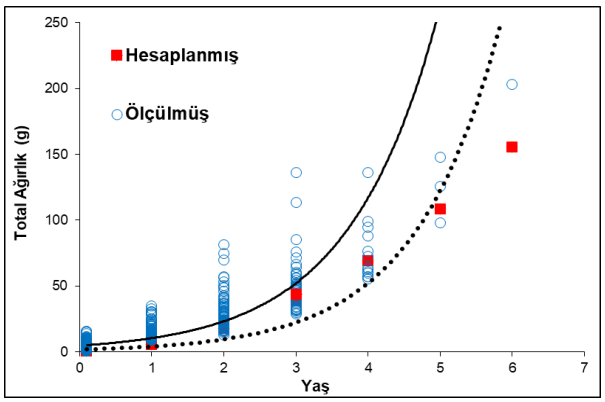
Tür	Bölge	*a*	*b*	r^2	L_∞	K	t_0	Kaynak
Squalius cephalus ♀	Topçam Baraj Gölü	0,009	3,19	0,95	40,2	0,12	-1,58	Şaşı ve Balık (2003)
Squalius cephalus ♂		0,023	2,85	0,94	27,1	0,30	-0,46	
Squalius cephalus ♀	Kapulukaya Baraj Gölü	0,057	3,33	0,97	40,55	0,25	-0,17	Yiğit vd. (2008)
Squalius cephalus ♂		0,054	3,34	0,98	45,98	0,20	-0,24	
Squalius cephalus ♀	Çamlıdere Barajı	0,013	3,04	0,93	38,51	0,328	-1,67	Bostancı ve Polat (2009)
Squalius cephalus ♂		0,014	3,01	0,94	34,12	0,371	-1,07	
Squalius cephalus	Çamkoru Göleti	0,13	3,012	-	-	-	-	İnnal (2010)
Squalius cephalus	Tödürge Gölü	0,010	3,055	-	-	-	-	Ünver ve Erk'akan (2012)
Squalius cephalus ♀	Kirmir Çayı	0,0012	3,06	0,90	27,3	0,169	-1,31	Benzer (2013)
Squalius cephalus ♂		0,012	3,06	0,91	28,1	0,149	-1,54	
Squalius cephalus	Sakarya Nehri	0,007	3,187	0,89	-	-	-	Kahraman vd. (2014)
Squalius pursakensis	Seydisuyu	0,0064	3,241	0,98	-	-	-	Sülün vd. (2014)
Squalius pursakensis	Kızılırmak Nehri	0,014	2,96	0,98	-	-	-	Birecikligil vd. (2016)
Squalius cephalus	Hafik Gölü	0,005	2,827	-	-	-	-	Ünver ve Kekilli (2010)
Squalius cephalus	Kirmir Çayı	0,011	3,076	0,97	-	-	-	Zencir ve Korkmaz (2016)
Squalius cephalus ♀	Devres Çayı	0,010	3,11	0,91	27,1	0,159	-1,47	Benzer ve Gül (2017)
Squalius cephalus ♂		0,014	2,97	0,90	27,1	0,160	-1,46	
Squalius cappadocicus	Melendiz Çayı	0,012	2,98	0,97	44,21	0,098	-1,47	Bu çalışma

von Bertalanffy büyüme sabitleri ve büyüme karakteristiği

Örneklenen bireyler ait von Bertalanffy büyüme sabitleri L_∞=44,21 cm, k=0,098 yıl^{-1} ve t_0=-1,476 yıl olarak tahmin edilmiştir. von Bertalanffy büyüme parametreleri baz alınarak boyca ve ağırlıkça büyüme denklemleri kullanılmış olup, her yaş grubu için boy ve ağırlık değerleri hesaplanmıştır. Çalışmada elde edilen 357 bireyden ölçülen ve eşitlik yardımıyla hesaplaması yapılan, boyca büyüme değerlerinin kullanılmasıyla oluşturulan boyca ve ağırlıkça büyüme grafikleri elde edilmiştir. (Şekil 3. ve Şekil 4). Ölçümü ve hesaplaması yapılan bireylerde boy ve ağırlık değerleri bakımından istatistiksel anlamda herhangi bir farklılık olmadığı görülmüştür (p>0,05).



Şekil 3. Melendiz Çayı *Squalius cappadocicus* popülasyonuna ait ölçülen ve hesaplanan boy değerlerine ait büyüme grafiği
Figure 3. Observed and estimated total length growth of *Squalius cappadocicus* from Melendiz River



Şekil 4. Melendiz Çayı *Squalius cappadocicus* popülasyonuna ait ölçülen ve hesaplanan ağırlık değerlerine ait büyüme grafiği
Figure 4. Observed and estimated total weight growth of *Squalius cappadocicus* from Melendiz River

Büyümenin allometrik olduğu durumlarda, balıklarda besililik düzeyinin yorumlanması Fulton'un Kondisyon Faktörü (K) üzerinden yapılmaktadır (Pauly ve Munro, 1984). Bu değer ortalama 0,91±0,09 olarak tahmin edilmektedir. Kondisyon Faktörü değeri türden türe değişiklik gösterebileceği gibi, tür içerisinde de yaş, cinsiyet, mevsimsel koşullar (özellikle de sıcaklık), cinsi olgunluk ve üreme, beslenme şartları ve diğer habitat koşullarına bağlı olarak da değişim gösterebilmektedir (Pauly ve Munro, 1984). Büyüme performans indeksi (Φ') ise 2,28 olarak hesaplanmıştır.

Tüm bu hususlara bağlı olarak yapılan değerlendirmeler sonucunda Melendiz Çayı *S. cappadocicus* popülasyonuna ait bireylerin izometrik bir büyüme özelliğine sahip olması ile orantılı bir büyüme özelliği sergilediği, besililik düzeyi ve kondisyonunun yüksek oluğu ileri sürülebilir.

Ölüm oranları ve stoktan yararlanma düzeyi

Melendiz Çayı *S. cappadocicus* popülasyon için toplam ölüm oranı (Z) 0,37, doğal nedenlerle meydana gelen ölüm oranının (M=0,32), balıkçılık nedeniyle meydana gelen ölüm oranı ise (F=0,05) olarak hesaplanmıştır. Ölüm oranlarına bağlı olarak hesaplanmış olan sömürülme oranı ise (E) 0,13 olarak tahmin edilmiştir. E değerinin 0,5'in oldukça altında bir değer olmasına bağlı olarak da söz konusu tür üzerinde avcılık baskısının olmadığını rahatlıkla söyleyebiliriz.

İlgili türe ait bölgesel olarak avlanma ve tüketilme söz konusu olsa da, ticari öneme sahip olmaması bu türün hedef tür olmadığını göstermektedir. Nitekim birlikte bulundukları alanlarda diğer türler üzerine yapılan avcılık sırasında yakalanma haricinde, özel olarak bu tür üzerinde herhangi bir avcılık faaliyeti söz konusu değildir. Arazi çalışmaları sırasında da sportif olta balıkçılığı ile avcılığının yapıldığı gözlemlenmiştir.

Tür üzerindeki tehditler

Tür üzerindeki tehditler düşük yağış miktarı, dağılım alanının kısıtlı olduğu, yaz döneminde akarsuların azalması ve hatta kuruması şeklinde sıralanmıştır. Türün şu anda Melendiz Çayı ve kollarında Niğde ve Aksaray il sınırları içerisinde dağılım gösterdiği bildirilmiştir. Mamasın Barajı Melendiz Çayı üzerinde kurulmuş olup Aksaray ilinin içme suyu ihtiyacını karşılamakta ve sulama amaçlı olarak kullanılmaktadır. Çalışma yapılan dönemler itibariyle baraj setinin alt kısmına herhangi bir su bırakılmasının söz konusu olmadığı gözlemlenmiştir. Bir bakıma Melendiz Çayının Uluırmak ile bağlantısı Mamasın Barajı nedeniyle engellenmiş durumdadır. Bu durumda eğer *S. cappadocicus* türü Konya Kapalı Havzası içerisinde diğer başka bölgelerde dağılım göstermiyor ise belli bir alanda sıkışmış izole bir popülasyon haline gelmiş olduğu ileri sürülebilir. Bu nedenle türün havza içerisindeki dağılım alanının tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Seri örnekleme çalışmaları ile türün dağılım alanının ortaya konması büyük önem taşımaktadır. Böylece türün dağılım alanının belirlenerek tehditlerin ortaya konması ve IUCN kategorisinin mevcut duruma göre gözden geçirilmesi gerekmektedir. *Squalius cappadocicus* türü için IUCN kategorisi CR olarak belirlenmiştir (Freyhof, 2014).

Yapılan arazi çalışmaları sırasında türün Freyhof (2014) tarafından belirtilen alandan çok daha geniş bir alanda dağılım gösterdiği, türün dağılım gösterdiği alanlarda sorunsuz bir şekilde üreyebildiği, kirlilik, habitat kaybı vb. gibi antropojenik etkilerin düşük seviyede olduğu gözlemlenmiştir.

IUCN (2014) kriterleri dikkate alındığında, türün CR kategorisinde belirtilen tehditlere maruz kalmadığı bu nedenle türün IUCN koruma statüsünün Hassas (VU) olarak güncellenmesinin daha doğru olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

Avşar, D. (2005). Balıkçılık Biyolojisi ve Popülasyon Dinamiği. Nobel Kitapevi, Adana.

Baylak, H.M. (2017). Melendiz Çayı Havzası'nın iklim özellikleri. *Selçuk Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 37, 47-58.

Benzer, S. (2013). Age and Growth of chub [Squalius cephalus (L., 1758)] Population in Kirmir Stream of Sakarya River, Turkey. *Indian Journal of Animal Research*, 47(6), 538-542.

Benzer, S. & Gül, A. (2017). Population structure and some growth properties of chub *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758) in Devres Stream of Kızılırmak River, Turkey. *Journal of Fisheries*, 5(3), 513-518. DOI: 10.17017/jfish.v5i3.2017.247

Beverton, R.J.H. & Holt, S.J. (1957). On the Dynamics of Exploited Fish Populations. Great Britain, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, *Fishery Investigations Series*, 19, 533p.

Birecikligil, S.S., Çiçek, E., Öztürk, S., Seçer, B. & Celepoğlu, Y. (2016). Length-length, length-weight relationship and condition factor of fishes in Nevşehir Province, Kızılırmak River Basin (Turkey. *Acta Biologica Turcica*, 29(3), 72-77.

Bostancı, D. & Polat, N. (2009). Age determination and some population characteristics of Chub (Squalius cephalus L., 1758) in the Çamlıdere Dam Lake (Ankara, Turkey). *Turkish Journal of Science & Technology*, 4(1), 25-30.

Campana, S.E., Annand, C.M. & McMillan, J.I. (1995). Graphical and statistical methods for determining the consistency of age determinations. *Transactions of the American Fisheries Society*, 124, 131-138. DOI: 10.1577/1548-8659(1995)124<0131:GASMFD>2.3.CO;2

Çiçek, E., Fricke, R., Sungur, S. & Eagderi, S. (2018). Endemic freshwater fishes of Turkey. *FishTaxa*, 4(4), 1-39.

Çiçek, E., Birecikligil, S.S. & Fricke, R. (2015). Freshwater fishes of Turkey; a revised and updated annotated checklist. *Biharean Biologists*, 9(2), 141-157.

Çiçek, E., Eagderi, S., & Sungur, S. (2019). Oxynoemacheilus phoxinoides (Erk'akan, Nalbant & Özeren, 2007): a junior synonym of *Oxynoemacheilus angorae* (Steindachner, 1897). *FishTaxa*, 4(1), 13-17.

Freyhof, J. (2014). Squalius cappadocicus. The IUCN Red List of Threatened Species 2014. DOI: 10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T19451241A19849516.en

Freyhof, J., Bayçelebi, E. & Gieger, M., (2018). Review of the genus Cobitis in the Middle East, with the description of eight new species (Teleostei: Cobitidae). *Zootaxa*, 4535(1), 001–075. DOI: 10.11646/zootaxa.4535.1.1

İnnal, D. (2010). Population structures and some growth properties of three Cyprinid species [*Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758); *Tinca tinca* (Linnaeus, 1758) and *Alburnus escherichii* Steindachner, 1897] living in Camkoru Pond (Ankara-Turkey). *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 16, 297-304.

IUCN. 2014. Standards and Petitions Subcommittee. Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 11. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee. Downloadable from http://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf.,10.10.201

Kahraman, A.E., Göktürk, D. & Aydın, E. (2014). Length-weight relationships of five fish species from the Sakarya River, Turkey. *Annual Research & Review in Biology*, 4(15), 2476-2483. DOI: 10.9734/ARRB/2014/7513

Özuluğ, M. & Freyhof, J. (2011). Revision of the genus Squalius in Western and Central Anatolia, with description of four new species (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 22(2), 107-148.

Pauly, D. (1980). On the interrelationships between natural mortality, growth parameters, and mean environmental temperature in 175 fish stocks. *Conseil International pour l'Exploration de la Mer*, 39, 175-192. DOI: 10.1093/icesjms/39.2.175

Pauly, D. & Munro, J.L. (1984). Once more on the comparison of growth in fish and invertebrates. Fishbyte, 2, 21.

Sarıhan, E., Çiçek, E. & Toklu, B. (2007). Balık Biyolojisine Giriş. Nobel Kitabevi, 137s., Adana.

Sparre, P. & Venema, S.C. (1998). Introduction to tropical fish stock assessment. Part 1. Manual. FAO Fisheries Technical Paper. No. 306.1 Rev.2, Rome, FAO. 407p.

Sülün, Ş., Başkurt, S., Emiroğlu, Ö., Giannetto, D., Tarkan, A.S., Ağdamar, S., Gaygusuz, O., Dorak, Z., Aydin, H. & Cicek, A. (2014). Development of empirical standard weight equation for Pursak chub Squalius pursakensis, an endemic cyprinid species of Northwest Anatolia. *Turkish Journal of Zoology*, 38(5), 582-589. DOI: 10.3906/zoo--1311-24

Şaşı, H. & Balık, S. (2003). Age, growth and sex ratio of chub (Leuciscus cephalus L., 1758) in Topçam Dam Lake (Aydın). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 20, 503-515.

Turan, D., Kaya, C., Kalaycı, G., Bayçelebi, E. & Aksu, İ. (2019). Oxynoemacheilus cemali, a new species of stone loach (Teleostei: Nemacheilidae) from the Çoruh River drainage, Turkey. *Journal of Fish Biology*, 94(3), 458-468. DOI: 10.1111/jfb.13909

Ünver, B. & Kekilli, S. (2010). Hafik Gölü (Sivas)'nde Yaşayan Tatlı Su Kefali, Squalius cephalus (L., 1758) Populasyonunun Büyüme Özellikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 6(1), 20-28.

Ünver, B. & Erk'akan, F. (2012). Tödürge Gölü'ndeki (Sivas) tatlı su kefali, Squalius cephalus (L., 1758)'un populasyon özellikleri". *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 29(2), 95-100. DOI: 10.12714/egejfas.2012.29.2.07

van der Laan, R. (2019). Freshwater fish list. 27th. edition. Almere, the Netherlands, 20.8.2019.

Yiğit, S., Ergönül, M.B. & Altındağ, A. (2008). The growth features of chub Squalius cephalus and comparison of five different condition indices. *Cybium*, 32, 317-319.

Zencir, Ö. & Korkmaz, A.Ş. (2016). Length-Weight and Length-Length Relationships of Fish Species in Kirmir Stream and its Tributaries (Suveri and Ilhan Stream) of Sakarya River, Turkey. *Journal of Applied Biological Sciences*, 10(1), 55-60.

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 65-83 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.09

RESEARCH ARTICLE ARAŞTIRMA MAKALESİ

The genus *Granulina* (Mollusca: Gastropoda: Neogastropoda) from the Turkish coasts with taxonomical notes on some Mediterranean species

Akdeniz türleri üzerine bazı taksonomik notlarla birlikte, Türkiye kıyılarındaki *Granulina* (Mollusca: Gastropoda: Neogastropoda) genusunun durumu

Franck Boyer[1] ● Walter Renda[2] ● Bilal Öztürk[3*]

[1] Garrigues-Sainte-Eulalie, Gard, France
[2] Amantea, Calabria, Italia
[3] Ege University, Faculty of Fisheries, Department of Hydrobiology, Izmir, Turkey

https://orcid.org/0000-0003-4162-2124
https://orcid.org/0000-0003-3944-6758
https://orcid.org/0000-0002-5638-2496

*Corresponding author: bilal.ozturk@ege.edu.tr

Received date: 17.06.2019 Accepted date: 24.10.2019

How to cite this paper:
Boyer, F., Renda, W. & Öztürk, B. (2020). The genus *Granulina* (Mollusca: Gastropoda: Neogastropoda) from the Turkish coasts with taxonomical notes on some Mediterranean species. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 65-83. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.09

Abstract: In the present study four *Granulina* species we recognized from the Turkish coasts: *G. marginata* (Bivona, 1832), *G. occulta* (Monterosato, 1869), *G. boucheti* Gofas, 1992 and *G. melitensis* Smriglio, Mariottini & Rufini, 1998. The high variability of the shell morphology is studied and «morphologic affinities» are comparatively analized, and two different complex of species are here recognised: the *G. marginata*/*G. boucheti* complex and the *G. occulta*/*G. melitensis* complex. Meanwhile, with our records the number of the species known from the research area has been increased to four with the addtion of *G. boucheti* and *G. melitensis*. The name *Granulina guttula* La Perna, 1999 is restored, being considered as not preoccuped by *Erato guttula* Sowerby, 1832. *Granulina gubbiolii* Smriglio & Mariottini, 1999 is here recognised as a junior synonym of *Granulina minusculina* (Locard, 1897).

***Keywords*:** *Granulina*, Turkish coasts, shell morphology, variability, species complex

Öz: Türkiye kıyılarından dört *Granulina* türü bilinmektedir: *G. marginata* (Bivona, 1832), *G. occulta* (Monterosato, 1869), *G. boucheti* Gofas, 1992 ve *G. melitensis* Smriglio, Mariottini & Rufini, 1998. Bu çalışmada, *G. marginata*/*G. boucheti* ve *G. occulta*/*G. melitensis* grubu olmak üzere, iki «morfolojik benzerlik» çerçevesinde türlerin kabuk morfolojisindeki büyük değişkenlik karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve *G. boucheti* ile *G. melitensis* türlerinin de ilave edilmesiyle, araştırma sahasından bilinen tür sayısı dörde yükselmiştir. *Granulina guttula* La Perna, 1999 türünün, *Erato guttula* Sowerby, 1832 den farklı bir tür olduğu belirlenmiş ve ilk türün geçerliliği korunmuştur. *Granulina gubbiolii* Smriglio & Mariottini, 1999 ise *Granulina minusculina* (Locard, 1897)'nın genç sinonimi olarak ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: *Granulina*, Türkiye kıyıları, kabuk morfolojisi, değişkenlik, tür grupları

INTRODUCTION

In his revision of the Mediterranean species of *Granulina*, Gofas (1992) distinguished four previously described species: *G. marginata* (Bivona, 1832) from the infralittoral of the whole Western Basin, Eastern Sicily and Djerba Island (Tunisia); *G. occulta* (Monterosato, 1869) from the circalittoral of the Western Basin; *G. minusculina* (Locard, 1897) from the bathyal of the Alboran Sea; and *G. vanhareni* (van Aartsen, Menkhorst & Gittenberger, 1984) from the infralittoral of the Strait of Gibraltar. He furthermore described two new species from the Mediterranean waters : *G. boucheti* from the upper infralittoral of southeastern Sicily (Acitrezza) and *G. torosa* from the lower infralittoral of the Strait of Gibraltar (Ceuta). The studies carried out by Gofas hushered an era of intensive descriptions of new taxa in the genus *Granulina* for the Mediterranean waters, which was followed by the other studies in which were also described new for the science several taxa, as: *G. gofasi* Smriglio & Mariottini, 1996 from the bathyal of Tyrrhenian Sea (Lazial Coast); *G. melitensis* Smriglio, Mariottini & Rufini, 1998 from the circalittoral of Malta and Eastern Tyrrhenian Sea (Lazial Coast); *G. gubbiolii* Smriglio & Mariottini, 1999 from the bathyal of western Alboran Sea (Estepona); *G. guttula* La Perna, 1999 (later renamed as *G. mediterranea* Landau, La Perna & Marquet, 2006) from the circalittoral of Eastern Tyrrhenian Sea (Ponza Island); *G. pusaterii* Smriglio & Mariottini, 2003 from the circalittoral of Central Tunisia (Sfax); *G. lapernai* Smriglio & Mariottini, 2013 from the upper circalittoral of Scilla and the southeastern Tyrrhenian side of the Messina Strait; *G. zanclea* Bogi, Boyer, Renda & Giacobbe, 2016 from the upper bathyal of Eastern Tyrrhenian Sea (Bagnara Calabra). Hereby, just after only 20 years after the above-mentioned review of Gofas, the number of *Granulina* species known from the Mediterranean waters increased from six to thirteen, all observed from the Western Basin and the far-western part of Central Mediterranean (southeastern Sicily, Malta and Tunisia).

We hereafter propose to restore *Granulina guttula* La Perna, 1999 as valid taxon. When renaming «*G. guttula*» as

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

«*G. mediterranea*», Landau et al. (2006) considered this former name as preoccuped by «*Granulina guttula* (Sowerby, 1837)». But Sowerby (1832 : 16 and 1837 : pl. VII, fig. 50) described *Erato guttula* in his *Erato* Section. Boyer (2015:12), studying and revising this taxon, proved to be an *Hydroginella* species, not an *Erato* neither a *Granulina*. So the name *Granulina guttula* La Perna, 1999 cannot be considered as preoccuped by *Erato guttula* Sowerby, 1832, both taxa corresponding to perfectly different genera.

Several main morphologic groups seem to occur in this fauna: *G. marginata* and *G. boucheti*, mostly ranging in upper infralittoral depths, are pretty looking similar for the shell features, being sometimes difficult to recognize on this simple ground. They can more easily distinguished on the ground of the animal chromatism; *G. minusculina*, *G. melitensis* and G. *gubbiolii* look to be very similar on the ground of shell features, may be conspecific or corresponding to geographic or bathymetric populations; *G. gofasi* and *G. pusaterii* both presenting possible affinitties with this group but looking as less closely related; *G. occulta*, *G. guttula* and *G. lapernai*, mainly known from the circalittoral of the Tyrrhenian Sea, although they show some similar morphologic features, the mentioned species cannot be considered as closely matching.

Many of these species (geographic or bathymetric forms) seem to be restricted to a rather limited range, but despite the significant progress made over the last 35 years in sampling of materials and field studies of Mediterranean marine mollusca, only in few places the micro-molluscs were seriously studied. So despite the important progress performed recently in the faunistic inventory of *Granulina* in Mediterranean Sea, we must consider that much remains to do, as well concerning the intensive samplings at coastal and circalittoral levels all around the Mediterranean area than concerning more accurate studies about the intraspecific variability, the real specific diversity playing in Mediterranean Sea, and the composition of the species-groups in this area.

As a contribution to such a duty, we propose herein a revision of the *Granulina* fauna collected along the Turkish coasts, on the ground of an original material recently collected along the Aegean and Levantine Coasts. Only two *Granulina* species (*G. marginata* and *G. occulta*) were reported in the recent inventory of the marine molluscs from the Turkish waters (Öztürk *et al*., 2014). The numerous *Granulina* specimens at hand obtained from a wide area allowing to display nowadays a possibility to study the intraspecific disparity at work, and the point of species limits being challenged, the identification key of the referable species will be first checked, before to deal with a study of the morphologic variability playing in the fauna of the Turkish waters and with the specific attributions that may be worked.

MATERIAL AND METHODS

The material utilized for the present study comes principally from the type specimens studied from MCZR, MNHN and MZB, from the collections of MZB, NMR, the University of Messina and the University of Bari, and from some private collections, principally that of Jacques Pelorce, of Attilio Pagli and of the first author. In complement were checked also pictures, reports and revisions found in malacological publications as well as on documented Internet websites. The investigated material comes principally from the collections of the Department of Hydrobiology (Ege University, Faculty of Fisheries), sampled and sorted out during the period 1995-2018. A part of the material from the Turkish Levantine Coast was sampled within the Project 104Y065 financially supported by TUBITAK (The Scientific and Technological Research Council of Turkey). A limited addition of material came from the collections of Kemal Geyran (Istanbul, Turkey) and of the second author.

The *Granulina* material from ESFM was collected from 80 stations grouped along 47 geographic sites (Figure 1) and containing about one thousand shell specimens. Thirty-nine of these geographic sites are located in the Aegean Sea and the Mouth of the Dardanelles Strait, and only eight of these sites are located in the Levantine Sea. About 45% of the samplings were operated from 0,3 m to 30 m, and 55% were operated lower than 30 m (only 3 stations lower than 80 m). The material loaned by K. Geyran is composed of 4 lots containing about 20 specimens of diversified forms, from stations staggered from 50 to 80 m (3 stations from the Aegean Sea and one from the Levantine Sea). The material provided by the second author is composed of a lot of about 20 specimens of *G. marginata* and *G. boucheti* collected at 12 m off Bozcaada Island (Aegean Sea).

It was not possible to obtain data about the live animals ranging in the Turkish waters, specially concerning the chromatism of the soft parts, and the study is only supported by the observation and comparison of shell morphology features. In these conditions, a preliminary focus on the *Granulina* shell morphology patterns and variability known to science for the Mediterranean waters is required. So, in the First Part we are going to check the specific patterns documented from Western and Central Mediterranean, in link with the forms observed along the Turkish coasts, before to devote in the Second Part to the analysis of the morphologic patterns observed along the Turkish coasts.

The specimens worked in the present study were deposited at the Museum of Faculty of Fisheries (ESFM), Ege University, Izmir, Turkey.

Figure 1. Map of sampling stations along the Turkish coasts

Acronyms and abreviations

ESFM : Museum of Faculty of Fisheries, Ege University, Izmir
MCZR : Museo Civico di Zoologia di Roma
MNHN : Muséum national d'Histoire naturelle, Paris
MZB : Museo di Zoologia, Università di Bologna
NMR : Natuurhistorisch Museum Rotterdam
BOC : B. Öztürk Collection (ESFM)
FBC : F. Boyer Collection
LPC : R. La Perna Collection
KGC : K. Geyran Collection
WRC : W. Renda Collection
L : shell length
spm : specimen
sh : shell
stn : station

RESULTS AND DISCUSSION

The investigation of *Granulina* specimens collected along the Turkish Levantine and Aegean coasts yielded four species: *Granulina marginata* (Bivona, 1832), *G. occulta* (Monterosato, 1869), *G. boucheti* Gofas, 1992 and *G. melitensis* Smriglio, Mariottini & Rufini, 1998, of which *G. boucheti* and *G. melitensis* are new records from the area. The high variability of the shell morphology in the identified species is studied from a comparative point of view, in the frame of two complex of «morphologic affinities», and the results are presented and discussed below.

SYSTEMATICS

Family: Granulinidae G. A. Coovert & H. K. Coovert, 1995

Genus : *Granulina* Jousseaume, 1888

Type species : *Marginella pygmaea* Issel, 1869 (non *Marginella pygmaea* Sowerby, 1846) = *Marginella isseli* Nevill & Nevill, 1875 (nom. nov.), by monotypy.

Recognition of the specific patterns documented from Western and Central Mediterranean

Four main shell patterns are observed in the *Granulina* fauna collected along the Turkish coasts, matching closely for the most the current definition of the species *G. marginata*, *G. boucheti*, *G. occulta* and *G. melitensis*. In some case, morphologic affinities are suggested also with other species from Western Mediterranean, the most confusing case being that of *G. minusculina*. So we propose to proceed to the preliminary checking of these five taxa.

Granulina marginata (Bivona, 1832) **(Figure 2, A-P)**.

Volvaria marginata Bivona, 1832 : 24, pl. 3, fig. 5 (Palermo).

Voluta brocchi Scacchi, 1833 : 22 (Napoli).

Type material

Neotype MNHN (Figure 2, A and B), Acitrezza, southeast Sicily, 1-2 m, L= 2.0 mm.

Distribution

Gofas (1992) gave *Granulina marginata* as ranging in whole Western Mediterranean, including Algeria, and

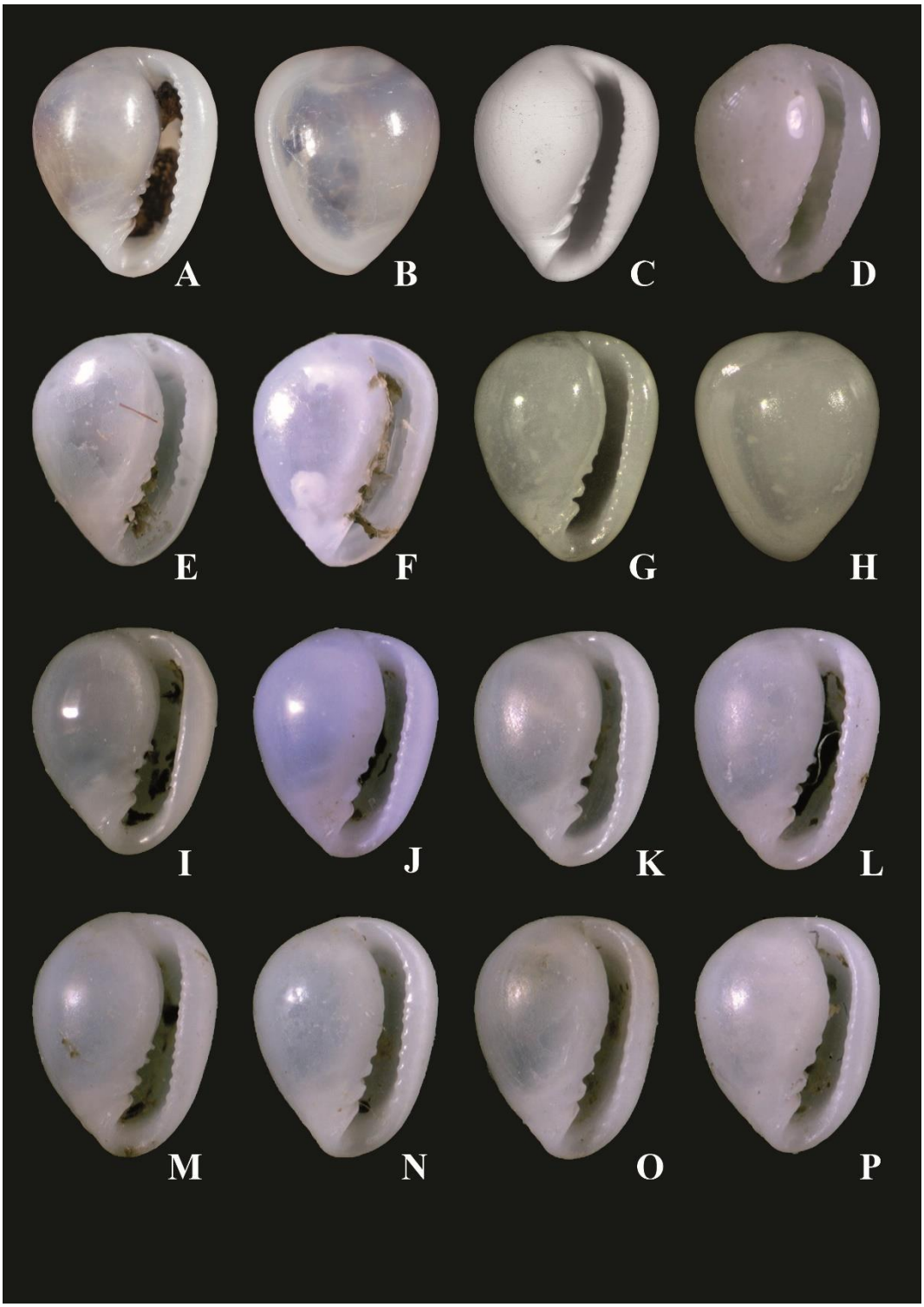


Figure 2. A-P. A, B. *Granulina marginata* (Bivona, 1832), neotype of *Volvaria marginata* Bivona 1832, Port of Acitrezza, Sicily, L = 2.0 mm, MNHN. **C**. *Granulina marginata*, Gioia Tauro Basin, Bagnara Calabra, 335-371 m, L = 1.9 mm. **D**. *G. marginata*, Villaggio Pace, Strait of Messina, 33 m, L = 2.0 mm. **E, F**. *G. marginata*, Capo d'Armi, southern Calabria, 4-6 m, L= 2.5 mm & 2.5 mm. **G, H**. *G. marginata*, Larnaca, Cyprus, NMR 40393, L = 1.9 mm. **I-P**. *G. marginata*, Port du Niel, Presqu'île de Giens, French Riviera, L = 1.8 to 2.2 mm, CFB.

recorded it also from Eastern Sicily (type locality of the neotype), southern Tunisia (Djerba) and Samos Island in Eastern Aegean Sea. Since the Gofas revision, various records have been made from the oriental basin, but often the most without clear illustrations or descriptions allowing us to verify the specific identity, and to check the difference with the similar species *G. boucheti*. The first author had however the opportunity to verify the identity of specimens of *G. marginata* from Malta (Meliella Bay), from Croatia (Crès Island), from Southern Pelopponese (Gulf of Messinias) and from Cyprus (Larnaca) (Figure 2, G-H), on the ground of well-conserved shells. The species is known to range mainly in shallow water but it seems to reach the entire infralittoral and shells are often dredged at deeper levels (Boyer et al., 2017).

Remarks

The stout, thick and heart-shaped shell of *G. marginata* allow easy identification in most cases, but the shell morphology of the species displays a rather wide variability (Figs A-P) and ambiguous cases may occur with shells intercalating more or less with the closely matching species *G. boucheti* (Figure 3, A-P), less common and less abundant but rather often collected in syntopy with *G. marginata*. See below for comparison with *G. boucheti*.

Granulina boucheti Gofas, 1992 **(Figure 3, A-P)**.

Granulina boucheti Gofas, 1992 : 10-11, figs 9-10.

Type material

Holotype MNHN (Figure 3, A and B), Acitrezza, southeast Sicily, 1-3 m, L = 2.1 mm.

Distribution

Gofas (1992) recorded *G. boucheti* from the Tyrrhenian Sea, Sicily, Algeria (Arzew) and Tunisia (Djerba). He did not find it along the French and the Spanish coasts, but he underlined the elusive status of the shallow water populations in *G. boucheti* and suggested that the species may have a wider distribution. Later on, the species was discovered and studied by Boyer *et al.* (2003) from the French Riviera, where it looks to be rather common, even if less abundant than *G. marginata*.

