



**OKSİDE OLMUŞ BALIK YAĞI İÇEREN YEMLERE
FINDIK YAĞI İLAVESİNİN GÖKKUŞAĞI
ALABALIGINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME,
YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN
SAVUNMA SİSTEMİNE ETKİSİ**

Şeyda TACER

Yüksek Lisans Tezi

Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Prof. Dr. Murat ARSLAN

2017

Her Hakkı Saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OKSİDE OLMUŞ BALIK YAĞI İÇEREN YEMLERE FINDIK YAĞI
İLAVESİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss*)
BÜYÜME, YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN
SAVUNMA SİSTEMİNE ETKİSİ

Şeyda TACER

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM

2017

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

OKSİDE OLMUŞ BALIK YAĞI İÇEREN YEMLERE FINDIK YAĞI İLAVESİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIGINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME, YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİNE ETKİSİ

Prof. Dr. Murat ARSLAN danışmanlığında, Şeyda TACER tarafından hazırlanan bu çalışma 14/12/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek lisans tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Murat ARSLAN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza :

Üye : Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 28.../12.../2017.. tarih ve 51.../... 20..... nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2015/382

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan alıntıların, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OKSİDE OLMUŞ BALIK YAĞI İÇEREN YEMLERE FINDIK YAĞI TAKVİYESİNİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞINDA (*Oncorhynchus mykiss*) BÜYÜME, YAĞ ASİDİ KOMPOZİSYONU VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİNE ETKİSİ

Şeyda TACER

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Murat ARSLAN

Yaklaşık 1 g ağırlığındaki gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavruları biyolojik filtrasyon donanımına sahip yarı kapalı devre üretim sisteminde $13\pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 3 tekerrürlü olarak farklı düzeylerde okside edilmiş balık yağı ve taze balık yağı kullanılarak hazırlanan yemlerle 9 hafta boyunca beslenmiştir. Yemlere E vitamini bakımından zengin olan fındık yağı değişik oranlarda ilave edilmiştir. Çalışma sonunda balıkların büyüme performansı deneysel yemlerden önemli derecede etkilenmiş olup ($P<0,05$), taze balık yağı içeren yemlerle beslenen balıklar okside olmuş balık yağı içeren yemlerle beslenen balıklara oranla önemli derecede ($P<0,05$) daha yüksek büyüme sergilemişlerdir. Yemlere %60 oranında fındık yağı ilavesi bütün durumlarda büyümeye olumlu etki gösterirken, tamamen fındık yağı içeren yemlerle beslenen balıklarda ise büyüme geriliği tespit edilmiştir. Balıkların yağ asidi profili deneysel yemlerden önemli derecede etkilenmiştir. Çoklu doymamış yağ asitleri hem diyetsetel fındık yağı ilavesi, hem de yemlerde okside olmuş balık yağı kullanımı ile önemli derecede azalma göstermiştir ($P<0,05$). Deneysel yemlerle beslenen balıkların karaciğerindeki süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ile toplam glutatyon miktarı gerek diyetsetel fındık yağı ilavesi gerekse okside olmuş balık yağı kullanımından önemli derecede etkilenmemiştir. Diğer yandan yemlere fındık yağı ilavesi karaciğerde E vitamininin önemli derecede artmasına, bunun aksine lipit peroksidasyon (malondialdehit) seviyesinin önemli derecede düşmesine sebep olmuştur ($P<0,05$). Çalışmamızın sonucuna göre gökkuşuğu alabalığı yemlerinde balık yağına %60 oranında fındık yağı ilavesinin büyümede olumlu etki yaptığı ayrıca okside olmuş diyetsetel balık yağından kaynaklanabilecek olumsuzlukları önemli derecede giderebileceği söylenebilir.

2017, 73 sayfa

Anahtar Kelimeler: Gökkuşuğu alabalığı, Okside olmuş balık yağı, Fındık yağı, Oksidatif stres

ABSTRACT

Master Thesis

INFLUENCE OF OXIDIZED LIPIDS AND HAZELNUT OIL SUPPLEMENTATION ON GROWTH, FATTY ACID COMPOSITION AND ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

Şeyda TACER

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Aquaculture

Supervisor: Prof. Dr. Murat ARSLAN

Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with approximately 1 g initial weight were fed diet with different levels of fresh fish oil, oxidized fish oil and fresh hazelnut oil in a semi-recirculating water system equipped with biological filtration for 9 weeks. The feeding trial was carried out in triplicates and the temperature was $13\pm 1^{\circ}\text{C}$ during the experiment. At the end of the study, growth performance was significantly affected by the experimental diets ($P < 0.05$). Fish fed diets with fresh fish oil grew significantly better than those fed diet with oxidized fish oil ($P < 0.05$). Hazelnut oil supplementation up to 60% of dietary lipids had positive effect on growth performance while the fish fed diet with 100% hazelnut oil had the lowest growth. The fatty acid profile whole body fish was significantly influenced by the experimental diets. Polyunsaturated fatty acids showed significant decrease with both dietary hazelnut oil supplementation and the use of dietary oxidized fish oil ($P < 0.05$). The amount of total glutathione and superoxide dismutase enzyme activity in the liver fed experimental diets were significantly affected neither by the use of dietary oxidized fish oil or by the addition of dietary hazelnut oil. On the other hand, dietary hazelnut oil supplementation caused a significant increase in hepatic vitamin E content whereas the level of lipid peroxidation (malondialdehyde) decreased significantly at the same circumstance ($P < 0.05$). Our result suggest that substitution of fish oil up to 60% had positive effect on growth in rainbow trout. Moreover, we can conclude that hazelnut oil supplementation can protect the fish against the problems caused by dietary oxidized fish oil.

2017, 73 pages

Keywords: Rainbow trout, Oxidized fish oil, Hazelnut oil, Oxidative stress

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve yapmış olduğum çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof.Dr. Murat ARSLAN'a

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca maddi ve manevi her türlü bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. Gonca ALAK'a,

Çalışmalarım sürecinde desteğini esirgemeyen Sayın Yrd. Doç. Dr. Özden FAKIOĞLU'na,

Maddi manevi desteklerinin yanısıra göstermiş oldukları sabır ve anlayıştan dolayı başta kıymetli babam Tevhit TACER, annem Hülya TACER ve Yusuf TANAS olmak üzere ailemin tüm fertlerine sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Şeyda TACER

Aralık, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	22
3.1. Materyal.....	22
3.1.1. Araştırma yeri.....	22
3.1.2. Yarı kapalı yetiştiricilik sistemi ve su	22
3.1.3. Balık materyali	24
3.1.4. Yem materyali	24
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Balık yağının sıcaklık ve hareketli havalandırma yardımıyla okside edilmesi	28
3.2.2. Deneme düzeni	29
3.2.3. Yemleme ve tankların temizliği	29
3.2.4. Örneklerin alınması ve muhafazası	30
3.2.5. Büyüme parametrelerinin hesaplanması	31
3.2.6. Kimyasal analizler	31
3.2.6.a. Yağların peroksit değerinin belirlenmesi	31
3.2.6.b. Örneklerden alınan yağın ekstrakte edilmesi	33
3.2.6.c. Örneklerden ekstrakte edilen yağın miktarının belirlenmesi.....	34
3.2.6.d. Yağ asidi metil esterlerinin (FAME) hazırlanması	36
3.2.6.e. Yağ asitlerinin tayini	36
3.2.6.f. Ham protein miktarının belirlenmesi	37
3.2.6.g. Su ve kuru madde miktarının belirlenmesi.....	43

3.2.6.h. Ham kül içeriğinin belirlenmesi	44
3.2.6.i. α -Tokoferol miktarının belirlenmesi	45
3.2.7. Enzim aktiviteleri tayini	47
3.2.7.a. Enzim aktivitesi analizlerinde kullanılacak karaciğer örneklerinin hazırlanması	47
3.2.7.b. Homojenat hazırlanması	47
3.2.7.c. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin ölçülmesi (SOD)	48
3.2.7.d. GSH miktarının tayini	50
3.2.7.e. Lipit peroksidasyonunun ölçülmesi (MDA)	52
3.2.8. İstatistiki analizler	54
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	55
4.1. Büyüme ve yem değerlendirme verileri	55
4.2. Tüm Vücut Yağ İçeriği ve Yağ Asidi Kompozisyonu	57
4.3. Enzim aktiviteleri	63
4.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutatyon (GSH) Aktiviteleri	63
4.3.2. Malondialdehit (MDA) miktarı ve lipit peroksidasyon seviyesi	65
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	67
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ	74

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
ALT	Alanine Aminotransferaz
ALP	Alkalin fosfataz
ASA	Askorbik asit
AST	Aspartate Aminotransferaz
BWG	Canlı ağırlık kazancı
BY	Taze Balık Yağı
Ca	Kalsiyum
cc	Mililitreye eşdeğer hacim birimi
CK	Keratin Kinaz
Cl	Klor
CO ₃	Karbonat
CPO	Ham palmiye yağı
DHA	Dokosaheksaenoik asit
EOF	Eritrositlerin ozmotik bozulması
EPA	Eikosapentenoik Asit
FCR	Yem değerlendirme katsayısı
FO	Balık yağı
FY	Fındık Yağı
g	Gram
GPx	Glutatyon peroksidaz
GSH	Glutatyon
HCO ₃	Bikarbonat
HSI	Hepatosomatik indeks
HUFA	Yüksek doymamış yağ asitleri
Kg	Kilogram
LER	Lipid yararlanma oranı
LO	Keten tohumu yağı
MDA	Malondialdehit

meq	miliequivalent
Mg	Magnezyum
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
OBY	Okside edilmiş balık yağı
PER	Protein yararlanma oranı
pH	Hidrojen iyonu yoğunluğu
PO ₄	Fosfat
POV	Peroksit değeri
Ppm	Milyonda bir parça
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
SBV	Suyun sertliği
SGR	Spesifik büyüme oranı
SO	Soya yağı
SO ₄	Sülfat
SOD	Superoksit dismutaz
SR	Yaşama oranı
TAG	Trigliserol
T-AOC	Toplam antioksidan bileşenleri
TC	Total kolestrol
VC	Vitamin C
VE	Vitamin E
VSI	Organsal indeks

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. FAO verilerine göre dünya su ürünleri üretimindeki değişim.....	2
Şekil 1.2. TÜİK 2015 verilerine göre 2000-2015 yılları arasında Türkiye'nin su ürünleri üretimindeki değişim	2
Şekil 1.3. Balık yağında gerçekleşen oksidasyonun şeması	5
Şekil 3.1. Besleme denemesinin yürütüldüğü yarı kapalı devre su sistemi.....	23
Şekil 3.2 Oksijen jeneratörü, biyolojik ve mekanik filtreler.....	23
Şekil 3.3. Denemede kullanılmak için seçilen gökkuşuğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) yavruları.....	24
Şekil 3.4. Yemlerin hazırlanma aşaması ve stoklama şekli	27
Şekil 3.5. Balıkların ağız açıklığına göre fraksiyonlanmış yemler	27
Şekil 3.6. Balık yağının sıcaklık ve havalandırma vasıtasıyla okside edilme düzeneği.	28
Şekil 3.7. Okside edilmemiş taze balık yağı (BY 5,5 meq/kg) ve okside edilmiş balık yağı	28
Şekil 3.8. 3 günlük hesaplanan yemlerin tartımı.....	30
Şekil 3.9. Örnekleme yapılacak balıkların sıvı azot ile dondurulması.....	31
Şekil 3.10. Gaz kromatografi cihazı	33
Şekil 3.11. Numunelerin çözücü içerisinde ultratoraks vasıtasıyla parçalanması	35
Şekil 3.12. Numunelerin evaporatörde azot gazı ve ısı ile toplam yağının elde edilmesi	35
Şekil 3.13. Desikatörde soğumaya bırakılan kuru madde numuneleri	44
Şekil 3.14. Kül fırınında yakma işlemi	45
Şekil 3.15. Sıvı kromatografi cihazı (HPLC; Marka: Agilent).....	46
Şekil 4.1. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığının ortalama bireysel deneme sonu ağırlıkları. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün <i>P</i> değeri koyulaştırılmıştır.....	57
Şekil 4.2. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığının tüm vücut yağ içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir.	61

- Şekil 4.3.** Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının tüm vücut yağlarına ait OA içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün *P* değeri koyulaştırılmıştır..... 62
- Şekil 4.4.** Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının tüm vücut yağlarına ait DHA içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün *P* değeri koyulaştırılmıştır..... 63
- Şekil 4.5.** Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğer SOD aktivitesi. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir..... 64
- Şekil 4.6.** Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğer GSH miktarı. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir 64
- Şekil 4.7.** Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğer lipid peroksidasyon seviyesi (MDA). Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün *P* değeri koyulaştırılmıştır..... 65
- Şekil 4.8.** Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğer vitamin E içeriği (ug/g). Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün *P* değeri koyulaştırılmıştır..... 66

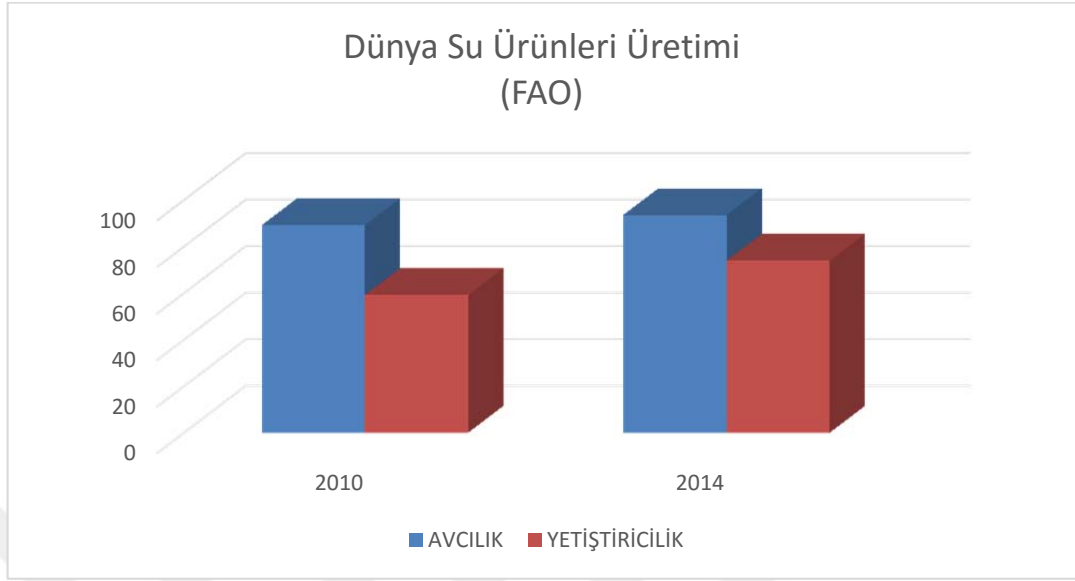
ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.2. Deneysel yemlerde kullanılan yağlara bağlı olarak peroksit değeri ve E vitamini içeriğindeki değişim	26
Çizelge 3.3. Deneme düzeni	29
Çizelge 3.4. SOD aktivite ölçümü için kullanılacak çözelti miktarları	49
Çizelge 3.5. GSH tayini için plate yükleme şeması.....	51
Çizelge 3.6. Standart eğri grafiği için alınacak miktarlar	51
Çizelge 3.7. Standart stok çözeltilerinin hazırlanma şeması.....	52
Çizelge 4.1. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığına ait büyüme performansı ve hayatta kalma oranı. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki olarak önemli fark olduğunu gösterir.....	56
Çizelge 4.2. Deneysel yemlerin % yağ asidi içeriği	58
Çizelge 4.3. Balıkların tüm vücuda ait % yağ asidi içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki olarak önemli fark olduğunu göstermektedir	60

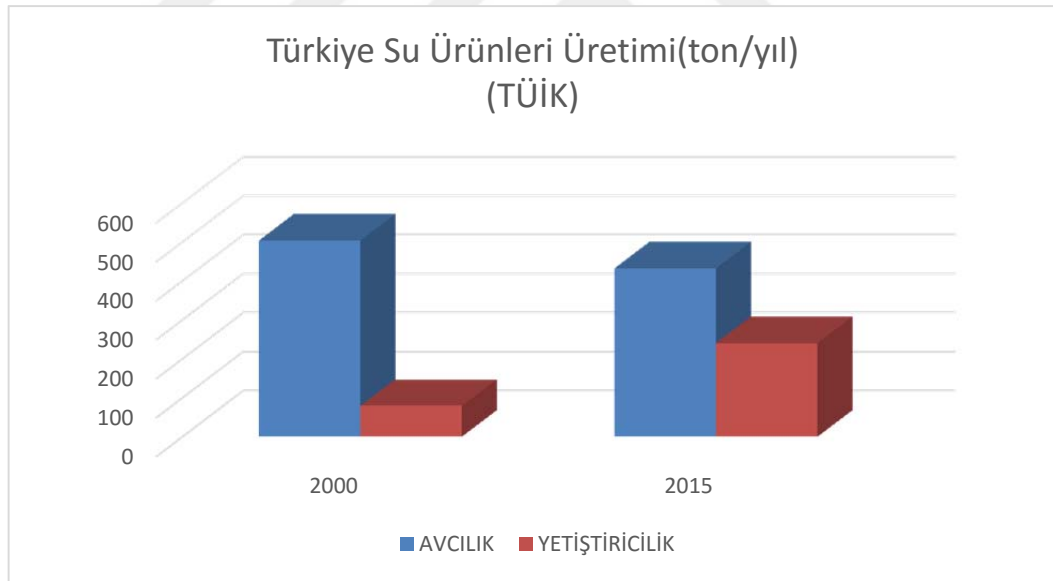
1. GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusunun getirisi olarak, artan gıda ihtiyacının karşılanmasına yetecek kaynaklar azalmaktadır. Artan gıda ihtiyacının karşılanabileceği alternatif bir kaynak olan su ürünleri sektörü, gıda endüstrisindeki hızlı gelişmeler ve yeniliklerle beraber gittikçe artan bir rağbet görmektedir. Su ürünleri sektörü, tüm dünyada ihtiyaç duyulan kaynak teminin yapılabilmesi için hızla yaygınlaşmaktadır. Su ürünlerinin sağlıklı ve kaliteli protein miktarı bakımından zengin olması, tüketicilerin daha kaliteli et tüketimine yönelmesi, kolay sindirimi ve beslenme açısından beklentileri karşılaması su ürünlerinin önemini ortaya çıkarmaktadır.

Dünya su ürünleri üretimi (su bitkileri ve deniz memelileri hariç), 2014 yılında 93,6 milyonu avcılık, 73,8 milyonu yetiştiricilik olmak üzere toplamda 167,2 milyon ton/yıl olmuştur (FAO 2014) (Çizelge 1.1). Hem dünyada hem Türkiye’de avcılık yolu ile yapılan üretim miktarı üst sınırına ulaşmış, artmaktan ziyade düşme eğilimi göstermektedir. Dünya su ürünleri üretim verilerine bakıldığında, 2014 yılına gelindiğinde avcılıkla elde edilen üretimin düştüğü, yetiştiriciliğin aktif rol almaya başladığı görülmüştür. Türkiye’de ise 2000’li yıllarda 503 ton/yıl olan avcılık 2014 yılına gelindiğinde 431,907 ton/yıl’a gerilemiş, 79,031 ton/yıl olan yetiştiricilik artarak 240,334 ton/yıl’a ulaşmıştır (TÜİK 2015) (Çizelge 1.2).



Şekil 1.1. FAO verilerine göre dünya su ürünleri üretimindeki değişim



Şekil 1.2. TÜİK 2015 verilerine göre 2000-2015 yılları arasında Türkiye'nin su ürünleri üretimindeki değişim

Artan su ürünleri ihtiyacı ile beraber, su ürünleri sektöründe beslemede kullanılan yem ihtiyacı artmaktadır. Hızla gelişen su ürünleri sektörünün yem ihtiyacının karşılanabilmesi ve yetiştiriciliğin en yüksek maliyetli olan kısmının daha ekonomik

hale getirilmesi için her zaman bulunabilir ve daha düşük maliyetli yemlerin teminini zorunlu kılmaktadır (Lovell 1989).

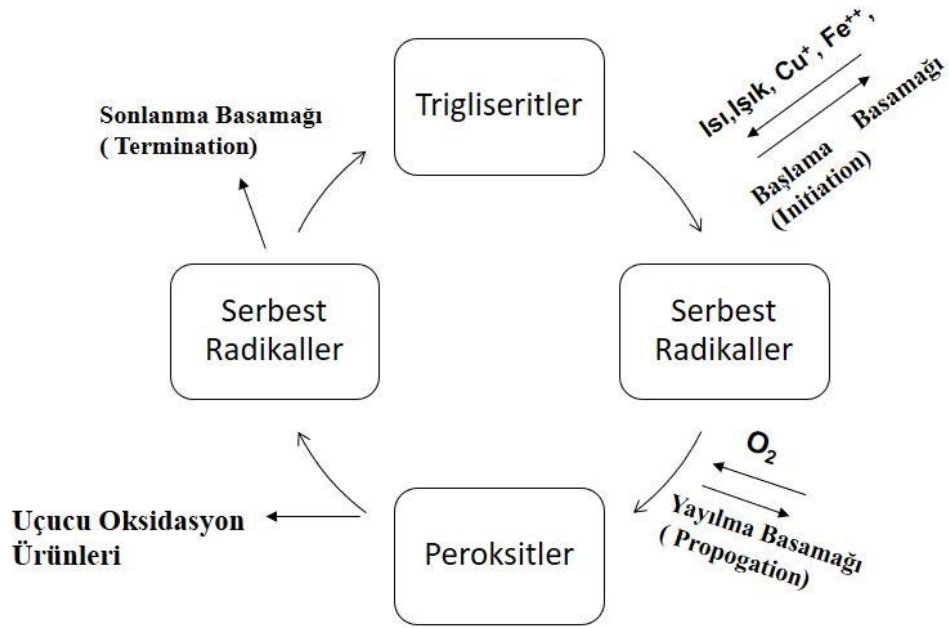
Yetiştiricilikte kullanılan yemler, balıkların besin ihtiyaçları doğrultusunda, sağlıklı bir şekilde yaşamalarını ve büyümelerini sağlayacak şekilde formüle edilmeli ve kaliteli hammaddeler kullanılmalıdır. Beslemede kullanılan yemler içerdikleri bazı maddeler bakımından çevresel faktörlere (nem, sıcaklık, ışık, zararlı canlılar ...) karşı oldukça hassastırlar. Sıcaklık, nem, gün ışığı gibi faktörlerle teması ile içerdikleri yağlarda oksidasyon, vitaminlerde bozulma, neme dayalı küflenme, mantarlaşıma ve bakteri üremesi gibi tüketilmesi sonucu canlının hem büyümesinde hem yaşamında sorunlar ortaya çıkarabilecek zararlı sonuçlar ortaya çıkmaktadır.

Yemler, yeterince havalandırmanın mevcut olduğu, aşırı sıcak ve soğuklara karşı izole edilmiş, kemirici ve böceklere karşı korunaklı, ışık almayacak şekilde tasarlanmış özel yem depolarında belirtilen sürelerde depolanmalıdır. Doğru koşullarda stoklama yapılmayan yemlerle besleme sonucunda, balıklarda iştah azalması, yeme karşı duyarsızlık, balıklarda anormal davranış bozuklukları, büyümede ve kondisyonda azalma, enfeksiyon ve hastalıklara karşı hassasiyet vb. olumsuz sonuçlarla karşılaşılabilir (Balık üreticisi el kitabı 2007).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan yemlerde yetiştirilecek türün ihtiyaç duyduğu oranlarda gıda hammaddesi ve takviyeler bulunmaktadır. Yem yapımında hayvansal veya bitkisel kökenli olmak üzere yağlar enerji kaynağı olarak, esansiyel yağ asitlerini temin etmek, yem peletlerinin üzerini kaplayarak peletlerin aşınmasını önleyip, toz oranını azaltmak gibi amaçlarla kullanılırlar. Yemlerde kullanılan yağlar (katı ve sıvı), içerdikleri karbon zincirine ve doymamışlıklarına göre farklılık göstermek üzere, oksidasyona ve hidrolitik dejeneratife oldukça hassas bir yapıya sahiptirler. Yağların yetiştiricilikte kullanılmasını, yağdaki su miktarı, sabunlaşmayan madde oranı vb. gibi unsurlar kısıtlamaktadır.

Balıkların beslenmesinde kullanılacak olan, EPA ve DHA gibi omega 3 yağ asitlerince zengin olan en uygun besin, balık yağıdır. Kullanılacak olan balık yağının kaliteli olmasını, peroksit değerinin optimal koşullarda olması, serbest yağ asidi miktarı (%FFA), su içeriği vb. gibi değerler belirlemektedir. Balık yağında nem miktarının, içerisindeki oksijenin oksidasyonu ve hidrolitik parçalanmayı hızlandıracağından %1'den fazla olmaması istenir. Yem üretiminde kullanılacak olan yağın peroksit değerinin yüksek olmaması 20 meq/kg'ı aşmaması istenir.