Shells of *G. boucheti* were not recognized by the first author in the samples examined from Malta, Croatia, Pelopponese and Cyprus, but a specimen attributable to *G. boucheti* is recorded from the Baleares in the NMR collection (Figure 3, C and D). The species seems to be restricted to shallow waters.

Remarks

Syntopic populations of *G. marginata* (Figure 2, I-P) and *G. boucheti* (Figure 3, E-P) have been studied by the first author in the Port du Niel, at the southern tip of the Presqu'île de Giens (French Riviera). On the ground of a vast amount of live collected specimens, the morphology of the shells and the chromatism of the animals were systematically compared. As far as the specific status is concerned, very few ambiguous cases were observed in this assemblage, first due to the larger size of the shells of *G. boucheti* in this place (shells of *G. boucheti* generally ranging in size +10% the shell length of *G. marginata*), second due to the subtle but rather constant differences in the detail of the shell morphology, and third due to the evident differences between the respective animal chromatism of the two species. As far as the shell morphology is concerned, the main shell differences observed between the two species are hereafter reported as follows: a thicker shell and the stouter and more triangular outline for *G. marginata*, versus a slightly more slender and pyriform outline in *G. boucheti*; the rather flat top in *G. marginata* versus more arched top in *G. boucheti*; the slightly wider aperture with a well-opened upper part and a low non-overlapping upper labrum in *G. marginata*, versus a less opened aperture, running higher towards the left side, with a slightly higher and more overlapping upper labrum in *G. boucheti*; a rather longer, stronger and sinuous first columellar plait in *G. marginata* versus a slightly shorter, thinner and straighter one in *G. boucheti*. Very few cases of puzzling specimens were observed in this assemblage, like for instance in Figure 2, M and Figure 3, N, but at least one of the shell morphology details allowed to determine the specific distinction, and in each case this attribution was confirmed by the larger size of the shell of the *G. boucheti* specimens in this place, as well as by the distinctive chromatism of the animals (more colorful in *G. boucheti*, with an orange stain ranging ahead of the eye, ligth yellowish inner mantle with light orange stains, and yellowish to orange stains and clouds on the sides of the foot).

Gofas (1992) described exactly the same animal chromatism both in *G. marginata* and in *G. boucheti* from the type locality of Acitrezza, but in this place the shell morpholy of *G. boucheti* (Figure 3, A and B) seems to differ from the morphology observed in Port du Niel, with a more slender and more pyriform outline, and a rather long first columellar plait (however less sinous and thinner than in the sympatric *G. marginata*).

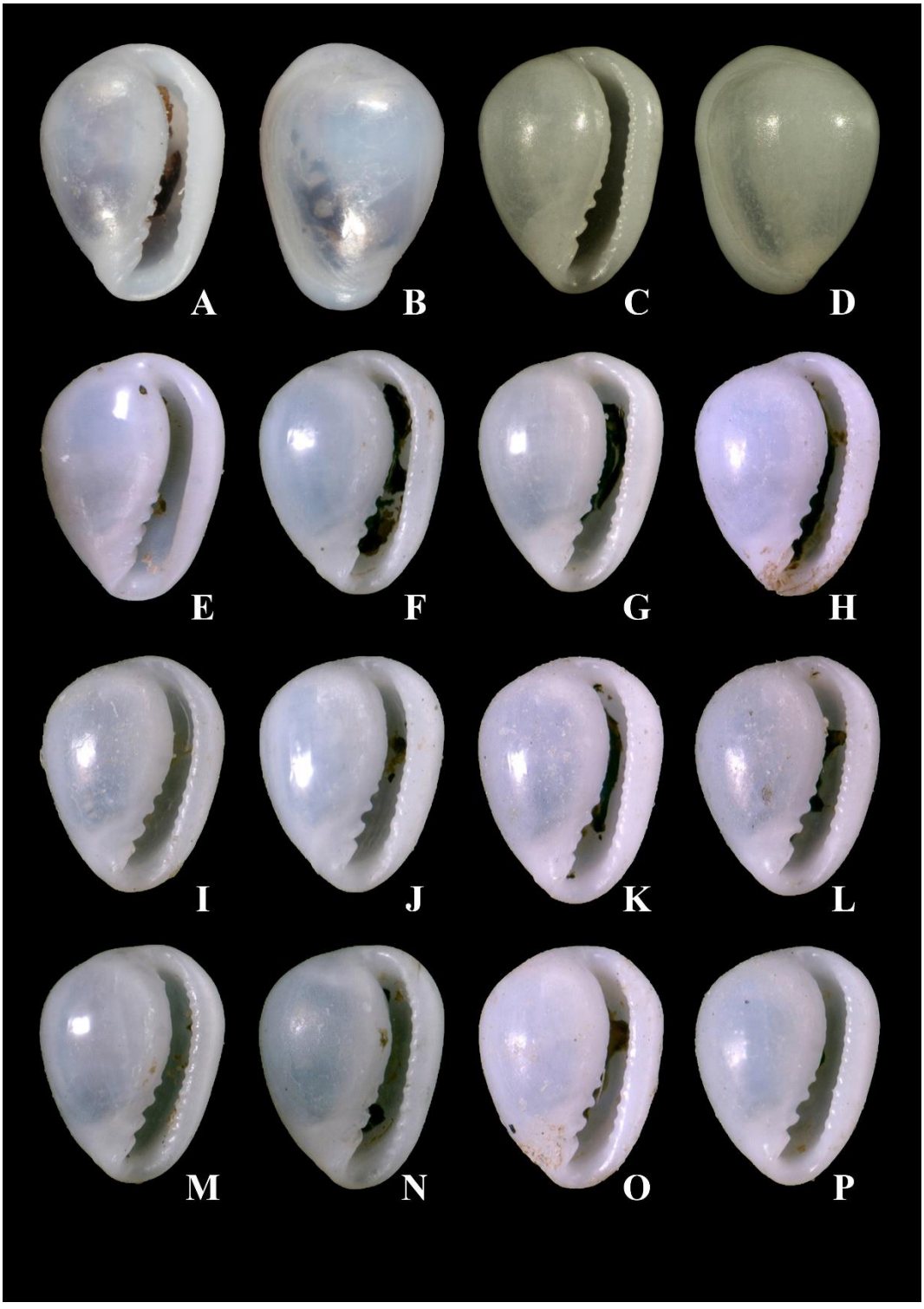


Figure 3. A-P. A, B. *Granulina boucheti* Gofas, 1992, holotype MNHN, Acitrezza, L = 2.1 mm. **C, D**. *G. boucheti*, Formentera, Baleares, NMR 40378, L = 2.3 mm. **E-P**. *G. boucheti*, Port du Niel, Presqu'île de Giens, French Riviera, L = 2.0 to 2.4 mm., CFB

Granulina occulta (Monterosato, 1869) **(Figure 4, A-K)**.

Marginella occulta Monterosato, 1869: 17-18, fig. 10.

Volutella parvulina Locard, 1897: 126-127, pl. 21, figs 3-4.

Type material

Lectotype MNHN, ex-Monterosato coll. (Figure 4, A and B), Sicily, Palermo, L = 2.45 mm.

Distribution

Gofas (1992) reported *G. occulta* from circalittoral levels (one case from a bathyal level) off the French Riviera, Corsica, Capri Island, Palermo, Oran and the Alboran Sea, based on a limited number of specimens. Several specimens were studied by the first author in the collections of Jacques Pelorce and André Hoarau (Fréjus/Saint-Raphael, French Riviera: three stations from 70 to 170 m) and in the collection of Attilio Pagli (Tuscan Archipelago and Eastern Tyrrhenian : three stations from 110 to 300 m), most of these shells being squatter than the lectotype. We did not find reliable records about *G. occulta* from Central and Eastern Mediterranean, including from Eastern Sicily and Malta. Samplings from the Aegean Sea were however subjected in some studies carried out in the past, but without good individual pictures neither reliable identification.

Remarks

In the whole, *G. occulta* looks as a rather elusive species, ranging at circalittoral levels, rarely collected and recorded from Western Mediterranean, and it remains very badly known in the area. For instance the species was not found in the samplings made by the Messina University in southeastern Tyrrhenian and studied by Boyer *et al*. (2017). The type material of *G. occulta* (Figure 4, A, B, E-G) and the syntype of its junior synonym *G. parvulina* (Figure 4, C and D) all prove to be slender shells with sharp upper rostrum, rather different from the stouter shells generally collected off the French Riviera and in the Tyrrhenian Sea. Some specimens attributed to *G. occulta* (Figure 4, H and I) from the Alboran Sea show a tiny and rather cylindrical shell poorly matching the typical concept of the species, although the same type of columellar plaits is present. Some specimens from the Tyrrhenian Sea (Figure 4, J and K) are similar to the recently described species *G. guttula* La Perna, 1999 (Figure 4 L-O), which seems to differ from *G. occulta* principally for a thicker shell, a more pyriform outline, a more rounded top and a more produced upper plait, characters which make them something different from the typical *G. occulta*. On the basis of these specimens we can argue that the morphological traits of this latter species needs more accurate investigations to define its real variability range.

Granulina minusculina (Locard, 1897) **(Figure 5, A-H)**.

Volutella minusculina Locard, 1897: 127-128, pl. 21, figs 6-8.

Granulina gubbiolii Smriglio & Mariottini, 1999: 35-40, figs 1-10.

Type material

Lectotype MNHN (Figure 5, A and B), «Travailleur» 1882, st. 34, Ouest du Maroc, 112 m, L = 2.0 mm.

Distribution

According to Gofas (1992): «distributed in the Ibero-Moroccan Gulf, rare in Mediterranean… the Mediterranean specimens are less rostrated and with a much less thickened labrum». In fact the species shows to be rather common at lower circalittoral levels and at upper bathyal levels in the Alboran Sea (Figure 5, C and D), and specimens attributable to *G. minusculina* are recorded from off Western Sicily and from the Tyrrhenian Sea (Figure 5, E-H).

Remarks

According to us, the description of *G. gubbioli* by Smriglio and Mariottini (1999) seems not to consider for comparison the lectotype selected by Gofas (1992) for *G. minusculina* (Figure 5, A and B), which is a strong inflated shell with an heavy upper rostrum. When characterizing the identity of *G. minusculina*, in fact they based their differences on the poorly descriptive figure of the type specimen by Locard (Smriglio & Mariottini, 1999: fig. 10), and a topotype from the Travailleur Expedition which shows to bear rather more tapered tips (ib.: figs 11-12). In fact all the type specimens of *G. gubbiolii* from the Straight of Gibraltar (ib.: figs 1-5) as well as the specimens illustrated from Estepona (ib.: figs 6-7) match perfectly the morphology displayed by the lectotype of *G. minusculina* and according to us they should be considered as synonyms. Smriglio and Mariottini illustrated also as «*G. gubbiolii*» two specimens collected by the BALGIM Expedition in the Alboran Sea (ib.: figs 8-9) : these two shells are lighter in colour than the lectotype of *G. minusculina* and than the type material of *G. gubbiolii* but they do not differ structurally. Such « lighter in colour shells » are rather common in the population of *G. minusculina* in the Alboran Sea (Figure 5, C and D) and in the Tyrrhenian Sea as well. Whereas the lectotype of *G. minusculina* presents a thick shell, a much globose outline, a widely arched upper labrum, strong subequal labial denticles and four well-distinct decreasing columellar plaits, these features are shown to be variable in the various material referred to *G. gubbiolii* by Smriglio and Marriottini (1999: figs 1-9), the single specimen referred to *G. minusculina* (ib.: figs 11-12) showing itself a moderately globose outline, a well tapered top than arched, and a rather indisctinct fourth columellar plait.

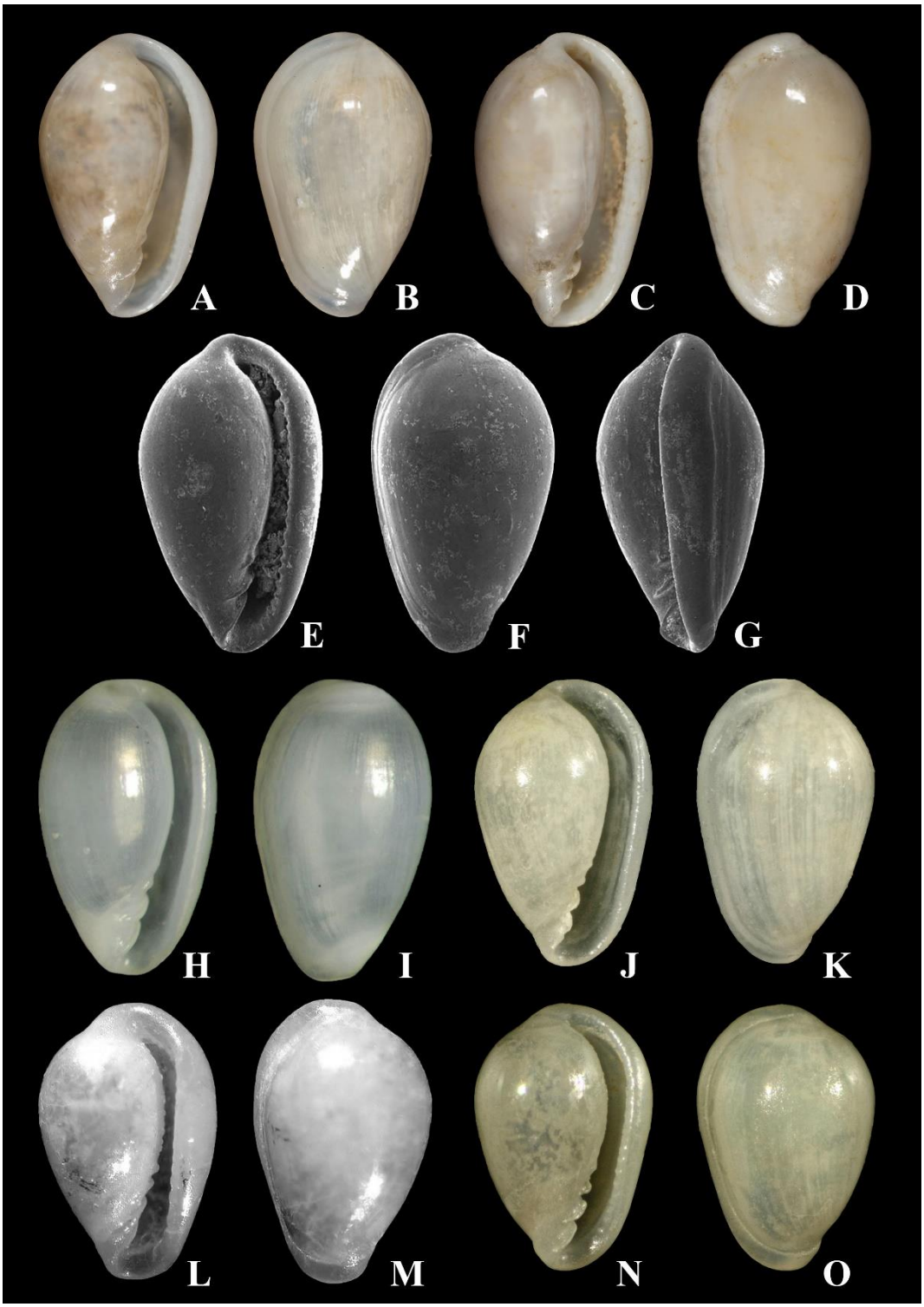


Figure 4. A-O. A, B. *Marginella occulta* Monterosato, 1869, lectotype MNHN (ex-Monterosato), Palermo, L = 2.45 mm. **C, D.** *Volutella parvulina* Locard, 1897, syntype MNHN (ex-Locard, «Travailleur Exp.: nord de l'Espagne, 1.094 m; est de l'Espagne, 322 m»), « Mer d'Alboran » (fide Gofas, 1992: 13), L = 2.45 mm. **E-G**. *Gibberulina occulta* Monterosato, 1869 (ms label), syntype MCZR, Palermo, L = 2.4 mm (from Smriglio & Mariottini, 2013: figs 9 a-c). **H, I**. *Granulina* cf. *occulta*, Barbate, Andalucia, L = 2.0 mm (from Gofas in WoRMS). **J, K**. *G.* cf. *occulta*, Messina, Punta Falcone, NMR 40408, L = 3.0 mm. **L, M**. *G. guttula* La Perna, 1999, holotype University of Bari, Ponza Island, Eastern Tyrrhenian Sea, 84 m, L = 1.9 mm. **N, O**. *G. guttula*, Latina, Sperlonga, 100 m, NMR 40392, L = 2.0 mm.

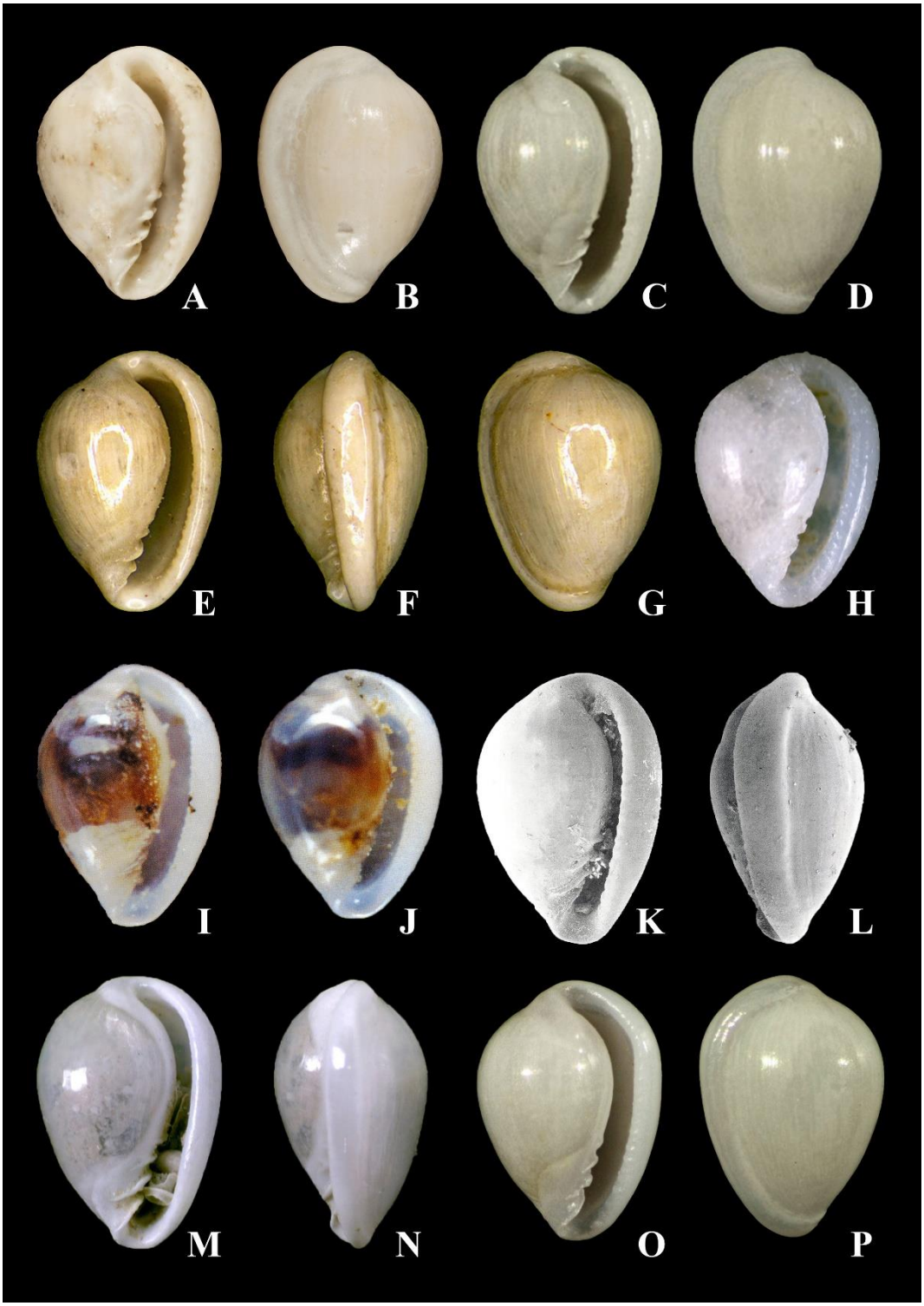


Figure 5. A-P.A, B. *Volutella minusculina* Locard, 1897, lectotype MNHN (ex-Locard, «Talisman Exp.: Maroc Atlantique», L = 2.0 mm. **C, D**. *Granulina minusculina*, Bahia de Cadiz, Spain, 543 m (NIOZ dredgings), NMR 40405, L = 2.4 mm. **E-G**. *G.* cf. *minusculina*, Isole Egadi, Western Sicily, 100 m, detrito, L = 2.3 mm, coll. Ennio Squizzato (www.fotoconchigliemediterraneo.com). **H**. *G.* cf. *minusculina*, Gioia Tauro Basin, Bagnara Calabra, southeastern Tyrrhenian Sea, 371 m, L = 2.25 mm, coll. University of Messina. **I.** *G. melitensis* Smriglio, Mariottini & Rufini, 1998, holotype MZB 12693, Malta, 100-120 m, L = 2.2 mm. **J**. *G. melitensis*, paratype B, coll. Smriglio, Mariottini & Rufini, Malta, 100-120 m, L = 2.1 mm. **K, L**. *G. melitensis*, paratype L, coll. Smriglio, Mariottini & Rufini, Malta, 100-120 m, L = 1.8 mm. **M, N**. *G.* cf. *melitensis*, Lazial Coast, Latium, eastern Tyrrhenian Sea, mud, 250 m, L = 2.1 mm, coll. C. Smriglio. **O, P**. *G. melitensis*, Kyklades Plateau, Greece, 120 m, NMR 40404, L = 2.1 mm.

Some specimens from the Tyrrhenian tentatively attributed to *G. minusculina* (Figure 5, H) show a rather thick shell but a narrower aperture, a moderately globose outline and a less arched upper labrum, looking as morphologic intergrade forms to the more recently described *G. melitensis*.

Granulina melitensis Smriglio, Mariottini & Rufini, 1998 **(Figure 5, I-P; Figure 6, A-P)**

Granulina melitensis Smriglio, Mariottini & Rufini, 1998: 53-56, figs 1-7.

Type material

Holotype MZB (Figure 5, I), Malta, 100-120 m, L = 2.2 mm.

Distribution

Described from Malta at depths between 100-120 m, *G. melitensis* was reported to have been collected also in the Eastern Tyrrhenian Sea, off the Lazial Coasts at 250 m depth. Some of the specimens from the Lazial Coasts attributed to *G. melitensis* by Smriglio *et al.* (1998) (Figure 5, M and N) seem to be rather differing from the type of *G. melitensis*. But numerous specimens matching the type of *G. melitensis* have been later collected in the Tyrrhenian. Although this species seems common in Tyrrhenian, in south-eastern Sicily and in Malta, *G. melitensis* remains very elusive in the rest of Central and Eastern Mediterranean. It has been however recorded from the Aegean Sea (Figure 5, O and P).

Remarks

The description of *G. melitensis* was accompanied by insufficient figure of types (Figure 5, I-L) and it presents in the whole the features of the «lighter form» of *G. minusculina*, with minor variations such as a less globose shell, a slightly less wide aperture, a less denticulate inner labrum and a less arched but slightly «broken» upper labrum (Figure 5, I-O), this last feature being however not constant, even in the type material of *G. melitensis* (Figure 5, K and L). Comparing their new species *G. melitensis* to *G. minusculina*, Smriglio *et al.* (1998: 54) consider that the shell of *G. melitensis* is less globular and less inflated, with a more narrowed base, a narrower aperture and thinner labial denticles. All these characters seem to prove that inside populations from the type locality, this species is almost variable and seem to overlap to those of *G. minusculina* (Figure 5, A-H). The relative thickness of the shells seem to be linked to depth, being the thicker shells typical of higher depths, while lighters ones typical of lower depths. According to Smriglio *et al.* (1998), the most distinctive feature of *G. melitensis* consists in the outer part of the upper margin forming a bent profile, tilting towards the dorsum (Figure 5, L), which is more marked and not tilting in *G. minusculina* (Figure 5, F).

This features was studied on a great number of specimens from the Alboran Sea, from the Tyrrhenian and from Malta: even if a general tendency to a «bent profile of the upper outer margin» is often observed in the populations from Malta, this feature is not constant, few cases are also found in the populations from the Alboran Sea, and the situation prevailing in the Tyrrhenian shows to be the most confusing. Consequently, it seems to be not clear to separate the form «*G. melitensis*» from the form «*G. minusculina*», specially for the populations from the Tyrrhenian where all kinds of intergades are occurring (Figure 5, H). According to us, *G. melitensis* may well represent the «lighter Eastern form» of *G. minusculina*, mostly characterized by a less arched upper labrum, and it might be conspecific. However, in the absence of a complete demonstration about the point, we prefer consider provisionnally *G. melitensis* as a valid species for the Central and Eastern Mediterranean. A good display of the morphologic variability at work in the «typical form» of *G. melitensis* is given by lots collected off south-eastern Sicily (Figure 6, A-P).

B. Analysis of the patterns observed in the Granulina species along the Turkish coasts

The *Granulina* fauna along the Turkish coasts is typified by two couples of species, namely *G. marginata* and *G. boucheti* from one hand, and *G. occulta* and *G. melitensis* from the other hand. In each of these couples, the individual species are easily separated in most cases on the ground of the combination of distinctive morphologic features, but in a rather important number of cases the specific attribution can just be advocated on the ground of one or two features. In a limited number of cases, the specific attribution remains deeply uncertain, especially when the attribution is made on the ground of a single feature showing to have only a «statistic value» (stage of a variation more often combinated within such a morphospecies).

We are going to characterize and identify the *Granulina* specimens collected along the Turkish coasts on the ground of these two «couples of species», as this way to display the problematics seems to be the most demonstrative. The tentative to play a morphometric duty on the ground of selected shell features proved to be unefficient and poorly relevant, so we preferred to deal with a demonstration based on comparative pictures illustrating the divergences/ convergences between individuals, with special focus on series coming from the same station. Most of the geographical sites and depths are used in this demonstration: in the whole, the geographic position and the bathymetry do not seem to be linked to any special kind of variation, and most of the variations are more or less found in each of the samplings, when the samplings are made of numerous specimens. We shall see however that the most «ambiguous cases» (in rate of divergence as well as in number proportion) are better found in the marginal levels (deeper levels for the shallow species and shallow levels for the deep species).

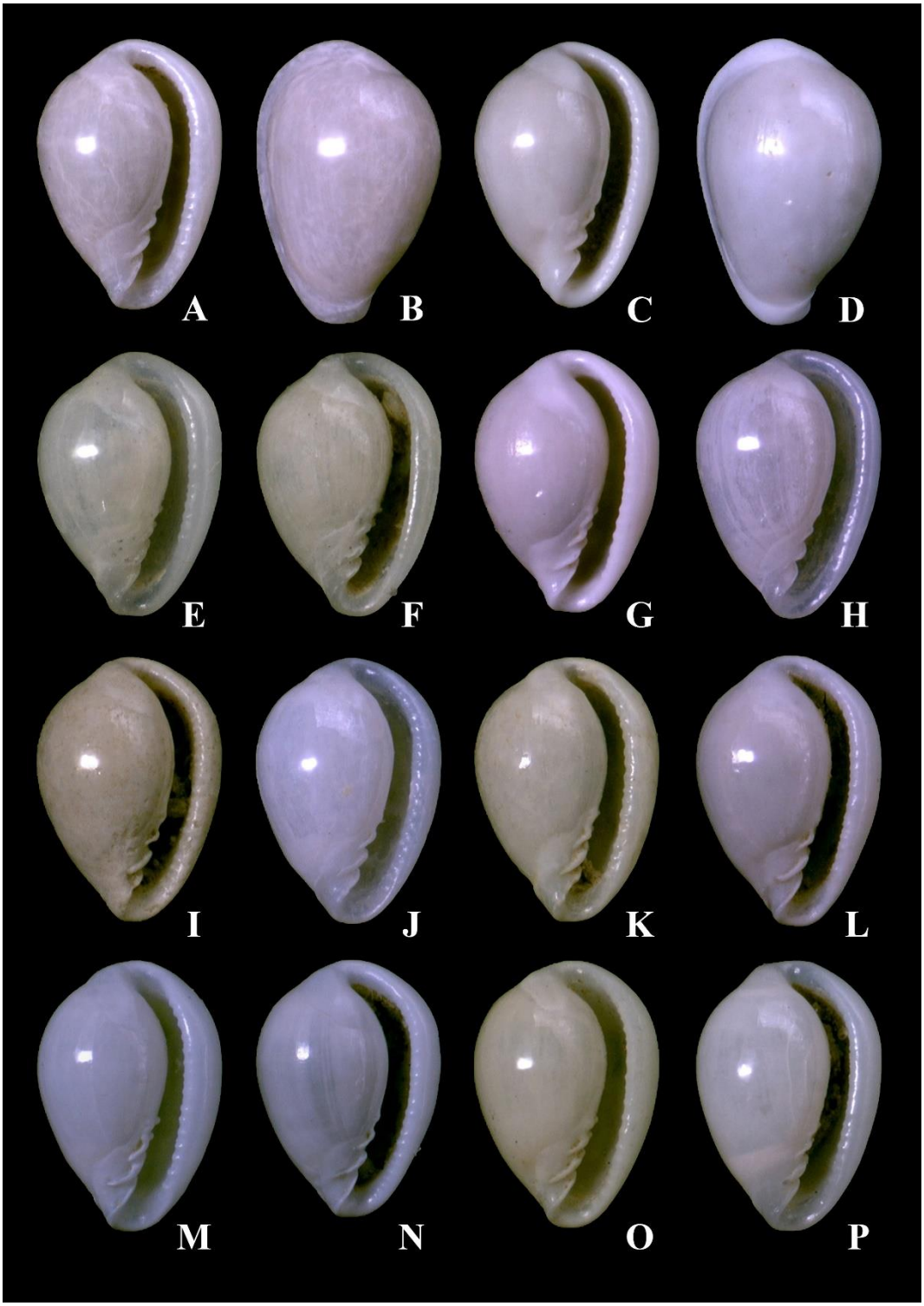


Figure 6. A-P. A-H. *Granulina melitensis*, southeastern Sicily, 200 m (LPC, stn 10P), L = 2.1-2.3 mm. **I**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 120-126 m (LPC, stn PS81-2xB), L = 2.20 mm. **J**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 76 m (LPC, stn PS81-4B), L = 2.22 mm. **K**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 76 m (LPC, stn PS81-4B), L = 2.35 m. **L**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 86 m (LPC, stn PS81-4C), L = 2.2 mm. **M**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 86 m (LPC, stn PS81-4C), L = 2.15 mm. **N**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 86 m (LPC, stn PS81-4C), L = 2.25 mm. **O**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 102 m (LPC, stn PS81-4x), L = 2.16 mm. **P**. *G. melitensis*, southeastern Sicily, 160 m (LPC, stn PS81-5), L = 2.32 mm.

G. marginata*/*G. boucheti

Figure 7, A-H display specimens from the same station (Eski Foça, shallow water) matching perfectly the typical «*G. marginata* concept» such as revised by Gofas (1992) and illustrated by the population from Port du Niel, French Riviera (Figure 2, A-P). Figure 7, I-L display the variability at work in a series of four individuals of *G. marginata* coming from the same station (Dardanelles Entrance, shallow water), Figure 7, K looking as the less «conform to the type», due to its rather oval outline, its poorly sinous first plait : however other important features, such as the aperture well-turned towards the topside, a non-reflected/overlapping upper labrum and rather strong labial denticles, allow to distinguish clearly this individual from the related species *G. boucheti*. Figure 7, M-P display a set of three «ambiguous individuals» coming from the same station (Çandarli Bay, 46 m). They are identified as *G.* cf. *marginata*, despite they all suggest affinities with features more commonly found in the Western Mediterranean forms of *G. boucheti*. Despite its rather slender outline, poorly widening aperture and very thin labial denticles (Figure 7, M and N), display a triangular shape, an attenuated pointing base, an upper aperture well-turned towards the topside and a long and rather sinuous first plait forming a deep oblique gutter at the base of the aperture, all features matching the common form of *G. marginata*. The placement of Figure 7, O in *G. marginata* is less evident, due to the much oval-slender outline, the attenuated pointing base, the much narrowed aperture, the very straight first plait and the smooth inner labrum, but the orientation of the upper part of the apertrure is coherent with the «*G. marginata* concept». Figure 7, P is the most ambiguous individual from the series: its subpyriform outline, its poorly widening aperture and its few tiny denticles all suggest affinities with *G. boucheti*, but the upper aperture is unclear, as it is running deeply to the left and it is slightly overlapped by a faintly reflecting upper labrum, whereas the upper aperture remains mostly turned towards the topside and the first plait looks as long, thick and rather sinuous, forming a rather deep oblique gutter at the base of the aperture. The balance of these elements leads to prefer a provisionnal placement in *G. marginata*, however with formal reservations.

Figure 8, A-L display a set of 12 individuals collected in sympatry (Marmaris, 30 m) and showing a wide range of morphologic disparity: some of the individuals are attributed to *G. marginata* without serious reservations, several individuals are attributed to *G. marginata* with reservations (see the captions of Figure 8), one shell (Figure 8, H) is considered to match *G. boucheti* with evidence, and another one is referred by preference to *G. boucheti* despite its atypical appearence: the subtriangular stout outline and the upper aperture better turner towards the topside suggest better affinities with *G. marginata*, but the rather «brooken profile» of the inner upper labrum and the shape of the short first plait suggests better the belonging to *G. boucheti*.

Figure 8, M-P display a set of four individuals collected off Bozcaada Island (12 m), the first three referrable to *G. marginata* and the last one attributed to *G. boucheti* with no serious reserves.

G.occulta/G. melitensis

The distinction between *G. occulta* and *G. melitensis* along the Turkish coasts looks to be almost difficult in many cases: both species prove to be highly variable by themselves, with many «divergent forms», and beside series more or less easily attributable to one of these two taxa, a good number of specimens look as intergrading them. Few specimens from the Turkish waters really match the «typical pattern» ruled by the types of *G. occulta* and *G. parvulina* (Figure 4, A-G) and by the type material of *G. melitensis* (Figure 5, I-L): even if *G. occulta* shows in the whole a more slender outline, a more attenuated top, a rather long and straigth first plait and a poorly visible fourth plait, versus a more rounded outilne, an arched upper labrum, a more sinuous first plait and a more visible fourth plait in *G. melitensis*, many exceptions are occurring and the specific placement of numerous specimens remains dubious even after deep investigation based on «modular comparisons» (comparison of combinated features).

Figure 9, A-D match the general features of the «typical *G. occulta*», like at a lesser degree Figure 10, A and Figure 11, A, whereas Figure 10, E and Figure 11, I are displaying a slightly more inflated form. The form displayed by Figure 9, E-H look as very similar to the Tyrrhenian species *G. guttula* (Figure 4, J-O), for its general outline as well for details such as the straight central part of the inner labrum. The same general morphology is found in Figure 11, J-K. Such occurrence does not lead directly to suspect the possible presence of *G. guttula* along the Turkish coasts: it better lead to wonder about the real variability at work for *G. occulta* in the Tyrrhenian and the real status of *G. guttula* in this morphologic complex.

Figure 9, I-L display the most common form from Turkey attributable to *G. occulta*, and characterized by a stout oval shell much attenuated at both tips. At a lesser degree, the same pattern is displayed in Figure 10, M and N. Slightly more inflated shells with less tapered tips must be attributed better to *G. melitensis* (Figure 11, D-H).

Figure 9, M-P display a rather puzzling case: despite the oval-narrowed and rather pyriform outline and the strange irregular top, this individual presents several diagnostic features of *G. melitensis*, including the relatively «arched» upper labrum, the heavy and well-defined columellar callus, and the strongly sinuous first columellar plait. Even if not frequently displayed as such, the four prominent rather grouped columellar plaits can be accepted as «secondary diagnostic feature for *G. melitensis*». But the narrowed central aperture with straight inner labrum must be considered as an atypical feature. No further individual from this kind was not observed in the samplings from

Turkey, and in the present state we cannot infer if this specimen is more than a «freak individual» within the *G. melitensis* complex.

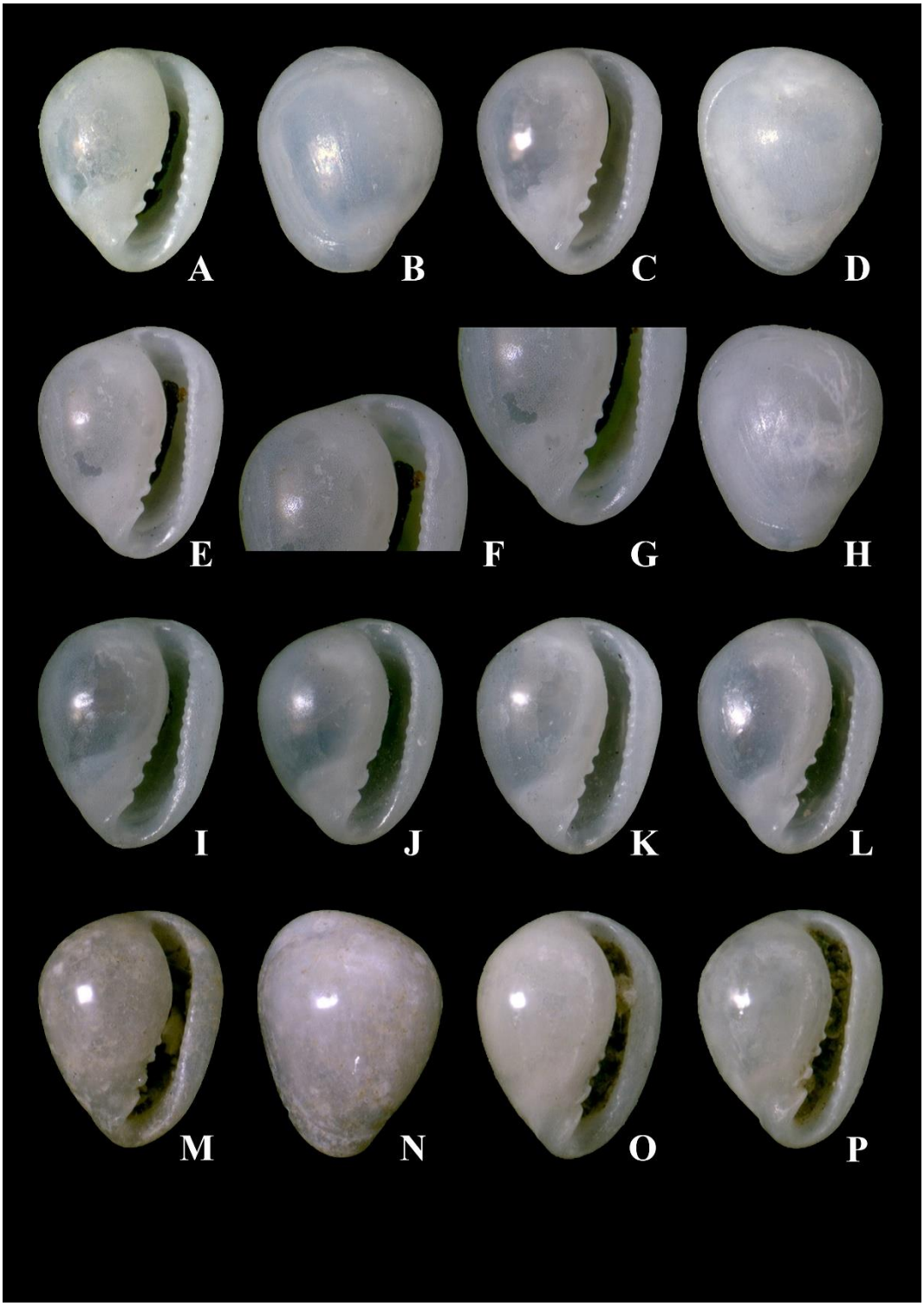


Figure 7. A-P. A, B. *Granulina marginata*, Eski Foça, Aegean Sea, *Cystoseira adriatica*, 1 m, L = 2.05 mm. **C, D**. *G. marginata*, Eski Foça, Aegean Sea, *Cystoseira adriatica*, 1 m, L = 1.90 mm. **E-H**. *G. marginata*, Eski Foça, Aegean Sea, *Cystoseira adriatica*, 1 m, L = 1.95 mm. **I**. *G. marginata*, Dardanelles Entrance, Monument, *Cystoseira adriatica*, 0,5-1 m, L = 1.85 mm. **J**. *G. marginata*, Dardanelles Entrance, Monument, *Cystoseira adriatica*, 0,5-1 m, L = 1.85 mm. **K**. . *marginata*, Dardanelles Entrance, Monument, *Cystoseira adriatica*, 0,5-1 m, L = 1.95 mm. **L**. *G. marginata*, Dardanelles Entrance, Monument, *Cystoseira adriatica*, 0,5-1 m, L = 1.95 mm. **M, N**. *G*. cf. *marginata*, Çandarli Bay, Aegean Sea, 46 m, L = 2.00 mm. **O**. *G*. cf. *marginata*, Çandarli Bay, Aegean Sea, 46 m, L = 1.75 mm. **P**. *G*. cf. *marginata*, Çandarli Bay, Aegean Sea, 46 m, L = 1.80 mm.

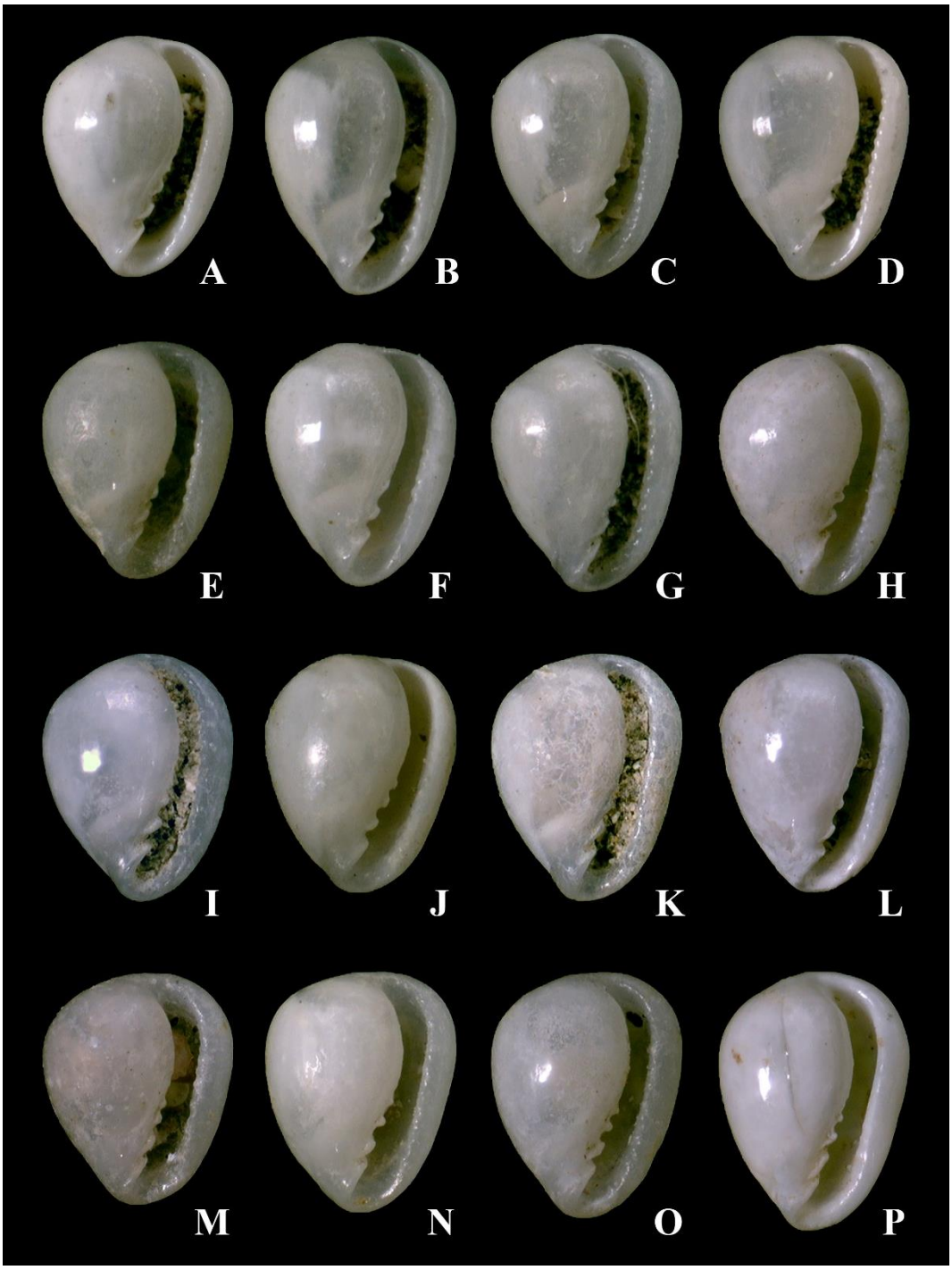


Figure 8. A-P. A. *Granulina marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.70 mm. **B**. *G*. cf. *marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.80 mm. **C**. *G*. cf. *marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.95 mm. **D**. *G*. cf. *marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.90 mm. **E**. *G. marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.50 mm. **F**. *G. marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.50 mm. **G**. *G*. cf. *marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.75 mm. **H**. *G. boucheti*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 2.20 mm. **I**. *G. marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.80 mm. **J**. *G. marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.55 mm. **K**. *G*. cf. *marginata*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.65 mm. **L**. *G*. cf. *boucheti*, Adaköy, Marmaris, Aegean Sea, muddy sand, 30 m, L = 1.90 mm. **M**. *G. marginata*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 12 m, WRC, L = 1.90 mm. **N**. *G*. cf. *marginata*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 12 m, WRC, L = 1.90 mm. **O**. *G*. cf. *marginata*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 12 m, WRC, L = 1.90 mm. **P**. *G. boucheti*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 12 m, WRC, L = 2.05 mm.

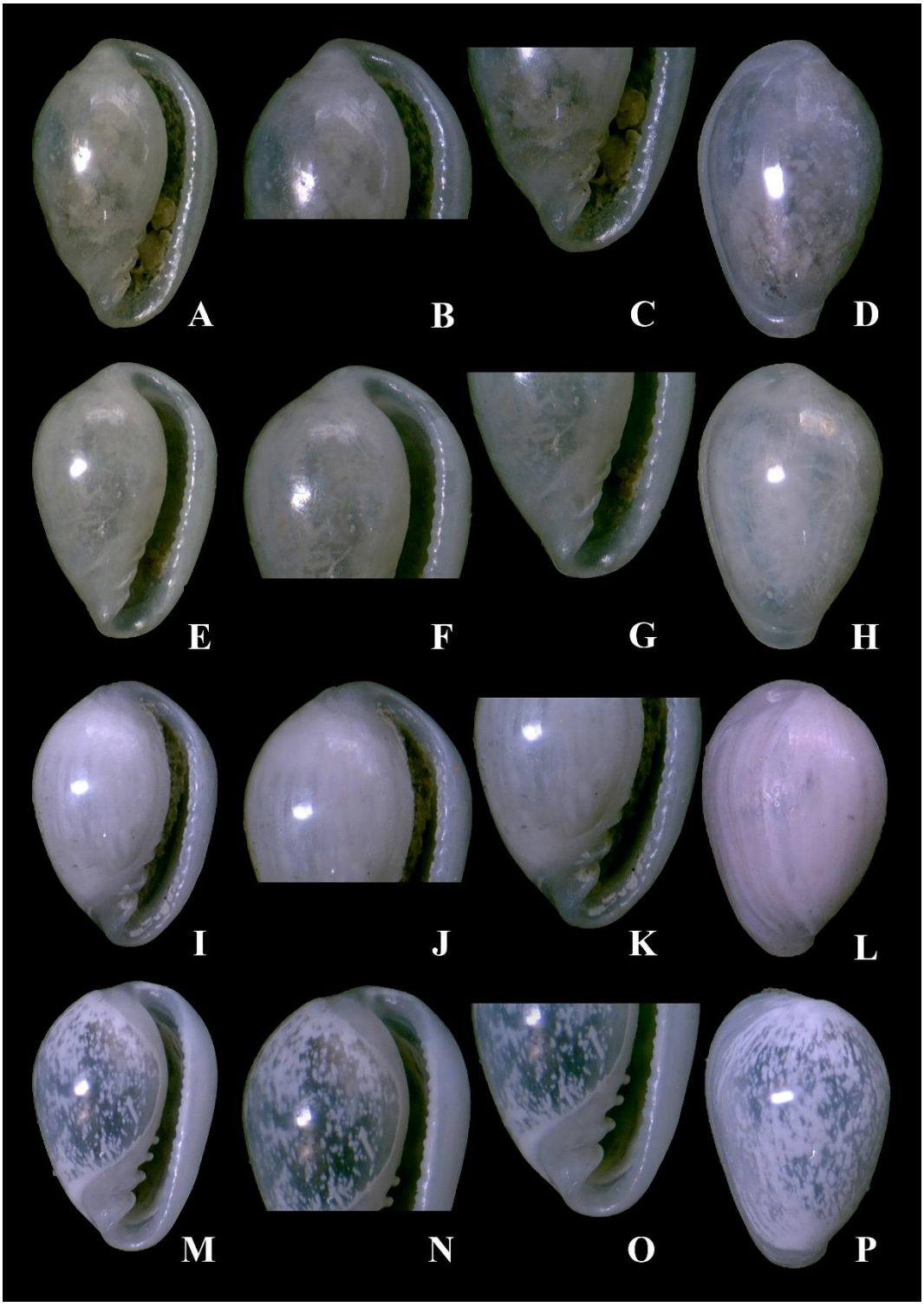


Figure 9. A-P. A-D. *Granulina occulta*, Anamur, Levantine Sea, muddy sand, 50 m, L = 2.00 mm. **E-H**. *G. occulta*, Ildir Bay, Çesme, Aegean Sea, sand, 61 m, L= 1.95 mm. **I-L**. *G.* cf. *occulta*, Erdemli, Mersin Bay, Levantine Sea, sand, 38 m, L = 1.60 mm. **M-P**. *G.* cf. *melitensis*, Çandarli Bay, Aegean Sea, sand, 35 m, L = 2.00 mm.

Figure 10, B-D display the case of a «transitional series» from *G. occulta* to *G. melitensis* (Marmaris, 56 m) : in fact Figure 10, B must be attributed to *G. melitensis* mainly on the ground of its rounded outline and secondary on the ground of the more «grouped» columellar plaits, which are more spread along the columella in *G. occulta* (see in Figure 10, A and E), whereas the other features are unconclusive (upper labrum not arched, fourth plait poorly suggested, aperture narrow). Figure 10, C is more clearly attributable to *G. melitensis*, and Figure 10, D must be considered as a «typical representant of the species», for the well-rounded outline, the wide aperture, the four produced columellar plait and the first strongly sinuous plait.

Figure 10, I-L, Figure 10, O-P, Figure 11, D-H, Figure 11, L-P display various forms occurring for *G. melitensis* in the Turkish waters. Figure 11, C displays an individual which we propose to place in *G. melitensis*, due to its rather arched and thick labrum and its produced columellar plaits (2nd and 3nd being double-folded), whereas all the other features and proportions look as ambiguous.

CONCLUSION

The study of the *Granulina* diversity along the Turkish coasts leads to confirm the occurrence of four representatives, together with few possible cases of sibling species, cryptic species or freak specimens. Overall, numerous cases of «poorly characterized attributions» are noted, leading to consider first that the shell morphology is not always sufficient for a full discrimination duty, and secondly that the high morphologic variability at work in the considered species may hide the occurrence of multi-species groups or the real «limits of the species». From both points of view, the documentation and the comparative study of the live animals, first of all concerning their external chromatism, seem to be a necessary step for the next.

This study leads also to underline the deep affinities playing within this fauna: the case of *G. marginata*/*G. boucheti* as species-group was already known, but the present work suggests also the necessity to investigate respectively *G. occulta*/*G. lapernai* as well as *G. minusculina*/*G. melitensis* as species groups. Moreover, the deep overlapping of the morphologic variability at work in *G. occulta* and in *G. melitensis* leads to advocate a special evaluation of their own relationships.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are indebted to Kemal Geyran (Istanbul, Turkey) for the loan of 4 lots of *Granulina* shells from the Mediterranean coast of Turkey, to Dr Rafael La Perna (University of Bari) for the loan of 6 lots of *G. melitensis* from off southeastern Sicily, and to Dr Salvatore Giacobbe (University of Messina) for the loan of several lots from the surrounds of the Strait of Messina. Jacques Pelorce (Le Grau-du-Roi, France) and Attilio Pagli (Empoli, Italy) kindly loaned their collection of *Granulina* species in the frame of this study. Dr Carlo Smriglio (University Roma 3) gave a specimen of the Tyrrhenian population of *G. melitensis* (Plate 4 Figs M, N) and kindly authorized the reproduction of pictures displayed in his published works. Dr Andrea Di Giulio (University of Roma 3, Laboratorio Interdipartimentale di Microscopia Elettronica) kindly authorized the reproduction of SEM photos he performed in the frame of the Smriglio & Mariottini's work from 2013 [figs 9 a-c and figs 1 a-b used herein as Plate 3 Figs E-G (syntype of *Gibberulina occulta*) and Plate 3 Figs L, M (holotype of *Granulina mediterranea*)]. Ennio Squizzato kindly authorized the reproduction of photos of a specimen of *G.* cf. *minusculina* from Isole Egadi (Plate 4 Figs E-G). Joop Trausel and Frans Slieker kindly helped with photographies of specimens from the Rotterdam Museum (NMR), herein as Plate 1 Figs G-H, Plate 2 Figs C, D, Plate 3 Figs J, K, Plate 3 Figs N, O, Plate 4 Figs C, D and Plate 4 Figs O, P. Manuel Caballer (MNHN) performed the photos of type specimens for *G. marginata* (Plate 1 Figs A, B), *G. boucheti* (Plate 2 Figs A, B), *G. occulta* (Plate 3 Figs A, B), *G. parvulina* (Plate 3 Figs C, D) and *G. minusculina* (Plate 4 Figs A, B) in the frame of the program E-RECOLNAT (ARN-11-INBS-0004). A part of the specimens investigated within the study were sampled in the frame of the project 104Y065 supported by TUBITAK. We are grateful to Italo Nofroni for his helpful advices and two reviewers for their constructive comments.

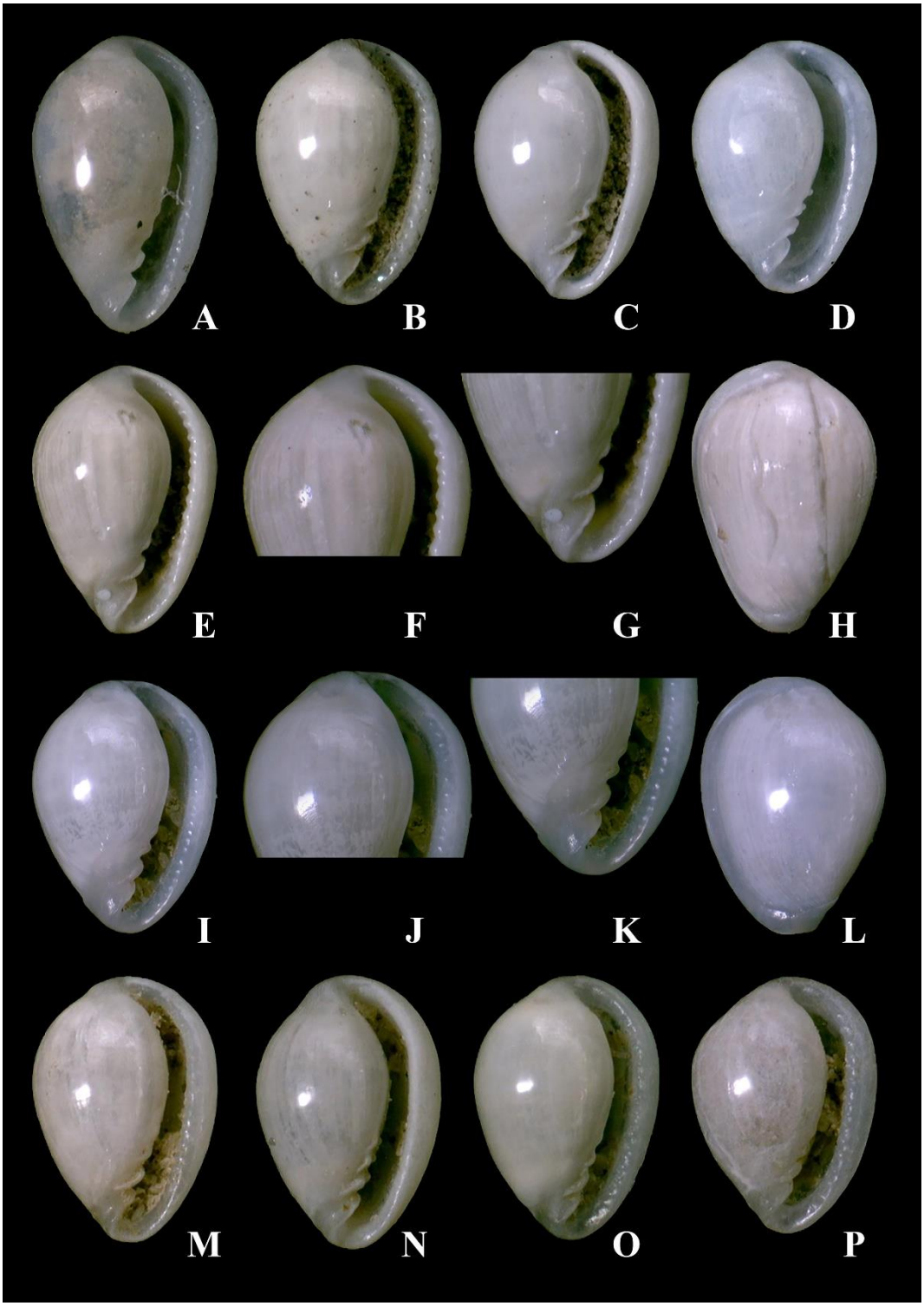


Figure 10. A-P. A. *Granulina occulta*, Bodrum, 100 m, KGC, L = 1.95 mm. **B.** *G*. cf. *melitensis*, Turunç, Marmaris, Aegean Sea, sandy mud, 56 m, L = 1.90 mm. **C**. *G. melitensis*, Turunç, Marmaris, Aegean Sea, sandy mud, 56 m, L = 1.90 mm. **D**. *G. melitensis*, Turunç, Marmaris, Aegean Sea, sandy mud, 56 m, L = 1.95 mm. **E-H**. *G. occulta*, Konacik, Iskenderum Bay, Levantine Sea, sandy mud, 75 m, L = 1.95 mm. **I-L**. *G*. cf. *melitensis*, Güllük Bay, Aegean Sea, sandy mud, 47 m, L = 2.00 mm. **M**. *G. occulta*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 80 m, KGC, L = 1.90 mm. **N**. *G. occulta*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 80 m, KGC, L = 2.03 mm. **O**. *G*. cf. *occulta*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 80 m, KGC, L = 1.95 mm. **P**. *G. melitensis*, Bozcaada Island, Aegean Sea, 80 m, KGC, L = 1.95 mm.

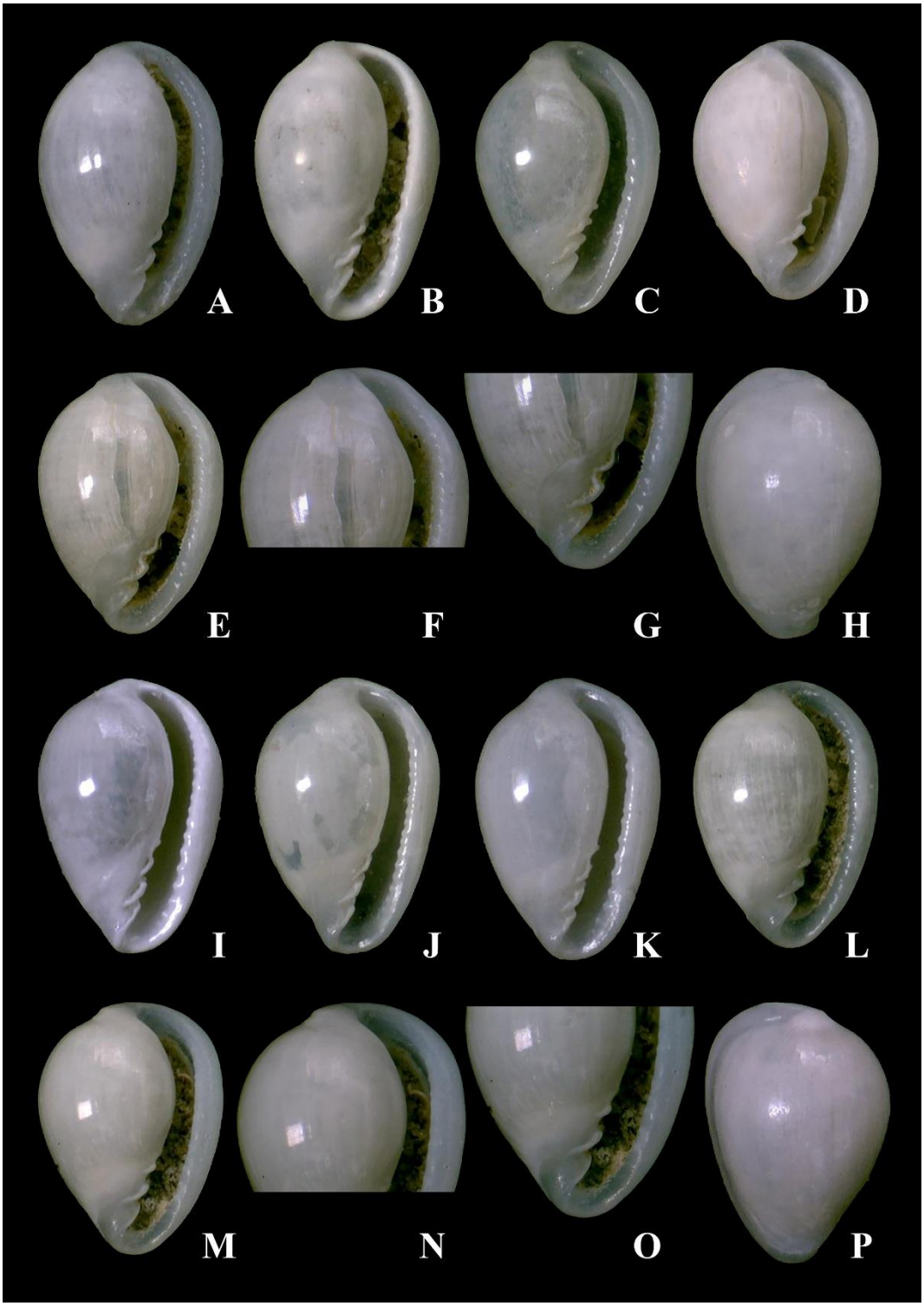


Figure 11. A-P. A. *Granulina occulta*, Güllük Bay, Aegean Sea, sandy mud, 80 m, L = 1.95 mm. **B**. *G*. cf. *occulta*, Izmir Bay, Aegean Sea, mud, 60 m, L = 1.80 mm. **C**. *G*. cf. *occulta*, Izmir Bay, Aegean Sea, mud, 60 m, L = 2.00 mm. **D**. *G. melitensis*, Izmir Bay, Aegean Sea, mud, 60 m, L = 2.05 mm. **E-H**. *G*. cf. *melitensis*, Dalaman, Aegean Sea, sandy mud, 35 m, L = 1.90 mm. **I**. *G. occulta*, Aegean Sea, mud, 27 m, L = 1.85 mm. **J**. *G. occulta*, Aegean Sea, mud, 27 m, L = 1.95 mm. **K**. *G. occulta*, Aegean Sea, mud, 27 m, L = 1.93 mm. **L**. *G*. cf. *melitensis*, Aegean Sea, sandy mud, 47 m, L = 2.05 mm. **M-P**. *G. melitensis*, Turunç, Marmaris, Aegean Sea, mud, 57 m, L = 1.90 mm.

REFERENCES

Bogi, C., Boyer, F., Renda, W. & Giacobbe, S. (2016). *Granulina zanclea* spec. nov. (Gastropoda, Marginellidae) from the Southern Tyrrhenian Sea. *Iberus*, 34(2), 97-102.

Boyer, F. (2015). Révision du genre *Hydroginella* Laseron, 1957 dans les Mascareignes. *Xenophora Taxonomy*, 6, 9-18.

Boyer, F. (2017). Révision de l'organisation supra-spécifique des gastéropodes granuliniformes. *Xenophora Taxonomy*, 16, 25-38.

Boyer, F., Pelorce, J. & Hoarau, A. (2003). Le genre *Granulina* sur le littoral de la Côte d'Azur: récoltes et observations. *Bollettino Malacologico*, 39(9-12), 165-170.

Boyer, F., Renda, W., Bogi, C. & Giacobbe, S. (2017). About an assemblage of *Granulina* species from South-eastern Tyrrhenian Sea and close Messina Strait (central Mediterranean). *Bollettino Malacologico*, 53, 1-8.

Gofas, S. (1992). Le genre *Granulina* (Marginellidae) en Méditerranée et dans l'Atlantique oriental. *Bollettino Malacologico*, 28(1-4), 1-26.

Landau, B., La Perna, R. & Marquet, R. (2006). The Early Pliocene Gastropoda (Mollusca) of Estepona, Southern Spain. Part 10: Marginellidae, Cystiscidae. *Paleontos*, 9, 22-60.

La Perna, R. (1999). Pleistocene and Recent Mediterranean species of *Granulina* (Gastropoda, Marginellidae), with description of four new species. *Bollettino Malacologico*, 34(1), 33-42.

Öztürk, B., Doğan, A., Bitlis-Bakır, B. & Salman, A. (2014). Marine molluscs of the Turkish coasts: an updated checklist. *Turkish Journal of Zoology*, 38, 832-879. DOI: 10.3906/zoo-1405-78

Smriglio, C. & Mariottini, P. (1996). Descrizione di una nuova specie di Cystiscidae Stimpson, 1865 per il Mar Mediterraneo: *Granulina gofasi* n. sp. *La Conchiglia*, 281, 54-56.

Smriglio, C. & Mariottini, P. (1999). Descrizione di *Granulina gubbiolii* n. sp. (Neogastropoda, Cystiscidae) per il Mar Mediterraneo. *La Conchiglia*, 292, 35-40.

Smriglio, C. & Mariottini, P. (2003). Descrizione di *Granulina pusaterii* n. sp. (Cystiscidae Stimpson, 1865) per il Mar Mediterraneo. In Giannuzzi-Savelli R., F. Pusateri, A. Palmeri A. & C. Ebreo (Eds): *Atlante delle conchiglie marine del Mediterraneo (Neogastropoda : Muricoidea)* (pp 286-288), Roma: Evolver.

Smriglio, C. & Mariottini, P. (2013). Description of *Granulina lapernai* spec. nov. (Gastropoda, Marginellidae) from the Mediterranean Sea. *Basteria*, 77(1-3), 23-28.

Smriglio, C. Mariottini, P. & Rufini, S. (1998). Descrizione di *Granulina melitensis* n. sp. (Neogastropoda, Cystiscidae) per il Mar Mediterraneo. *La Conchiglia*, 287, 53-56.

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 85-91 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.10

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

İstavrit balığında ayıklama işlemi: Kalite, gıda güvenliği ve halk sağlığı ilişkisi

Gutting process in horse mackerel: Relationship between quality, food safety, public health

Gülgün F. Ünal Şengör[1*] ● Zafer Ceylan[2] ● Remziye Eda Yardımcı[3] ● Samime Özturan[4]

[1] İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi ABD
[2] Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi ABD
[3] İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları ABD
[4] İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkçılık ve Su Ürünleri İşleme Teknolojisi ABD, Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Programı

https://orcid.org/0000-0001-7638-7350
https://orcid.org/0000-0002-6527-4382
https://orcid.org/0000-0001-7737-8739
https://orcid.org/0000-0003-3701-5049

*Corresponding author: sengor@istanbul.edu.tr

Received date: 02.07.2019 Accepted date: 04.11.2019

How to cite this paper:
Ünal Şengör, G.F., Ceylan, Z., Yardımcı, R.E. & Özturan, S. (2020). Gutting process in horse mackerel: Relationship between quality, food safety, public health. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 85-91. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.10

Öz: Su ürünlerinin avcılığını takiben tüketimine kadar geçen sürede tazeliğinin korunması hijyen kurallarına uyularak soğuk depo koşullarında depolanması ile mümkündür. Evlerde, restoranlarda tüketim için satın alınan balık ürünleri eğer hemen tüketime sunulmayacaksa kalite kaybına meydan vermemek için iç organlarından temizlendikten sonra soğuk muhafaza altında depolanmalıdır. Bu çalışmada istavrit balığına uygulanan temizleme işleminin +4°C'de depolanan balığın kalitesine etkisi ortaya konulmuştur. Bütün (BB) ve iç organları çıkarılmış halde (TB) soğuk depolanan istavrit balıklarındaki TMAB bakteri gelişim hızı % 21'e kadar sınırlanmıştır. Depolama süresi boyunca her iki balık grubunun TVBN ve TBARS değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Ayrıca, göz sıvısı kırılma indisindeki değişimlere paralel olarak her iki balık grubunda duyusal kalite farkı tespit edilmiştir. Bu çalışma ortaya koymuştur ki evlerde ya da restoranlarda yapılabilecek ayıklama işlemi balıketinin duyusal, kimyasal ve mikrobiyolojik bozulma hızını sınırlayabilecektir. Böylece, bahsedilen yerlerde gıda güvenliği ve halk sağlığının korunmasına önemli katkı sağlanmış olacaktır.