Yağlar içerdikleri yağ asitlerinin yapısına göre farklılık göstermekle beraber, ısı, ışık, bazı ağır metaller ve oksijen ile temasıyla kolayca oksitlenebilir yapıdadır. Oksitlenen yağlar bozulur, acılaşır, eklendiği yemin tadında ve aromasında bozukluk oluşturur. Oksidasyona uğrayan yağların oluşturduğu peroksitler toksik etki oluşturabilmektedirler. Okside olmuş yağların lizin ile tepkime vermesi sonucu aminoasit kullanımı sınırlanmakta ve protein ile alakalı sorunlar oluşmaktadır. Ayrıca oksidasyon sonucu açığa çıkan hidroperoksitler, yağda çözünen vitaminlerin (A, D, E, K) yararlanılabilirliğinin azalmasında rol oynarlar. Oksidasyon, yağların saklanma koşullarının iyileştirilmesi, oksijen ile temasının en aza indirgenmesi, metal akşamlarla temasının engellenmesi, ısı ve UV ışınlarıyla temasının engellenmesi, karanlık bir ortamda ve optimal sıcaklık aralıklarında depolanması ile azaltılabilir. Oksidasyon geri dönüşümü olmayan tek yönlü bir reaksiyon olarak gerçekleşmektedir (Şekil 1.3) (Korkut *et al.* 2007).



Şekil 1.3. Balık yağında gerçekleşen oksidasyonun şeması (Dyck 2007)

Canlıların bünyesinde oksidatif stresin oluşmasını önleyen, enzim ve endojen yapılmaddeler mevcut olmasına rağmen vücuda giren oksidan miktarının referans değerler dışına çıkmasıyla mevcut olan antioksidan savunma sistemleri yetersiz kalabilmekte ve sonuç olarak oksidanlar vücuttaki protein, lipid, karbohidrat, nükleik asit ve yararlı enzimlerde bozulmalara neden olarak hasar oluşturmaktadırlar. Oluşan bu hasarın giderilmesi için metabolizmaya dışarıdan oksidatif stresi giderecek, engelleyecek ve oluşan hasarı iyileştirebilecek özelliklerde antioksidanların takviye edilmesi gerekmektedir (Valko *et al.* 2007).

Canlılarda bulunan lipid, karbonhidrat, protein ve DNA gibi oksidasyona uğrayabilecek maddelerin oksidasyona uğramasını engelleyebilecek maddelere antioksidan, bu savunma olayına ise antioksidan savunma mekanizması denilmektedir (Mates *et al.* 1999). Canlı metabolizmaya dışarıdan doğal veya sentetik olarak takviye edilen antioksidanlar, canlı hücrelerinde meydana gelen serbest radikalleri toplayıp kararlı hale getirmekle görevli olup serbest radikallerin üretildiği kimyasal reaksiyonları durdurucu etkiye sahiptirler. Yapılarındaki onarıcı özellikleri ile uğranılan hasarı onarmakta,

hücredeki antioksidan enzimlerle etkileşimli çalışmakta ve enzimatik olmayan antioksidanların sentezlenmesini hızlandırarak etki göstermektedirler (Dündar ve Aslan 2000).

Gıda sanayinde oksidasyonun yıkıcı etkilerinden korunmak amacıyla yaygın biçimde kullanılan doğal ve yapay birçok antioksidan madde bulunmaktadır. Bunların içerisinde gerek bulunabilirliği gerekse etki mekanizması hasebiyle en yaygın olarak kullanılan tokoferoller olmaktadır. Tokoferollerin alfa, beta, gama ve delta olmak üzere dört farklı şekli bulunmakta ve bitki dokularında her zaman bulunmaktadır. Tokoferollerin etki etme dereceleri deltadan alfaya doğru azalmakta, vitamin E aktiviteleri artmaktadır (Çakmakçı ve Gökalp 1992).

E vitaminin belirli oranlarda hayvan beslenmesinde kullanılması ile antioksidan etkisi fazladır ancak zamanla ışık ve oksijen ile temasından dolayı oksidasyona yenik düşmesiyle, takviye edildiği hayvan yemlerinde mevcut olan yağlarda oluşacak ransiditeye karşı koyacak etkisi azalmaktadır (Roche 1992). Birçok farklı doğal E vitamini kaynağı bulunmakta olup bunların içerisinde fındık yağı yüksek tokoferol içeriği ile balık beslemede kullanılacak olan yemlerdeki oksidasyona karşı koruyucu olarak kullanılabilir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Vitamin C ve vitamin E katkısının, okside balık yağı ile beslenen Japon pisi balığı (*Paralichthys olivaceus*) yavrularının, büyüme performansı, yağ asidi kompozisyonu ve oksidatif stres savunması üzerine interaktif etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, taze balık yağı 70°C'de hareketli hava akımı yardımıyla 167,8 meq/kg peroksit değerine ulaştırılmıştır. Okside edilen bu yağla 5 farklı diyet formülü (FFO100E/500C, OFO100E/500C, OFO200E/500C, OFO100E/1000C, OFO200E/1000C) hazırlanmıştır. Çalışmada taze balık yağı ve 100 mg vitamin E ve 500 mg vitamin C katkısı yapılarak hazırlanan rasyon kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Başlangıç ağırlıkları ~1,1 g olan balıkları her tankta 12'şer adet olmak üzere 15 tanka dağıtılmıştır. Dakikada 1,9 l su akışı, 16,6±0,5°C, havalandırma ve doğal gün ışığı koşullarında, 60 gün boyunca yapılan beslemede, gruplar arasında yaşama oranı ve yem alımında bir farklılık gözlemlenmemiştir. Gruplar arası ağırlık kazanımı bakımından, OFO200E/1000C grubu dışındaki rasyonların kontrol grubuna göre farklılık göstermediği ve en düşük ağırlık kazanımının bu diyetle beslenen balıklarda olduğu gözlemlenmiştir. Okside edilmiş yağ ile hazırlanan rasyonla beslenen grubun HSI (hematosomatik indeks) değerinde artış görülmüş, E ve C vitamini katkısı yapılması halinde bu oranın düştüğü gözlemlenmiştir. Karaciğer yağ asidi kompozisyonu incelendiğinde ise 100 mg vitamin E ve 500 mg vitamin C katkısının yapıldığı taze balık yağı ve okside balık yağı ile hazırlanan gruplar arasında benzerlik görülürken, vitamin E katkısının yapılmadığı okside balık yağı ile beslenen grupta 18:0, 18:4n-3, 20:4n-3 ve 50:5n-3 yağ asitlerinde belirli oranda düşüş gözlemlenmiştir (Gao *et al.* 2014).

Pasifik beyaz karidesi (*Litopenaeus vannamei*)'nin büyüme performansı ve oksidatif stresi üzerine okside balık yağının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada karidesler, farklı oranlarda (0, 25, 50, 75 ve 100 meq/kg) okside edilmiş balık yağı ile hazırlanan diyetlerle 4 hafta süre ile beslenmiştir. 50, 75 ve 100 meq/kg peroksit değerine sahip olan rasyonla beslenen grupların, ağırlık kazanımları (BWG) ve spesifik büyüme oranlarında (SGR) kontrol ve 25 meq/kg peroksit değerli gruba göre önemli oranda düşüş görülmüştür ($p<0,05$). Ayrıca bu üç gruba ait karideslerin HSI değerlerinde ise

önemli ölçüde artış görülmüştür ($p<0,05$). Kas ve serumdaki MDA konsantrasyonlarında yapılan analizlerde ise, 50, 75 ve 100 meq/kg peroksit değerine sahip olan gruplarda taze balık yağı ile beslenen gruba göre önemli derecede yükselmeye rastlanılmıştır ($p<0,05$). SOD değerinde ise, 75 ve 100 meq/kg gruplarında taze balık yağı ile beslenen gruba göre oldukça düşük değerler gözlemlenmiştir ($p<0,05$). T-AOC değerlerine bakıldığında ise 75 ve 100 meq/kg peroksit değerine sahip gruplarda diğer gruplara nazaran oldukça düşük sonuçlar elde edilmiştir ($p<0,05$) (Yang *et al.* 2015).

Okside edilmiş balık yağı ile hazırlanan rasyonlarla beslenen Karadeniz çipurası (*Acanthopagrus schlegeli*)'nin büyüme performansı, lipit peroksidasyonu ve dokudaki yağ asidi kompozisyonunun üzerinde vitamin E katkısının sonuçlarının araştırıldığı bir çalışmada, 45,48 meq/kg'a kadar okside edilmiş balık yağı ve farklı oranlarda α -tokoferol takviyesi kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak taze balık yağının kullanıldığı denemede, okside edilmiş yağlarla hazırlanan rasyonlara, 150, 250, 450 ve 800 mg/kg olacak şekilde α -tokoferol eklenerek toplamda 6 farklı rasyon hazırlanmıştır. Deneme sonunda okside balık yağı ile hazırlanan ve α -tokoferol katkısının olmadığı rasyonla beslenen balıkların ağırlık kazanımları ve yaşama oranlarında önemli ölçüde azalış gözlemlenmiştir. Ayrıca yine bu balıkların HSI değerlerinde önemli ölçüde yükselme görülmüştür. Diyetlere vitamin E katkısının yapılmasının büyüme performansını olumlu etkilediği ve karaciğerdeki vitamin E içeriğini artırdığı görülmüştür. Ayrıca okside balık yağının kullanılmasının karaciğer TBARs ve DHA miktarını artırdığı, α -tokoferol takviyesinin ise bu oranı düşürdüğü saptanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde >150 mg/kg α -tokoferol takviyesinin lipit peroksidasyonunun azaltılmasında ve büyüme performansının geliştirilmesinde etkili olduğu belirlenmiştir (Peng *et al.* 2009).

Gao *et al.* (2013)'un mercan balıklarında (*Pagrus major*), okside edilmiş diyetel yağ ve C vitamini katkısının büyüme performansı ve oksidatif stresin azaltılmasına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 50 gün boyunca besleme yapılmıştır. 23 ve 29 meq/kg peroksidasyon seviyeli yağlar ve 0,400 ve 800 ppm oranında vitamin C kullanılmıştır. 400 ve 800 ppm vitamin C katkısının yapıldığı rasyonlarla beslenen gruplarda C

vitamini takviyesinin yapılmadığı ve taze balık yağı ile hazırlanan rasyonlarla beslenen gruba göre büyüme performansında önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak vitamin C katkısının yapılmadığı ve okside edilmiş yağın kullanıldığı grupta oldukça düşük büyüme performansı saptanmıştır. Kas ve karaciğer TBARs miktarlarında vitamin C konsantrasyonu arttıkça düşüş görülmüştür. Taze balık yağının kullanıldığı ve artan konsantrasyonlarda vitamin C takviyesinin oksidatif strese karşı koruyucu etki yaptığı ve vitamin katkısının olmadığı durumlarda okside balık yağının oksidatif strese karşı dirençsiz kaldığı saptanmıştır.

Diyetsel okside yağın, iri ağızlı siyah levreklerin (*Micropterus salmoides*) büyüme performansı, vücut kompozisyonu, antioksidan savunma mekanizması ve karaciğer histolojisi üzerine diyetel okside yağın etkisinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, taze balık yağı (POV:11,5 meq/kg) ve farklı oranlarda okside edilmiş balık yağı (POV: 132, 277, 555 meq/kg) kullanılmıştır. 12 haftalık deneme sonunda OX₂₇₇ ve OX₅₅₅ gruplarındaki balıkların ~ %9'unun dorsal, pektoral ve kuyruk yüzgeçlerinde hemoraji ve iltihaplanmalar görülmüştür. Okside yemlerle beslenen grupların yem alımlarının diğer gruplara nazaran daha fazla olduğundan, diğer gruplardan daha yüksek (p<0,05) BWG ve SGR değerleri göstermiştir. OX₅₅₅ grubunda, karaciğer SOD, GPx, GR, GST değerleri yüksek (p<0,05), GSH miktarı ise oldukça düşük (p<0,05) çıkmıştır. Artan oksidasyon miktarı ile plazma, doku ve karaciğer E vitamini bileşeninde azalma, MDA miktarında ise artış görülmüştür. Deneme sonunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde, okside edilmiş yağların balık beslemede kullanımının antioksidan savunma mekanizmasını olumsuz etkilediği, patolojik ve hematolojik değişikliklere neden olduğu ve balık sağlığını olumsuz etkilediği rapor edilmiştir (Chen *et al.* 2012).

Mercan balığı (*Pagrus major*)'nın büyüme performansı ve doku ve kandaki lipit peroksidasyonunun azaltılması amacıyla okside balık yağı ile hazırlanan rasyonlara vitamin E takviyesi yapılmıştır. 8 haftalık deneme sonunda, vitamin E takviyesinin yapıldığı gruplar arasında (100 ve 200 ppm) büyüme performansı açısından belirgin fark olmamıştır ancak vitamin E katkısının yapılmadığı grup ise kontrol grubundan daha düşük büyüme performansı göstermiştir. Vitamin E miktarının artırılması, karaciğer

TBARs değerinin düşmesine yardımcı olmaktadır. Sonuç olarak diyetel okside yağ kullanımının oksidatif stresi artırdığı ancak > 100 mg/kg vitamin E takviyesinin dokuda lipit peroksidasyonunun engellenmesine yardımcı olacağı ve büyümede pozitif etki yapacağı rapor edilmiştir (Gao *et al.* 2012).

Gao *et al.* (2011) okside edilmiş ve okside edilmemiş balık yağına, palmiye yağı takviyesinin Japon deniz levrekleri (*Lateolabrax japonicus*)'nin büyüme performansı ve yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisini araştırmışlardır. ~1,7 g'lık levrek yavruları, 50 gün boyunca balık yağının, palmiye yağıyla belirli oranlarda yer değiştirilmesi ile hazırlanan 7 farklı rasyonla beslenmişlerdir. Deneme sonunda BWG, SGR, FCR, kas ve karaciğerdeki yağ asidi kompozisyonu, tokoferol bileşeni ve TBARs miktarı analiz edilmiştir. Yaşama oranı (SR), tüm gruplar arasında yüksek seyretmekte olup, farklılık göstermemiştir. BWG, SGR ve FCR oranları, palmiye yağı takviyesinin olmadığı ve tamamen okside yağ kullanılarak oluşturulan rasyonla beslenen gruplarda düşüş göstermektedir. Kastaki n-6 yağ asitleri palmiye yağının eklenme miktarı ile doğru orantılı olarak artmakta ancak EPA ve DHA miktarı ciddi düşüş göstermektedir. Sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda Japon deniz levreklerinin beslenmesinde, %50 oranında taze balık yağı, palmiye yağı ile değiştirilebilir. Ayrıca okside balık yağının (26 meq/kg), palmiye yağı ile yer değiştirilmesi, balıkların kas ve bağırsaklarındaki lipit peroksidasyonunu azalttığı ancak büyüme performansına etki etmediği rapor edilmiştir.

Kanal kedi balıklarının (*Ictalurus punctatus*) okside balık yağı tüketiminin, doku lipit metabolizması ve yağ asidi kompozisyonu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada balıklar, 0 (kontrol), 30 (düşük oksidasyon), 60 (orta oksidasyon) ve 90 (yüksek oksidasyon) g/kg okside yağ içeren rasyonlarla 86 gün boyunca beslenmişlerdir. Deneme sonunda plazma ve karaciğer TAG (Trigliserid) ve TC (Total kolesterol) miktarının oksidasyon miktarının artmasıyla artış gösterdiği saptanmıştır (p<0,05). Karaciğer 22:6n-3 konsantrasyonunda, oksidasyon seviyesinin artmasıyla ciddi bir düşüş gözlemlenmiştir (p<0,05) (Dong *et al.* 2014).

Gökkuşığı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) ilk beslenmesinde okside edilmiş yağların kullanılmasının antioksidan savunma sistemine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, balıklar 17°C'de 4 hafta boyunca %12 taze balık yağı, %12 okside balık yağı, %6 soya lesitini ve %6 soya yağı eklenerek hazırlanmış rasyonlarla beslenmişlerdir. Besleme sonucunda katkı yapılarak hazırlanan rasyonlarla beslenen grupların final ağırlıkları, her hangi bir katkı yapılmadan hazırlanan gruba göre daha yüksek çıkmıştır ancak bu gruplar içerisinde okside yağ kullanılan gruba ait bireylerin ağırlıklarında azalma görülmüştür. Okside yağ ile beslenen grupların vitamin E içeriklerinde azalma ve antioksidan enzim aktivitesinde artış gözlemlenmiştir. Alabalıklar, fry safhasında okside olmuş yağla beslenildiklerinde, taze balık yağı ile beslenenlerden farklılık arz etmemiştir. Bu safhadayken olumsuz etkilerini azaltabilmektedirler (Dicharry *et al.* 2014).

Ergin kalkan balıkları (*Scophthalmus maximus*)'nın büyüme performansı ve bağışıklık sistemi üzerine diyetel vitamin E takviyesinin araştırıldığı bir çalışmada, balıklar farklı oranlarda (0,120,240,480,960 mg/kg) vitamin E takviyesinin yapıldığı rasyonlarla 15 hafta boyunca beslenmiştir. Deneme sonunda balıkların son ağırlıkları, SGR değerleri, birincil böbrekteki lökositlerin boyanma miktarı (NBT), fagositik indeksi ve SOD aktivitesi, artan vitamin E miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır. En yüksek değer 480 mg/kg vitamin E takviyesinin yapıldığı grupta görülmüştür. Ancak HSI, VSI ve SR oranları göz önünde bulundurulduğunda tüm gruplar arasında önemli fark bulunmamıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, 480 mg/kg vitamin E takviyesinin Mrna miktarını artırdığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak optimal düzeyde vitamin E takviyesinin (480 mg/kg) büyümeyi artırdığı, immün sisteme etki ettiği, immün sistem ile ilişkili genlerin ekspresyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Niu *et al.* 2014).

Başlangıç ağırlıkları 78 ve 250 g olan iki grup deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) üzerinde yapılan 23 haftalık bir çalışmada, ticari yem modifiye edilmeden ve modifiye edilerek (yüksek oranda okside yağ eklenen, askorbik asitçe fakir olan) kullanılmıştır. Modifiye edilen yeme her hangi bir katkı maddesi (BHT, α -tokoferol, choline) eklenmeden besleme yapılmıştır. Deneme sonunda, modifiye edilen yem ile beslenen

grubun iskelet yapılarında dejenerasyon, kırmızı kan hücre sayısı, hemoglobin, hematokrit miktarında düşüş, eritrosit parçalanması ve plazma enzim aktivitelerinde (AST, CK) artış görülmüştür. Karaciğerde ve kasta düşük α -tokoferol seviyesi ve TBARs seviyesinde artış görülmüştür. Öte yandan büyüme bozuklukları, karaciğerde lezyonlar, ALT ve GPx enzim aktivitesinde veya karın içi yağlanmada değişiklik gözlemlenmemiştir. Küçük bir grupta patolojik bulgular saptanmıştır (Messenger *et al.* 1992).

Balık yağı ve alternatif bitkisel kökenli yağların kırmızı hibrit tilapia (*Oreochromis sp.*)ların beslenmesinde kullanılmasının, büyüme doku yağ asit kompozisyonu, oksidatif denge ve E vitamini içeriği bakımından etkisinin araştırıldığı ve 5 ay boyunca büyütme denemesinin yapıldığı bir çalışmada, balık yağını ikame edecek düzeyde ham palmye yağı, keten tohumu yağı ve soya yağı kullanılmıştır. Balık yağı ile yer değiştirilen yağların balıkların, büyüme performansı, beslenme etkinliği, vücut kondisyonu, karaciğer ve kastaki yağ asidi kompozisyonu, kastaki vitamin E bileşeni ve oksidatif dengesi incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, büyüme performansı ve beslenme etkinliği açısından alternatif yağ kaynaklarının kullanımının pozitif etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$). Kastaki vitamin E bileşeni ve oksidatif stabilite bakımından ham palmye yağı (CPO) ve soya yağı (SO) ile beslenen gruplarda diğerlerine nazaran daha yüksek değerler elde edilmiştir. Karaciğer ve kastaki yağ asidi profili kullanılan yağ kaynağının içeriğini yansıttığı saptanmıştır. Denemenin başlamasından 1 ay sonra balık yağı ile beslenen balıkların EPA, DHA, n-3/n-6 yağ asitlerinin miktarında diğerlerine göre hızlıca artış gözlemlenmiş ancak 3. Aya gelindiğinde diğer gruplara göre bir fark oluşmadığı belirlenmiştir (Keong-Ng *et al.* 2012).

Baker ve Devies (1997)'in Afrika kedi balıkları (*Clarias gariepinus*)'nın okside edilmiş balık yağı ile beslenmesinin ve vitamin E takviyesinin telafi edici özelliğinin doku α -tokoferol bileşenlerine etkisinin incelendiği bir çalışma yapmışlardır. Kedi balığı juvenilleri 8 hafta boyunca taze ve okside edilmiş balık yağı ile hazırlanan ve farklı oranlarda α -tokoferol takviyesinin yapıldığı yemlerle beslenmişlerdir. Kaydedilen son ağırlık değerlerinde gruplar arasında belirgin ($p<0,05$) farklılıklar gözlemlenmiştir.

Düşük vitamin E ve okside balık yağı ile beslenen balıklarda büyümeyi sınırlandırıcı etki göstermiş ve var olan vitamin E'nin etkinliğini azaltmıştır. Taze balık yağı ile hazırlanan yemlerle beslenen grupların artan α - tokoferol miktarından yararlanamadığı tespit edilmiştir. Kas, karaciğer, plazma, kalp ve dalak önemli ölçüde ($p<0,05$) diyetel vitamin E takviyesinden etkilenmişlerdir. Okside balık yağı kullanımının doku vitamin E konsantrasyonunu düşürdüğü saptanmıştır. Taze balık yağı kullanıldıktan sonra okside balık yağı ile beslemeye geçildiğinde, iki hafta içerisinde vitamin E konsantrasyonunda ciddi düşüş ($p<0,05$) gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda diyetel yağların kalitesinin doku α - tokoferol miktarı için önem arz ettiği rapor edilmiştir.

Çipura balıklarında (*Sparus aurata*) diyetel çoklu doymamış yağ asitleri ve vitamin E (PUFA/Tokoferol) oranının antioksidan savunma mekanizması üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, juvenil çipuralar ilk büyüme evrelerinde yüksek ve düşük derecede okside edilmiş ve farklı oranlarda vitamin E ve PUFA takviyesinin yapılarak hazırlanan rasyonlarla 30 gün boyunca beslenmiştir. Rasyonların hiçbiri balıkların büyüme, yaşama oranına etki etmemişlerdir ancak vitamin E ve PUFA takviyelerinin yapıldığı rasyonlar balıkların karaciğer içeriklerinde farklılık arz etmiştir. Karaciğerde ölçülen TBARs değerleri, zengin PUFA ve düşük E vitamini içeren rasyonla beslenen balıklarda yüksek olarak kaydedilmiştir. İzoprostan seviyesi artan PUFA/vitamin E içeriğine bağlı olarak antioksidan enzimlerin seyrettiği değerlerde ölçülmüştür (Mourente 2000).

Montero *et al.* (2000), çipura (*Sparus aurata*) juvenillerinin diyetel yemlerinde ki vitamin E'nin stresli koşullarda büyüme, hematoloji, bazı immün sistem parametreleri ve stres indikatörü olan kortizol seviyelerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışma yapmışlardır. Balık unu bazlı olarak hazırlanan diyetel yemlere, kontrol grubunda 150 mg/kg vitamin E eklenmiştir. Kontrol grubuna ek olarak içerisine hiç vitamin E eklenmeyen yem grubu hazırlanmıştır. Düşük E vitamini takviyesinin, alternatif kompleman sistemini ve hemaglutinasyonu kontrol grubuna göre azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca vitamin E takviyesinin yapılmadığı rasyonla beslenen balıklarda kortizol seviyesi, stres faktörü olmadığında bile kontrol grubuna göre yüksek

çıkıldığı ve eritrosit kırılabilirliğinin arttığı belirlenmiştir. Kronik stres altında vitamin E takviyesi ile hazırlanan rasyonlarla beslenen grupların, büyümelerinde, yaşama oranlarında ve hematolojik parametrelerinin değişiminde kontrol grubuna nazaran azalmalar görülmüştür. Tekrarlayan stres altında vitamin E takviyesi ile beslenen balıkların, kontrol grubu balıklarına göre, kortizol seviyelerinde artış ve yaşama oranlarında azalma gözlemlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, vitamin E eksikliğinin strese karşı savunmada sorunlar oluşturduğu rapor edilmiştir.