Anahtar kelimeler: İstavrit, raf ömrü, ayıklama, halk sağlığı, gıda güvenliği

Abstract: The preservation of the freshness of seafood until the consumption following the catching is possible by storing in cold storage conditions in compliance with hygiene rules. Fish products purchased for consumption at homes and in the restaurants should be stored under cold storage conditions after being gutted in order to avoid loss of quality if they will not be consumed immediately. In this study, the effect of the gutting process applied to the horse mackerel fish samples on the quality of the fish stored at +4 ° C was revealed. TMAB load in the ungutted fish samples (TB) was found to be lower 21% as compared to the gutted samples (BB). Chemical deterioration (in TVBN and TBARS) between the two groups was found to be statistically significant ($p<0,05$). In addition to this, the sensory quality difference was detected in both fish groups in parallel with the changes in eye fluid refractive indexes. This study has revealed that the gutting process that may be applied at home or in the restaurants, will delay the sensory, chemical deterioration and microbiological spoilage in the fish samples. Therefore, this food application will have made a significant contribution to the protection of food safety and public health in the mentioned places.

Keywords: Horse mackerel, shelf life, gutting, public health, food safety

GİRİŞ

Gıda muhafazası ve işleme yöntemleri halk sağlığı açısından önem arz etmektedir. Uygun şartlar altında yapılmayan işleme yöntemi ürün her ne kadar iyi muhafaza edilse de ham maddenin kalitesini olumsuz etkileyebilmektedir (Özkaya ve Cömert, 2008). Bu durum aslında direkt olarak tüketici sağlığını bir başka ifade ile halk sağlığını etkilemektedir. Kasaplık hayvan etleri ve kanatlı hayvan etleri ülkemizde yaygın olarak daha çok tüketilmesine karşın, son yıllarda en azından balık ve balıkçılık ürünlerinin insan sağlığı üzerinde olumlu etkilerinden oldukça sık bahsedilmektedir. Bilindiği üzere balıketi sahip olduğu aminoasit ve yağ asitlerince insan sağlığı açısından oldukça önemli bir gıda maddesidir (Peng vd., 2013; Ceylan vd., 2017; Ceylan vd., 2018). Aminoasitlerin çoğunun vücut yağlarının seviyesini düzenlediği ve bağışıklık sistemini güçlendirip vücuttaki antioksidan aktiviteyi kontrol ettiği bilinmektedir (Masella ve Mazza, 2009). Omega-3 yağ asitlerinin ise kalp damar hastalıklarının önlenmesi, romatoid artrit, alzheimer gibi hastalıklara karşı korunma, kan basıncını düşürme, astım semptomlarının azaltılması ve birçok kanser hastalık türüne karşı koruyucu etkisi olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur (Fidanbaş vd., 2015; Çağlak vd., 2016; Mısır, 2012). Amerika Kanser Araştırma Enstitüsünün (AICR) yürüttüğü bir projede su ürünleri tüketiminin karaciğer kanseri riskini azalttığı rapor edilmiştir (Anon, 2018).

Ülkemizde işlenmiş balık ve balık ürünleri tüketimi yerine, daha çok taze balık tüketimi tercih edilmektedir (Kutlu ve Balçık Mısır, 2007; Şen ve Şahin, 2017). Bu düşüncenin

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

temelinde hem geleneksel tüketim alışkanlıklarımız, hem de halk arasında işlenmiş gıda ürünlerinin halk sağlığı üzerinde potansiyel olumsuz etkiye neden olabileceği yönündeki yanlış bir algıya sahip olmaları yer almaktadır (Erkmen, 2010; Cebioğlu ve Önal, 2018). Bu algı neticesinde son yıllarda halk arasında özellikle organik ya da işlenmemiş gıdalara olan eğilim artarak devam etmektedir. Gerçekte tükettiğimiz gıdalar içerisinde balık yaşadığı ortam itibari ile en sağlıklı gıda maddeleri arasındadır. Ancak balıketi diğer etlere kıyasla daha çabuk bozulma basamağına geçiş yapabilmektedir (Kurt vd., 2005; Külcü, 2017). Bu bozulmanın geciktirilmesi ve kontrolü için, balık avlandıktan hemen sonra, başta soğuk muhafaza olmak üzere, çeşitli işleme teknolojileri ile (dondurma teknolojisi, çeşitli paketleme yöntemleri ile muhafaza, bazı gıda katkı maddeleri uygulamaları, ışınlama teknolojisi gibi) işlenerek normal periyoda göre daha uzun süre muhafaza edilebilmekte ve raf ömrü artırılabilmektedir (Ceylan vd., 2018). Böylece balıketindeki mikrobiyal, kimyasal ve duyusal bozulma süreci de yavaşlatılabilmektedir. Ancak yukarıda bahsedildiği üzere tüketiciler bu tarz ürünler yerine daha az işlem görmüş, minimal işlenmiş ürünleri hatta mümkünse hiç işlenmemiş ürünleri tercih etmektedir (Özyürek vd., 2013). Bununla birlikte; tüketicilerin bu tercihine karşılık balık etindeki bakteriyel bozulma hızının yavaşlatılması ve tüketici sağlığının korunması için satın alınan balıklara basit ve pratik ön işlemler uygulanmasının ve halkımızın bu konuda bilinçlendirilmesinin balık tüketimini de artırmaya yönelik önemli bir adım olduğu gerçeği karşımızda durmaktadır. Ülkemizde özellikle büyük market zincirlerindeki balık satış yerlerinde satışa sunulan su ürünlerinin tazeliğinin korunmasında gerekli koruyucu önlemlerin alındığı gözlenmektedir. Ancak satın alınan balığın tüketiciler tarafından hemen tüketilmesi söz konusu değilse iç organlarının temizlenerek depolanması oldukça önemli bir uygulamadır. Bu araştırmada ele alınan konu taze olarak satışa sunulan ve tüketiciler tarafından tercih edilebilirliği yüksek istavrit balığının sadece iç organları temizlenerek depolanmasının, bütün halde depolanmış ürüne kıyasla ne gibi bir kalite farkına sahip olduğunun ortaya koyulmasıdır. Ayrıca, bu konuda özellikle tüketici farkındalığı yaratarak olası halk sağlığı üzerindeki negatif etkilere de vurgu yapmak amacıyla bu çalışma yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Sağdıçlar Balıkçılık Ltd. Şti. tarafından temin edilen ortalama 13,8±1,08 cm boyunda ve 24,89±4,70 g ağırlığındaki toplam 240 adet istavrit balığı (*Trachurus trachurus*, L., 1758) avlanmasına müteakip buzlanmış halde İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi'ne ulaştırılmıştır. Balıkların total boy ve ağırlık ölçümü gerçekleştirildikten sonra iki gruba ayrılmıştır. İlk grup için 120 adet balık iç organları çıkarılmadan polietilen kilitli torbaya (her birinde 3'er adet balık olacak şekilde) konularak toplam 40 paket bütün balık (BB) grubu için ayrılmıştır. İkinci grupta ise; 120 adet balık baş ve solungaç kısımları temizlenmeden yalnızca iç organları bütün olarak çıkarılarak güzelce yıkandıktan sonra polietilen kilitli torbaya (her birinde 3'er adet balık olacak şekilde) konularak toplam 40 paket temizlenmiş balık (TB) grubu için ayrılmıştır. Her iki balık grubu eş zamanlı olarak 4±1ºC'de soğuk muhafazaya alınmıştır.

Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) analiz yöntemi

Homojenize edilmiş örnekler steril alüminyum folyo üzerinde tartıldıktan (10 g) sonra steril şeffaf otoklav cam şişelere (ISOLAB, Kat. No: 061.31.100) alınmıştır. Daha sonra bu şişelere 90 mL'lik steril peptonlu su (Merck, Kat. No: 107214) ilave edilip analize hazır hale getirilmiştir. Sonrasında ise, önceden hazırlanmış ve steril edilmiş 9 mL peptonlu su bulunan tüplerden seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri (TMAB) sayımı için her bir dilüsyondan 0,1 mL örnek alınarak besi yerinin (Plate Count Agar: PCA, HIMEDIA-M091) üzerine otomatik pipet yardımı ile aktarılmış ardından steril drigalski çubuğu yardımı ile örnek besi yeri üzerinde iyice yayılmıştır. TMAB'nin inkübasyonu için BB ve TB'ye ait örnekler 37ºC'ye ayarlanmış inkübatörde (Mikrotest) 24-48 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. TMAB sayımı için Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından hazırlanan Bakteriyoloji El Kitabında yer alan Maturin ve Peeler (2001) yöntemine göre tüm mikrobiyolojik işlemler gerçekleştirilmiştir. Her örnek grubu için n=3 olarak sonuçlar elde edilmiş ve değerlendirilmiştir.

Toplam uçucu bazik azot (TVBN) analiz yöntemi

Toplam uçucu bazik azot değerindeki değişimleri tespit etmek için Schormüller (1968) yöntemi kullanılmıştır. Örnekler ayrı ayrı homojenize edilmiş, homojenize örnekten 10g alınıp 250 mL saf su üzerine eklenmiştir. Ardından, 1-2 g MgO oksit eklenip tüm bu karışım distilasyon ünitesi kullanılarak distile edilmiştir. Bu işlem örnekler kaynama noktasında ulaştıktan sonra 20 dakika boyunca devam ettirilmiştir. Elde edilen distilat 0,1 N NaOH ile titre edilmiştir. Titrasyon değerine göre hesaplama yapılarak sonuçlar mg/100g balıketindeki TVB-N değeri olarak verilmiştir.

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) analiz yöntemi

10g balıketi örneğinin üzerine 97,5 mL distile su ve 2,5 mL (%50)'lik HCl çözeltisi ilave edilerek destilasyon işlemine tabi tutulmuştur. Kaynatma işleminden sonra, desitilattan 5 mL alınarak deney tüpüne aktarılmıştır. Üzerine (%90'lık 100ml glacial asetik asit kullanılarak 0,2883 g çözdürülmüş) 5 mL TBA reaktifi eklenmiştir. Kör olarak, örnek yerine 5 mL saf su ilave edilmiştir. Tüm tüpler, sıcak su banyosunda 35 dakika süresince bekletilmiş renk dönüşümü olduğunda çıkartılıp soğumaya bırakılmıştır. Spektrofotometre küvetleri kullanılarak 538 nm dalga boyunda köre karşı absorbans değerleri elde edilmiş olup, elde edilen değer 7,8 ile çapılarak balıketindeki malondialdehit (MDA) miktarı mg MDA/kg olarak elde edilmiştir (Tarladgis vd., 1960).

pH ölçümü

Soğuk depolamada balık etindeki pH değişimleri Seven Compact Mettler Toledo pH metre ile ölçülmüştür. pH ölçümleri 20°C ortam sıcaklığında balık: saf su oranı 1:1 olacak şekilde hazırlanmış homejenize edilmiş numune içine cam elektrotun direk daldırılmasıyla ölçüm gerçekleşmiştir.

Göz sıvısı kırılma indeksinin (GSKI) değerlendirilmesi

Çalışmamızda, balıkların göz sıvısı kırılma indeksinin belirlenmesinde optik yoğunluğu farklı olan ortamlarda, ışığın geçişi esnasında kırılması ve bununla ilgili olan kırılma yasasının esasına göre ölçümler yapılmıştır. GSKI değerinin BB ve TB örneklerindeki değerlerini ölçmek için el tipi ZAG refraktometre kullanılmıştır. Analizi yapılan istavrit balığının göz sıvısı kırılma indisini belirlemek amacıyla gözün kornea ve mercek arasındaki göz sıvısı mini bir enjektör yardımıyla çekilerek önceden kalibre edilmiş refraktometrede ölçümü yapılmıştır. Prizma yüzeyinin kalibrasyonunda saf su kullanılmış ve oda sıcaklığında (20ºC) floresans ışık altında okuma gerçekleştirilmiştir (Rehbein ve Oehlenschlager, 2009).

Duyusal analiz yöntemi

Soğuk depolanmış balık numunelerinin analizinde Rodr´ıguez vd. (2005) duyusal analiz yöntemi kullanılmıştır. Bu analiz yönteminde dörtlü puanlama skalası kullanılmış olup, E: en yüksek kalite, A: iyi kalite, B: zayıf kalite, C: kabul edilemez olarak tanımlanmıştır. Bu çalışmada, balığın derisindeki pigmentasyon ve mukus durumu, dış koku, solungaç rengi, doku elastikiyeti, et kokusu olmak üzere altı parametrenin ortalaması alınarak genel duyusal kabul edilebilirlik skoru elde edilmiştir.

İstatistiki analiz yöntemi

Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizine tabi tutularak (BB ve TB) soğuk depolama süresince balık örneklerinde meydana gelen farklılıklar BB ve TB grupları için istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. JMP (SAS Campus Drive, USA Versiyon 14) istatistik yazılım programı gruplar arasındaki ve günler arsındaki istatistiksel önem farkını ortaya koymak için kullanılmıştır. Gruplar ve günler arsındaki istatistiksel önem farkı Student's t-test ile ortaya konulmuş olup, bu istatistiksel önem farkı p<0,05 güven aralığında gösterilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Toplam mezofilik aerobik bakteri gelişimi

Bütün ve temizlenmiş balık örneklerinin mezofilik bakteri gelişimini gösteren istatistiki değerlendirmesi Tablo 1'de verilmiştir. Soğuk depolamanın ilk gününde yapılan analiz sonuçlarına göre, BB grubu örneklerinde TMAB gelişimi 3,78 log KOB/g iken, TB örneklerinde bu değer 3,18 log KOB/g olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca iki grubunun örnekleri arasındaki fark istatistiksel olarak da önemli bulunmuştur (p<0,05). Bu iki balık grubu arasındaki TMAB gelişiminin yüzdesel farkı ise %16 olarak tespit edilmiştir. Hatta soğuk depolamanın ikinci günü yapılan analiz sonucuna göre bu fark % 21'e kadar artış göstermiştir. Ancak depolamanın artışına bağlı olarak bu fark % 3'e kadar düşmüştür. Öyle ki soğuk depolamanın 4. gününde BB ve TB örnekleri 6,12 ve 5,49 log KOB/g TMAB yüküne sahip olurken bu fark yüzdesel olarak 11 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 1. Toplam Mezofilik Bakteri Gelişimi (log KOB/g, n=3)
Table 1. Total Mesophilic Bacteria Development (log CFU/g, n=3)

Depolama Günü	BB	TB
1	3,78±0,09^{A}	3,18±0,25^{B}
2	4,63±0,13^{A}	3,66±0,06^{B}
3	5,32±0,12^{A}	4,49±0,08^{B}
4	6,12±0,16^{A}	5,49±0,07^{B}
6	7,52±0,08^{A}	6,63±0,04^{B}
7	8,30±0,09^{A}	7,67±0,01^{B}
8	8,69±0,02^{A}	8,38±0,09^{B}

$^{A-B}$ depolamaya bağlı olarak gruplar arasındaki istatistiksel farkı tanımlar (p<0,05)

ICMSF (1992) standartlarına ve Chotimarkorn (2014)'e göre TMAB yükünün 6-7 log KOB/g ulaşması o ürünün insan sağlığı için tüketime uygun olmadığını göstermektedir. BB örnekleri 6,12 log KOB/g değeri ile depolamanın 4. gününde (p<0,05), TB örnekleri ise 6,63 log KOB/g (p<0,05) değeri ile depolamanın 6.gününde bu limit değer skalasına ulaşmıştır. Halk sağlığını bir başka ifade ile tüketici sağlığını korumak için farklı gıda muhafaza yöntemleri ile balıklardaki mezofilik bakteri gelişimi başarı ile sınırlandırılmaktadır. Meral vd. (2019) yapmış oldukları araştırmada gökkuşağı alabalığı mikrobiyal bozulmasının kekik yağı nanoemülsiyonların kullanılmasıyla sınırlandırılabildiği; fileto haline getirilmiş balıkların soğuk depolamanın 2. gününde 3,60 log KOB/g TMAB yüküne sahip olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan, Ceylan vd. (2017)'e göre, balık filetolarını timol yüklü nanofiberlerle kaplanması TMAB gelişim hızının etkili bir şekilde yavaşlattığı ortaya konulmuştur. Timol yağı kullanımı balık ürünlerindeki TMAB yükünü ancak 0,73 log KOB/g'a kadar azaltabilmiştir. Ceylan (2018)'e göre ise 4ºC'de depolanan alabalığı filetolarındaki TMAB gelişimi 7.günde 6,05 log KOB/g değerine ulaşmıştır. Rodríguez vd. (2005) ise, istavrit balığına buz uygulaması ile bakteriyel gelişim hızını yavaşlatmış ve raf ömrünü de başarılı bir şekilde artırmıştır. Bu araştırmanın ana hedefi; balıkların buzlanmaksızın temizlenmiş ya da bütün halde buzdolabı koşullarında muhafaza edilmesinin balık kalitesini ve tüketici tercihini ne şekilde etkilediğinin ortaya konulmasıdır. Elbette ki soğuk depolamada buzla muhafaza balığa ekstra raf ömrü sağlamaktadır. Ancak evlerdeki tüketimlerde bu uygulamaya yer verilmeyip, balıklar satın alındığı gibi kısa süreli tüketim için hiçbir işlem yapılmaksızın tüketilinceye kadar buzdolabında bekletilmektedir. Bu araştırma, soğuk muhafaza koşullarında temizlenmiş halde 1-2 gün süreyle bekletilen balıklardaki bakteriyel faaliyet hızının etkili bir şekilde yavaşlattığını ortaya

konulması bakımından önem taşımaktadır. Bundan başka, balıktaki TMAB gelişimi üzerinde pek çok faktör etkili olabilmektedir. Örneğin balığın yakalama yöntemi, öldürülme yöntemi, mekanik zedelenmeler, balığın türü, balığın yağlı yağsız olması gibi faktörler, yanlış işleme ve muhafaza yöntemlerine ek olarak önem arz etmektedir (Alperden, 1993; Duran vd., 2008). Sunulan bu çalışma göstermiştir ki, bu kadar farklı gıda muhafaza yöntemine kıyasla daha basit, kolay uygulanabilir ayıklama yöntemi ile balığın mikrobiyal bozulması hızı başarı ile yavaşlatılabilmektedir. Böylece kısa vadede tüketilebilecek ürünler için daha düşük mikrobiyal yüke sahip ve daha kaliteli ürünlerin tüketiciye sunulması ve halk sağlığının korunması mümkün olabilmektedir.

Toplam uçucu bazik azot (TVBN) değeri

TVBN miktarında meydana gelen değişimler Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre, soğuk depolamanın ilk ve son günleri arasındaki gruplar arasındaki TVBN farkı yüzdesel olarak %3-%9 arasında olduğu tespit edilmiştir. Soğuk depolamanın ilk gününde BB grubunun TVBN değeri 14,02, TB grubunun değeri ise 12,77 olarak bulunmuştur ($p<0,05$). Balığın başlangıç TVBN değeri üzerinde farklı parametreler etken olurken, türden türede değişim olabileceği bilinmektedir. Örneğin Kaya ve Baştürk (2015)'e göre çipura balıklarının TVBN değeri 21,81 mg/100g, somon balıklarının TVBN değeri ise 8,69 mg/100g olarak tespit edildiği bildirilmiştir (Sallam, 2007).

Tablo 2. Toplam uçucu bazik azot (TVBN) (mg/100g, n=3)
Table 2. Total volatile basic nitrogen (TVBN) (mg/100g, n=3)

Depolama Günü	BB	TB
1	14,02±0,07^{A}	12,77±0,09^{B}
2	15,41±0,04^{A}	15,08±0,01^{B}
3	20,34±0,90^{A}	19,39±0,03^{A}
4	23,37±0,09^{A}	22,00±0,15^{B}
6	26,65±0,07^{A}	25,05±0,07^{B}
7	31,83±0,09^{A}	29,57±0,03^{B}
8	34,67±0,11^{A}	32,48±0,10^{B}

$^{A-B}$ depolamaya bağlı olarak gruplar arasındaki istatistiksel farkı tanımlar ($p<0,05$)

Bilindiği üzere balıketindeki bakteriyel gelişim ile kimyasal bozulma arasında ilişki olup TVBN değerinde meydana gelen değişimler proteolotik bakterilerin sebep olduğu bakteriyel bozulmaya bağlı olarak uçucu azotlu bileşiklerde meydana gelen artışla ilişkilendirilmektedir (Hebard vd., 1982; Botta, 1995; Serdaroğlu ve Deniz, 2001). Nitekim sunulan çalışmada da, bakteriyel gelişim arttıkça hem BB hem de TB gruplarının TVBN düzeylerinde artış gözlenmiştir. Ancak iç organları alınarak bütün halde temizlenen balık örneklerinin kimyasal olarak bozulma hızı, iç organlı olarak saklanan gruba göre daha yavaş gerçekleşmiştir. Bugüne kadar, pek çok çalışmada çeşitli gıda muhafaza yöntemleri uygulanmış ve balıketindeki TVBN değerindeki artış hızı sınırlandırılmıştır. Bunun yanı sıra bu çalışma göstermiştir ki, iç organlı olarak saklanan soğuk muhafazaya alınan ürünlerin kimyasal bozulma hızı daha hızlı gerçekleşmektedir. Bunun asıl nedeni, iç organlarda daha yaygın olan bakteriyel faaliyetler ete daha hızlı geçiş yapabilmektedir. Bu da zamanla etteki bakteriyel gelişimi hızlandırmakta ve balıketindeki azotlu bileşenlerinin içeriğinin de hızlı bir şekilde artmasına neden olmaktadır.

Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS)

Tablo 3'de verilen değerler, gruplar arasında TBARS değerindeki farklılıkları ortaya koymaktadır. Temizlenip bütün halde saklanan (TB) ürünlerin TBARS değerleri, bütün balık (BB) grubu örneklerininkine kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu fark istatistiksel açıdan soğuk depolamanın 3. ve 6. günleri arasında önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Ancak, soğuk depolama gününün artışına bağlı olarak balık numunelerinin TBARS değerindeki artışını da beraberinde getirmesine rağmen, bu artış hızı TB grubu örneklerinde daha yavaş ilerlediği tespit edilmiştir. Başlangıç değeri 1,30 mg MDA/kg olan balık örneklerinin, soğuk depolamanın üçüncü gününde BB grubunda 3,38 mg MDA/kg değerine çıktığı tespit edilirken aynı gün bu değer TB grubu örnekleri için 2,34 mg MDA/kg olarak bulunmuştur.

Tablo 3. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) (mg MDA/kg, n=3)
Table 3. Thiobarbituric acid reagents (TBARS) (mg MDA/kg, n=3)

Depolama Günü	BB	TB
1	1,56±0,00^{A}	1,48±0,13^{A}
2	2,34±0,00^{A}	2,08±0,45^{A}
3	3,38±0,55^{A}	2,34±0,00^{B}
4	3,64±0,55^{A}	3,12±0,00^{A}
6	5,46±0,55^{A}	4,16±0,45^{B}
7	7,28±1,10^{A}	6,24±0,00^{A}
8	7,80±0,00^{A}	7,28±0,90^{A}

$^{A-B}$ depolamaya bağlı olarak gruplar arasındaki istatistiksel farkı tanımlar ($p<0,05$)

TBA değerinin artışında farklı etkenler neden olurken, bunların en başında ise mikrobiyal bozulma gelmektedir. Sunulan çalışmamada da TB ve BB örnekleri sırası ile 6,63 log KOB/g, 7,52 log KOB/g değerine ulaştıkları soğuk depolamanın 6. gününde BB ve TB örneklerinin TBA değerleri sırası ile 5,46 mg MDA/kg ve 4,16 mg MDA/kg değerlerine ulaştığı tespit edilmiştir. Aslında TBA değerleri ile ilgili önceki çalışmalara bakıldığında; Köse vd. (2001)'e göre ise 4 mg MDA/kg değerinin üzerindeki bir değerin kalite kaybı olarak değerlendirilmesi gerektiği ortaya konulmuştur. Bu değerlerin oluşumunda esas itibari ile bakteriyel gelişimin yanı sıra, balıketinin sahip olduğu düşük ve yüksek yağ içeriği (Tokur vd., 2006), ikincil lipit oksidasyon ürünlerinin oluşum hızı (Aubourg, 1993; Khalafalla vd., 2015) gibi faktörler de etkili olabilmektedir. TBA değerleri açısından bakıldığında iç organları temizlenen bütün balık örneklerinin, hem ürünün tüketici beğenilirliğini daha uzun süre koruyabilmesi hem de raf ömrü boyunca kalite kaybının sınırlandırılması açısından önemli olduğu ortaya konulmuştur.

Göz sıvısı kırılma indeksi (GSKI)

Gözlerdeki parlaklığın kayboluşu ve balık dokusu elastikiyetindeki değişimler, balıketi tazeliğinin kaybolduğunun göstergesidir. Balık gözündeki parlaklığın zamana bağlı olarak değişimi GSKI deki refraktif indeks değerinin ölçümü ile gözlenebilmektedir. Göz sıvısı kırılma indeksi balıkların tazeliklerinin belirlenmesinde uygulanması kolay bir analizdir. İlk bakışta tam teşekküllü bir laboratuvara gerek duyulmaksızın gözlerinden alınan sıvının refraktometrik indisinin ölçümü ile balıkların yerinde muayenesi imkânı doğmaktadır (Ünal, 1991). GSKI'deki bu artış ya da değişimler çoğunlukla somon ve morina gibi daha çok büyük balıklarda rahatlıkla tespit edilebilmektedir (Yapar ve Yetim, 1998; Gülyavuz ve Ünlüsayın, 1999; Çetinkaya vd., 2014). Konuyla ilgili daha küçük balık türlerine ait çalışmalar sınırlı olup farklı ölçüm cihazları kullanılarak yapılmış GSKI değerlendirilmelerinden biri Levin'in (2009), Proctor vd. (1959)'ne atfen; mezgit balığında yapmış oldukları çalışmadır. Çalışmada soğukta muhafaza edilen mezgit balığı için göz sıvısı kırılma indisi değerinin 1,3347 ile 1,3366 arasının çok iyi kalite, 1,3367 ile 1,3380 arasının iyi kalite, 1,3381 ile 1,3393 arasının kabul edilemez ve 1,3394 ve üzerinin ise pazarlanamaz olduğunu bildirmişlerdir. Gökoğlu ve Yerlikaya (2004) +4 C'de 6 gün boyunca depolanan sardalya balıklarının kalitesi üzerine yaptıkları araştırmada sardalya balığının göz sıvısı kırılma indisi başlangıç değerinin 1,3355 iken; depolamanın 6. gününde 1,3406 değerine ulaştığını ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca balıklarda ölçülen göz sıvısı kırılma indis sonuçlarının TVBN ve TMA sonuçlarıyla iyi bir korelasyon göstererek, göz sıvısı kırılma indisi ölçümünün kolay, ucuz ve hızlı bir yöntem olarak balık tazeliği için güvenilir sonuç verdiğini rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda ham materyalin başlangıç GSKI değeri 1,008 olarak tespit edilmiştir. Depolama süresinin ilerlemesine bağlı olarak her iki grubun değerlerinde de artış gözlenmiştir. Ancak bu artış, TB örneklerinde istatistiksel olarak önemli olmasa da ortalama değer olarak daha düşük bulunmuştur. BB grubu örnekleri minimum 1,017 maksimum ise 1,047 değerine sahip olurken, TB grubu örneklerinde GSKI değerleri sırası ile 1,016 ve 1,045 değerlerini almıştır. İki grubun GSKI değerleri arasında en büyük fark depolamanın 3. gününde tespit edilmiştir. Soğuk depolamanın 3. gününde BB ve TB örneklerinin GSKI sırasıyla 1,029 ve 1,023 olarak tespit edilmiştir. Mikrobiyal değerin 6 log KOB/g değerini aştığı BB grubu örneklerinde depolamanın 4. gününde bu değer 1,041 olarak tespit edilirken, TB örneklerinde aynı değer depolamanın 6. gününde tespit edilmiştir. Benzer şekilde göz sıvısı kırılma indisindeki bu değişimlerin her iki balık grubunun TBA değerindeki değişimlere paralel olarak depolamanın 6. günündeki kalite kaybına sebep olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak hem bakteriyel hem de balık yağındaki kimyasal bozulmaların her iki balık grubunun GSKI değerlerindeki artışına paralel değişim gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

pH analiz sonuçları

Deniz ürünlerinde pH derecesinin tayini bunların tazeliklerinin tespitinde önemli bir yardımcı testtir (Şengör vd., 2000). Depolama sürecinin başlangıcında temizlenmiş grupta (TB) daha düşük pH değerleri gözlemlenir iken (5,9), bütün balık örnekleri (BB) daha yüksek bir pH değeri ile sürece başlamışlardır. Bu değerler henüz balıkların soğuk depolamada pre rigor evre içinde olduğunu göstermektedir. İlk gün değeri olarak tespit edilen TVBN ve TAMB değerleri de bu savı desteklemektedir. Soğuk depolamanın 2. günü incelenecek olur ise bütün örneklerde tespit edilen (6,4) değer ile temizlenmiş örneklerin (6,2) değeri arasındaki farkın kısmen kapandığı ve gruplar arası farkın istatistikî açıdan önemli olduğu ($p<0,05$) tespit edilmiştir. Her iki balık grubunun pH değerlerindeki bu korelasyon TVBN değerlerinde de gözlenen bir harekettir. Temizlenmiş örneklerdeki pH değerlerinde meydana gelen bu hızlı artış, bozulmakta olan balıklarda alkalin bakteri metabolitlerinin üretimini yansıtmaktadır ve toplam uçucu bazik azot değerindeki (TVBN) artışa paralel bir hareket göstermektedir (Kyrana, Lougovious ve Valsamis, 1997). Soğuk depolamanın 3. gününde her iki balık grubunun pH değerinin (BB grubu için 6,99 ve TB grubu için 6,90) sınır değere ulaştığı belirlenmiştir. Temizlenmiş grup örnekleri her ne kadar 4 günde TVBN ve TAMB sayımı açısından düşük değerler göstermiş bile olsa pH'daki artış (7,2), balığın hızlı bir şekilde bozulma durumu ile ilişkilendirilebilmektedir (Kyrana ve Lougovious, 2002). Bütün balık örnekleri (BB) ise; pH 7,5 değeri ile en yüksek değere ulaşmıştır. pH değerinde elde edilen bu sonuçlar ile duyusal analiz sonuçları karşılaştırıldığında soğuk depolamanın 4. gününde her iki grup balık grubu numunelerinin duyusal açıdan (B skor ile) zayıf olarak değerlendirilmesiyle paralellik göstermiştir.

Duyusal analiz sonuçları

Mikrobiyolojik, kimyasal analizlerin yanı sıra tüketici açısından en önemli ve köklü analizlerden birisi şüphesiz ki duyusal analizlerdir (Szczesniak ve Kahn, 1971; Martinsdóttir vd., 1987). Sunulan çalışmada elde edilen duyusal analiz sonuçları Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Genel duyusal değerlendirme (n=30)
Table 4. General sensory evaluation (n=30)

Depolama Günü	BB	TB
1	E±0,56^{X}	E±0,52^{Y}
2	E±0,72^{X}	A±0,63^{Y}
3	A±0,56^{X}	A±0,61^{Y}
4	B±0,37^{X}	B±0,37^{X}
6	B±0,62^{X}	B±0,44^{Y}
7	B±0,34^{X}	B±0,34^{X}
8	C±0,18^{X}	C±0,18^{X}

$^{X-Y}$ depolamaya bağlı olarak gruplar arasındaki istatistiksel farkı tanımlarken ($p<0,05$), ^{X} aynı zamanda nümerik olarak büyük değeri de tanımlar

Bu sonuçlara göre, her iki grubu temsil eden balık örnekleri soğuk depolamanın ilk günü duyusal açıdan "E" puan almıştır. Ancak soğuk depolamanın ikinci gününden itibaren BB ile TB örneklerinin aldığı duyusal skor arasında istatistiksel fark tespit edilmiştir ($p<0,05$). Panelistlere göre, soğuk depolamanın ikinci gününden itibaren iç organları çıkarılmış balığın (TB) karın bölgesindeki duyusal değişimin BB grubuna kıyasla daha belirgin olarak gözlendiği ortaya konulmuştur. Nitekim bu nedenle panelistler soğuk depolamanın 2. günü BB örneklerini daha çok beğenmişlerdir ($p<0,05$). Soğuk depolamanın 4. gününde her iki grubun duyusal skorları "B" olarak tanımlanmış ve her iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Soğuk depolamanın ilk günkü analiz değerlendirmesine göre; duyusal açıdan daha kaliteli gözüken bütün balık örnekleri depolama süresince bu durumunu koruyamamıştır. Panelistlerin tespitine göre; iç organlardaki bozulma hızlı bir şekilde duyusal karakteristikleri olumsuz yönde etkilemeye başlamıştır. Bilindiği üzere, alkoller, aldehitler, ketonlar, esterler, sülfürlü ve aminli uçucu bileşikler ve spesifik bozulma etkeni olan mikroorganizmaların balıketinde oluşumu ile duyusal karakteristiklerde bozulmalar ortaya çıkmaktadır (Olafsdóttir vd., 1997, Olafsdóttir, 2005). Ancak bu bahsedilen oluşumlar üründen ürüne de farklılık arz edebilmektedir, örneğin Ceylan (2018)' e göre çiğ üründe depolama süresince bu farklılıklar gözlenebilirken, aynı ürünün pişirilmesi sonucunda bu karakteristik yapılar kolaylıkla tespit edilemez hale geçmiştir. Öte yandan, Kulawik vd. (2016)'ya göre; ilerleyen zamanla beraber özellikle örneklerin renginde olumsuz renk dönüşümü hızlı bir şekilde gözlenebilmektedir. Renk bozulmasının yanı sıra, formaldehit oluşumu protein yapısının bozulmasına ve buna bağlı olarak da balık dokusunun bozulmasına sebep olabilmektedir (Serdaroğlu ve Deniz, 2001). Çalışmamızda ise, soğuk depolamanın 4. gününde her iki grup örnekleri duyusal açıdan (B skor ile) zayıf olarak değerlendirilmiştir.

Bu duyusal bozulmaların hızı aslında gıda katkı maddeleri ya da ışınlama teknolojisi gibi farklı geleneksel ya da nanoteknolojik yöntemler gibi yenilikçi gıda muhafaza teknikleri ile yavaşlatılabilmektedir (Oreai vd., 2011; Ceylan, 2014; Ceylan vd., 2017). Ceylan vd. (2018)'e göre 4ºC'de depolanan çipura filetolarının soğuk depolamanın 5. günü itibari ile koku yönünden tüketilemez olduğu, genel duyusal skor açısından da sınır değerde olduğu tespit edilmiştir.

SONUÇ

Bu çalışma sonucunda ister yenilikçi isterse konvansiyonel yöntemle işlenecek balıkların duyusal karakteristiklerini daha uzun süre koruyabilmeleri amacıyla hijyen kurallarına uygun bir temizleme işlemine tabi tutulduktan sonra işlenerek soğuk depolamaya alınması önerilmektedir. Balıkların bütün halde soğuk depolanmaya alınmasından ziyade hijyenik koşullarda iç organlarının çıkarılması ve derhal soğuk depolamaya alınması depolanan ürünün kalitesinin korunmasına katkı sağlayacaktır.

Bu araştırma sonuçlarına göre; istavrit balığındaki bakteriyel gelişim hızı, kimyasal bozulma basamakları, duyusal ve fiziksel parametrelerdeki hızlı değişimlerin ayıklama işlemi ile daha iyi kontrol altına alındığı tespit edilmiştir. Pratikte de tüketicilerin satın aldıkları balık ürünleri için basit ama etkili bir yöntem olan ayıklama işleminin ürün kalitesini korumada etkili bir işleme yöntemi olacağı göz önünde bulundurulmalıdır.

TEŞEKKÜR

Araştırma materyali istavrit balıkları, Sağdıçlar Balıkçılık Ltd. Şti. tarafından temin edilmiş olup, balıkların avlanmasına müteakip buzlanmış halde fakülteye ulaştırılmıştır. Balığın yakalandığı andaki tazeliği bozulmaksızın tarafımıza ulaştırılmasında verdikleri lojistik destekten dolayı Sağdıçlar Balıkçılık Ltd. Şti. Genel Müdürü Sayın Veysel Sağdıçlar'a, balıkların duyusal kalite değişimlerinin belirlenmesinde panelist olarak görev alan ve önemli katkı sağlayan deneyimli fakülte personeline bu çalışmaya ayırdıkları zaman ve katkılar için teşekkürü borç biliyoruz.

KAYNAKÇA

Alperden, I. (1993). Microbiology in meat and seafood, microbiology and its application in food industry. Tübitak MAM, ISBN 975-403-000-6, 101-120, 216. In Turkish.

Anon (2018). Diet, nutrition, physical activity and liver cancer. American Institute for Cancer Research (AICR), p.50, ISBN 978-1-912259-38-0.

Aubourg, S.P. (1993). Interaction of malondialdehyde with biological moleculese new trends about reactivity and significance. *International Journal of Food Science & Technology*, 28, 4, 323-335. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1993.tb01278.x

Botta, J.R. (1995). Sensory evaluation: freshness quality grading. J.R. Botta (Ed.), Evaluation of seafood freshness quality, VCH, New York, pp. 65-97.

Cebioğlu, İ.K. & Önal, A.E. (2018). Gıda Katkı Maddesi İçeren Bazı Besinlerin Tüketiminin ve Sağlığa Etkilerinin Araştırılması: Gıdaların Risk Analizi. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(1), 21-35. DOI: 10.26453/otjhs.357496

Ceylan, S. & Topçu, Y. (2014). Pyrolysis kinetics of hazelnut husk using thermogravimetric analysis. *Bioresource Technology*, 156, 182–188. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.01.040

Ceylan, Z., Şengör, G.F.U., Sağdıç, O. & Yılmaz, M.T. (2017). A novelapproach to extend microbiological stability of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets coated with electrospun chitosan nanofibers. *LWT–Food Science and Technology*, 79, 367–375. DOI: 10.1016/j.lwt.2017.01.062

Ceylan, Z., Ünal Sengör, G.F., Basahel, A. & Yılmaz, M.T. (2018). Determination of quality parameters of gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fillets coated with electrospun nanofibers. *Journal of Food Safety*, 38(6), e12518. DOI: 10.1111/jfs.12518

Chotimarkorn, C. (2014). Quality changes of anchovy (*Stolephorus heterolobus*) under refrigerated storage of different practical industrial methods in Thailand. *Journal of Food Sciences and Technology*, 51(2), 285–293. DOI:10.1007/s13197-011-0505-y

Çağlak, E., Karslı, B. & Rakıcı, S. (2016). Farklı Pişirme Yöntemleri Uygulanarak Buzdolabı Şartlarında (+4±1°C) Depolanan Hamsi Balığının (*Engraulis encrasicolus*) Bazı Kalite Kriterleri ve Raf Ömrünün Belirlenmesi. *Anadolu ve Çevre Hayvancılık Dergisi*, 1, 21-27.

Çetinkaya, S., Bilgin, Ş. & Ertan, Ö.O. (2014). Su ürünlerinde tazelik ve kalite belirlemede klasik yöntemler. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 31(2), 105-111. DOI: 10.12714/egejfas.2014.31.2.07

Duran, A., Erdemli, U., Karakaya, M. & Yılmaz, M.T. (2008). Effects of slaughter methods on physical, biochemical and microbiological quality of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and mirror carp *Cyprinus carpio* filleted in pre-, in- or post-rigor periods. *Fisheries Science*, 74(5), 1146–1156. DOI: 10.1111/j.1444-2906.2008.01634

Erkmen, O. (2010). Foodborne hazards and safe food production. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 53(3), 220-235.

Fidanbaş, Z.U.C., Bilgin, Ş. & Ertan, Ö.O. (2015). Bazı Deniz Balıklarının Aminoasit - Yağ Asiti İçerikleri ve Beslenme Açısından Önemi. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 11(2), 45-59. DOI: 10.22392/egirdir.246329

Gökoğlu, N. & Yerlikaya, P. (2004). Use of eye fluid refractive index in sardine (*Sardina pilchardus*) as a freshness indicator. *European Food Research* and *Technology*, 218, 295–297. DOI: 10.1007/s00217-003-0844-7

Gülyavuz, H. & Ünlüsayın, M. (1999). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Ders Kitabı, Şahin Matbaası, Ankara. 358 sayfa.

Hebard, C.E., Flick, G.J. & Martin, R.E. (1982). Occurance and significance of trimethylamine oxide and its derivatives in fish and shellfish, p. 149-176. In R.E. Martin, G.J. Flick, C.E. Hebard, D.R. Ward [eds.], Chemistry and biochemistry of marine food products. Avi Publishing Company, USA.

ICMSF (1992). Sampling for microbiological analysis. In Microorganisms in food. Toronto, Canada: University of Toronto Press.

Kaya, G.K. & Baştürk, Ö. (2015). Determination of some quality properties of marinated sea bream (*Sparus Aurata* L., 1758) during cold storage. *Food Science and Technology*, 35(2), 347-353. DOI: 10.1590/1678-457X.6619

Khalafalla, F.A., Fatma, H.M.A. & Hassan, A.R.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. DOI: 10.1016/j.bjbas.2015.02.005

Köse, S., Karaçam, H., Kutlu, S. & Boran, M. (2001). Investigating the shelf-life of the anchovy dish called 'Hamsikuşu' in frozen storage at -18±1 °C. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 651- 656.

Kulawik, P., Władysław, M., Joanna, T. & Özoğul, F. (2016). Assessment of color and sensory evaluation of frozen fillets from pangasius catfish and nile tilapia Imported to European Countries. *International Journal of Food Properties*, 19(7), 1439-1446. DOI: 10.1080/10942912.2015.1079790

Kurt, Ş., Küçüköner, E. & Zorba, Ö. (2005). Kesim sonrası sığır etinde meydana gelen değişimler. Gıda, 30(3), 203-208.

Kutlu, S., & Balçık Mısır, G. (2007). Bölgemizde Su Ürünleri İşleme Değerlendirme Tesislerinin Gelişimi. *SÜMAE Yunus Araştırma Bülteni*, 7, 1.

Külcü, D.B. (2017). Farklı sıcaklıklarda muhafaza edilen palamut (Sarda sarda) balığının bazı kimyasal kalite niteliklerinin belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. DOI: 10.16984/saufenbilder.298978

Kyrana, V.R., Lougovious, V.P. & Valsamis, D.S. (1997). Assessment of shelf-life of maricultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*) stored in ice. *Int. J. Food Sci. Technol*., 32, 339-347. DOI: 10.1046/j.1365-2621.1997.00408.x

Kyrana, V.R. & Lougovious, V.P. (2002). Sensory, chemical and microbiological assessment of farm raised European sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) stored in melting ice. *Int. J. Food Sci. Technol*., 37, 319-328. DOI: 10.1046/j.1365-2621.2002.00572.x

Levin, R.E. (2009). Assessment of Seafood Spoilage and the Microorganisms Involved. Chapter 28 (pp. 516-524). In L.M.L. Nollet, F. Toldrá (Eds.), Handbook of Seafood and Seafood Products Analysis. CRC Press, Boca Raton, Florida, ISBN 978-1-4200-4633-5.

Martinsdóttir, E. (1987). Freshness measurements on cod and redfish with RT freshness grader. Reykjavik: Icelandic Fisheries Organization.

Masella, R. & Mazza, G. (2009). Glutathione and Sulfur Amino Acids in Human Health and Disease. John Wiley & Sons, USA, ISBN 978-0-470-17085-4.

Maturin, L. & Peeler, J.T. (2001). Bacteriological analytical manual, 6th Edition, Revision A, Chapter 3.

Meral, G., Ceylan, Z. & Köse, S. (2019). Limitation of microbial spoilage of rainbow trout fillets using characterized thyme oil antibacterial nanoemulsions. *Journal of Food Safety*, e12644. DOI: 10.1111/jfs.12644

Mısır, G.B. (2012). Denizel Kaynaklı Bazı Fonksiyonel Gıdalar ve Gıda Bileşenleri. *Yunus Araştırma Bülteni*, 1, 1-7.

Olafsdottir, G., Martinsdóttir, E., Oehlensschlager, J., Dalgaard, P., Jensen, B., UndelanD, I., Mackie, I., M., Henehan, G. & Nielsen, H. (1997). Methods to evaluate fish freshness in research and industry. *Trends in Food Science Technology*, 8(8), 258-265. DOI: 10.1016/S0924-2244(97)01049-2

Olafsdóttir, G. (2005). Volatile compounds as quality indicators in chilled fish: Evaluation of microbial metabolites by an electronic nose. Thesis for the Degree of Doctor of Philosophy, Faculty of Science University of Iceland and Icelandic Fisheries Laboratories, Reykjavík, ISBN 9979-70-052-1.

Oraei, M., Motalebi, A.A., Hoseini, E. & Javan, S. (2011). Effect of gamma irradiation and frozen storage on microbial quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(1), 75–84.

Özkaya, F.D. & Cömert, M. (2008). Gıda zehirlenmelerinde etken faktörler. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 65(3), 149-58.

Özyürek, H., İncedayı, B. & Tamer, C.E. (2013). Minimal İşlenmiş Gıdalar. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 13, 59-67.

Peng, S., Chen, C., Shi, Z. & Wang, L. (2013). Amino acid and fatty acid composition of the muscle tissue of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *Journal of Food and Nutrition Research*, 1(4), 42-45. DOI:10.12691/jfnr-1-4-2

Rehbein, H. & Oehlenschlager, J. (2009). Fishery Products: Quality, Safety and Authenticity. USA, Wiley-Blackwel.

Rodríguez, Ó., Losada, V., Aubourg, S.P. & Barros-Velázquez, J.B. (2005). Sensory, microbial and chemical effects of a slurry ice system on horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 235–242. DOI: 10.1002/jsfa.1960

Sallam, K.I. (2007). Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salt of organic acids. *Food Chemistry*, 101(2), 592-600. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.02.019

Schormüller, J. (1968). Tierische Lebensm. Eier, Fleisch, Buttermilsch. In Handbuch der Lebensmittel Chemie. Band III/2 Teil. Berlin, Hiedelberg, New York: Springer-Verlag.

Serdaroğlu, M. & Deniz, E.E. (2001). Balıklarda ve Bazı Su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 18(3-4), 575 – 581.

Szczesniak, A.S. & Kahn, E.L. (1971). Consumer awareness of and attitudes to food texture. *Journal of Textural Studies*, 2, 28–295. DOI: 10.1111/j.1745-4603.1971.tb01005.x

Şen, İ. & Şahin, A. (2017). Mersin'de Yaşayan Tüketicilerin Balık Tüketim Tercihlerini Demografik Faktörler Açısından Ele Alan Bir Araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi*, 19(1), 33-46. DOI: 10.5578/jeas.48561

Şengör, G.F., Çelik, U. & Akkuş, S. (2000). Buzdolabı koşullarında depolanan istavrit balığı (*Trachurus trachurus*, L.1758)'nın tazeliğinin ve kimyasal bileşiminin belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24(3), 187–193.

Tarladgis, B., Watts, B.M., Yonathan, M. & Dugan, L.Jr. (1960). Distilation Method for Determination of Malonnaldehyde in Rancidty Food. *Journal American Oil Chemists Society*, 37(1), 44-48. DOI: 10.1007/BF02630824

Tokur, B., Korkmaz, K. & Ayas, D. (2006). Comparison of two thiobarbituric acid (TBA) method for monitoring lipid oxidation in fish. Ege Journal of *Fisheries* and *Aquatic* Sciences, 23, 331–334.

Ünal, G.F. (1991). Dondurularak depolanan mürekkep balığındaki (Sepia officinalis) kalite değişimlerinin incelenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, İşleme Teknolojisi Programı, Yüksek Lisans tezi, 71 sayfa.

Yapar, A. & Yetim, H. (1998). Determination of anchovy freshness by refractive index of eye fluid. *Food Research International*, 31(10), 693-695. DOI: 10.1016/S0963-9969(99)00047-2

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 93-101 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.11

ARAŞTIRMA MAKALESİ RESEARCH ARTICLE

Balık tüketiminde tüketim tercihlerini etkileyen faktörlerin analizi: Çankırı İli örneği

Analysis of factors affecting consumption preferences in fish consumption: Case of Çankırı Province

Yasin Genç[1] ● Mevhibe Albayrak[2] ● Hüseyin Tayyar Güldal[3*]

[1]DSİ 5. Bölge Müdürlüğü, 06590, Çankaya, Ankara https://orcid.org/0000-0002-1253-4742
[2]Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara https://orcid.org/0000-0001-9943-165X
[3]Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü, 06110, Dışkapı, Ankara https://orcid.org/0000-0003-4477-3980

*Corresponding author: htguldal@ankara.edu.tr
Received date: 10.06.2019 Accepted date: 05.11.2019

How to cite this paper:
Genç, Y., Albayrak, M. & Güldal, H.T. (2020). Analysis of factors affecting consumption preferences in fish consumption: Case of Çankırı Province. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 93-101. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.11

Öz: Bu araştırmada, Çankırı İlinde tüketicilerin balık tüketim düzeyleri ile tüketim tercihlerine etki eden faktörler CHAID analizi yardımıyla incelenmiştir. Anket çalışması oransal örnekleme yöntemine göre belirlenen 156 tüketiciyle gerçekleşmiştir. İncelenen tüketicilerin %51,9'unun dengeli ve sağlıklı beslenme, %34,0'ının ise lezzeti açısından balık tükettiği belirlenmiştir. Ayrıca tüketicilerin %91,7'sinin deniz balığını tercih ettiği; %51,9'unun balığı süpermarketten aldığı, %46,2'sinin balığı kızartarak tükettiği belirlenmiştir. Analiz sonucuna göre eğitim düzeyi, hanehalkı geliri, medeni durum ve balık satın alım yerleri, tüketicilerin balık tüketimine etki eden en önemli faktörler olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Balık, Çankırı, CHAID analizi, Tüketim tercihleri

Abstract: In this study, the consumption levels of the consumers and factors affecting the consumption preferences of the fish were examined with CHAID analysis in Central district of Çankırı province. The survey was conducted with 156 consumers determined by method of proportional sampling. It was found that 51,9% of consumers in terms of balanced and healty diet and 34,0% of consumers in terms of taste consume fish, moreover, 91,7% consumers prefer sea fish, 51,9% consumers prefer to buy fish from supermarket and 46,2% consumers prefer to consume fry fish. According to the analysis results, it was determined that dependent variables of level of education, household income, marital status and place of purchase are the most important factors which affecting fish consumption.

***Keywords*:** Fish, Çankırı, CHAID analysis, preferences of consumption

GİRİŞ

İnsan yaşamının sürdürülmesinde, yaşam kalitesinin yükseltilmesinde ve korunmasında sağlık özel bir öneme sahip olduğu gibi, sağlıklı bir yaşam içinde yeterli ve dengeli beslenme şarttır. Günlük tüketilen enerji ve protein miktarının karşılanması için alınan enerji ve proteinin hangi besin kaynaklarından sağlanması gerektiğini bilmek, dengeli beslenmenin önemli bir parçasıdır. İnsan gelişimi ve sağlığı açısından tüketilen proteinin hayvansal kaynaklı olması çok önemlidir. FAO verilerine göre, Türkiye'de günlük kişi başına 104 gram toplam protein tüketiminin sadece %30'u hayvansal kaynaklı olup (Sarıözkan, 2016), dengeli beslenme açısından bu oranın yükseltilmesi gerekmektedir. Hayvansal protein açığını en iyi derecede ve ucuz şekilde giderebilecek kaynakların başında su ürünleri gelmektedir. Su ürünleri küresel olarak kişi başına günlük yaklaşık sadece 34 kalorilik bir katkı sağlamaktadır. Ancak, su ürünlerinin beslenmeye olan katkısı, bir enerji kaynağı olması dışında, yüksek-kaliteli, kolay sindirilen hayvansal proteinler ve özellikle mikro-besin eksiklikleri ile mücadele açısından önemlidir (Öksüz vd., 2018). Tıbbi araştırmalarda, özellikle balık yağı tüketen tüketicilerde hastalık risklerinin düştüğü, 8 yaşa kadar çocuklarda ve özellikle bebeklerde beyin gelişimi için balıktaki omega 3 yağ asitlerinin önemli olduğu ifade edilmektedir (Connor, 2000; Duyar vd., 2004; Kaya vd., 2004; Yılmaz, 2018).

Türkiye, üç tarafının denizlerle çevrili bir ülke olmasının yanı sıra sahip olduğu gölleri, barajları ve akarsuları ile su ürünleri bakımından önemli bir potansiyele sahiptir. 8333 km kıyı uzunluğuna sahip olan Türkiye'de, yaklaşık 25 milyon hektar su ürünleri üretimine uygun alan bulunmaktadır (Hecer, 2012). Bununla birlikte, Türkiye'de kişi başına su ürünleri tüketimi dünya ortalamasının çok gerisindedir (2017 yılı: Dünyada ortalama 20,5 kg; Türkiye'de ortalama 5,5 kg) (FAO, 2019). Yıllar içerisinde azalan bir eğilim gösteren ortalama su ürünleri tüketimi 2000 yılında 8,0 kg iken, 2010 yılında 6,9 kg'a ve 2017 yılında da 5,5 kg'a kadar gerilemiştir. Su ürünleri tüketimi bölgeler arasında farklılık göstermekte olup, kıyı

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

bölgelerde kişi başı 25 kg/yıl iken, İç, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde 1 kg/yıl'a kadar azalmaktadır (Şahin, 2011). Nitekim Olgunoğlu vd (2014) tarafından Adıyaman'da yapılan çalışmada da balık eti tüketiminin ülke ortalamasının altında (yaklaşık 3 kg) olduğu belirlenmiştir.

Türkiye'de su ürünleri tüketimine yönelik birçok çalışma bulunmakla birlikle, bu çalışmalar yoğun olarak su ürünleri tüketiminin fazla olduğu deniz veya göl kıyısı bölgelerde yapılmıştır (Aydın ve Karadurmuş, 2013; Çolakoğlu vd., 2006; Hatırlı ve Demircan, 2004; Orhan ve Yüksel, 2010; Saygı vd., 2006). Denize kıyısı olmayan ve su ürünleri tüketiminin düşük olduğu bölgelerde de yapılan çalışmalar (Bashimov, 2017; Erdal ve Esengün, 2008; Özer vd., 2016) bulunsa da bu bölgelerde su ürünleri tüketiminin durumunu ayrıntılı olarak tespit etmek amacıyla daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Gıda tercihleri; ürün özellikleri, çevresel faktörler ve tüketicinin özellikleri gibi birbiriyle ilişkili birçok faktörden etkilenir. Tüm bu faktörler içerisinde kişisel faktörler merkezi bir rol oynar ve bireylerin psikolojik ve fizyolojik özelliklerinden kaynaklanan belirgin ihtiyaçlarını ve tercihlerini yansıtır (Furst vd., 1996). Bu çalışmada da balık tüketim miktarının oldukça düşük olduğu Çankırı ilinde, balık tüketimine etki eden faktörlerin (sosyo-ekonomik faktörler) belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çankırı İlinde 2016 yılı Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) nüfus verilerine göre 183.880 kişi yaşamaktadır (TUİK, 2019). Çankırı ilinin, biri merkez olmak üzere toplam 12 ilçesi vardır. Merkez İlçe 92.139 nüfusu ile diğer ilçelere göre daha fazla kişi yaşamakta ve toplam il nüfusunun %50.11'lik kısmını oluşturması sebebiyle çalışma araştırma bölgesi olarak belirlenmiştir.

Çalışmanın birincil verilerini balık tüketen tüketiciler ile yüz yüze yapılan anketler oluşturmaktadır. Anket formu iki bölüm olarak hazırlanmış olup (I. Bölüm: Tüketicilerin Demografik Yapısı; II. Bölüm Tüketim Yapısı) toplam 22 sorudan oluşmaktadır. Anket formu hazırlandıktan sonra sahada pilot uygulama yapılmış olup, uygulama sonucunda anket formunda gerekli düzenlemeler yapıldıktan sonra anket uygulaması gerçekleştirilmiştir. Görüşülen tüketicilere ilişkin örnekler, oransal örnek hacmi formülü kullanılarak tespit edilmiş (Newbold, 1995), %99 güven aralığı ve örnek oranının %10 hata payı esas alınmıştır. Sonlu bir popülasyon için belli bir özelliği taşıyanların bilinen veya tahmin edilen oranına göre örnek hacmi aşağıdaki formüldeki gibidir. P değeri popülasyon içerisinde belli bir özelliğe sahip parçaların sayısıdır. P değeri önceki araştırmalardan elde edilebileceği gibi sezgisel olarak da tahmin edilebilir. Maksimum örnek hacmine ulaşmak için P=0.5 alınmalıdır. P'nin 0.5'ten daha az veya daha yüksek değerleri örnek hacmini düşürür. O nedenle P'nin bilinmediği durumlarda maksimum örnek hacmiyle çalışmak olası hatayı azaltacağından

P=0.5 alınmalıdır (Miran, 2003).

$$n=\frac{N.p.q}{(N-1)\sigma_p^2+p.q}$$

Formülde;

n: örnek hacmi
N: ana kitle hacmi
p=(0.5), q=1-p
σ= oran varyansıdır.

Tablo 1. Çankırı ili merkez ilçesi nüfus durumu ve örneğe giren tüketici sayısı

Table 1. Population status of the central district of Çankırı province and the number of consumers in the sample

	Nüfus	%	Örneğe giren tüketici
Mahalle	82.740	89,8	144
Köy	9.399	10,2	12
Toplam	92.139	100,0	156

%99 güven aralığı ve örnek oranının %10 hata payı esas alındığında örneğe giren tüketici sayısı toplam 156 olarak belirlenmiştir.

Çalışmada, balık tüketim tercihlerini etkileyen faktörleri incelemek için kullanılan Regresyon ağacı modeli, sınıfları bilinen örnek veriden tümevarım yöntemiyle öğrenilen şekilli bir karar yapısı çeşididir (Albayrak ve Yilmaz, 2009). Bir karar ağacı, basit karar verme adımları uygulanarak, büyük miktarlardaki kayıtları, çok küçük kayıt gruplarına bölerek kullanılan bir yapıdır. Her başarılı bölme işlemiyle, sonuç gruplarının üyeleri bir diğeriyle çok daha benzer hale gelmektedir (Sun ve Li, 2008). Büyük veri tabanlarının kullanıldığı pek çok sınıflama probleminde ve karmaşık ya da hata içeren bilgilerde karar ağaçları yararlı bir çözüm olmaktadır. Karar ağaçları daha çok tıp, endüstri, tarım ve mühendislik bilimlerinde yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir (Kayri ve Boysan, 2008). En sık kullanılan karar ağacı modelleri CART (Classification and Regression Trees) Analizi ile CHAID (Chi-Square Automatic Interaction Detector) olarak adlandırılmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan CHAID algoritması 1980 yılında Kass tarafından en iyi bölmeyi hesaplamak için istatistik olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı, hedef değişkene uyan çiftlerde tahmin değişkeninin olası kategori çiftini birleştirmesiyle oluşturulmuştur (Ziarko, 1991). CHAID ile diğer yöntemler arasındaki en önemli farklardan birisi, diğer yöntemlerle ikili ağaçlar türetilirken, CHAID ile çoklu ağaçlar türetilmektedir (Ture vd., 2009). CHAID, bölümlendirme amaçlı kullanılan etkili bir istatistiksel tekniktir. Bir istatiksel testin anlamlılığını kriter olarak kullanarak, bir potansiyel ön kestirici değişkenin tüm değerlerini değerlendirir. Bağlı değişkene göre istatistiksel olarak homojen olarak değerlendirilen tüm değerleri birleştirir

ve diğer tüm değerleri heterojen olarak değerlendirir. Ardından karar ağacındaki ilk dalın formuna göre en iyi ön kestirici değişkenin seçilmesiyle, her bir düğümün seçilen değişkenin homojen değerlerinin bir grubunu oluşturmasını sağlar. Bu süreç ağaç büyüyene kadar sürer (Oğuzlar, 2004). CHAID analizi özellikle bağımsız değişkenlerin birbiriyle olan ilişkisi ve etkileşimlerini inceler. Bu nedenle değişkenler arasındaki ilişkileri de test etmektedir. Eğer bağımlı değişken sürekli bir değişken ise F testi, kategorik ise ki-kare testi kullanılmaktadır.

İnsanların çalışma koşulları nedeniyle zaman darlığı yaşaması, tüketim alışkanlıklarını değiştirmesine ve buna bağlı olarak da hazır yemek (catering) teknolojilerin yaygınlaşmasına olanak vermiştir. Bu süreçte balık ve balık ürünleri de (balık gevreği, balık cipsi, fish finger, balık böreği vs) hazır yemek teknolojilerinde yer bulmuştur (Oğuzhan, 2014). Bu çalışmada da, balık tüketiminde, eğitim (kategorik), hanehalkı geliri (kategorik), medeni durum (kategorik) ve satın alım yeri (kategorik) gibi değişkenlerin tüketici tercihlerine olan etkisi CHAID analizi yardımıyla incelenmiş, elde edilen verilerin girişi ve analizi SPSS 22 paket programı kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Tüketicilerin sosyo-ekonomik özellikleri

Araştırma kapsamında ankete katılan tüketicilerin %71,8'i erkek iken %28,2'si kadındır. 20-29 yaş aralığında olan tüketicilerin oranı %28,2 olup, bu oran 30-39 yaş aralığında %37,8, 40-49 yaş aralığında %21,2 ve 50 yaş ve üzerinde %12,8'dir.

Tüketicilerin %76,9'u evli iken, hanehalkı büyüklüğü ortalama 4 kişi olup, hanehalkı 5 kişi ve daha fazla olan tüketicilerin oranı %20,5'dir.

Ankete katılan tüketicilerin eğitim durumlarının yüksek olduğu araştırma sonuçlarında ortaya çıkmıştır. Tüketicilerin %82,6'sı lise ve üzeri eğitim seviyesine (lise %23,6; üniversite %59,0) sahip iken ilkokul mezunlarının oranı %10,3'dür.

Tüketicilerin %44,9'u 4001 TL ve üzeri gelire sahip iken, bu oran 1000-2000 TL arasında gelire sahip olanlarda %16,0, 2001-3000 TL gelire sahip olanlarda %19,9 ve 3001-4000 TL gelire sahip olan tüketicilerde %19,2'dir (Tablo 2.).

Tüketicilerin balık eti tüketimi hakkındaki bilgiler

Ankete katılan tüketicilerin genellikle haftada bir (%36,6) balık tükettiği belirlenmiş olup, haftada 2-3 kez tüketenlerin oranı %19,9, 15 günde bir tüketenlerin oranı %28,8 ve ayda bir balık tüketenlerin oranının %14,7 olduğu tespit edilmiştir.

Tüketicilerin %51,9'u balık tüketmelerindeki en önemli nedenin dengeli ve sağlıklı beslemeden ötürü olduklarını belirtmiş, ikinci önemli nedenin ise lezzeti olduğu (%34,0) ifade edilmiştir. Çiçek vd. tarafından 2014 yılında, Elazığ ilinde yapılan çalışmada da benzer sonuçlar ortaya çıkmış, tüketicilerin %45,67'si balık etini sağlıklı ve dengeli beslenme, %22,41'i damak zevkinden dolayı tercih ettikleri belirlenmiştir. Ayrıca Doğan (2019) tarafından Erzurum, Erzincan ve Bayburt illerinde yürütülen çalışmada, balık etinin besleyici, lezzetli ve ucuz olduğu için tüketildiği ortaya konulmuştur. Kaplan vd. (2019) tarafından yapılan çalışmada ise tüketicilerin lezzetli ve az kılçıklı olmasına göre balık tükettikleri belirlenmiştir.

Tablo 2. Tüketicilerin sosyo-ekonomik özellikleri ve balık tüketim alışkanlıkları hakkında bilgiler

Table 2. Information about the socio-economic characteristics and fish consumption habits of consumers

Değişkenler	Değişkenler	n	%
Cinsiyet	Erkek	112	71,8
	Kadın	44	28,2
Yaş	20-29	44	28,2
	30-39	59	37,8
	40-49	33	21,2
	50 yaş ve üstü	20	12,8
Medeni Durum	Bekar	36	23,1
	Evli	120	76,9
Hanehalkı büyüklüğü	2 kişi	29	18,6
	3 kişi	45	28,8
	4 kişi	50	32,1
	5 kişi ve fazlası	32	20,5
Eğitim	İlkokul	16	10,3
	İlköğretim	11	7,1
	Lise	37	23,6
	Üniversite	92	59,0
Çalışma Durumu	Çalışıyor	144	92,3
	Çalışmıyor	12	7,7
Hanehalkı Geliri	1000-2000 TL	25	16,0
	2001-3000 TL	31	19,9
	3001-4000 TL	30	19,2
	4001 TL ve fazlası	70	44,9
Tüketim sıklığı	Haftada bir	57	36,6
	Haftada 2-3	31	19,9
	15 günde bir	45	28,8
	Ayda bir	23	14,7
Satın alım yeri	Halk pazarı	44	28,2
	Balık hali	19	12,2
	Süpermarket	81	51,9
	Seyyar satıcı	12	7,7
Tüketme süresi	Hemen	141	90,4
	Ertesi gün	10	6,4
	Bir hafta içinde	5	3,2
Bekletme yeri	Açıkta	43	27,5
	Buzdolabı	97	62,2
	Derin dondurucu	16	10,3
Tüketme biçimi	Taze	153	98,1
	Dondurulmuş	3	1,9
Pişirme yöntemi	Kızartma	72	46,2
	Fırında	40	25,6
	Izgara	23	14,7
	Buğulama	21	13,5

İncelenen tüketicilerin %91,7'si deniz balığını, %8,3'ü ise tatlı su balığını öncelikli olarak tercih etmektedir. Çadır ve Duman tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada, tüketicilerin %80,58'inin tatlı su balıklarını, %3,60'nın deniz balıklarını; Bolat ve Cevher'in çalışmasında (2018) ise tüketicilerin %49'unun deniz balıklarını; Duman ve Dartay'ın 2018 yılındaki çalışmasında da balık tüketenlerin %88'inin avcılık yoluyla (doğada yakalanan) elde edilen balığı tercih ettikleri saptanmıştır.

Tüketicilerin su ürünleri türlerine göre aylık (Haziran-Temmuz- Ağustos ayları ortalaması) ortalama kişi başı tüketimde, hamsi 1,70 kg, çipura 0,95 kg, levrek 1,10 kg, somon 1,43 kg, uskumru 2,25 kg, istavrit 2,02 kg, sardalya 2,67 kg, lüfer 3,31 kg, çinekop 1,85 kg, palamut 1,69 kg, mezgit 2,16 kg, barbun 2,38 kg, kalkan 3,50 kg, alabalık 1,07 kg, sazan 2,67 kg, tatlısu kefali 1,63 kg, kalamar 1,25 kg, midye 0,84 kg, karides 0,92 kg, yayın 2,92 kg, turna 1 kg, ton balığı 1,20 kg ve sarıkanat 1 kg olarak belirlenmiştir.

Tüketicilerin balık satın alımlarında en çok süpermarketleri (%51,9) tercih ettiği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra halk pazarından balık satın alan tüketicilerin oranı %28,2 iken %12,2'si balık halinden, %7,7'si de seyyar satıcıdan balık aldıkları tespit edilmiştir. Yavuz vd. tarafından 2015 yılında, Ankara ilinde yapılan benzer bir çalışmada da tüketicilerin %51,3'ü balığı balık satış yerinden (balıkçılardan) alırken, %31,1'i marketlerden, %15,2'si balık halinden, %1,8'i seyyar satıcılardan ve %0,6'sı pazardan aldığı belirlenmiştir.

Türkiye'de su ürünlerinde değer zincirinde su ürünleri kooperatifleri (1163,3476 sayılı kanun) ve üretici birlikleri de (5200 sayılı kanun) faaliyette bulunmaktadırlar (Adanacıoğlu vd., 2015; Albayrak, 2013). Bu kapsamda 30.635 ortaklı 558 adet su ürünleri birim kooperatifi, birer adet bölge birliği ve merkez birliği; 30 adet su ürünleri üretici birliği ve bir adet merkez birliği mevcuttur (TOB, 2019). Ancak kooperatif ve üretici birliklerinin yapısal sorunları başarılı ve etkili aktörler olmalarına engel teşkil etmektedir. Nitekim ortak/üyelerin işletme ölçeğinin küçük olması, finansal ve modern teknoloji kullanımındaki yetersizler, kooperatif yada üretici birliği ile alışveriş ve bağın zayıf olması rekabet güçlerini zayıflatmaktadır. Araştırma bulgularından da görüldüğü üzere, incelenen tüketicilerin %51,3'ünün balıkçılardan alım yaptığı; faal bir birlik yada kooperatifin pazarda bulunmadığı görülmektedir.