Okside balık yağı ile kaplanan yemlerle beslenen atlantik salmonlarının (*Salmo salar*) yem alımı ve lipit oksidasyonunun araştırıldığı bir çalışmada, kontrol (TBARs: 34±5), orta düzeyde okside edilmiş (TBARs: 61±4) ve yüksek düzeyde okside edilmiş (TBARs:76±2) şekilde hazırlanan rasyonlarla bir ay boyunca beslenmişlerdir. Kontrol grubu holmiyum ile deney grupları ise evropiyum ile markalanmışlardır. Balıklar yüksek düzeyde okside edilmiş yemler yerine kontrol grubu yemlerini ve orta düzeyde okside edilmiş yağ ile hazırlanan yemleri tercih etmişlerdir. Yağın oksidasyon miktarı yem alımları arasında farklılık oluşturmuştur. Deneme sonunda balıkların kas, karaciğer, bağırsak dokularından numune alınmıştır. Plazma TBARs değerinin, kas ve karaciğerdeki TBARs değerinden 3-4 kat daha arttığı görülmüştür. Dokulardaki peroksit değeri, gruplar arasında farklılık göstermemekle birlikte geniş varyasyon göstermektedir. Okside olmuş rasyonla beslenen grupların bağırsak dokularında TBARs ve peroksit değerlerinde artış görülmüştür. Gruplar arasında E ve C vitamini seviyesi bakımından farklılık olmadığı gözlemlenmiştir. Elde edilen verilere göre Atlantik salmonlarının okside edilmiş yemlere ve aldehitlere karşı oldukça iyi savunma gösterdikleri, bağırsaklarında ki MDA ve TBARs değerleri ile sunulmuştur (Hamre *et al.* 2002).

Kalkan balığı, pisi balığı ve çipura balıkları üzerinde yapılan bir çalışmada, çeşitli derecelerde okside edilmiş balık yağına vitamin E katkısının balıkların antioksidan savunma mekanizmasına etkileri araştırılmıştır. Deneme boyunca balıklarda beklenmeyen şekilde stres belirtileri ve yüksek mortalite gözlemlenmiştir. Çipura ve kalkan balıklarında yüksek büyüme gözlemlenirken, pisi balıkları çok düşük büyüme

göstermişlerdir. Vitamin E takviyesi çipuralarda büyüme olumlu etkilerken, kalkan ve pisi balıklarında pek etkili olmamıştır ancak vitamin E takviyesi bütün türlerin yaşama oranlarında olumlu etki göstermiştir. Çipura ve kalkan balıklarının karaciğer antioksidan enzim aktivitelerinde, artan okside edilmiş yağ ve azalan vitamin E takviyesi ile arttığı görülmüş, pisi balıklarının karaciğer antioksidan enzim aktivitelerinde ise diğerlerinin aksine artış görülmemiştir. Kalkan balıkları ve çipuralarda vitamin E takviyesi ile lipit peroksidasyonu ürünlerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Artan peroksidasyonun oluşturduğu stresinin pisi balıklarında kalkan balığı ve çipuralara kıyasla düşük büyüme ve yaşama oranı göstermiştir (Tocher *et al.* 2002).

Okside balık yağı içeren yemlerle beslenen juvenil hibrit tilapiaların kullanıldığı bir çalışmada, okside edilmiş balık yağının büyüme, doku lipit peroksidasyonu ve karaciğer glutasyon seviyesi araştırılmıştır. Juvenil hibrit tilapialar 14 hafta boyunca %12 yağ, 0'dan 300 IU vitamin E/kg'a kadar farklı oranlarda vitamin E içeren yemlerle beslenmişlerdir. Diyetel lipit kaynağı olarak 98 meq/kg peroksit değerine sahip olan ringa balığı yağı ve soya yağı karışımı kullanılmıştır. Vitamin E konsantrasyonunu 0 ve 40 IU olduğu rasyonlarla beslenen gruplarda >80 IU olan gruplara nazaran daha düşük bir büyüme gözlemlenmiştir. Yem değerlendirme katsayısı ve protein etkin kullanımı büyüme performansı ile aynı trendi izlemiştir. 0 ve 40 IU vitamin E içeren rasyonlarla beslenen grupların kas ve karaciğerde absorbe edilen lipit peroksidasyonu yüksek oranda vitamin E içeren (>80 IU) gruplardan oldukça fazla olduğu kaydedilmiştir. Vitamin E miktarının artmasıyla doku vitamin E içeriği ve karaciğer glutasyon seviyesinin arttığı görülmüştür. Hibrit tilpialarda vitamin E ihtiyacının 62.5 IU/kg olduğu saptanmıştır (Huang and Huang. 2004).

Fontagné *et al.* (2006) yılında yaptıkları bir çalışmada, Sibiryaya mersin balıklarının erken gelişim evresinde okside edilmiş balık yağı ve vitamin A kullanımının etkilerini araştırmışlardır. 245 meq/kg peroksidasyon seviyesine sahip olan kapelin balığı yağına 0,40 ve 80 g/kg kazein bazlı, 22,5 ve 772,5 IU/kg vitamin A eklenerek deneme rasyonları hazırlanmıştır. Düşük vitamin A içeriği ve okside edilmiş yağ içeren yemle

beslenen larvaların yaşama oranı ve büyümelerinde önemli ölçüde düşüş görülmüştür. 80 g/kg okside lipit içeren rasyonla beslenen grupta %25 oranında larval deformasyon gözlemlenirken bu deformasyona yüksek A vitamini takviyesinin yapıldığı gruplarda rastlanmamıştır. Taze balık yağına yüksek oranda vitamin A takviyesi, okside balık yağına yapılan düşük A vitaminine nazaran daha olumsuz etki yaptığı görülmüştür. Yüksek A vitamini içeren yemlerde 6.7 µg/g, düşük A vitamini içeren yemlerde ise 0,05 µg/g A vitaminin bir bileşiği olan retinil palmitate rastlanmıştır. Larvalardaki retinol bileşenleri diyetel vitamin A'nın miktarı ile etkilenmiştir. Larvaların vücudunda ki retinoid seviyesinin diyetel okside yağ ile modifiye edildiği görülmüştür. Lipit peroksidasyonunun indikatörü olan 8-isoprostan, 80 g/kg okside yağ içeren diyetle yüksek olduğu, SOD, CAT, GPx seviyesi ölçülerek belirlenmiştir. Okside yağla beslenen Sibiry mersin balığı larvalarında ki artan stres, düşük büyüme ve yaşama oranı ve oluşumda deformasyona sebep olabileceği rapor edilmiştir.

Atlantik tütün balıklarının juvenil dönemlerinde deniz balığı yağının iskelet gelişimine etkisini ve vitamin E'nin antioksidan mekanizmasına ve kemik sağlığına etkisini araştıran bir çalışma yapılmıştır. Juvenil tütün balıkları (4,5±0,1 g) peroksit değerleri 0.6, 7.5, 15 meq/kg olan yağlarla ve 0-300 IU/kg α-tokoferol katkısının yapılmasıyla hazırlanan altı farklı rasyonla 14 hafta boyunca beslenmişlerdir. Deneme boyunca diyetel uygulama yapılan balıklar arasında büyüme ve yaşama oranlarında, HSI ve hematokrit değerlerinde değişiklikler gözlemlenmemiştir. Yüksek oksidasyona sahip olan ve α-tokoferol takviyesinin yapılmadığı rasyonla beslenen balıkların karaciğerlerinde oksidatif stresin indikatörü olarak MDA değerinde artış görülmüştür. Vitamin E takviyesinin yapılmadığı rasyonla beslenen balıkların kas ve karaciğerlerinde α-tokoferol miktarı oldukça düşük çıkmıştır. Serum ve kemikteki ALP değerinde vitamin E takviyesinin yapılmasıyla artış görülmüştür. Okside lipitler ve vitamin E eksikliği karaciğerde ki doymuş yağ asitlerini artırmış, doymamış yağ asitlerini ise belirgin ölçüde azaltmıştır. Vitamin E takviyesinin olmadığı rasyonlarla beslenen balıkların karaciğer lipitleri, 22:6n-3, 22:5n-3 ve n-3 yağ asitleri düşük bir oran sergilemişlerdir. Okside balık yağı miktarının artmasıyla balıkların iskeletinde skolyosis oluşumu ve ayrıca lordosis gözlemlenmiştir (Lewis-McCrea and Lall 2007).

Zhong *et al.* (2008) diyetel okside balık yağı ve E vitamini takviyesinin jüvenil Atlantik kod balıklarının (*Gadus morhua*) , büyüme, kan parametreleri ve vücut kompozisyonları üzerine etkilerinin araştırıldığı 9 haftalık bir çalışma yapmışlardır. Taze ve okside balık yağı ile ve vitamin E takviyesinin yapıldığı ve yapılmadığı şekilde hazırlanan dört izonitrojen yemlerle besleme yapılmıştır. Okside edilmiş balık yağının peroksit değeri 94 meq/kg olarak ölçülmüştür. Okside balık yağı kullanımı esnasında balıklar arasında büyüme performansı, yem değerlendirme ve yem alımı açısından önemli düzeyde ($p>0,05$) bir farklılık görülmemiştir. Uygulamalar arasında HSI, VSI ve hematokrit açısından önemli bir farklılık ($p>0,05$) görülmemiştir. Taze balık yağı ile beslenen balıklarla kıyaslandığında, vitamin E katkısının yapılmadığı okside balık yağı ile beslenen balıkların EOF değerlerinde hemolize karşı hassasiyet gözlemlenirken, vitamin E takviyesinin yapılmasıyla hemolizde düşüş görülmüştür. Diyetel uygulamalar balıkların proximate bileşenlerini ve karaciğer yağ asidi profilini etkilemiştir. Taze balık yağı ile beslenen balıkların kas ve karaciğer dokularında okside balık yağına oranlar daha fazla Çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) rastlanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, diyetel okside yağın Atlantik kod balıklarının beslenmesinde kullanılması bazı dokularda olumsuz etkiler oluşturduğu, yeterli miktarda yapılan vitamin E takviyesinin bu durumda düzeltmeye gittiği görülmüştür.

Okside balık yağı ve taze balık yağı kullanılarak hazırlanan rasyonlarla beslenen Karadeniz çipuralarının (*Acanthopagrus schlegeli*) rasyonlarına katılan vitamin E takviyesinin balıkların büyüme, lipit peroksidasyonu ve dokudaki yağ asidi kompozisyonuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, balıklar vitamin E takviyesinin yapılmadığı ve 150, 250, 450 ve 800 mg/kg vitamin E takviyesinin yapıldığı 6 farklı rasyonla 9 hafta boyunca günde iki kere olmak üzere beslenmişlerdir. Deneme sonunda okside yap ile beslenen balıkların ağırlık kazanımı ve yaşama oranları belirgin şekilde azalırken, HSI değerleri yüksek çıkmıştır. Rasyonlara yapılan vitamin E takviyesinin büyümeyi geliştirdiği ve karaciğerdeki vitamin E bileşenlerini artırdığı görülmüştür. Okside yağın kullanımıyla karaciğerde artan TBARs ve DHA önemli ölçüde arttığı, vitamin E takviyesiyle artan bu değerlerde azalmaların olduğu görülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde, balıkların en iyi büyüme performansını ve en düşük lipit

peroksidasyon değerlerini >150 mg/kg α -tokoferol takviyesinin olduğu rapor edilmiştir (Peng *et al.* 2009).

Kanal kedi balıklarının büyüme performansı, karaciğer E vitamini içeriği, doku içeriği ve yağ asidi kompozisyonu üzerine balık yağı ve E vitamini takviyesinin araştırıldığı bir çalışmada, balıklar %42 protein içeren ve 3800 kcal DE/kg enerjiye sahip olan temel yemlere %6, %10 ve %14 oranında balık yağı ve 50, 100 ve 200 mg vitamin E takviyesinin yapıldığı rasyonlarla günde iki kere olmak üzere 12 hafta boyunca beslenmişlerdir. Rasyonlar arasında ağırlık kazanımı, yem alımı ve yemden yararlanma oranları bakımından vitamin E takviyesi ve yağ oranları ile ilgili bir fark bulunmamıştır. 12 haftalık denemenin sonunda %14 balık yağı kullanılarak hazırlanan rasyonlarla beslenen balıkların yaşama oranlarında diğer gruplara nazaran düşme görölmüştür. Tüm vücut nem içeriği %14 yağ içeren gruplarda %10 yağ içeren gruba göre belirgin bir düşüş gözlenirken, tüm vücut yağ oranında artış görölmüştür. Karaciğer lipit içeriği balık yağı kullanımı ve vitamin E takviyesi ile etkilenmemiştir. Artan balık yağı kullanımı ile HSI değerinde ciddi bir düşüş yaşanmıştır ancak bu oran vitamin E takviyesinden etkilenmemiştir. Karaciğer vitamin E içeriği vitamin E takviyesinin artmasıyla artış göstermiş ancak balık yağının artan değerleri ile düşüş eğiliminde olmuştur. Tüm vücut üzerine yapılan çalışmalarda artan diyetsel yağ ile doymuş yağ asitlerinin arttığı, MUFA miktarının düştüğü gözlemlenmiştir. Dokudaki total n-3 ve n-3 HUFA değeri artan diyetsel yağ miktarı ile artmış ancak karaciğer stoklarının bu yağ asitlerinden yüksek çıktığı rapor edilmiştir (Lim *et al.* 2010).