Araştırma kapsamında tüketicilerin %90,4'ü aldıkları balıkları hemen tükettiklerini belirtirken, ertesi gün tüketenlerin oranı %6,4 ve bir hafta içerisinde tüketenlerin oranının %3,2 olduğu ifade edilmiştir. Sağlam ve Samsun 2018 yılındaki araştırmasında, Yozgat ilinde tüketicilerin yaklaşık %98'inin taze tüketimi tercih ettiğini ortaya koymuştur.

Tüketicilerin yarısından fazlası balıkları buzdolabında (%62,2) muhafaza etmekte iken, açıkta muhafaza edenlerin oranı %27,5 ve dondurucuda muhafaza edenlerin oranı da %10,3 olarak belirlenmiştir.

Tüketicilerin büyük bir çoğunluğu (%98,1) taze balık tüketimini tercih ederken, balığı en çok kızartma şeklinde (%46,2) tükettikleri tespit edilmiştir. Bunun yanında, fırında pişiren tüketicilerin oranı %25,6 iken, %14,7'si ızgara ve %13,5'i buğulama olarak pişirmeyi tercih etmektedirler. Balcı vd. 2016 yılındaki çalışmasında ise, Tunceli ilinde fırında balık tüketenlerin oranı %34 ve kızartma tüketenlerin %27 olarak ortaya konulmuştur.

Tüketicilerin balık eti tüketimini etkileyen faktörler

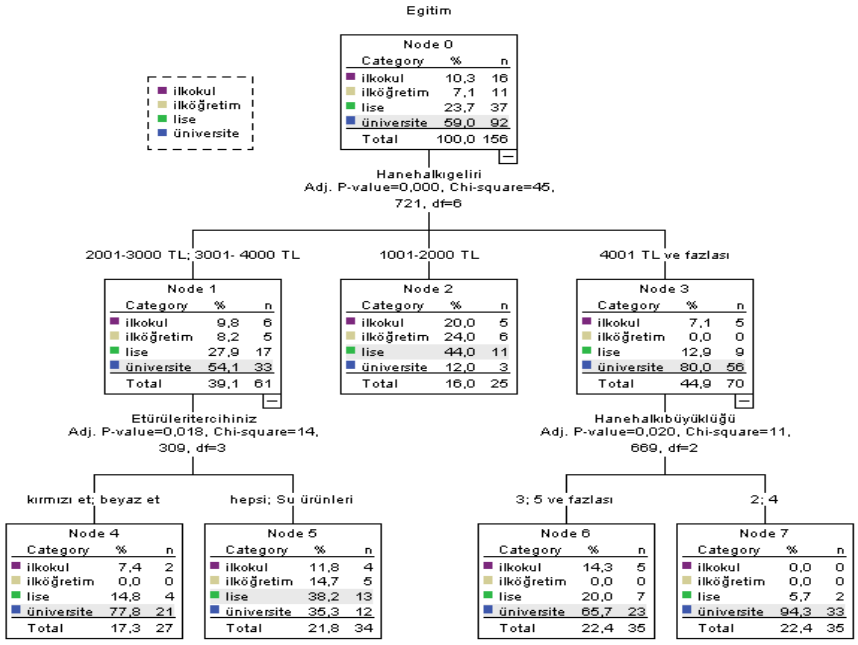
Tüketicilerin balık eti tüketimini etkileyen faktörler CHAID analizi ile belirlenmiştir. Analizde bağımlı değişkenler; eğitim (kategorik), hanehalkı geliri (kategorik), medeni durum (kategorik) ve satın alım yeri (kategorik) olarak sıralanmıştır.

CHAID analizinde bağımlı değişken üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunan bağımsız değişkenler içerisinde en yüksek ki-kare değerine sahip olan değişken, CHAID diyagramında ilk sırayı almaktadır. Balık tüketicilerinin eğitim bağımlı değişkenine göre dağılımları incelendiğinde, ilk düğümlenme tüketicilerin hanehalkı gelirinde oluşmuştur. Hanehalkı geliri 2001 TL- 4000 TL arasında olan tüketicilerin %54,1'i ve 4001 TL ve üzerinde olanların %80'i üniversite mezunu olduğu belirlenmiştir. İkinci düğüm noktası ise tüketicilerin et türü tercihlerinde ortaya çıkmıştır. Hanehalkı geliri 2001 TL- 4000 TL arasında olan tüketiciler içerisinde kırmızı et veya beyaz et tüketenlerin %77,8'i üniversite mezunu, su ürünleri veya hepsini tüketenlerin %38,2'sininde lise mezunu olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Yapılan analiz sonucunda balık tüketimi ile tüketicilerin eğitim durumları arasında anlamlı bir ilişki (P-value:0,000<0,005) olduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da benzer bulgulara rastlanılmıştır (Akbay vd., 2013; Ercan ve Şahin, 2016; Gürel vd., 2017; Karakaya ve Kırıcı, 2016; Şenol ve Saygı, 2001).

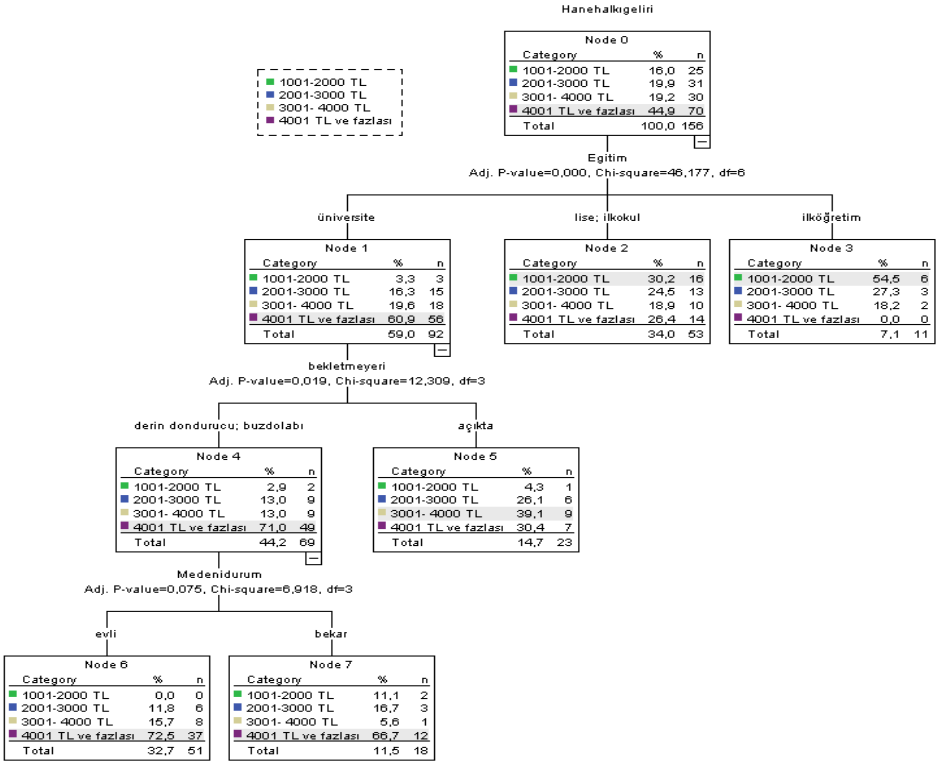
Bağımlı değişken tüketicilerin hanehalkı geliri olarak alındığında, ilk düğümlenme tüketicilerin eğitim durumlarında ortaya çıkmıştır (Şekil 2.). Üniversite mezunu olan tüketicilerin %60,9'unun hanehalkı geliri 4001 TL ve üzerinde, lise ve ilkokul mezunu olan tüketicilerin %30,2'sinin 1001 TL-2000 TL arasında ve ilköğretim mezunu olan tüketicilerin ise %54,5'inin 1001 TL-2000 TL arasında olduğu belirlenmiştir. İkinci düğümlenme ise tüketicilerin ürünleri bekletme yeri değişkeninde gerçekleşmiştir. Üniversite mezunu olan tüketiciler içerisinde ürünleri derin dondurucu veya buzdolabında bekleten tüketicilerin %71,0'ının hanehalkı gelirlerinin 4001 TL ve üzerinde olduğu, ürünleri açıkta bekleten üniversite mezunu tüketicilerin ise %39,1'inin hane halkı gelirinin 3001-4000 TL arasında olduğu tespit edilmiştir. Üçüncü düğümlenme tüketicilerin medeni durumlarında gerçekleşmiştir. Ürünlerini derin dondurucu ya da buzdolabında bekleten, üniversite mezunu, evli olan tüketicilerin %72,5'inin ve bekar olan tüketicilerin ise %66,7'sinin hanehalkı geliri 4001 TL ve üzerinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda balık tüketimi ile hanehalkı geliri arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiş

olup (P-value: 0,000<0,005), diğer araştırmalarda bu sonuçları desteklemektedir (Adıgüzel vd., 2009; Demirtaş vd., 2014; Erdoğan ve Çiçek, 2015; Güngör ve Ceyhun, 2017; Huang, 1995; Özer vd., 2016).

Bunun yanı sıra literatürde hanehalkı gelirinin balık tüketiminde etkili olmadığını savunan çalışmalarda mevcuttur (Herrmann vd., 1994; Myrland vd., 2000; Nauman vd., 1995).



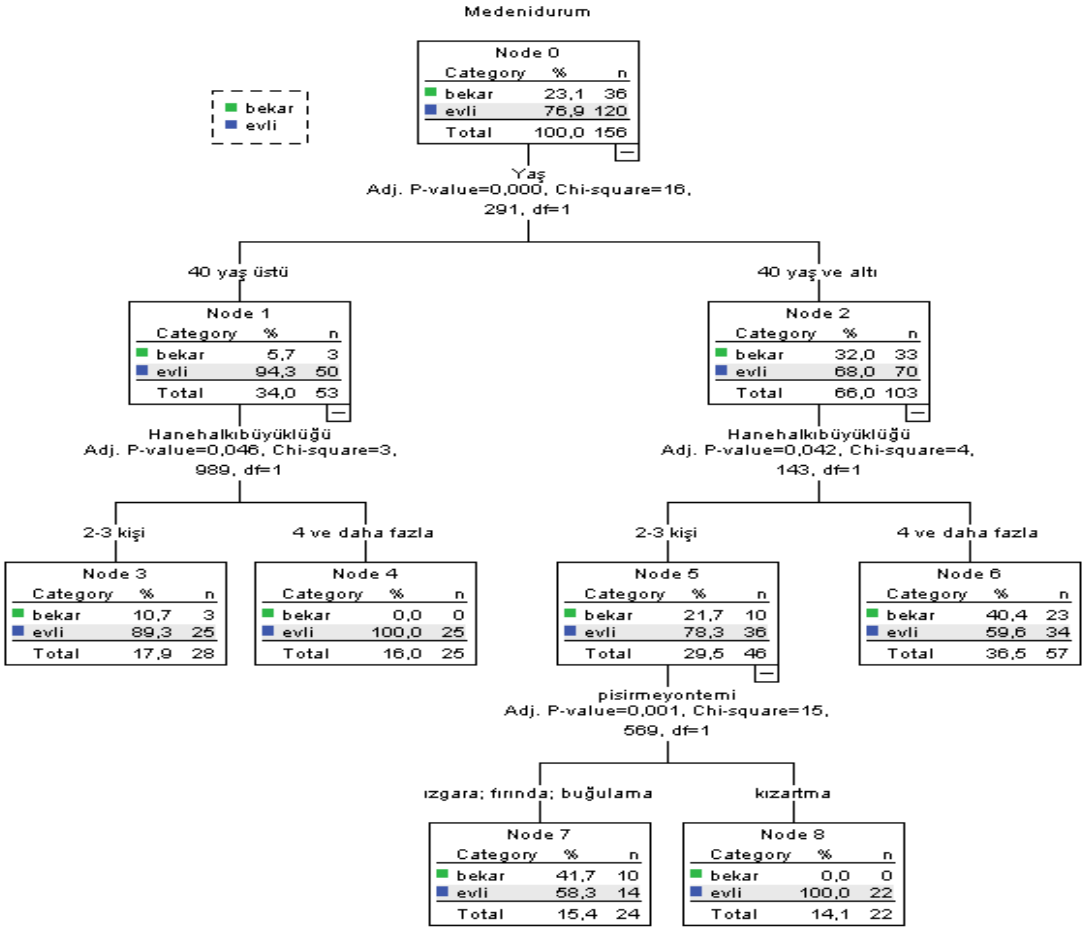
Şekil 1. Eğitim regresyon ağacı
Figure 1. Education regression tree



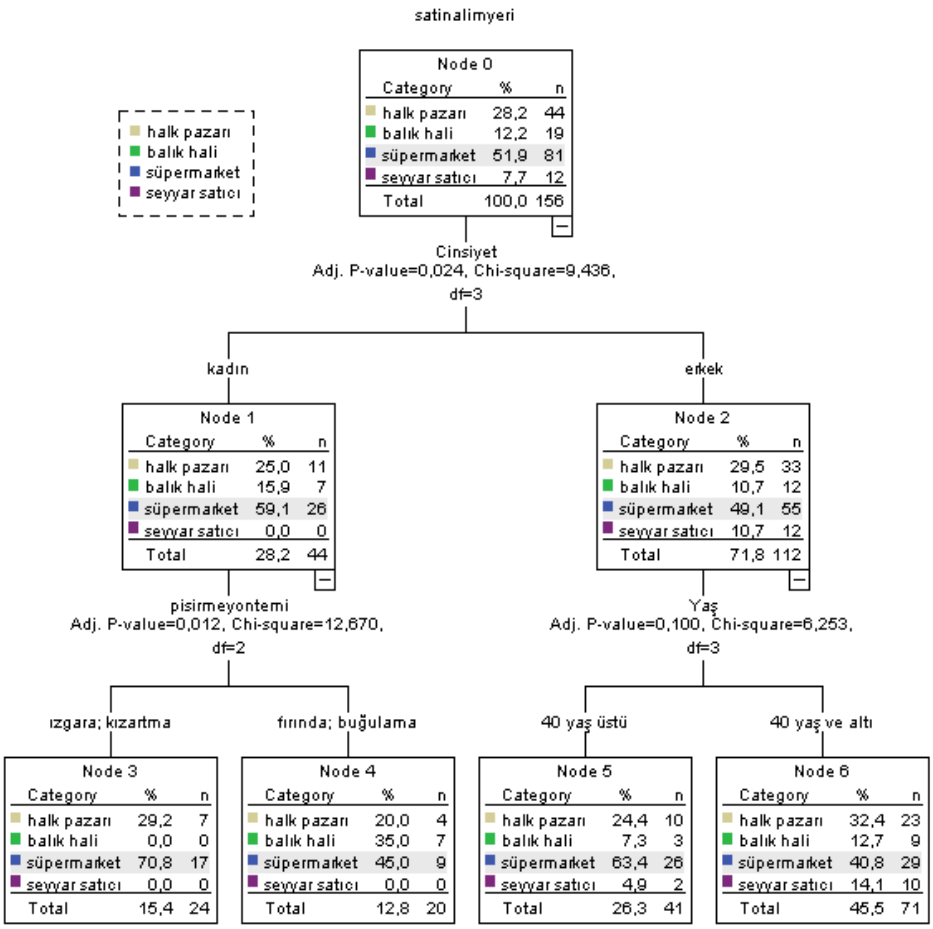
Şekil 2. Hanehalkı geliri regresyon ağacı
Figure 2. Household income regression tree

Bağımlı değişken tüketicilerin medeni durumu olarak alındığında, ilk düğümlenme tüketicilerin yaş grupları arasında olmuştur (Şekil 3.). Araştırma kapsamında 40 yaş ve üstü tüketicilerin %94,3'ü evli iken, 40 yaş ve altı tüketicilerin %68,0'ı evlidir. İkinci düğümlenme ise tüketicilerin hanehalkı büyüklükleri değişkeninde gerçekleşmiş olup hanehalkı 2 veya 3 kişiden oluşan 40 yaş ve üstü tüketicilerin %89,3'ü evlidir. Hanehalkı 4 kişi ve daha fazla olan 40 yaş üstü tüketicilerin ise tamamı evlidir. Diğer yandan hanehalkı 2 veya 3 kişiden oluşan 40 yaş ve altı tüketicilerin %78,3'ü evli, hanehalkı 4 kişi ve daha fazla olan 40 yaş ve altı tüketicilerin ise %59,6'sı evlidir. Üçüncü düğümlenme ise tüketicilerin balık etini pişirme yöntemlerinde gerçekleşmektedir. Hanehalkı 2 veya 3 kişiden oluşan 40 yaş ve altı tüketicilerden, balık etini ızgarada, fırında veya buğulama olarak pişiren tüketicilerin %58,3'ü evli iken bu tüketicilerden balık etini kızartma olarak pişiren tüketicilerin tamamı evlidir. Yapılan analiz sonucunda balık tüketimi ile tüketicilerin medeni durumları arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (P-value: 0,000<0,005).

Balık tüketicilerinin balık satın alım yerleri bağımlı değişken olarak ele alındığında ilk düğümlenme, tüketicilerin cinsiyet durumlarında meydana gelmiştir (Şekil 4.). Balık tüketen kadın tüketicilerin %59,1'i balığı süpermarketten almayı tercih ederken, erkek tüketicilerin ise %49,1'i süpermarketten almayı tercih etmektedirler. İkinci düğümlenme tüketicilerin pişirme yöntemleri ve yaşlarında meydana gelmiştir. Balık etini ızgara veya kızartma olarak pişiren kadın tüketicilerin %70,8'i balığı süpermarketten alırken, bu oran balık etini fırında veya buğulama olarak pişiren kadın tüketicilerde %45,0'dır. 40 yaş ve üzeri erkek tüketicilerin ise %63,4'ü balığı süpermarketten alırken bu oran 40 yaş altı erkek tüketicilerde %40,8'dir. Analiz sonuçlarına göre balık tüketimi ile tüketicilerin balık etini satın alım yeri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir (P-value: 0,024<0,05).



Şekil 3. Medeni durum regresyon ağacı
Figure 3. Marital status regression tree



Şekil 4. Satın alım yeri regresyon ağacı
Figure 4. Purchase location regression tree

SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünyada sağlıklı ve dengeli beslenme bilincinin artmasına bağlı olarak hayvansal protein gereksiniminin karşılanmasında balık önemli bir fırsattır. Bu bağlamda balık üretimi ve tüketicilerin ürüne erişimi kadar, ülkelere ve ülke içinde bile değişen tüketim yapısı ve miktarının da geliştirilmesi gerekmektedir.

Araştırma sonuçlarına göre, balık tüketiminde tüketicilerin eğitim durumu, medeni durumu, hanehalkı geliri ve satın alım yerleri etkilidir. Hanehalkı 2 veya 3 kişi olan, balık etini ızgarada, fırında veya buğulama olarak pişiren 40 yaş ve altı tüketicilerin çoğunluğunun (%58,3) evli olduğu tespit edilmişken, buna karşın hanehalkı sayısı 4 ve daha fazla olan 40 yaş altı tüketicilerin pişirme yöntemine göre belirleyici özellikleri (yaş, cinsiyet, gelir vb.) yoktur (Şekil 3). Bu durumda tüketicilerin genel olarak balığı dışarıda tükettikleri ileri sürülebilir.

Gelir ve eğitim seviyesi yüksek olan tüketicilerin balığı sağlıklı koşullarda (derin dondurucu, buzdolabı) sakladıkları belirlenmiştir. Eğitim seviyesi özellikle ilkokul olan tüketicilerin balığı uygun olmayan şartlarda saklamadığı saptanmıştır (Şekil 2). Bu durum, gelir seviyesi düşük ve ilkokul mezunu tüketicilerde balığı günlük tükettikleri yönünde bir eğilim olduğu fikrini doğurabilir.

Araştırma kapsamında tüketicilerin büyük bir çoğunluğunun (%80,1) balığı süpermarket ve halk pazarından aldıkları belirlenmiştir. Analiz sonuçlarında dikkat edilmesi gereken nokta kadın tüketicilerin pişirme yöntemine göre belirleyici özellikleri bulunmakta olup buna karşılık erkek tüketicilerde böyle bir özelliğin bulunmamasıdır (Şekil 4). Bu bağlamda erkek tüketicilerin balığı satın almada etkin olduğu, pişirme de ise kadın tüketicilerin etkin olduğu sonucuna ulaşılabilir. Ayrıca erkek tüketicilerin, kadın tüketicilerin aksine süpermarketin yanı sıra halk pazarından da alışveriş yaptığı tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, tahıl ağırlıklı beslenen bir toplum olan Türkiye'de, tüketicilerin günlük protein ihtiyaçlarını karşılayacakları ürünlerin (kırmızı et, beyaz et) son yıllarda fiyatlarının artmasından dolayı balık eti alternatif bir ürün olarak öne çıkmaktadır. Bu bağlamda, özellikle denize kıyısı olmayan bölgelerde balık tüketiminin yaygınlaşması için yapılan çalışmalar önem kazanmaktadır.

Üretici örgütlerinin pazarda varlık gösterebilmesi ve rekabet edebilmesi için tarımsal destekler de önemlidir. Nitekim alabalık, çipura-levrek, midye ve yeni türlere yönelik, tarımsal sigorta ve düşük faizli kredi destekleri üretime olumlu katkılar sağlamaktadır. Ayrıca üretici örgütlerinin su ürünlerinde coğrafi işaret (Cİ) tescili markalaşma ve geleneksel balık türlerini ve ilgili gıdaları korumaya almada çabaları olmalıdır. Avrupa Birliği'nde Sınıf: 1.7'de taze balık, yumuşakçalar, kabuklular ve bunlardan elde edilen ürünler kapsamında 50 adet ürün Cİ tescilli, 14 adet üründe başvuru yapılmıştır (EC, 2019).

Balık tüketimi bireylerin geliri, eğitimi ve balık fiyatları, gıda güvenliği kadar tüketim alışkanlıklarıyla da bağlantılıdır. Tüketimin geliştirilmesinde sağlık bilinci nedeniyle sektör avantajlıdır. Balık tüketiminin arttırılmasıyla ilgili gerek ilgili bakanlıklar gerekse sektörün paydaşları, demonstrasyon çalışmalarını artırmaları gerekmektedir. Çalışan nüfusun fazla olduğu Türkiye'de kolay alınabilir, hazırlanabilir ve tüketilebilir ürünleri piyasaya sunmak balık tüketimini artıcı bir etken olabilir. Tüketimin arttırılmasında sektör paydaşlarıyla uyumlu işbirliği geliştirilmelidir. Ayrıca, su ürünleri kooperatifleri ve üretici birliklerinin tüketimin arttırılmasına yönelik politika ve çabaları geliştirilmeli (tadım etkinlikleri, tanıtım programları vs.), su ürünleri kooperatif ve üretici birliklerinin markalaşma, geleneksel balık çeşitlerinin üretim, tanıtım çalışmalarına ağırlık vermesi gerekmektedir. Bilimsel ve sosyal etkinliklerde tüketim fırsatlarının yaratılması, eğitim kurumları, yurt gibi konaklama yerlerinde tüketim olanaklarının arttırılması önemlidir. Özellikle geleneksel balık türlerinde coğrafi işaret tescillerinin yaygınlaşması gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Genç, Y. (2018) tarafından "Çankırı İli Merkez İlçesinde Tüketicilerin Su Ürünleri Tüketim Yapısı" konulu dönem projesinden türetilmiştir.

KAYNAKÇA

Adanacıoğlu, H., Albayrak, M., Çalış, H., Ekmen, E., Şener, H.B., Baytar, Z., Nacak, İ.P. & Güler, D. (2015). Değişen küresel stratejiler çerçevesinde Türkiye'deki tarımsal pazarlama sisteminin değerlendirilmesi. *TMMOB Ziraat Mühendisliği Odası* Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi 12-16 Ocak 2015, Bildiriler Kitabı-2, s:1456-1483, Ankara.

Adıgüzel, F., Civelek, O., Sayılı, M. & Büyükbay, E.O. (2009). Tokat ili Almus ilçesinde ailelerin balık tüketim durumu. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 26*(2), 35-43.

Akbay, C., Meral, Y., Yılmaz, H.İ. & Gözek, S. (2013). Türkiye'de ailelerin su ürünleri tüketiminin ekonomik analizi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 16*(3), 1-7.

Albayrak, A.S. & Yilmaz, S.K. (2009). Veri Madenciliği: Karar Ağacı Algoritmaları ve İmkb Verileri Üzerine Bir Uygulama. *Suleyman Demirel University Journal of Faculty of Economics & Administrative Sciences, 14*(1), 31-52.

Albayrak, M. (2013). Su ürünleri pazarlama sistemleri. *Su Ürünleri Piyasalarında Dinamikler: Üretim, Tüketim, Ticaret ve Pazarlama Paneli* 28 Mart 2013, Ankara.

Aydın, M. & Karadurmuş, U. (2013). Trabzon ve Giresun bölgelerindeki su ürünleri tüketim alışkanlıkları. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 3*(9), 57-71.

Balcı, M., Birici, N., Şeker, T., Akgün, H., Sesli, A. & Arısoy, G. (2016). Tunceli ili balık tüketim analizi. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2016. 9. Özel Sayı, 73-85. DOI: 10.18185/eufbed.61432

Bashimov, G. (2017). Niğde İlinde Balık Eti Tüketim Alışkanlığının Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 4*(2), 196-204.

Bolat, Y. & Cevher, H. (2018). Konya ili (Türkiye) su ürünleri tüketim alışkanlıkları üzerine bir anket çalışması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 14(3), 241-252. DOI: 10.22392/egirdir.398151

Connor, W.E. (2000). Importance of n− 3 fatty acids in health and disease. *The American journal of clinical nutrition, 71*(1), 171-175. DOI: 10.1093/ajcn/71.1.171S

Çadır, F. & Duman, M. (2013). Keban barajı gölü ova bölgesi halkının balık tüketim alışkanlıklarının araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi,* 25(1), 61-70.

Çiçek, E., Akgün, H. & İlhan, S. (2014). Elazığ ili balık eti tüketim alışkanlığı ve tercihinin belirlenmesi. *Aquaculture Studies (Eski Yunus Araştırma Bülteni), 2014*(1), 1-11. DOI: 10.17693/yunus.21364

Çolakoğlu, F.A., İşmen, A., Özen, Ö., Çakır, F., Yığın, Ç. & Ormancı, H.B. (2006). Çanakkale ilindeki su ürünleri tüketim davranışlarının değerlendirilmesi. *Su Ürünleri Dergisi, 23*(3), 387-392.

Demirtaş, B., Dağıstan, E., Akpınar, M. G. & Sayın, C. (2014). Fish consumption patterns of urban households in Hatay, Turkey. *Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture, 1*(2).

Doğan, N. (2019). TRA1 Bölgesinde (Erzurum,Erzincan,Bayburt) hanelerin kırmızı et, tavuk eti ve balık eti tüketimine yönelişk mevcut durum üzerine bir araştırma. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*. 6(2), 285-295. DOI: 10.30910/turkjans.557121

Duman, M. & Dartay,M. (2018). Avcılık ve kültür yoluyla elde edilen balıkların tüketim tercihleri: Elazığ İli Örneği, Türkiye, *Su Ürünleri Dergisi*, 35(3), 305-310. DOI: 10.12714/egejfas.2018.35.3.10

EC, (2019). European Commission,Agriculture and Rural Development,Agriculture anf Food,Door. Alıntılanma adresi: http://ec.europa.eu/agriculture/quality/door/ (21.05.2019).

Ercan, O. & Şahin, A. (2016). Kahramanmaraş kent merkezinde balık eti tüketim analizi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 19*(1), 51-65. DOI: 10.18016/ksujns.57816

Erdal, G. & Esengün, K. (2008). Tokat ilinde balık tüketimini etkileyen faktörlerin logit model ile analizi. *Su Ürünleri Dergisi, 25*(3), 203-209.

Erdoğan, N. & Çiçek,H. (2015). A research on determination of animal foods consumption status and consumer perferences: The case in university staff. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 8(1), 25-31.

FAO, (2019). The State of World Fisheries and Aquaculture 2018. Alıntılanma adresi: http://www.fao.org/state-of-fisheries-aquaculture (15.05.2019).

Furst, T., Connors, M., Bisogni, C.A., Sobal, J. & Falk, L.W. (1996). Food choice: a conceptual model of the process. *Appetite, 26*(3), 247-266. DOI: 10.1006/appe.1996.0019

Genç, Y. (2018). Çankiri ili Merkez ilçesinde tüketicilerin su ürünleri tüketim yapısı. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi ABD Dönem Projesi (basılmamış), s:128, Ankara.

Güngör, E.S. & Ceyhun, S.B. (2017). Erzurum ve Van İllerindeki Balık Tüketimi ve Tüketici Tercihleri Üzerine Bir Araştırma. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences, 32*(2), 1-11. DOI: 10.28955/alinterizbd.298341

Gürel, E., Doğan, H.G., Polat, S., Yeşilayer, N. & Buhan, E. (2017). Ağrı ili Merkez ilçede yaşayan bireylerin balık tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 6 (3), 27-35.

Hatırlı, S. A. & Demircan, V. (2004). Isparta ilinde ailelerin balık tüketiminin analizi. *Süleyman Demirel Üniversitesi İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi Dergisi, 9*(1).

Hecer, C. (2012). Türkiye'de Balıkçılık Sektörüne ve Türk Halkının Su Ürünleri Tüketim Alışkanlıklarına Genel Bir Bakış. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine/Veteriner Fakultesi Dergisi, 31*(2), 45-49.

Herrmann, R.O., Rauniyar, G.P., Hanson, G.D. & Wang, G. (1994). Identifying frequent seafood purchasers in the Northeastern US. *Agricultural and Resource Economics Review, 23*(2), 226-235. DOI: 10.1017/S1068280500002343

Huang, C. (1995). Socio-demographic determinants of seafood consumption patterns in the United States. *International Cooperation for Fisheries and Aquaculture Development: Proceedings of the 7th Biennial Conference of the International Institute of fisheries Economics and Trade,* National Taiwan Ocean University, Keelung, Taiwan.

Kaplan, E., Buhan, E. & Yelişayer, N. (2019). Mardin ilinde balık tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi: Kızıltepe örneği. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi,* 8(1), 59-73.

Karakaya, E. & Kırıcı, M. (2016). Bingöl ili kent merkezinde balık eti tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *International Journal of Social and Economic Sciences (IJSES)* (1), 74-85.

Kaya, Y., Duyar, H.A. & Erdem, M.E. (2004). Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 21(3-4), 365–370.

Kayri, M. & Boysan, M. (2008). Bilişsel yatkınlık ile depresyon düzeyleri ilişkisinin sınıflandırma ve regresyon ağacı analizi ile incelenmesi. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, 34*(34), 168-177.

Miran, B. (2003). Temel İstatistik. Ege Üniversitesi Basınevi, Bornova, İzmir.

Myrland, Ø., Trondsen, T., Johnston, R.S. & Lund, E. (2000). Determinants of seafood consumption in Norway: lifestyle, revealed preferences, and barriers to consumption. *Food quality and Preference, 11*(3), 169-188. DOI: 10.1016/S0950-3293(99)00034-8

Nauman, F.A., Gempesaw, C.M., Bacon, J.R. & Manalo, A. (1995). Consumer choice for fresh fish: factors affecting purchase decisions. *Marine resource economics, 10*(2), 117-142. DOI: 10.1086/mre.10.2.42629106

Newbold, P. (1995). Statistic For Business and Economics, Prentice-Hall. *Inc., NJ*.

Oğuzlar, A. (2004). CART analizi ile hane halkı işgücü anketi sonuçlarının özetlenmesi. *İktisadi ve İdari Bilimler Dergisi, 18*(3-4), 79-90.

Olgunoğlu, İ.A., Bayhan, Y.K., Olgunoğlu, M.P., Artar, E. & Ukav, İ. (2014). adıyaman ilinde balık eti tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi,* 9(1), 21-25

Orhan, H. & Yüksel, O. (2010). Burdur ili su ürünleri tüketimi anket uygulaması. *SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 7*(1), 1-7.

Özer, O.O., Yavuz, G.G. & Gül, U. (2016). Demographic Factors Influencing Consumer Preferences of Seafood Consumption: Central Anatolia Region. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 4*(5), 356-364. DOI: 10.24925/turjaf.v4i5.356-364.607

Öksüz, A., Alkan, Ş.B., Taşkın, H. & Ayrancı, M. (2018). Benefits of fish concumption for healty and balanced nutrition during lifelong time. *Food and Health*, 4(1), 43-62. 10.3153/JFHS18006

Sağlam, N.E. & Samsun, S.(2018). Yozgat ili su ürünleri tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi,* 14(1), 9-16. DOI: 10.22392/egirdir.303682

Sarıözkan, S. (2016). Türkiye'de balıkçılık sektörü ve ekonomisi. *Turkish Journal of Aquatic Sciences*, 31(1), 15-22. DOI: 10.18864/TJAS201602

Saygı, H., Saka, Ş., Fırat, K. & Katağan, T. (2006). İzmir Merkez İlçelerinde Kamuoyunun Balık Tüketimi ve Balık Yetiştiriciliğine Yaklaşımı. *Su Ürünleri Dergisi, 23*(1), 133-138.

Sun, J. & Li, H. (2008). Data mining method for listed companies' financial distress prediction. *Knowledge-Based Systems, 21*(1), 1-5. DOI: 10.1016/j.knosys.2006.11.003

Şahin, Y. (2011). AB ve iş dünyası: Balıkçılık sektörü. *İKV Değerlendirme Notu*(38).

Şenol, Ş. & Saygı, H. (2001). Su Ürünleri Tüketimi İçin Bir Ekonometrik Model. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 18*(3), 383-390.

TOB, 2019. Tarımsal Örgütlenme Tablosu (30.04.2019). T.C.Tarım ve Orman Bakanlığı Tarım Reformu Genel Müdürlüğü. Alıntılanma adresi: https://www.tarimorman.gov.tr/TRGM/Link/33/Tarimsal-Orgutlenme-Tablosu (21.05.2019):

TUİK. (2019). Adrese Dayalı Nüfus Kayıt Sistemi. Alıntılanma adresi https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn= 95&locale=tr (10.05.2019).

Ture, M., Tokatli, F. & Kurt, I. (2009). Using Kaplan–Meier analysis together with decision tree methods (C&RT, CHAID, QUEST, C4. 5 and ID3) in determining recurrence-free survival of breast cancer patients. *Expert Systems with Applications, 36*(2), 2017-2026. DOI: 10.1016/j.eswa.2007.12.002

Yavuz, G.G., Ataseven, Z.Y., Umut, G. & Gülaç, Z.N. (2015). Su Ürünleri Tüketiminde Tüketici Tercihlerini Etkileyen Faktörler: Ankara İli Örneği. *Yunus Araştırma Bülteni, 1*(5), 73-82. DOI: 10.17693/yunusae.v15i21955.235746

Yılmaz, E. (2018). The impotance of consumption of fish meat in early childhood period in terms of healthy development. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Fakültesi Dergisi*, 14(4), 357-364. DOI: 10.22392/egirdir.405244

Ziarko, W. (1991). The discovery, analysis, and representation of data dependencies in databases. *Knowledge discovery in databases*.

http://www.egejfas.org
Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37(1), 103-112 (2020)

Su Ürünleri Dergisi (2020)
DOI: 10.12714/egejfas.37.1.12

DERLEME REVIEW

Makroalglerin prebiyotik etkileri

Prebiotic effects of macroalgae

Zehra Torun[1] ● Belma Konuklugil[2*]

[1] Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan, ANKARA https://orcid.org/0000-0003-2779-6160
[2] Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı, 06100 Tandoğan, ANKARA https://orcid.org/0000-0002-4753-0450

*Corresponding author: belma.konuklugil@gmail.com
Received date: 12.07.2019 Accepted date: 09.10.2019

How to cite this paper:
Torun, Z. & Konuklugil, B. (2020). Prebiotic effects of macroalgae. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 37(1), 103-112. DOI: 10.12714/egejfas.37.1.12

Öz: Makroalgler, genellikle Asya ülkelerinde diğer besinler kadar tüketilmektedir. İçerdikleri oligosakkarit ve polisakkarit gibi karbonhidrat bileşiklerin, prebiyotikler olarak değerlendirilebileceği yönünde çalışmalar yapılmıştır. Prebiyotikler özellikle gastrointestinal sistemde bulunan faydalı mikroorganizmalar olarak tanımladığımız probiyotiklerin besin kaynaklarıdır. Prebiyotiklerin probiyotikler üzerinde oluşturdukları pozitif etkiler ile gastointestinal sistem ve dolayısı ile tüm vücut sistemleri sağlıklı bir dengede tutulmaktadır. Bu derleme, probiyotikler, prebiyotikler hakkında kısa bilgiler vermektedir ve yurdumuzda makroalglerin prebiyotikler olarak değerlendirilmesi yönünde planlanan çalışmalar için öncü bir çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Probiyotikler, prebiyotikler, makroalgler, polisakkaritler

Abstract: Macroalgae are seaweeds, which are often consumed as much as food in Asian countries. Studies have been made that carbohydrate compounds such as oligosaccharides and polysaccharides can be considered as prebiotics. Prebiotics are nutrient sources of probiotics that defined as useful microorganisms in the gastrointestinal tract especially. With the positive effects of prebiotics on probiotics, the gastointestinal system and thus all body systems are kept in a healthy balance. This review provides brief information about probiotics, prebiotics and is a pioneer in the studies on the evaluation of macroalgae as prebiotics in our country.

***Keywords*:** Probiotics, prebiotics, macroalgae, polysaccharides

GİRİŞ

Denizel ekosistemi etken maddeler için önemli ve eşsiz bir kaynaktır. İçerisinde bulunan hayvansal ve bitkisel kaynaklar yeni ilaç etken maddeleri için umut taşımaktadır. Sünger, tunikat, mercan ve diğer canlılar, deniz kaynaklı mantar ve bakterilerinin yanında makroalgler de büyük bir grubu oluşturmaktadır. Makroalgler genellikle kıyısal alanda veya bentik alanlarda bulunan ve çoğunlukla Asya ülkelerinde tüketilen yosunlardır. Makroalglerin besin olarak tüketilmesindeki en büyük etken taşıdıkları karbonhidrat bileşikleridir. Genel olarak oligosakkarit ve polisakkarit bileşiklerini içerirler. İçerdikleri en önemli bileşenler alginatlar, fukoidanlar, laminarinler, karragenanlar, agar ve porpiranlardır. Bu bileşenler insan sindirim sisteminde sindirim enzimleri bulunmadığından dolayı fermantasyona uğramaktadırlar. Bir bileşiğin mikroorganizma fermantasyonu sonucu ortamda gaz, asit veya alkol oluşmaktadır. Prebiyotik olarak değerlendirilmesi için bileşiğin sindirim sisteminin üst kısımlarında sindirime uğramadan bağırsaklara geçmesi, gastrointestinal sistem mikroorganizmaları tarafından fermantasyona uğramaları sonucu asit oluşturması gerekir. Konakladıkları vücuda fayda sağlayan mikroorganizmalar olan probiyotik canlılar bu prebiyotik bileşikler ile beslenerek vücut sistemleri üzerinde çeşitli yararlı etkilerde bulunurlar.

BULGULAR

Probiyotikler

Probiyotikler, temel kelime anlamı Yunancada 'yaşam için' anlamına gelip, ilk kez 1954 yılında bağırsak mikrobiyotasındaki antibiyotikler ve diğer antibakteriyel ajanlar ile karşılaştırılarak bazı yararlı bakterilerin faydalı etkileri olarak tanımlanmıştır. Daha sonra 1965 yılında diğer mikroorganizmaların büyümesini engelleyen mikroorganizmalar olarak nitelendirilmiştir (Lilly ve Stillwell, 1965; Markowiak ve Slizewska, 2017; Vergin, 1954). Yıllar içerinde birçok kez tanımı değişen probiyotikler 2002 yılında FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) çalışma grubu uzmanları tarafından formüle uygulandığında konakta bir sağlık yararı sağlayan seçilmiş mikroorganizmaların canlı suşları denilmiştir. 2013 yılında Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP) tarafından probiyotikler "Yeterli miktarlarda uygulandığında konakta bir sağlık yararı sağlayan seçilmiş mikroorganizmaların canlı suşları" şeklinde tanımlanmıştır (Hill vd., 2014; Markowiak ve Slizewska, 2017).

Probiyotik mikroorganizmalar çoğunlukla aşağıdaki bakteri türlerini kapsamaktadır: *Lactobacillus, Bifidobacterium ve Lactococus, Streptococcus, Enterococcus*. Ayrıca, *Bacillus* cinsine ait Gram-pozitif bakterilerin suşları ve *Saccharomyces* cinsine ait bazı maya suşları probiyotik ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Simon, 2005). Tablo 1'de probiyotik bakteri türleri verilmiştir (Markowiak ve Slizewska, 2017).

© Published by Ege University Faculty of Fisheries, Izmir, Turkey

Probiyotikler insan organizmasında sayısız avantajlı işleve sahiptirler. Temel avantajı, organizmanın normal fonksiyonu için gerekli olan patojenler ve bakteriler arasında dengenin sağlanmasını sağlayacak şekilde organizmada yaşayan mikrobiyotaların gelişimine etkisidir (Oelschlaeger, 2010; Schachtsiek vd., 2004).

Tablo 1. Probiyotik mikroorganizma örnekleri
Table 1. Probiotic microorganism samples

***Lactobacillus* Türü**	***Bifidobacterium* Türü**	**Diğer Laktik Asit Bakterileri**	**Diğer Mikroorganizmalar**
L. acidophilus [(a),(c)]	*B. adolescentis* [(a)]	*Enterococcus faecium* [(a)]	*Bacillus clausii* [(a),(c)]
L. amylovorus [(b),(c)]	*B. animalis* [(a),(c)]	*Lactococcus lactis* [(b),(c)]	*Escherichia coli* Nissle 1917 [(a)]
L. casei [(a),(b),(c)]	*B. bifidum* [(a)]	*Streptococcus thermophilus* [(a),(c)]	*Saccharomyces cerevisiae (boulardi)* [(a),(c)]
L. gasseri [(a),(c)]	*B. breve* [(b)]		
L. helveticus [(a),(c)]	*B. infantis* [(a)]		
L. johnsonii [(b),(c)]	*B. longum* [(a),(c)]		
L. pentosus [(b),(c)]			
L. plantarum [(b),(c)]			
L. reuteri [(a),(c)]			
L. rhamnosus [(a),(b),(c)]			

[(a)] Çoğunlukla farmasötik ürünler olarak; [(b)]Çoğunlukla besin desteği olarak; [(c)] QPS(Nitelikli Güvenlik Öngörüsü) mikroorganizmalar
[(a)] Mostly as pharmaceutical products; [(b)]Mostly as food supplement; [(c)] QPS(Qualified Presumption of Safety)

Uygun kriterleri sağlayan probiyotik canlı mikroorganizmalar; Fonksiyonel gıda üretiminde ve gıda ürünlerinin korunmasında kullanılırlar (Cremonini vd., 2002; Johnston vd., 2006). Örneğin probiyotikler, kontamine olmuş gıda ve ortamdan ileri gelen patojenik bağırsak mikrobiyota aktivitesine karşı koyar, böylece gıda zehirlenmelerinin önüne geçerler (Markowiak ve Slizewska, 2017). Antibiyotik tedavisinden sonra doğal mikrobiyotaların düzenlenmesi için etkilidirler (Cremonini vd., 2002; Johnston vd., 2006). Sindirim süreçleri, gıda alerjileri, kandidiazis ve diş çürüklerinin tedavisi üzerinde olumlu etki gösterirler. *Lactobacillus plantarum* (Li, P. ve Gu, 2016), *Lactobacillus reuteri* (Gu vd., 2015), *Bifidobacterium adolescentis* ve *Bifidobacterium pseudocatenulatum* (Pompei vd., 2007) gibi probiyotik mikroorganizmalar, B grubu vitaminlerin (B1, B2, B3, B6, B8, B9, B12) doğal üreticileridir. İmmünolojik sistemin etkinliğini arttırırlar (Nova vd., 2007). Vitamin ve mineral bileşiklerin emilimini artırırlar (Ouwehand vd., 1999). Organik asitlerin ve amino asitlerin oluşumunu stimüle ederler (Markowiak ve Slizewska, 2017; Nova vd., 2007; Ouwehand vd., 1999; Sanders vd., 2007). Esteraz, Lipaz ve Koenzim A, Koenzim Q, Koenzim NAD ve NADP gibi enzimler üretirler. Bazı metabolizma ürünleri de antibiyotik (asidofilin, basitrasin, laktasin), antikansrojenik ve immünsüpresif özellikler gösterebilirler (Markowiak ve Slizewska, 2017; Nova vd., 2007).

Probiyotiklerin en dikkat çekici özelliklerinden biri diğer mikroorganizmalara da etki etmesidir. Genellikle patojen etkili mikroorganizmalar ile bir yarış halinde olup ortam besininden patojen mikroorganizmaların beslenmesini engellerler ve/veya epitel hücreye diğer mikroorganizmalardan önce yapışıp bu zararlı mikroorganizmanın tutunarak koloni oluşturmasını ve böylece gelişerek patojen etkinliğini ortaya çıkarmasını önlerler. Bu sayede enfeksiyon profilaksisine, enfeksiyonların tedavisine ve konakçısının bağırsak mikrobiyotasının dengesini korumasına yardımcı olurlar (Markowiak ve Slizewska, 2017).

Yapılan bazı *in vitro* çalışmalar ile probiyotik mikroorganizmaların ürettiği düşük molekül ağırlıklı maddelerin (örn: Hidroperokit, kısa zincirli yağ asitleri(SCFA)) patojenlerin yeniden oluşumunu inhibe ettiği kanıtlanmıştır (Oelschlaeger, 2010). Ayrıca probiyotik bakteriler (örn: *Lactobacillus, Bifidobacterium*), yaşadıkları konakta üretilen safra tuzlarından daha güçlü antibakteriyel etki gösteren, safra asitlerinin türevi olan, de-konjuge safra asitlerini üretebilirler (Begley vd., 2006; Oelschlaeger, 2010)

Probiyotik suşların koagregasyon yetenekleri ile epitel hücreye yapışması, bir sinyal dalgalanmasını başlatarak ve/veya bazı çözünür bileşiklerin doğrudan ya da dolaylı (epitel hücreler aracılığıyla) olarak immünolojik hücreleri aktive ederler. Böylece immünolojik modilasyonu sağlarlar (Markowiak ve Slizewska, 2017; Schachtsiek vd., 2004). Probiyotik kaynaklı immünolojik uyarım ayrıca immünoglobulinlerin üretim artışı, makrofajların ve lenfositlerin artmış aktivitesi ve γ-interferon üretiminin uyarılması ile kendini gösterir. Probiyotikler, konjenital ve kazanılmış immünolojik sistemde, konakçıya ait özel hücreler (örn: Reseptörler ile donatılmış olanlar) tarafından tanınan, metabolitler, hücre duvarının bileşenleri ve DNA aracılığıyla etki edebilirler (Schachtsiek vd., 2004). Laktik asit bakterilerinin hücre duvarının bileşenleri makrofajların aktivitesini uyarır. Bunlarda, serbest oksijen radikalleri ve lizozomal enzimlerin üretimini artırarak mikropları yok edebilirler (Antioksidan etki). Probiyotik bakteriler aynı zamanda sindirim sistemindeki sitokinlerin gastrointestinal sistemdeki immünokompetan hücreler (antijenlere karşı antikor üreten hücrelerdir) tarafından üretilmesini teşvik ederek sitokinlerin üretimini artırabilirler. Ayrıca mayanın immünolojik aktivitesini, hücre duvarlarında bulunan retiküloendotelyal (makrofaj) sistemin yanıtını uyaran

glukanlar oluşturmaktadır (Markowiak ve Slizewska, 2017; Marteau ve Shanahan, 2003).

Gut mikrobiyotasında bulunan konakçı metabolik süreçlerde (örn: kolesterol emilimi, kan basıncı (KB) ve glikoz metabolizmasının düzenlenmesi) önemli bir rol oynar ve son zamanlarda yapılan metagenomik araştırmalar, konakçı immün modülasyonunda yer aldıklarını ve ev sahibi gelişiminde ve fizyolojisinde (organ gelişimi) etkili olduklarını ortaya çıkarmıştır (Khalesi vd., 2014; Ruan vd., 2015; Upadrasta ve Madempudi, 2016).

Probiyotiklerin gösterdiği bu etkiler sonucunda, bakteriyel toksinlerin üretimi engellenir, bakteriyel toksinlerin üretimini engellerken aynı zamanda vücuttan toksinlerin uzaklaştırılmasına yardımcı olur. Vücuttan adsorpsiyon ile detoksidasyon gerçekleşebilir (bazı suşlar, toksinleri hücre duvarlarına bağlayabilir ve toksinlerin bağırsak emilimini azaltabilir), ancak mikroorganizmalar tarafından mikotoksinlerin (örn: aflatoksin) metabolizmasından da kaynaklanabilir (McCormick, 2013; Nikbakht Nasrabadi vd., 2013). Fakat tüm probiyotikler, suş ile ilgili bir özellik olduğundan, detoksifiye edici özellikler sergilemezler. Bu nedenle bu özelliklere sahip suşları seçmek için çalışmalar yapılmalıdır (Oelschlaeger, 2010). Ayrıca, çoklu probiyotik suşlar alerjik hastalık, kolit, romatoid artrit, kolorektal kanser, depresyon, anksiyete gibi farklı patolojik durumlarda farklı immünomodülatör aktivite gösterdikleri son dönemde yapılan çalışmaları ile desteklenmektedir (Yahfoufi vd., 2018).

Prebiyotikler

Prebiyotikler, 1995 yılında mide bağırsak sisteminde bulunan tek bir türün veya sınırlı miktarda mikroorganizmanın büyümesi ve/veya aktivitesinin uyarılması yoluyla, bir konakçının sağlık durumunu iyileştiren sindirilmemiş gıda bileşenleri olarak tanımlanır (Gibson ve Roberfroid, 1995). 2004 yılında gastrointestinal sistemdeki mikroorganizmaların yapısında ve/veya aktivitesinde spesifik değişmelere yol açan konakçı sağlığı ve refahına faydalı seçilmiş fermente bileşikler olarak değerlendirilmişlerdir (Gibson vd., 2004). Son olarak 2007 yılında FAO ve WHO tarafından 'mikrobiyotanın değişimi ile ilişkili konakçıda bir sağlık yararı sağlayan sindirilmeyen bir gıda bileşeni' olarak tanımlanmıştır (Markowiak ve Slizewska, 2017; Pineiro vd., 2008).

Prebiyotikler sindirim sisteminin üst kısımlarında sindirime uğramadan ve/veya kısmi sindirime uğrayarak bağırsak sistemine geçer. Burada bağırsak mikrobiyotası tarafından seçici olarak fermantasyona uğrar. Fermantasyon, kısa zincirli yağ asitlerinin üretiminin artmasına veya miktarında bir değişime, dışkı kütlesinin artmasına, kolonik PH'ın ölçülü azalmasına, azotlu son ürünlerin ve fekal enzimlerin azalmasına ve konakçı için yararlı olan immünolojik sistemin gelişimine yol açarak konakçı sağlığı üzerinde olumlu bir etki oluşmasını sağlar. Sağlığın korunmasında ve devamlılığında bağırsak bakterilerinin büyümesi ve/veya aktivitesinin seçici uyarımı bir başka etkendir. Prebiyotiklerin bir gıda ürünü olarak kullanılabilmesi için gıda işleme koşullarına dayanabilmesi ve değişmemiş, bozulmamış veya kimyasal olarak değiştirilmemiş ve bağırsakta bakteriyel metabolizma için mevcut olması gerekmektedir (Katia vd., 2014; Van den Abbeele vd., 2013).

Tanımlanmış prebiyotiklerin çoğu, insan ve hayvan diyetlerinde doğal olarak meydana gelen çeşitli moleküler yapıların karbonhidratlarıdır. Diyet lifi gibi karbonhidratlar potansiyel prebiyotiklerdir. Bunlara potansiyel diyoruz çünkü prebiyotikler bir diyet lifi olabilir, ancak diyet lifi her zaman bir prebiyotik değildir. Bunun nedeni ise, prebiyotiklerin tam olarak tanımlanmış mikroorganizma grupları tarafından fermente edilmesi ve besin lifinin kolon mikroorganizmalarının çoğu tarafında kullanılmasıdır (Markowiak ve Slizewska, 2017; Ouwehand vd., 2005).

Meyve, sebze, tahıl ve diğer yenebilir bitkiler potansiyel prebiyotikleri oluşturan karbonhidrat kaynaklarıdır. Domates, enginar, muz, kuşkonmaz, çilek, sarımsak, soğan, hindiba, yeşil sebzeler, baklagiller, yulaf, keten tohumu, arpa ve buğday gibi kaynaklardan bahsedilebilir. Birbirine bağlanan monomerlerin sayısına göre prebiyotikler, disakkaritler (2 monomer), oligosakkaritler (3-10 monomerler) ve polisakkaritler (10'dan fazla monomer) şeklinde sınıflandırılabilirler. *İn vivo* ve *in vitro* çalışmalarca fruktooligosakkaritler (FOS), galaktooligosakkaritler (GOS), izomaltooligosakkaritler (IMO), ksilooligosakkaritler (XOS), transgalaktooligosakkaritler (TOS) ve soya oligosakkaritleri (SBOS) içeren oligosakkaritler prebiyotik maddelerin sınıflandırılması için hem en umut verici hem de uygunluk kriterlerini taşıdığı tespit edilmiştir (Annison vd., 2003; Patterson ve Burkholder, 2003). Ayrıca, inülin, yeniden kullanılabilir nişasta, selüloz, hemiselüloz veya pektin gibi polisakkaritlerin potansiyel prebiyotikler olabileceği düşünülürken, glukooligosakkaritler, glikooligosakkaritler, laktitol, izomaltooligosakkaritler, nişasta, rafinoz ve sakkaroz polisakkaritlerinin kullanımıyla oluşan prebiyotik etkiler üzerine yapılan çalışmalar devam etmektedir (Baurhoo vd., 2007). Doğal besinlerin yanı sıra bazı yapay üretim sonucu elde edilen prebiyotikler: laktuloz, galaktooligosakkaritler, fruktooligosakkaritler, maltooligosakkaritler, siklodekstrinler ve laktosakkarozdur. Üretilen oligosakkaritlerin önemli bir kısmını (% 40 kadar) laktuloz oluşturur. Ayrıca, inulin ve oligofruktoz gibi fruktanlar birçok probiyotik türüyle kombine olarak en çok kullanılan ve daha etkili olduğu düşünülen yapay üretim prebiyotiklerdir (Markowiak ve Slizewska, 2017).

Prebiyotiklerin genel etkilerine bakacak olursak; Gastrointestinal kanalda bulunan asitler, proteazlar ve safra tuzlarına karşı direnç göstererek bağırsak bakterileri üzerindeki etkinliğini sağlarlar. Konakçının bağırsak ekosisteminde bulunan mikroorganizmaları seçici olarak uyarır, böylece bakterilerle rekabeti ortadan kaldırır. Bağırsak mikroorganizmanın uyarımı ile sağlık yararı sağlayan kısa zincirli yağ asitlerinin (SCFA) seviyesi etkilenir ve fermantasyon aktivitelerini belirlenmiş olur. Çoğunlukla magnezyum ve kalsiyum olmak üzere minerallerin emilimini

arttırdığı da gösterilmiştir. Bağırsak PH'sını azaltarak bağırsakta suyun osmotik tutulumunu sağlarlar. Seçilmiş patojenlerin eliminasyonu etkisi ile antibiyotiklere alternatif olarak görülürler. Uzun vadede profilaktik olarak tüketilebilirler. Inülin ve oligofruktoz üzerine yapılan bazı çalışmalarda, kan LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein) seviyesinin azaltılması, immünolojik sistemin uyarılması, kalsiyumun emiliminin artması, doğru intestinal PH değerinin korunması, düşük kalori değeri ve peptik ülser ve vajinal mikoz semptomların hafifletilmesi, karsinogenezin önlenmesi, laktoz intoleransının veya diş çürüğü tedavisinin desteklenmesi gibi etkiler gösterdikleri bulunmuştur (Socha vd., 2002) Kolorektal karsinom üzerine yapılan çalışmalar, hastalığın sıklıkla sebze ve meyveyi yiyen kişilerde daha az görüldüğünü göstermiştir. Bu etki çoğunlukla inülin ve oligofruktoza atfedilmiştir. İnülinin uzun süreli düzenli kullanımda hepatik metabolizma üzerindeki etkisi ve asetil-CoA karboksilaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz inhibisyonu ile ilişkili olarak kan triaçilgliserol ve kan VLDL (çok düşük yoğunluklu lipoprotein) düzeylerini (triaçilgliseroller % 27 ve kolesterol % 5 oranında) azalttığı kanıtlanmıştır. Oligofruktozun lipit katabolizmasını hızlandırdığı da düşünülmektedir (Markowiak ve Slizewska, 2017). Bu tür faydalı etkilerinin yanı sıra aşırı dozda prebiyotik tüketimi mide gazı, diyare, UV ışığa duyarlılık ve antibiyotiklerin neden olduğu karaciğer zararı gibi bazı olumsuzluklara neden olmaktadır. Lipid metabolizmasının modülasyonuna, kalsiyumun emilebilirliğinin artmasına, immünolojik sistem üzerindeki etkisine ve bağırsak fonksiyonunun modifikasyonuna bağlı olarak prebiyotiklerin tüketimi, bağırsak mikrobiyotasını ve metabolik aktivitesini büyük oranda etkiler. Prebiyotiklerin moleküler yapısı, bu moleküllerin fizyolojik etkilerini ve bunları bağırsakta karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilen mikroorganizma çeşitlerini belirler. Prebiyotik aktiviteyi gösteren karbonhidratların çeşitliliğine rağmen, uygulamalarının etkisinin, çoğunlukla *Bifidobacterium* cinsi bakterilerin artırdığı kanıtlanmıştır (Schiffrin vd., 2007; Vulevic vd., 2008).

Prebiyotiklerin temel amacı, gastrointestinal sistemdeki fungal bakterilerin büyümesini ve aktivitesini uyarmaktır. Karbonhidrat metabolizmasının sonuç ürünleri çoğunlukla SCFA'lardır: asetik asit, bütirik asit ve propiyonik asit, daha sonra konakçı tarafından enerji kaynağı olarak kullanılır (Grajek vd., 2005). Karbonhidratların fermantasyonu sonucunda, *Bifidobacterium* veya *Lactobacillus* gastrointestinal patojenlerin gelişmesini engelleyen bazı bileşikler üretebilir, ayrıca bağırsak PH'ında bir azalmaya neden olabilirler. Ayrıca, *Bifidobacterium* cinsi bakteriler üretilen SCFA'lara tolerans gösterir ve PH'ı düşürür. Bu nedenle, yararlı bağırsak bakterilerinin gelişmesine olumlu etkileri nedeniyle, prebiyotik uygulanması patojenlerin inhibisyonuna katkı sağlar. Prebiyotiklerin patojenlerin gelişiminin inhibisyonuna ilişkin çok az sayıda belgelenmiş çalışma sonucu vardır (Markowiak ve Slizewska, 2017).

Makroalgler

Deniz yosunları olarak bilinen makroalgler genellikle kıyılarda veya bentik bölgede dağılım gösteren su bitkileridir. Yaprak, kök, gövde, dal, çiçek ve iletim demetlerini bulundurmayarak makroalgler, deniz çayırları ve deniz mangrovları gibi diğer deniz bitkilerinden farklılık gösterirler (Diaz-Pulido ve McCook, 2008). Deniz yosunları, II. Dünya Savaşı'ndan bu yana, insanlığın yararına olan potansiyel biyoaktif bileşikleri ile tanınmaktadır. Özellikle Japonya, Filipinler, Malezya, Singapur, Tayland, Amerika Birleşik Devletleri, Avustralya, Hindistan ve kıyı şeridi uzun olan Avrupa ülkeleri gibi, dünya üzerindeki kıyısal alanlarda çok çeşitli şekil ve türde deniz yosunları mevcuttur (Sudhakar vd., 2019). Makroalgler, genel olarak üç farklı filum altında toplanırlar. Bu filumlar Rhodophyta, Ochrophyta ve Chlorophyta olarak adlandırılır. Rhodophyta (Kırmızı algler), Yunanca "rhodo" dan ve "bitki" anlamına gelen "phyton" dan "kırmızı gül" anlamına gelir. Ochrophyta (Kahverengi algler), sınıfı Phaeophceae, "kahverengi" veya "karanlık" anlamına gelen Yunanca "phaios" dan adlandırılmıştır. Daha önce Phaeophyta ve Heterokontophyta olarak sınıflandırılmıştır. Chlorophyta (Yeşil algler), "yeşil" anlamına gelen Yunanca "chloro" dan türetilmiştir. Taksonomik sınıflandırmaları genellikle içerdikleri fotosentetik pigmentlere göre yapılmaktadır (Diaz-Pulido ve McCook, 2008).

Doğal ve çevre dostu özellikleri nedeniyle makroalgler, son yıllarda gıda, ilaç, gübre, filtrasyon ve endüstriyel olarak yaygın şekilde kullanılmış, özellikle enfeksiyon önleyici, yaşlanma karşıtı, cilt beyazlatıcı ajanların yanı sıra cilt tümörü tedavilerinde kullanım potansiyeli yüksektir (Chen vd., 2018). Yosunlardaki başlıca biyokimyasal bileşikler arasında karbonhidratlar, proteinler, mineraller (mikro ve makro elementler) ve bitki büyüme destekleyicileri bulunur. Yosunlarda bulunan karbonhidratlar agar, aljinat, fukoidan, laminarin, ulvan, selüloz, karragenan, vb gibi polisakaritlerdir. Fikobiliproteinler pigment proteinleridir, çeşitli uygulamalarda kullanılabilirler. Mikro ve makro elementler gibi mineraller deniz yosunlarında bol miktarda bulunur (Sudhakar vd., 2019). Polisakaritler, antioksidan, hipolipidemik ve immünomodülatör faaliyetler dahil olmak üzere birçok makroalgin fonksiyonuna katkıda sağlamaktadır. Birçok çalışma, makroalglerden çıkarılan polisakaritlerin, çoğunlukla fukozdan oluşan sülfatlanmış heteropolisakaritlerin bir takımyıldızı olduğunu göstermiştir (Chen vd., 2018).

Makroalglerin Prebiyotik Bileşikleri

Denizel ortam içerdikleri biyoaktif bileşikler açısından büyük ve önemli bir kaynaktır. Deniz yosunları ve omurgasızlar dahil olmak üzere denizel ürünler, hem geçmişte hem de günümüzde Doğu ülkelerinde (Çin, Kore ve Japonya) günlük diyetin önemli bir bölümünü temsil etmektedir (Chang vd., 2015). Gıda katkı maddeleri olarak, yosunlar ve omurgasızlar diyet lifleri açısından zengindir (O'Sullivan vd., 2010). Aljinat ve agaroz gibi makroalglerden veya kondroitin sülfat ve kitin gibi hayvandan türetilen

polisakkaritlerin insan sağlığı üzerinde yararlı etkilere sahip oldukları kanıtlanmıştır (Mohamed vd., 2012). Günümüzde dünya çapında gıda ve ilaç endüstrilerinde nutrasötikler olarak kullanılmakta olan prebiyotik kaynaklarıdır (Suleria vd., 2015; Wells vd., 2017).

Karbonhidratlar ve polisakkaritler günlük diyetimizin önemli bir bölümünü oluştururlar (Sonnenburg ve Sonnenburg, 2014). Bununla birlikte, insanlar ve diğer memeliler için, nişasta ve basit şekerler (glikoz, sükroz ve laktoz) gibi bu besin maddelerinin sadece az bir miktarı, genomumuz tarafından kodlanan enzimler tarafından doğrudan işlenebilir (Kaoutari vd., 2013). Genomumuzda kompleks karbonhidratlardan olan denizel polisakkaritlerini işlemede kullanılan enzimler için genler kodlanmamış olduğundan, bu glikanların metabolizması ve yerleşimi daha sonra genomu farklı karbonhidrat-aktif enzimleri (CAZymes) kodlayan sayısız gen içeren bağırsak mikrobiyotaları ile gerçekleştirilir (Kaoutari vd., 2013). CAZymes, bağırsaktaki sindirilmeyen polisakkaritleri parçalayabilir ve fermente edebilir. Bu nedenle, oral alımdan sonra, emilmeyen denizel glikanları, bağırsak mikroorganizmalarının metabolik yollarına dahil edilir ve büyüme substratları olarak işlev görür (Shang, Q. vd., 2018).

Denizel polisakkaritlerinin gut mikrobiyota degradasyonu ve bağırsak ekolojisi üzerindeki etkilerine bakacak olursak diyet denizel polisakkaritleri emilmez ve gastrik ve bağırsak enzimleri tarafından işlenemez. Alt gastrointestinal sisteme geçtikten sonra, bağırsaktaki mikroplar tarafından parçalanır ve fermente edilir. Denizel polisakkaritlerinin degradasyonu, absorbe edilebilen ve tedavi edici bir etki yaratabilen önemli miktarda oligosakkarit üretir. Denizel polisakkaritlerinin ve oligosakkaritlerinin fermantasyonu, SCFA'ları ve diğer metabolitleri üretir. SCFA'lar kolayca emilir ve konakçıda pozitif sistematik fizyolojik bir etki oluşturabilir. Fermantasyon işlemi sırasında, denizel polisakkaritleri ve oligosakkaritleri sınırlı sayıda yerli bakterinin (örn: *Bifidobacterium spp*. ve *Lactobacillus spp*.) büyümesini veya aktivitesini sadece uyarır, bağırsak mikrobiyomunun bileşimi değişir. Bağırsak ekolojisindeki bu değişiklikler, konakta da yararlı bir etki yaratabilirler (Shang, Q. vd., 2018).

Makroalgal polisakkaritlerinin kimyasal yapıları kapsamlı bir şekilde tarif edilmiştir. Başta bir gıda deposu olarak işlev görmesinin yanında, hücre duvarlarında yer alan, nispeten yüksek moleküler ağırlıklı polisakaritlerin temel işlevleri, deniz dalgasının etkisine dayanacak direnç ve esnekliğin sağlanması, hücrede iyonik dengenin muhafaza edilmesi ve hücre desikasyonunun önlenmesini içerir. Polisakkaritlerin oluşumları mevsim, yaş, tür ve coğrafi bölgeye göre değişir. Çok çeşitli kimyasal yapılarda bulunurlar, ancak bazı genel özellikler tanımlanmıştır. Hidroksil (-OH) grupları bakımından zengindirler, onları hidrofilik ve çoğu zaman suda çözünür hale getirirler ve zincir içi H-bağları kurdukları için kıvam arttırıcılar gibi uygun yapısal bütünlüğü ve dayanıklılığı sağlarlar. Yapılarının düzenliliği ayrıca dış iyonlarla ve zincirler arası H-bağı etkileşimini (örn: Jelleşme) arttırır (O'Sullivan vd., 2010).

Spesifik olarak, deniz makroalgleri, hem insan hem de hayvan sağlığı uygulamaları için potansiyel prebiyotiklerin fonksiyonel bileşikleri olarak yararlanılabilecek polisakkaritler bakımından zengindir (O'Sullivan vd., 2010). Prebiyotik ve dolaylı olarak probiyotik etkinlik gösteren deniz kaynaklı bileşikleri alginatlar, laminarin, fukoidanlar, karragenan, agar ve porpiran olarak sınflandırabiliriz.