Dong *et al.* (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, okside balık yağının kanal kedi balıklarının (*Ictalurus punctatus*) büyüme ve sitolojik parametreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. 86 gün süren çalışmada balıklar 0, 30, 60, 90 g/kg oksidasyon seviyesine sahip 4 farklı yemlerle beslenmişlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğinde SGR oranı artan oksidasyon seviyesi ile birlikte düşmüştür. Böbrek ve karaciğer dokuları incelendiğinde farklı oksidasyon seviyelerinde ki her dozda hücrenel değişimler olduğu görölmüştür. Bütün grupların hepatosit hücrelerinde yağ damlacıklarının emiliminde artış görölmüş ve lokalizasyonu açısından belirgin farklılıklar görölmüştür. Tüm sonuçlar göz önünde

bulundurulduğunda bir dizi nutrifizyolojik yanıtlar göstermiştir ki okside edilmiş balık yağının kullanımı kanal kedi balıkları açısından olumsuz etkiler ortaya çıkarmıştır.

Japon deniz levrekleri (*Lateolabrax japonicas*) üzerinde yapılan 60 günlük besleme çalışmasında okside edilmiş balık yağı ve balık yağına ek olarak farklı oranlarda ikame edecek şekilde palmiye yağı, büyüme performansı, hematoloji ve immün sistemlerinin araştırılması açısından kullanılmıştır. Denemede başlangıç ağırlıkları $\sim 1,73 \pm 0,01$ g olan levrek yavruları deneme boyunca 100g/kg diyetsel yağ içeren farklı oranlarda palmiye yağı (10P), taze balık yağı (10F), 6:4 (6F4P), 4:6 (4F6P), okside balık yağı (10OF), 6:4 (6OF4P), 4:6 (4OF6P) içeren rasyonlarla beslenmişlerdir. Besleme denemesi sonunda elde edilen sonuçlara göre yaşama oranı, FCR, kondüsyon faktörü ve hematokrit değerleri açısından herhangi bir farklılık bulunmamıştır. 6F4P oranında taze balık yağı ve palmiye yağı içeren rasyonla beslenen grupta en yüksek SGR ve hematokrit değerleri elde edilmiştir (Han *et al.* 2012).

Yeşil yılanbaş balığı yavrularının (*Channa punctatus*) büyümesinin, yemden yararlanmasının, biyokimyasal kompozisyonunun ve hematolojik statüsünün maksimizasyonu için gerek duyulan diyetsel vitamin E miktarının araştırıldığı bir çalışma yapılmıştır. 12 hafta süren çalışmada balıklar farklı düzeylerde vitamin E içeren (E_0 , E_{20} , E_{40} , E_{60} , E_{100} , E_{140} , E_{180} , E_{220} , E_{260}) 9 jelatin bazlı izonitrojenik (450g/kg ham proteinli) ve izoenerjistik (17,97 kJ/g brüt enerji) içeren yemlerle beslenmişlerdir. Deneme sonunda grupların büyüme, beslenme ve hematolojik parametreleri incelenmiştir. Karaciğer lipit peroksidasyonu belirteci olan TBARS değeri de meydana gelen oksidasyonun belirlenmesi için ölçülmüştür. Gruplar arasında en yüksek ağırlık kazanımı (AWG g/balık, 55), en iyi yem dönüştürme oranı (FCR, 1.32), protein bağlama etkinliği (PRE, %40) ve enerji bağlama etkinliği (ERE, %76) 140 mg/kg vitamin E içeren rasyonla beslenen grupta elde edilmiştir. TBARS konsantrasyonu, hematokrit değeri ve hemoglobin değeri E_0 - E_{140} arasında ki konsantrasyonlarda istikrarlı bir tutum sergilerken, E_{10} - E_{260} arasında ki konsantrasyonlarda ise ters bir trend izlediği kaydedilmiştir. Yapılan AWG, FCR, PRE, ERE, Hb ve Hct analizlerinin tümü ortak değerlendirildiğinde yeşil yılanbaş balıklarının beslenmesinde 140-169 mg/kg vitamin E

kullanılmasının balık performansı açısından uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Nasr-Allah *et al.* 2012).

Arslan vd (2012) yaptıkları bir çalışmada yaklaşık 1 g ağırlığında ki kahverengi alabalık yavruları kapalı devre su sisteminde $\pm 13 \pm 0,2^\circ\text{C}$ 'de 6 hafta boyunca kazein-jelatin tabanlı olarak hazırlanan yemlerle beslenmişlerdir. Yemlerde ana yağ kaynağı olarak ringa balığı yağı kullanılmış (MO) ve balık yağı ile hazırlanan rasyonlara ek olarak fındık yağı (FO), soya+keten tohumu yağı (LO+SO) karışımı ve soya lesitini (LE) ile hazırlanan rasyonlar kullanılmıştır. Deneme sonunda yapılan değerlendirmelerde LO+SO yemi ile beslenen grupta diğer gruplara nazaran önemli derecede yüksek büyüme performansı göstermişlerdir ($p < 0,05$). Gruplar arasında en düşük büyüme fındık yağı (HO) ile hazırlanan rasyonla beslenen gruplarda görülmüştür. Balıklarda yapılan tüm vücut toplam yağların nötral ve polar lipit fraksiyonlarının yağ asidi içerikleri beslendikleri yağın özelliklerini yansıtmıştır. İçeriğinde yüksek oranda linolenik asit (18:3n-3, LNA) bulunduran LO+SO rasyonu ile beslenen balıkların vücutlarında dokozahekzaenoik asit (22:6n-3, DHA) miktarında artış gözlemlenmiştir. Yine aynı şekilde yüksek araşidonik asit (20:4n-6, ARA) içeriği, 18:2n-6 (linolenik asit, LA) bakımında zengin olan soya lesitini (LE) diyeti ile beslenen balıklarda görülmüştür. Çalışmanın verileri değerlendirildiğinde, kahverengi alabalıklar yemlerdeki yağları kaynaklarına bağlı olarak LA ve LNA'in sırasıyla ARA ve DHA'ye dönüştürülebildiği rapor edilmiştir. Ayrıca fındık yağı ile hazırlanan rasyonla beslenen balıklarda görülen düşük büyümenin esansiyel yağ asidi eksikliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Alternatif bitkisel yağ kaynaklarının Sargoz (*Diplodus sargus*) yavrularının büyümesi ve vücut kimyasal kompozisyonuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, Rasyonlar balık yağı (BY), soya yağı (SY), kanola yağı (KY) ve fındık yağı (FY) kullanılarak, izonitrojenik (%38) ve izolipidik (%16) olacak şekilde 4 farklı şekilde hazırlanmıştır. Başlangıç ağırlığı ~6 g olan 30 adet balık alınarak 3 tekerrürlü şekilde 8 hafta boyunca beslenmişlerdir. Deneme sonunda balıkların ağırlık kazanımları (WG) ve spesifik büyüme oranları (SGR) gruplar arasında önemli ölçüde fark arz etmiştir ($p < 0,05$).

Fındık yağı ve kanola yağı ile hazırlanan rasyonlarla beslenen gruplar diğer gruplara nazaran daha iyi bir büyüme sergilemişlerdir. Yemden yararlanma oranları incelendiğinde kanola yağı ile beslenen balıklar diğerlerinden daha iyi bir ilerleyiş kat etmişlerdir. Protein (PER) ve yağdan (LER) yararlanma oranları incelendiğinde ise balık yağı ve kanola yağı ile beslenen balıkların daha iyi bir oran elde ettikleri kaydedilmiştir. Kullanılan yağ kaynağı balıkların tüm vücut kompozisyonu ve hepatosomatik indeks (HSI) üzerinde etkili olmuştur. Soya yağı ve balık yağı ile beslenen gruplarda tüm vücut lipit içeriği balık yağı grubundan daha yüksek çıkmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler değerlendirildiğinde soya yağı, kanola yağı ve balık yağının Sargoz yemlerinde büyüme ve yem değerlendirme oranı (FCR) açısından herhangi bir olumsuz etki yaratmadan kullanılabilceği rapor edilmiştir (Taşbozan vd 2015).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma yeri

Bu araştırma Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. Yarı kapalı yetiştiricilik sistemi ve su

Araştırmada Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezindeki yarı kapalı devre yetiştiricilik sistemi kullanılmıştır. Denemede 21 adet 35 L'lik akvaryumlar kullanılmıştır (Şekil 3.1). Yetiştiricilik sistemi oksijen jeneratörü, biyolojik ve mekanik filtreler ile donatılmıştır (Şekil 3.2). Çalışma boyunca sistemin ortalama su sıcaklığı $13\pm 1^{\circ}\text{C}$ olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.1. Besleme denemesinin yürütüldüğü yarı kapalı devre su sistemi



Şekil 3.2 Oksijen jeneratörü, biyolojik ve mekanik filtreler

3.1.3. Balık materyali

Araştırmada Atatürk Üniversitesi İç Su Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen başlangıç ağırlıkları ~1,1 g olan gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavruları kullanılmıştır (Şekil 3.3). Yetiştiricilik sistemine nakledilen yavrular 3 gün boyunca ticari yem ile beslenip adaptasyon sürelerini tamamladıktan sonra deneme çalışması başlatılmıştır.



Şekil 3.3. Denemede kullanılmak için seçilen gökkuşaağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavruları

3.1.4. Yem materyali

Balıkların deneme boyunca beslenmesinde kullanılacak yemler besin ihtiyaçlarına göre izo-nitrojenik ve izo-lipidik (~%48 protein, %20 yağ) olarak formüle edilmiş olup, laboratuvar ortamında hazırlanmıştır. Yem formülasyonu Çizelge 3.1'de verilmiştir. Yemlere Çizelge 3.2'de verilen oranlarda oksitlenmiş balık yağı (peroksit değerı 135,5 meq/kg) ve balık yağına ek olarak değişik oranlarda fındık yağı ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan yemin formülasyonu (%)

	BY	FY	OFY	FY1	FY2	OFY1	OFY2
Balık Unu	14,58	14,58	14,58	14,58	14,58	14,58	14,58
Tavuk Unu	34,03	34,03	34,03	34,03	34,03	34,03	34,03
Soya Proteini	12,26	12,26	12,26	12,26	12,26	12,26	12,26
Kan Unu	3,65	3,65	3,65	3,65	3,65	3,65	3,65
Pre-Jelatinize Nişasta	17,60	17,60	17,60	17,60	17,60	17,60	17,60
Karboksimetil Selüloz	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Vitamin Karışımı	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Mineral Karışımı	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Taze Balık Yağı	15,78	0,00	0,00	9,47	6,312	0,00	0,00
Fındık Yağı	0,00	15,78	0,00	6,312	9,47	6,312	9,47
Okside Balık Yağı	0,00	0,00	15,78	0,00	0,00	9,47	6,312
Kolin Cl	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Lisin	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Metiyonin	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Kromik oksit	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
<u>Proksimet kompozisyon</u>							
Protein	47,8	48,2	48,3	47,5	47,3	47,5	47,6
Yağ	20,0	19,9	19,6	19,5	19,6	20,0	20,2
Kül	10,3	10,9	10,4	11,2	10,2	11,3	11,0
Nem	6,9	5,5	5,2	6,9	6,9	6,1	6,8

Çizelge 3.2. Deneysel yemlerde kullanılan yağlara bağlı olarak peroksit değeri ve E vitamini içeriğindeki değişim

Yem	Yağ kaynağı	Yağın peroksit değeri (meq/kg)	Yemin E vitamini içeriği (µg/g)
FY	%100 fındık yağı	3,4	19,9
BY	%100 taze balık yağı	5,5	6,1
FY1	%60 taze balık yağı + %40 fındık yağı	5,2	9,9
FY2	%40 taze balık yağı + %60 fındık yağı	3,6	15,5
OBY	%100 okside balık yağı	135,5	2,2
OFY1	%60 okside balık yağı + %40 fındık yağı	92,7	8,8
OFY2	%40 okside balık yağı + %60 fındık yağı	61,1	12,7

Yem hammaddeleri mikser ile homojen olmasına özen gösterilerek karıştırılmıştır. Çevresel faktörlerden etkilenebilecek malzemeler ve su en son katılarak peletlenebilir kıvama getirilmiştir (Şekil 3.4). Peletlenen yemler etüvde 35°C’de 48 saat kurutularak 2 mm, 1 mm, 800µm, 500µm, 300 µm, 125 µm eleklerden geçirilerek (Şekil 3.5) balıkların ağız açıklıklarına göre fraksiyonlanmıştır. Fraksiyonlanan yemler, boyutlarına göre hava geçirmez kutulara konulup -20°C’de ışık almayacak şekilde stoklanmıştır. Balıklar hazırlanan bu yemle 9 hafta boyunca beslenmiştir.