Alginatlar

Kahverengi makroalglerin başlıca yapısal polisakkariti olan alginat, en çok hücre duvarında bulunan bir anyonik asittir. Aljinik asit olarak da adlandırılan alginat, zincir boyunca düzenli olarak blok şeklinde olmayan bir düzende düzenlenmiş 1,4-bağlantılı *β*-D mannuronik asit ve *α*-L-gluronik asit yapılarını içeren doğrusal bir polisakarittir (O'Sullivan vd., 2010). Gut ekolojisinde istenen fizikokimyasal özellikleri ve iyi bilinen biyolojik etkilerinden dolayı gıda katkı maddeleri ve fonksiyonel gıda maddeleri olarak yaygın bir kullanıma sahiptir (O'Sullivan vd., 2010; Shang, Q. vd., 2018). Alginatın bağırsak mikroorganizmaları özellikle özel bir bakteri olan *Bacteroides ovatus* tarafından fermantasyonu sonucu, önemli miktarda kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) üretilir. SCFA'ların bağırsak epitel hücreleri ve bağışıklık hücreleri için kritik bir enerji kaynağı olmaları, bağırsak sağlığının korunmasında ve kolon hastalıklarının gelişiminin önlenmesinde önemli bir yere sahip olması nedeniyle alginatlar genellikle gıda ve beslenme ürünlerinde olumlu sonuçlar verebilen fonksiyonel bir gıda kaynağı olarak tüketilmektedirler (O'Sullivan vd., 2010; Shang, Q. vd., 2018). Yapılan daha önceki çalışmalarla alginatın ve daha düşük molekül ağırlıklı türevlerinin *B. ovatus* bakterisinin yanı sıra bağırsaktaki *Bifidobacterium spp ve Lactobacillus spp* türlerinin de büyümesini uyardığı kanıtlanmıştır (Ramnani vd., 2012). Diyet içinde kullanılan aljinatın, bağırsakta *Bacteroides capillosus*'un varlığını spesifik olarak arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca, aljinatın bağırsak mikrobiyota fermentasyonu, bağırsak çürümesini büyük ölçüde inhibe ettiği ve kalın bağırsakta indol, H_2S ve fenol gibi toksik bileşiklerin üretimini önemli ölçüde azalttığı çalışmalarca kanıtlanmıştır (Shang, Q. vd., 2018).

Laminarin

Laminarin kahverengi alglerde bulunan β-1,3-glukan yapılı lineer bir polisakkarittir (Devillé vd., 2004). Bağırsak mikrobiyotası tarafından kolayca fermente edilirken ayrıca *Bacteroides* cinsinden, *B thetaiotaomicron*, *B distasonis* ve *B fragilis* gibi spesifik bakterilerin, laminarinaz ve β-glukozidaz üreterek laminarini metabolize edebileceği çalışmalarca kanıtlanmıştır. Bunun yanı sıra diyet içinde kullanılan laminarin, bağırsaktaki *Bifidobacterium spp* ve *Lactobacillus spp*'nin büyümesini önemli derecede etkilemiştir (Kuda vd., 2009). Yapılan çalışmalarla laminarinin aljinattan çok daha fazla mayalanabilir (veya fermente) olmasından dolayı,

çürümüş maddelerin üretimini inhibe etmede laminarinin aljinattan daha yetenekli olduğu kanıtlanmıştır. Yapılan *in vivo* çalışma sonucu laminarinin domuz gastrointestinal kanalında Gram negatif patojenik bakterilerden *Enterobacterium spp*'yi azaltmış olduğu bulunmuştur (O'Sullivan vd., 2010; Shang, Q. vd., 2018).

Fukoidan

Kahverengi alglerde bulunan çeşitli biyolojik etkilere sahip yüksek derecede sülfatlanmış heterojen bir polisakkarittir (Ale vd., 2011). Karmaşık kimyasal yapısından dolayı insan ya da bakteriyel enzimler tarafından sindirilmezler (Nagamine vd., 2014). Fukoidan bağırsak mikrobiyota ile fermente edilemediğinden, bağırsak mikroplarının büyümesini teşvik etmek için bir karbon kaynağı olarak da kullanılamaz. Ancak diyet içinde kullanılan fukoidan, deney hayvanlarının hem proksimalinde hem de distal kolonunda *Lactobacillus spp* bolluğunu artırabilen prebiyotik benzeri bir etkiye sahiptir (Lynch vd., 2010). Bunu ise SCFA bağırsak konsantrasyonunu arttırarak gerçekleştirmektedir. Yapılan çalışmalarla, fukoidan uygulamasının bağırsak mikrobiyotalarını modüle ettiği, çekumdaki *Lactobacillus spp* popülasyonunu arttırdığı ve bağırsak mikrobiyota modülatörü olarak kullanımını desteklediği tespit edilmiştir. Yine de tüm fukoidanların intestinal ekolojide eşdeğer faydalar göstermediği unutulmamalı, fukoidan'ın kimyasal yapısına ve kullanılan alg türüne göre değerlendirilmelidir (Shang, Qingsen vd., 2016; Zaporozhets vd., 2014). Örneğin, *Ascophyllum nodosum*'dan elde edilen (veya izole edilen) fukoidan, bağırsaklardaki *Lactobacillus spp*'nin büyümesini desteklerken, *Laminaria japonica*'dan elde edilen fukoidanın böyle bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Shang, Q. vd., 2018; Shang, Qingsen vd., 2016).

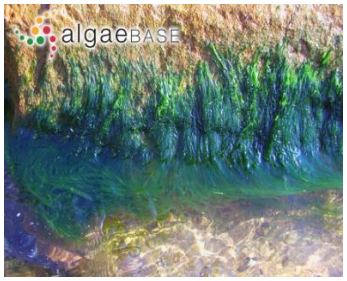
Karragenan

Karragenan esas olarak kırmızı alglerden izole edilen sülfatlanmış polisakkarittir (Tobacman, 2001). Karragenan mide ve bağırsak sıvısı tarafından hidrolize edilemez ve ayrıca insan bağırsak enzimleri tarafından hidrolizi etkisizdir (Weiner, 2014). Bu nedenle, oral yolla uygulanan karragenan metabolizması büyük ölçüde bağırsak mikrobiyotası tarafından gerçekleştirilir. Düşük molekül ağırlıklı karragenanın, yani poligenanın, kolon için toksik olan bir proinflamatuar ajan olduğu genellikle kabul edilmektedir (Tobacman, 2001; Tobacman vd., 2008). Bu bağlamda, karragenanların bağırsak mikropları tarafından poligenan veya karragenan oligosakkaritlerine biyotransformasyonu önemlidir. *İn vitro* çalışmalarda karragenanın bakteri canlılığı üzerine herhangi bir etkinliği olmamasına rağmen sıçanların körbağırsağında *Enterobacteria spp, Staphylococci spp, Streptococci spp, Lactobacillus spp* ve diğer fakültatif anaerobların konsantrasyonlarını belirgin şekilde azalttığı bulunmuştur. Karragenan ile beslenen canlının çekal içeriğinde azoreduktaz, β-glukosidaz, β-glukuronidaz, nitrat redüktaz ve nitroredüktaz enzim aktivitelerinin yüksek oranda azaldığı tespit edilmiştir (Shang, Qingsen vd., 2017). Molekül ağırlığına göre düşük molekül ağırlıklı karragenanlar bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edilmiş ve oluşan sekonder ürünlerin kullanılamamasına rağmen ortam oksijenini hızlı bir şekilde tüketmiştir (Li, M. vd., 2017). Probiyotik etkinliği bulunan anaerob bakteriler için uygun bir ortam oluşturarak dolaylı bir şekilde probiyotik etkinlik göstermişlerdir. Bozulmuş karragenanların GİS (gastrointestinal sistem) ve gastrointestinal kanserde ülserasyonlara neden olabileceği bildirilmiştir (O'Sullivan vd., 2010). Böylece karragenanların probiyotik etkinliği üzerine daha fazla çalışmaların yapılması gerekliliği ortaya konulmuştur (Shang, Q. vd., 2018).

Agar ve Porpiran

Agaroz, *Gracilaria* ve *Gelidium*; Porpiran ise *Porphyra* gibi kırmızı alg türlerinden elde edilen lineer polisakkaritlerdir (Fu ve Kim, 2010; Hehemann, J. vd., 2012). *Porphyra spp, Gracilaria spp* ve *Gelidium spp*, Çin, Kore ve Japonya'da geleneksel olarak deniz sebzeleri olarak tüketilen yenilebilir yosunlardır (Hehemann vd., 2010). Diyet lifleri olarak, agaroz ve porpiran, insan bağırsak enzimleri tarafından sindirilememektedir (Hehemann, J.-H. vd., 2012). Bu nedenle, ister deniz sebzesi olarak direkt çiğ tüketilsin ister gıda katkı formunda hazırlansın, bu grup algler tüketilip alt gastrointestinal sisteme girdiğinde bağırsak mikrobiyotası ile fermente edilir ve metabolize edilir (Shang, Q. vd., 2018). Ancak yapılan bazı çalışmalarda bağırsak mikroplarında, örneğin porfiriyazlar ve agarozlarda CAZymes (karbonhidrat-aktif enzimleri) için kodlama yapan spesifik genlerin, Japon bireylerde bulunan *Bacteroides plebeius* bakterisine deniz kaynaklı *Bacteroidetens*, *Zobellia galaktanivorans'*dan aktarılabileceği bulunmuştur. Bu şekilde Japon insanların mikrobiyotaları, Kuzey Amerika'daki bireylerdeki bağırsak mikrobiyotalarına kıyasla porpiran ve agarozu bozma yeteneği kazanmıştır. Japonların bağırsakların dışında yaşayan diğer mikroplardan yeni genleri almasının nedeni olarak muhtemelen Japonya'da bir gıda olan sushi hazırlamakta kullandıkları değerli bir besinsel deniz yosunu *Porphyra spp* (nori)'yi fazla miktarda yemeleri olarak düşünülmektedir (Hehemann vd., 2010; Hehemann, J. vd., 2012). Düşük moleküler ağırlıklı agarozun (∼64,64 kDa) *in vitro* olarak *Bifidobacterium spp* gelişimini destekleyebildiği ve ortamdaki SCFA konsantrasyonlarını artırabildiği yapılan çalışmalarla bulunmuştur (Ramnani vd., 2012) Agarozun enzimatik hidrolizinden elde edilen neoagaro-oligosakaritlerin (NAOS) polimerizasyon derecesine bağlı olarak prebiyotik aktivite gösterdiği, frukto-oligosakkaritlere göre bağırsakta *Bifidobacterium spp* ve *Lactobacillus spp* gelişimini daha çok etkilediği tespit edilmiştir (Hu vd., 2006). Ayrıca, neoagarotetraoz takviyesinin, SCFA'ların bağırsak konsantrasyonlarını derinlemesine arttırdığı ve bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek yoğun egzersiz kaynaklı yorgunluğa karşı koruyucu olması yeni bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (Ramnani vd., 2012; Zhang vd., 2017). Bu veriler agaro-oligosakkaritlerin prebiyotiklerin yeni kaynakları olarak kullanımını desteklemektedir (Chen vd., 2018; Shang, Q. vd., 2018).

Tablo 2. Prebiyotik etkili makroalg örnekleri
Table 2. Macroalgae samples with prebiotic effects

CHLOROPHYTA (YEŞİL ALGLER)		
		
Ulva compressa (Guiry, 2019)	*Enteromorpha (Ulva) prolifera (Guiry, 2019)*	*Monostroma nitidum (Guiry, 2019)*
Ulva spp (U. compressa, U. lactuca, U. pertusa, U. recitulata, U. rigida) Kükürtlü polisakkaritlerin fermantasyonu sonucu immünomodülatör etkinlik görülür (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016)		
Enteromorpha spp. kükürtlü ulvan, kükürtlü ramnan polisakkaritleri sonucu immünomodülatör etkiye destek olunur (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016). Ayrıca *Enteromorpha prolifera* fermantasyonu sonucu önemli miktarda laktik asit ve SCFA üreterek *Enterobacter spp* ve *Lactobacillus spp*'nin bağırsak bolluğunu arttırmaktadır (Kong vd., 2016).		
Monostroma spp (M. latissimum, M. nitidum, Kükürtlü ramnan fermantasyonu sonucu immünomodilatör etki görülür (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).		

RHODOPHYTA (KIRMIZI ALGLER)		
Gracilaria domingensis (Fricke ve Camacho, 2008)	*Porphyra umbilicalis (Guiry, 2019)*	*Soliera chordalis (Guiry, 2019)*
Gracilaria spp (G. changii, G. domingensis, G. Verrucosa(G. gracilis)) Kükürtlü polisakkaritlerin fermantasyonu immünomodilatör etki sağlar (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).		
Porphyra spp (P. tenera, P. yezoensis, P. umbilicalis) Kükürtlü polisakkaritlerin fermantasyonu sayesinde immünomodilatör etki düzenlenir (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).		
Soliera spp (S. chordalis) Düşük molekül ağırlıklı kükürtlü polisakkaritlerin fermantasyonu immünomodilatör etki sağlar (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).		

OCHROPHYTA (KAHVERENGİ ALGLER)			
Ascophyllum nodosum (Guiry, 2019)	*Durvillaea antarctica (Chamisso)* (Guiry, 2019)	*Ecklonia radiate* (Guiry, 2019)	*Fucus evanescens* (Guiry, 2019)
Kappaphycus striatus (Guiry, 2019)	*Laminaria digitata* (Guiry, 2019)	*Osmundea pinnatifida* (Guiry, 2019)	*Undaria pinnatifida* (Guiry, 2019)
Ascophyllum spp (A. nodosum) Kükürtlü fukan ve kükürtlü laminarin fermantasyonu immünomodilatör etkiyi sağlar (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).			
Durvillaea antarctica (Chamisso) polisakkaritlerinin fermantasyonu sonucu, di-, tri- ve tetrasakkarit dahil olmak üzere bir dizi oligosakkarit ile faydalı etkilerinin yanısıra gastrointestinal kanaldan kolayca emilir (Shang, Q. vd., 2018).			
Ecklonia radiata; fukoidan ve aljinat polisakkaritlerinin karışımı ile patojenik *Enterococcus* bakterilerinin sayısını azaltır; SCFA üretimini artırır; ince bağırsakta tam olarak sindirilemeyen florotanninler (polifenoller) kalın bağırsakta diğer fenolik bileşiklere dönüşerek prebiyotik etkinlik gösterir (Charoensiddhi vd., 2017; Charoensiddhi vd., 2016).			
Fucus spp (F. spiralis, F. vesiculosus, F. evanescens) Kükürtlü fukan ve kükürtlü laminarin fermantasyonu sonucu immünomodülatör etki oluşur (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).			
Kappaphycus spp (K. striatus) Düşük molekül ağırlıklı karragenanların fermantasyonu ile immünomodülatör etki görülür (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).			
Laminaria spp (L. digitata, L. japonica, L. cichorioides, L. saccharina) Kükürtlü laminarin fermantasyonu immünomodilatör etkilidir (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).			
Osmundea pinnatifida enzimatik ekstreleri prebiyotik aktivite göstererek GIS yararlı bakterilerinden *Bifidobacterium spp* miktarında artışa sebep olmuştur (Charoensiddhi vd., 2017; Rodrigues vd., 2016).			
Undaria spp (U. pinnatifida) Kükürtlü laminarin fermantasyonu sonucu immünomodilatör etki sağlanır (de Jesus Raposo vd., 2015, 2016).			

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çin, Japonya, Kore gibi Asya ülkelerinde geleneksel bir besin olarak tüketilen makroalglerin faydalı olmalarının en önemli sebeplerinden biri prebiyotik etkinlikleridir. Şu ana kadar yapılan çalışmalar, makroalglerin içerdiği belirli karbonhidrat bileşiklerinin sindirilmemeleri ve fermantasyona uğramaları sayesinde prebiyotik etkinliklerinin olabileceğini göstermektedir. İçerdikleri karbonhidrat bileşiklerinin henüz belli bir kısmı üzerinde çalışmalar sürmektedir. Alginatlar, fukoidanlar, laminarin, karragenan, agar ve porpiranların prebiyotik etkinlikleri kanıtlanmış olmasına rağmen çalışmaların ayrıntılı bir şekilde devamlılığı ve ayrıca diğer tür karbonhidrat bileşiklerin de prebiyotik etkinliklerinin araştırılması gerekmektedir. Makroalg türleri üzerinde çalışmaların arttırılması desteklenmeli ve ülkemizde de makroalgler bu yönüyle dikkate alınmalıdır. Yeterli *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların bulunmaması nedeniyle ilaç formu yönünden değerlendirilmeye alınamamışlardır. Ancak besin olarak tüketilmesinin yaygınlaşması ve Asya ülkelerinde bulunan gıda destek ürünleri bu yöndeki çalışmaların desteklenmesini sağlamaktadırlar. Genel olarak sentetik kaynaklı prebiyotikler yerine doğal prebiyotikler olarak makroalglerin kullanılması teşvik edilerek sağlıklı yaşam açısından değerlendirilebilir. Yanı sıra makroalglerin bir besin kaynağı gibi görülüp üretiminin bu yönde ilerletilmesi ve takviye edici gıda olarak değerlendirilmesi için çalışmaların desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKÇA

Ale, M.T., Mikkelsen, J.D. & Meyer, A.S. (2011). Important determinants for fucoidan bioactivity: a critical review of structure-function relations and extraction methods for fucose-containing sulfated polysaccharides from brown seaweeds. *Marine Drugs, 9*(10), 2106-2130. DOI: 10.3390/md9102106

Annison, G., Illman, R.J. & Topping, D.L. (2003). Acetylated, Propionylated or Butyrylated Starches Raise Large Bowel Short-Chain Fatty Acids Preferentially When Fed to Rats. *The Journal of Nutrition, 133*(11), 3523-3528. DOI: 10.1093/jn/133.11.3523

Baurhoo, B., Letellier, A., Zhao, X. & Ruiz-Feria, C.A. (2007). Cecal Populations of Lactobacilli and Bifidobacteria and Escherichia coli Populations After In Vivo Escherichia coli Challenge in Birds Fed Diets with Purified Lignin or Mannanoligosaccharides. *Poultry Science, 86*(12), 2509-2516. DOI: 10.3382/ps.2007-00136

Begley, M., Hill, C. & Gahan, C.G.M. (2006). Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(3), 1729-1738. DOI: 10.1128/AEM.72.3.1729-1738.2006

Chang, C.-J., Lin, C.-S., Lu, C.-C., Martel, J., Ko, Y.-F., Ojcius, D.M., Tseng, S.-F., Wu, T.-R., Margaret Chen, Y.-Y., Young, J.D. & Lai, H.C. (2015). Ganoderma lucidum reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota. *Nature Communications, 6*, 7489-7489. DOI: 10.1038/ncomms8489

Charoensiddhi, S., Conlon, M.A., Methacanon, P., Franco, C.M.M., Su, P. & Zhang, W. (2017). Gut health benefits of brown seaweed Ecklonia radiata and its polysaccharides demonstrated in vivo in a rat model. *Journal of Functional Foods, 37*, 676-684. DOI: 10.1016/j.jff.2017.08.040

Charoensiddhi, S., Conlon, M.A., Vuaran, M.S., Franco, C.M.M. & Zhang, W. (2016). Impact of extraction processes on prebiotic potential of the brown seaweed Ecklonia radiata by in vitro human gut bacteria fermentation. *Journal of Functional Foods, 24*, 221-230. DOI: 10.1016/j.jff.2016.04.016

Chen, L., Xu, W., Chen, D., Chen, G., Liu, J., Zeng, X., Shao, R. & Zhu, H. (2018). Digestibility of sulfated polysaccharide from the brown seaweed Ascophyllum nodosum and its effect on the human gut microbiota in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules, 112*, 1055-1061. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.183

Cremonini, F., Di Caro, S., Nista, E.C., Bartolozzi, F., Capelli, G., Gasbarrini, G. & Gasbarrini, A. (2002). Meta-analysis: the effect of probiotic administration on antibiotic-associated diarrhoea. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics, 16*(8), 1461-1467. DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01318.x

de Jesus Raposo, M.F., de Morais, A.M.B. & de Morais, R.M.S.C. (2015). Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Marine drugs, 13*(5), 2967-3028 . DOI: 10.3390/md13052967

de Jesus Raposo, M.F., de Morais, A.M.B. & de Morais, R.M.S.C. (2016). Emergent Sources of Prebiotics: Seaweeds and Microalgae. *Marine drugs, 14*(2). DOI: 10.3390/md14020027

Devillé, C., Damas, J., Forget, P., Dandrifosse, G. & Peulen, O. (2004). Laminarin in the dietary fibre concept. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 84*(9), 1030-1038. DOI: 10.1002/jsfa.1754

Diaz-Pulido, G. & McCook, L.J. (2008). Macroalgae (Seaweeds). In Chin. A (Ed.), *The State of the Great Barrier Reef On-line*. Great Barrier Reef Marine Park Authority: Townsville.

Fricke, A. & Camacho, O. (2008). Bocas Algae: Gracilaria domingensis. *Smithsonian Tropical Research Institute.*

Fu, X. T. & Kim, S. M. (2010). Agarase: review of major sources, categories, purification method, enzyme characteristics and applications. *Marine drugs, 8*(1), 200-218. DOI: 10.3390/md8010200

Gibson, G.R., Probert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A. & Roberfroid, M.B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews, 17*(2), 259-275. DOI: 10.1079/NRR200479

Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B. (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition, 125*(6), 1401-1412. DOI: 10.1093/jn/125.6.1401

Grajek, W., Olejnik, A. & Sip, A. (2005). Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica, 52*(3), 665-671.

Gu, Q., Zhang, C., Song, D., Li, P. & Zhu, X. (2015). Enhancing vitamin B12 content in soy-yogurt by Lactobacillus reuteri. *International Journal of Food Microbiology, 206*, 56-59. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.033

Guiry, M. D. G., G.M. (2019). AlgaeBase. from World-wide electronic publication,National University of Ireland, Galway

Hehemann, J.-H., Smyth, L., Yadav, A., Vocadlo, D. & Boraston, A. (2012). Analysis of Keystone Enzyme in Agar Hydrolysis Provides Insight into the Degradation (of a Polysaccharide from) Red Seaweeds. *The Journal of biological chemistry, 287*, 13985-13995. DOI: 10.1074/jbc.M112.345645

Hehemann, J., Correc, G., Barbeyron, T., Helbert, W., Czjzek, M. & Michel, G. (2010). Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature, 464*, 908. DOI: 10.1038/nature08937

Hehemann, J., Kelly, A., Pudlo, N., Martens, E. & Boraston, A. (2012). Bacteria of the human gut microbiome catabolize red seaweed glycans with carbohydrate-active enzyme updates from extrinsic microbes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109*(48), 19786-19791. DOI: 10.1073/pnas.1211002109

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C. & Sanders, M.E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 11*(8), 506-514. DOI: 10.1038/nrgastro.2014.66

Hu, B., Gong, Q., Wang, Y., Ma, Y., Li, J. & Yu, W. (2006). Prebiotic effects of neoagaro-oligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis of agarose. *Anaerobe, 12*(5), 260-266. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2006.07.005

Johnston, B.C., Supina, A.L. & Vohra, S. (2006). Probiotics for pediatric antibiotic-associated diarrhea: a meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne, 175*(4), 377-383. DOI: 10.1503/cmaj.051603

Kaoutari, A.E., Armougom, F., Gordon, J.I., Raoult, D. & Henrissat, B. (2013). The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota. *Nature Reviews Microbiology, 11*, 497. DOI: 10.1038/nrmicro3050

Katia, S., Villarreal, M. M. L., M.I., S. S., Tallarico, A.M.A., Kimiko, S.I. & Rossi, E.A. (2014). Prebiotic Effect of Fructooligosaccharide in the Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME® Model). *Journal of Medicinal Food, 17*(8), 894-901. DOI: 10.1089/jmf.2013.0092

Khalesi, S., Sun, J., Buys, N. & Jayasinghe, R. (2014). Effect of Probiotics on Blood Pressure. *HypertensionAHA, 64*(4), 897-903. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03469

Kong, Q., Dong, S., Gao, J. & Jiang, C. (2016). In vitro fermentation of sulfated polysaccharides from E. prolifera and L. japonica by human fecal microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules, 91*, 867-871. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.036

Kuda, T., Enomoto, T. & Yano, T. (2009). Effects of two storage β-1,3-glucans, laminaran from Eicenia bicyclis and paramylon from Euglena gracili, on cecal environment and plasma lipid levels in rats. *Journal of Functional Foods, 1*(4), 399-404. DOI: 10.1016/j.jff.2009.08.003

Li, M., Shang, Q., Li, G., Wang, X. & Yu, G. (2017). Degradation of Marine Algae-Derived Carbohydrates by Bacteroidetes Isolated from Human Gut Microbiota. *Mar Drugs, 15*(4). DOI: 10.3390/md15040092

Li, P. & Gu, Q. (2016). Complete genome sequence of Lactobacillus plantarum LZ95, a potential probiotic strain producing bacteriocins and B-group vitamin riboflavin. *Journal of Biotechnology, 229*, 1-2. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2016.04.048

Lilly, D. M. & Stillwell, R.H. (1965). Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. *Science, 147*(3659), 747-748. DOI: 10.1126/science.147.3659.747

Lynch, M.B., Sweeney, T., Callan, J.J., O'Sullivan, J.T. ,& O'Doherty, J.V. (2010). The effect of dietary Laminaria-derived laminarin and fucoidan on nutrient digestibility, nitrogen utilisation, intestinal microflora and volatile fatty acid concentration in pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 90*(3), 430-437. DOI: 10.1002/jsfa.3834

Markowiak, P. & Slizewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients, 9*(9). DOI: 10.3390/nu9091021

Marteau, P. & Shanahan, F. (2003). Basic aspects and pharmacology of probiotics: an overview of pharmacokinetics, mechanisms of action and side-effects. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 17*(5), 725-740. DOI: 10.1016/S1521-6918(03)00055-6

McCormick, S. P. J. J. o. C. E. (2013). Microbial Detoxification of Mycotoxins. *Journal of Chemical Ecology, 39*(7), 907-918.
DOI: 10.1007/s10886-013-0321-0

Mohamed, S., Hashim, S. N. & Rahman, H.A. (2012). Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. *Trends in Food Science & Technology, 23*(2), 83-96.
DOI: 10.1016/j.tifs.2011.09.001

Nagamine, T., Nakazato, K., Tomioka, S., Iha, M. & Nakajima, K. (2014). Intestinal absorption of fucoidan extracted from the brown seaweed, Cladosiphon okamuranus. *Marine drugs, 13*(1), 48-64.
DOI: 10.3390/md13010048

Nikbakht Nasrabadi, E., Jamaluddin, R., Abdul Mutalib, M. S., Khaza'ai, H., Khalesi, S. & Mohd Redzwan, S. (2013). Reduction of aflatoxin level in aflatoxin-induced rats by the activity of probiotic Lactobacillus casei strain Shirota. *Journal of Applied Microbiology, 114*(5), 1507-1515.
DOI: 10.1111/jam.12148

Nova, E., Wärnberg, J., Gómez-Martínez, S., Díaz, L.E., Romeo, J. & Marcos, A. (2007). Immunomodulatory effects of probiotics in different stages of life. *British Journal of Nutrition, 98*(S1), S90-S95.
DOI: 10.1017/S0007114507832983

O'Sullivan, L., Murphy, B., McLoughlin, P., Duggan, P., Lawlor, P.G., Hughes, H. & Gardiner, G.E. (2010). Prebiotics from marine macroalgae for human and animal health applications. *Marine drugs, 8*(7), 2038-2064.
DOI: 10.3390/md8072038

Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions – A review. *International Journal of Medical Microbiology, 300*(1), 57-62.
DOI: 10.1016/j.ijmm.2009.08.005

Ouwehand, A.C., Derrien, M., de Vos, W., Tiihonen, K. & Rautonen, N. (2005). Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. *Current Opinion in Biotechnology, 16*(2), 212-217.
DOI: 10.1016/j.copbio.2005.01.007

Ouwehand, A.C., Kirjavainen, P.V., Shortt, C. & Salminen, S. (1999). Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal, 9*(1), 43-52. DOI: 10.1016/S0958-6946(99)00043-6

Patterson, J. & Burkholder, K. (2003). Application of prebiotics and probiotics in poultry production. *Poultry Science, 82*(4), 627-631.
DOI: 10.1093/ps/82.4.627

Pineiro, M., Asp, N.-G., Reid, G., Macfarlane, S., Morelli, L., Brunser, O. & Tuohy, K. (2008). FAO Technical Meeting on Prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology, 42*, 156-159.
DOI: 10.1097/MCG.0b013e31817f184e

Pompei, A., Cordisco, L., Amaretti, A., Zanoni, S., Matteuzzi, D., Rossi, M. (2007). Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. *Applied and Environmental Microbiology, 73*(1), 179-185.
DOI: 10.1128/AEM.01763-06

Ramnani, P., Chitarrari, R., Tuohy, K., Grant, J., Hotchkiss, S., Philp, K., Campbell, R., Gill, C. & Rowland, I. (2012). In vitro fermentation and prebiotic potential of novel low molecular weight polysaccharides derived from agar and alginate seaweeds. *Anaerobe, 18*(1), 1-6.
DOI: 10.1016/j.anaerobe.2011.08.003

Rodrigues, D., Walton, G., Sousa, S., Rocha-Santos, T.A.P., Duarte, A.C., Freitas, A.C. & Gomes, A.M.P. (2016). In vitro fermentation and prebiotic potential of selected extracts from seaweeds and mushrooms. *LWT Food Science and Technology, 73*, 131-139.
DOI: 10.1016/j.lwt.2016.06.004

Ruan, Y., Sun, J., He, J., Chen, F., Chen, R. & Chen, H. (2015). Effect of Probiotics on Glycemic Control: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *PloS one, 10*(7), e0132121-e0132121.
DOI: 10.1371/journal.pone.0132121

Sanders, M.E., Gibson, G.R., Gill, H.S. & Guarner, F. (2007). Probiotics: their potential to impact human health. *Council for Agricultural Science and Technology*(36), 1-20. Retrieved from http://www.cast-science.org/

Schachtsiek, M., Hammes, W.P. & Hertel, C. (2004). Characterization of Lactobacillus coryniformis DSM 20001T surface protein CPF mediating coaggregation with and aggregation among pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*(70), 7078-7085.

Schiffrin, E. J., Thomas, D. R., Kumar, V. B., Brown, C., Hager, C., Van't Hof, M.A., Morley, J.E. & Guigoz, Y. (2007). Systemic inflammatory markers in older persons: the effect of oral nutritional supplementation with prebiotics. *The Journal of Nutrition, Health and Aging, 11*(6), 475-479.

Shang, Q., Jiang, H., Cai, C., Hao, J., Li, G., Yu, G. (2018). Gut microbiota fermentation of marine polysaccharides and its effects on intestinal ecology: An overview. *Carbohydrate Polymers, 179*, 173-185.
DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.09.059

Shang, Q., Li, Q., Zhang, M., Song, G., Shi, J., Jiang, H., Cai, C., Hao, J., Li, G. & Yu, G. (2016). Dietary Keratan Sulfate from Shark Cartilage Modulates Gut Microbiota and Increases the Abundance of Lactobacillus spp. *Marine drugs, 14*(12), 224. DOI: 10.3390/md14120224

Shang, Q., Sun, W., Shan, X., Jiang, H., Cai, C., Hao, J., Li, G. & Yu, G. (2017). Carrageenan-induced colitis is associated with decreased population of anti-inflammatory bacterium, Akkermansia muciniphila, in the gut microbiota of C57BL/6J mice. *Toxicology Letters, 279*, 87-95.
DOI: 10.1016/j.toxlet.2017.07.904

Simon, O. (2005). Micro-Organisms as Feed Additives – Probiotics. *Advances in Pork Production, 16*, 161-167.

Socha, P., Stolarczyk, M. & Socha, J. (2002). Wpływ probiotyków i prebiotyków na gospodarkę lipidowa. *Pediatria Współczesna Gastroenterologia, Hepatologia i Żywienie Dziecka, 4*, 85-88.

Sonnenburg, E.D. & Sonnenburg, J.L. (2014). Starving our microbial self: the deleterious consequences of a diet deficient in microbiota-accessible carbohydrates. *Cell metabolism, 20*(5), 779-786.

Sudhakar, M. P., Kumar, B. R., Mathimani, T. & Arunkumar, K. (2019). A review on bioenergy and bioactive compounds from microalgae and macroalgae-sustainable energy perspective. *Journal of Cleaner Production, 228*, 1320-1333. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.04.287

Suleria, H. A. R., Osborne, S., Masci, P. & Gobe, G. (2015). Marine-Based Nutraceuticals: An Innovative Trend in the Food and Supplement Industries. *Marine drugs, 13*(10), 6336-6351. DOI: 10.3390/md13106336

Tobacman, J.K. (2001). Review of harmful gastrointestinal effects of carrageenan in animal experiments. *Environmental health perspectives, 109*(10), 983-994. DOI: 10.1289/ehp.01109983

Tobacman, J. K., Bhattacharyya, S., Borthakur, A. & Dudeja, P.K. (2008). The carrageenan diet: not recommended. *Science (New York, N.Y.), 321*(5892), 1040-1041. DOI: 10.1126/science.321.5892.1040d

Upadrasta, A. & Madempudi, R.S. (2016). Probiotics and blood pressure: current insights. *Integrated blood pressure control, 9*, 33-42.
DOI: 10.2147/IBPC.S73246

Van den Abbeele, P., Venema, K., Van de Wiele, T., Verstraete, W. & Possemiers, S. (2013). Different Human Gut Models Reveal the Distinct Fermentation Patterns of Arabinoxylan versus Inulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61*(41), 9819-9827.

Vergin, F. (1954). Antibiotics and probiotics. *Hippokrates, 25*(4), 116-119.

Vulevic, J., Drakoularakou, A., Yaqoob, P., Tzortzis, G. & Gibson, G.R. (2008). Modulation of the fecal microflora profile and immune function by a novel trans-galactooligosaccharide mixture (B-GOS) in healthy elderly volunteers. *The American Journal of Clinical Nutrition, 88*(5), 1438-1446.
DOI: 10.3945/ajcn.2008.26242

Weiner, M. L. (2014). Food additive carrageenan: Part II: A critical review of carrageenan in vivo safety studies. *Critical Reviews in Toxicology, 44*(3), 244-269. DOI: 10.3109/10408444.2013.861798

Wells, M.L., Potin, P., Craigie, J.S., Raven, J.A., Merchant, S.S., Helliwell, K.E., Smith, A.G., Camire, M.E. & Brawley, S.H. (2017). Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *Journal of applied phycology, 29*(2), 949-982.

Yahfoufi, N., Mallet, J. F., Graham, E. & Matar, C. (2018). Role of probiotics and prebiotics in immunomodulation. *Current Opinion in Food Science, 20*, 82-91. DOI: 10.1016/j.cofs.2018.04.006

Zaporozhets, T.S., Besednova, N.N., Kuznetsova, T.A., Zvyagintseva, T.N., Makarenkova, I.D., Kryzhanovsky, S.P. & Melnikov, V.G. (2014). The prebiotic potential of polysaccharides and extracts of seaweeds. *Russian Journal of Marine Biology, 40*(1), 1-9.

Zhang, N., Mao, X., Li, R.W., Hou, E., Wang, Y., Xue, C. & Tang, Q. (2017). Neoagarotetraose protects mice against intense exercise-induced fatigue damage by modulating gut microbial composition and function. *Molecular Nutrition Food Research, 61*(8), 1600585.
DOI: 10.1002/mnfr.201600585