Şekil 3.4. Yemlerin hazırlanma aşaması ve stoklama şekli

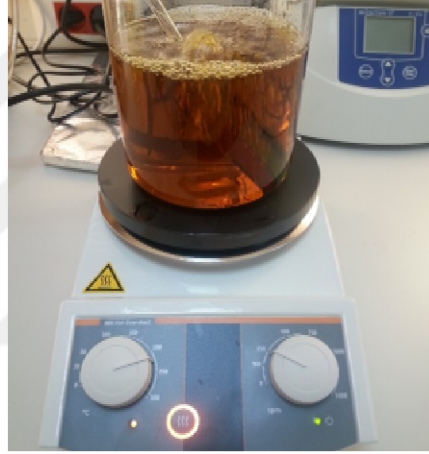


Şekil 3.5. Balıkların ağız açıklığına göre fraksiyonlanmış yemler

3.2. Yöntem

3.2.1. Balık yağının sıcaklık ve hareketli havalandırma yardımıyla okside edilmesi

Yem yapımında kullanılan taze balık yağı (5,5 meq/kg) 70°C'de 12 saat boyunca hareketli hava akımına maruz bırakılarak okside edilmiştir (Şekil 3.6). 3 saat aralıklarla balık yağının oksidasyon düzeyi ölçülmüş ve 12 saatin sonunda istenilen peroksit değerine (135,5 meq/kg) ulaşıncaya ısıtma ve havalandırma durdurulmuştur (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. Balık yağının sıcaklık ve havalandırma vasıtasıyla okside edilme düzeneği



Şekil 3.7. Okside edilmemiş taze balık yağı (BY 5,5 meq/kg) ve okside edilmiş balık yağı (OBY 135,5 meq/kg)

3.2.2. Deneme düzeni

Deneme oksitlenmiş balık yağı kullanımının ve vitamin E bakımından zengin olan fındık yağının koruyucu etkisinin test edilmesi amacıyla 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır (Çizelge 3.3). Atatürk Üniversitesi İç Su Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen ~1,1 g'lık gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavruları 3 gün boyunca ticari yem ile beslenip ortam koşullarına adapte edildikten sonra 9 hafta boyunca hazırlanan rasyonlarla beslenmiştir.

Çizelge 3.3. Deneme düzeni

	TK1	TK2	TK3	TK4	TK5	TK6	TK7	TK8	TK9	TK10	TK11	TK12
YEM	BY	FY	OBY	FY1	FY2	OFY1	OFY2	BY	FY	OBY	FY1	FY2
	TK13	TK14	TK15	TK16	TK17	TK18	TK19	TK20	TK21			
YEM	OFY1	OFY2	BY	FY	OBY	FY1	FY2	OFY1	OFY2			

9 haftalık besleme çalışması boyunca her 15 günde bir biomas ölçümü gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Yemleme ve tankların temizliği

Balıklar adaptasyon süreleri tamamlanana kadar 3 gün süre ile ticari yem ile beslenip deney başlatılmıştır. Çalışmanın başlamasından itibaren ağırlıklarının %5'i kadar yem, her 3 günde bir hesaplanarak tartılmış ve 3 gün içerisinde tüketilecek şekilde verilmiştir (Şekil 3.8). Yemleme yapılırken tanklara verilen yemleri her balık alacak şekilde yavaş yavaş ve azar azar verilerek yemin tüketip tüketilmediği dikkatlice gözlemlenmiştir. Yemleme günde 3 sefer olmak üzere 09.00, 13.00 ve 17.30 saatlerinde yapılmıştır.



Şekil 3.8. 3 günlük hesaplanan yemlerin tartımı

Tanklar her sabah sifonlanmış, tankların su çıkış filtreleri haftada 3 kere temizlenmiş, sistemin genel filtreleri günde bir kere temizlenmiştir. Ayrıca her 15 günde bir biomas esnasında tankların içleri tamamen temizlenmiştir.

3.2.4. Örneklerin alınması ve muhafazası

Çalışma sonunda balıklar sudan çıkarılarak son biomas ölçümleri yapıp sıvı azotta -273°C'de soğutularak şoklanmış (Şekil 3.9) ve daha sonra analizlerde kullanılıncaya kadar -80°C'de hava ve ışık almayacak şekilde saklanmıştır.



Şekil 3.9. Örnekleme yapılacak balıkların sıvı azot ile dondurulması

3.2.5. Büyüme parametrelerinin hesaplanması

Çalışmanın büyüme parametrelerinin hesaplanması Arslan *et al.* (2012)'ye göre yapılmıştır.

A. Ağırlık Kazancı: $([\text{Son Ağırlık} - \text{Başlangıç Ağırlığı}] * 100) / \text{Başlangıç Ağırlığı}$

B. Spesifik Büyüme Oranı: $([\log_e(\text{son ağırlık}) - \log_e(\text{başlangıç ağırlığı})] * 100) / \text{denemede geçen gün sayısı}$

C. Ölüm Oranı: $100 - ((\text{Deneme başındaki balık sayısı}) - (\text{Deneme sonundaki balık sayısı})) * 100 / (\text{Deneme başındaki balık sayısı})$

3.2.6. Kimyasal analizler

3.2.6.a. Yağların peroksit değerinin belirlenmesi

Yem yapımında kullanılacak olan yağların peroksit değerinin hesaplanması işlemi "AOCS" metoduna göre yapılmıştır. ~ 5 g yağ örneği vida kapaklı 250 ml'lik erlenmayer flask içerisine tartılır. Üzerine 30 ml asetik asit-kloroform (CH_3COOH -

CHCl₃) eklenerek yağ tamamen çözülene kadar helozonik şekilde çalkalanır. Yağ tamamen çözüldükten sonra üzerine 0,5 ml doymuş potasyum iyodür (KI) çözeltisi eklenip, ağzı kapatıldıktan sonra 1 dk süre ile çalkalanır. Sürenin sonunda 30 ml saf su hızlıca flask içerisine aktarılarak ağzı kapatılır ve kloroform tabakası oluşuncaya kadar kuvvetlice çalkalanır. Bir büret 0,1 N sodyum tiyosülfat (Na₂S₂O₃) ile doldurulur. Flask içerisindeki koyu turuncu renkli çözelti renk berraklaşıp açık amber rengine ulaşana kadar bu solüsyon ile titre edilir. Eğer renk titrasyondan önce açık amber renginde ise titrasyon yapılmaz. Çözelti içerisine indikatör olarak 1 ml nişasta çözeltisi eklenir. İndikatör eklenildiği zaman renk mavimsi-gri hal alacaktır. Daha sonra renk açılıp süt görünümü elde edinceye kadar yavaşça sodyum tiyosülfat ile titre edilir. Süt görünümü elde edilince titrasyon sonlandırılır ve harcanan miktar kaydedilir. Şahit numune için yağ hariç tüm basamaklar gerçekleştirilip harcanan çözelti miktarı kaydedilir.

$$\text{Peroksit Değeri} = \frac{(S-B) \times Na_2S_2O_3 \times 1000}{\text{Örnek Ağırlığı}}$$

Veya

Peroksit Değeri = $(S - B) \times Na_2S_2O_3 \times 200$ formülünden hesaplama yapılabilir.

S: Örneğin titrasyonunda harcanan tiyosülfat miktarı

B: Şahit numunenin titrasyonunda harcanan tiyosülfat miktarı

Asetik asit – Kloroform çözeltisi;

480 ml Asetik asit 320 ml Kloroform ile karıştırılır. Çözelti homojen şekilde karışana kadar manyetik karıştırıcıda bir bar yardımıyla karıştırılır.

Doymuş KI çözeltilisi;

Kaynatılıp soğutulan saf su içerisinde çözünemeyen potasyum iyodür parçaları kalana kadar potasyum iyodür eklenmesi ile hazırlanır. Hava ve ışık almayacak şekilde saklanır.

3.2.6.b. Örneklerden alınan yağ ekstrakte edilmesi

Numunelerden toplam yağ ekstrakte edilmesi işlemi Folch *et al.* (1957) metoduna göre yapılmıştır. Çözücü olarak kullanılan metanol ve kloroform ile lipitler ekstrakte edildikten sonra azot gazı altında çözücüler uçurularak toplam yağ oranı tespit edilmiştir. Toplam yağ oranı belirlendikten sonra, Metcalfe and Schmitc (1961)'e göre metil esterleri (FAME) hazırlanıp viallere aktarılmıştır. Hazırlanan vialler gaz kromatografisinden (GC; Marka: Agilent, Model:6890) (Şekil 3.10) geçirilerek yağ asitleri analiz edilmiştir.

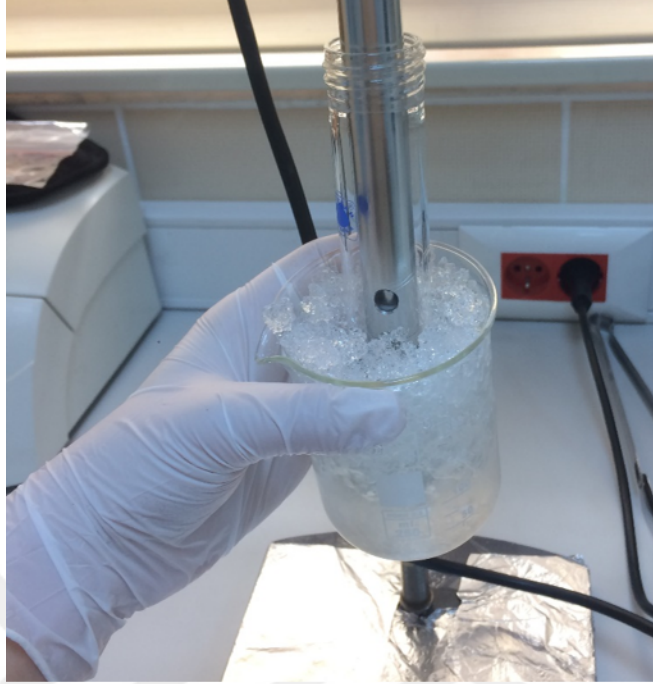


Şekil 3.10. Gaz kromatografi cihazı (Agilent 6890 Mass Gaz Kromatografisi (GC/MS))

3.2.6.c. Örneklerden ekstrakte edilen yağ miktarının belirlenmesi

Çalışmadan elde edilen numunelerin yağ ekstraksiyon işlemi Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Numunelerden toplam yağ ekstrakte etmek amacıyla ~1 gr ağırlığındaki numuneler 70 ml'lik cam tüplere aktarılmış ve üzerlerine 20 ml %0,01 (w/v) butylated hydroxytoluen içeren kloroform/methanol (2:1 v/v) karışımından eklenerek 1 dakika süre ile ultratoraks ile parçalanmıştır (Şekil 3.11). Parçalama işleminden sonra vakum pompası vasıtasıyla Whatman No:1 filtre kağıdı kullanılarak süzümüştür. Süzülen numuneler temiz ve kuru olan ayrı cam tüplere aktarılarak numunelerin %2'si kadar $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ (her 20 ml çözelti için 4 ml) eklenmiştir. Tüplere 1 dk nitrojen doldurulup ağzı hava kaçırmayacak şekilde sıkıca kapatıldıktan sonra 1 dk süreyle vortekslenerek oda sıcaklığında ve ışık almayan ortamda bir gün süreyle faz oluşumu için saklanmıştır.

24 saatlik sürenin sonunda oluşan alt faz pastör pipeti ile temiz ve kuru tüpe aktarılmıştır. İçlerine bir miktar kloroform eklenen tüpler azot evaporatör sistemine yerleştirilerek ısıtmaya ve azot gazına tabi tutulmuştur (Şekil 3.12). Kloroform ve çözücülerin bir miktar uçurulmasından sonra kalan numuneler daraları alınıp kaydedilen 10 ml'lik cam deney tüplerine aktarılıp evaporasyona devam edilmiştir. Çözücülerin tamamen uçmasının ardından belirli aralıklarla tüpler tartılarak kaydedilmiştir. Ağırlıklar sabitleninceye kadar tartımlar devam ettirilerek tüplerdeki yağ miktarları gravimetrik metotla hesaplanmıştır. Cam tüplere bir miktar kloroform eklenip içlerine azot gazı doldurularak kapakları sıkıca kapatılmış ve $-20^{\circ}C$ 'ye kaldırılmıştır (Folch *et al.* 1957).



Şekil 3.11. Numunelerin çözücü içerisinde ultratoraks vasıtasıyla parçalanması



Şekil 3.12. Numunelerin evaporatörde azot gazı ve ısı ile toplam yağının elde edilmesi

Lipit Ekstraksiyonunda Kullanılacak Çözeltinin Hazırlanışı: 2:1 oranında kloroform-metanol karışımı hazırlanarak çözeltinin her bir litresi için 0,25 gr BHT (butylated hydroxytoluen) eklenmiştir.

3.2.6.d. Yağ asidi metil esterlerinin (FAME) hazırlanması

Numunelerden saf olarak elde edilmiş olan yağların bulunduğu cam deney tüplerine 2 M NaOH çözeltisinden 1,5 ml eklenip azot altında kapakları sıkıca kapatılmıştır. Tüplerin içlerine nitrojen gazı doldurulduktan sonra kapakları sıkıca kapatılıp, 80°C ısıtılmış olan etüvde (Binder FD 53) 1 saat süre ile tutularak içerisindeki yağların sabunlaşması sağlanmıştır. 1 saatlik sürenin sonunda oda sıcaklığında soğutulan örneklere %14'lük BF₃ (Borontriflouride methanol)'den 2 ml eklenip tekrar nitrojen gazı doldurulup 80°C'de yarım saat daha bekletilmiştir. Sürenin sonunda örnekler tekrar oda sıcaklığına alınarak soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan örneklerin üzerine 1 ml hekzan eklenerek vorteklenmiştir. Daha sonra tüplere 1 ml ultra saf su eklenmiş ve tekrar vortekslenmiştir. Son olarak bir kere daha tüplere hekzan eklenerek üstte oluşan faz pastör pipetiyle alınarak içerisinde sodyum sülfat (Na₂SO₄) bulunan yeni cam deney tüplerine aktarılmıştır. Toplanan hekzan tabakası 2 ml'lik GC viallerine aktarılıp nitrojen gazı ile doldurularak kapakları kapatılmıştır (Metcalf and Schmitz 1961). Hazırlanan vialler yağ asitlerinin tespit edilmesi için gaz kromatografi (GC) cihazına yerleştirilmiştir (Şekil 3.10).

3.2.6.e. Yağ asitlerinin tayini

Hazırlanan numuneler 100'lü otomatik örnek tablasına yerleştirilerek gaz kromatografisinde (GC/MS) yürütülmüştür. Supelco Component FAME Mix standartının yürütüldüğü sistemde pikler çıkış zamanlarına göre yağ asitleri ile eşleştirilerek kalibre edilmiş ve kromatogramlarda % alan olarak gösterilen değerler sonuç olarak alınmıştır.

A. Gaz kromatografisi koşulları

Cihaz: Agilent 6980 Mass Gaz Kromatografisi (GC/MS) 23

Dedektör: FID

Kolon: DB-23 (60mx0,25mmx0,25 µm)

Dedektör Sıcaklığı: 200°C

Kolon Sıcaklığı: 165°C'de 15 dk bekletilir, dakikada 5°C artışla 200°C 47 dk bekletilir.

Taşıyıcı Gaz: Hidrojen (5psi)

Zaman Sabiti: 200

Akış Hızı: 1/50 (azot/kuru hava)

Hava Basıncı: 350 ml/dk

Taşıyıcı Gaz Basıncı: 35 ml/dk

3.2.6.f. Ham protein miktarının belirlenmesi

Ham protein miktarının analiz edilmesinde Kjeldahl yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem ile protein yapısında olmayan N miktarı da belirlenmektedir. Bu nedenle, protein fraksiyonu bazen tri-kloro asetik asit ile presipite ettirilir, süzülür. Sıvı kısımda protein tabiatında olmayan N miktarı belirlenir ve deney sonucunda ham protein değerinden çıkarılır.

1. Bir parça adi filtre kağıdının 0,0001 g hassasiyet derecesine sahip olan tartıda darası alınarak üzerine 1g kataliz karışımı (Kataliz karışımı; 10:1 K₂SO₄:CuSO₄; K₂SO₄ kaynama noktasını yükseltme ve oksidasyonu hızlandırma görevi yapar, CuSO₄ kataliz olarak görev üstlenir) ilave edilmiştir.

2. Filtre kağıdı içindekilerle birlikte katlanarak 800 ml Kjeldahl balonuna aktarılmıştır.

3. Balon içerisine;

a) 3-4 adet cam parçaları koyulmuştur.

b) 25 ml konsantre sülfirik asit (H₂SO₄) eklenmiştir. Analiz edilecek örneğin yağ içeriğinin yüksek olması durumunda 10 ml daha fazla asit konulması gerekebilir.

- 4.İçerisine örnek ve asit konulan balon Kjeldahl ünitesinin yakma kısmına yerleştirilir, düşük ateşte yakma işlemine başlanır. Daha sonra sıcaklık kademeli olarak artırılarak yakma işlemine devam edilir.
5. Yakma işlemi çeker-baca altında dikkatli bir şekilde yapılmalıdır. Tüm örneğin eşit şekilde yanması için belirli aralıklarla eldiven takılarak balon çevrilmelidir.
6. Yakma işlemi esnasında balonun boyun kısmında veya yan kısımlarında sıçrayan ve yanmamış parçacıklar oluşmuş ise, balon hafif soğuyana kadar bekletilir ve dikkatlice saf su ile yanmamış parçacıkların balon içerisine doğru yıkaması yapılır.
7. Yakma işlemine, balon içeriği berrak mavi-yeşil (bakır sülfat rengi) olana kadar devam edilir. Bu renge erişildikten son 30 dakika daha yakma işlemi sürdürülür. Yakma işleminin sonucunda organik N, amonyum tuzuna çevrilir.



8. Yakma işleminin bitmesiyle ocak kapatılır ve balonlar tamamen soğuyana kadar beklenir.
9. Soğutulmuş balona (eğer balon içeriği kristalize hale gelmiş ise hafifçe ısıtılarak erimesi sağlanabilir) Kjeldahl tableti eklendikten sonra 400 ml saf su yavaş yavaş eklenmelidir.
10. 75 ml doymuş sodyum hidroksit (NaOH) Kjeldahl balonunun iç kenarından çok yavaş akacak şekilde dikkatlice aktarılır. Bu aşamada çok dikkatli olunmalı, balon çalkalanmadan sabit tutulmalı ve çözeltilerin hızlıca karışmamasına özen gösterilmelidir.
11. Çözeltiler eklendikten sonra Kjeldahl balonu destilasyon ünitesine, kondensatörün üst kısmında cam ucunun geçirildiği lastik tıpa ile sıkıca kapatılarak yerleştirilir ve iyice çalkalanarak karışımın homojen olması ve renk oluşması sağlanır.
12. 400-500 ml'lik erlenmayer flask içerisine 50 ml %4'lük borik asit ve 1-2 damla indikatör (A) eklenir. Bu flask Kjeldahl ünitesinin destilasyon kısmına kondensatörün altına yerleştirilir. Kondensatörün cam tüpünün ucunun borik asit içerisine tamamen dalmış olmasına dikkat edilir.
13. Sistem soğutucu suyu açılır.

14. Sistem sıcaklığı kademeli olarak artırılarak destilat toplanması sağlanır.
15. İçerisinde borik asit bulunan flaskta toplam hacim 250 ml olacak şekilde, ~200 ml kadar destilat toplanmalıdır. Yakma işlemi esnasında oluşturulan amonyum tuzu, destilasyon sırasında parçalanır ve NH₃'a dönüşür. Oluşan NH₃ gazı soğutucu sistemde yoğunlaşarak sıvı hale dönüşür ve borik asit tarafından tutulur.



İçerisinde indikatör bulunan borik asit pembe-kırmızı renkli iken, destilatın toplanmasıyla yeşilimsi bir renk alacaktır.

16. Destilatın toplandığı erlenmayer flasi toplanır. Bunun yerine, içerisinde 400 ml saf su bulunan yeni erlenmayer flaskı takılır. Isıtıcılar kapatılarak vakum oluşması sağlanır. Su kondensatör kısmından emilerek Kjeldahl balonunun içerisine akar. Destilasyon sisteminin bu şekilde temizliği yapılmış olur.

17. Toplanan yeşil renkli destilat 0,1 N hidroklorik asit (HCl) ile çelik gri rengi elde edilinceye kadar dikkatlice titre edilir ve harcanan HCl miktarı kaydedilir. Titrasyon esnasında pembe-kırmızı rengin elde edilmesi titrasyonun aşırı yapıldığının göstergesidir.



18. Deneyde hesaplamaların yapılması için içerisinde doku örneği hariç diğer tüm malzemeleri içeren bir numune daha yakılarak titre edilir. Elde edilen sonuç şahit numune olarak kullanılır.

19. Total N oranı formülden hesaplanır.

$$\%N = \frac{(\text{Örnek için harcanan ml HCl} - \text{Şahit numune için ml HCl}) \times 0,014 \times (\text{HCl}'\text{nin N}) \times F}{\text{Örnek ağırlığı}}$$

F= 0,1 N HCl'nin faktörü

% Protein = %N x 6,2

İndikatör A

0,25 g Metil kırmızısı

0,25 g Brom kresol yeşili

250 ml etil alkol içerisinde eritilip karıştırılır. İndikatörün 1 ml si %4'lük 150 ml borik asit için yeterlidir.

Doymuş NaOH (Çözelti B)

a) 1500 ml saf su

b) 1600 gr NaOH

NaOH azar azar 1500 ml saf su içerisine eklenir. Sürekli karıştırılarak tüm NaOH çözünene kadar bu işleme devam edilir. Çözelti ısınacağından dayanıklı bir kap içerisinde çözdürme yapılmalı ve çözünme tamamlanınca ağzı kapatılmalıdır.

0,1 N HCl Çözeltisi

%37'lik , d= 1,19 g/cm³ olan HCl asitten 1 litre 0,1 N HCl çözeltisinin hazırlanması

N=M olduğundan litre.N=Mol sayısı

1 x 0,1 = 0,1 mol HCl'ye ihtiyaç duyulur.

$$\text{Mol sayısı (n)} = \frac{g}{\text{mol ağırlığı}}$$

g = mol ağırlığı x mol sayısı

g = 36,5 x 0,1 = 3,65 gr saf HCl

%37'lik HCl kullanıldığından $\frac{3,65}{0,37} = 9,86$ gr HCl kullanılması gerekir.

$$M (\text{ağırlık}) = v \cdot d \quad v = \frac{m}{d} \rightarrow v = \text{Hacim}$$

$$V = \frac{9,86}{1,19} = 8,289$$

%37'lik HCl'den alınarak toplam hacim 1 lt'ye tamamlanır.

0,1 N HCl Çözeltisinin Faktörünün Ayarlanması

a) Faktörü belli olan 0,1 N NaOH çözeltisi ile ayarlama

Bunun için faktörü belli olan 0,1 N NaOH dan 250 ml'lik bir erlene 20-25 ml alınır.

Üzerine 1-2 damla fenolftalein indikatörü damlatılarak renk dönüşümüne kadar yeni hazırlanmış, faktörü belli olmayan 0,1 N HCl çözeltisi ile titre edilir. Aynı şekilde, birkaç tekrarlama daha yapılır ve çıkan sonuçların ortalaması alınır.

$$F1 = \frac{F2 \times S2 \times N2}{S1 \times N1} \text{ formülünden faktör hesaplanır.}$$

F1: HCl çözeltisinin faktörü (bilinmeyen)

S1: Sarf edilen HCl çözeltisinin miktarı

N1: HCl çözeltisinin normalitesi

F2: NaOH çözeltisinin faktörü

S2: Alınan NaOH çözeltisinin miktarı (ml)

N1: NaOH çözeltisinin normalitesi

b) Saf Na₂CO₃ ile ayarlama

Bir miktar tartılan Na₂CO₃ 260-270°C'de 1-2 saat kurumaya bırakılır., desikatörde soğuyuncaya kadar tutularak nem alması önlenir.

Soğutulan bu örnekten bir erlene hassasiyet derecesi 0,0001 olacak şekilde 0,1-0,2 gr arasında tartım yapılır. Üzerine 100 ml saf su eklenerek çözdürülür. 3-4 damla metil oranj ve metil kırmızısı indikatörü eklenir. 0,1 N HCl ile kırmızı renk oluşuncaya kadar titre edilir. Bu çözelti ortamdaki CO₂'nin uzaklaştırılması için kaynayınca kadar ısıtılır. Isıtma sonucu rengin sarıya dönmesi halinde tekrar titrasyon yapılır ve harcanan toplam miktar kaydedilir. Bu işlem birkaç kez tekrar edilerek çıkan sonuçların ortalaması alınır.

$$F = \frac{T}{\frac{Na_2CO_3}{2000} \cdot S \cdot N} \text{ formülünden faktör hesaplaması yapılır.}$$

T: Alınan Na₂CO₃ miktarı (g)

S: Titrasyon için sarf edilen 0,1 N HCl miktarı (ml)

N: HCl çözeltisinin normalitesi

F:Çözeltinin faktörü (denemeye alınan HCl'in faktörü)

Elde edilen faktörün 0,995-1,005 arasında olması tercih edilir. Bu değerleri elde edebilmek için şu işlemler yapılır.

Eğer $f > 1$ ise $F=1$ olması için;

1. Eklenecek su miktarı = sarf edilmesi gereken HCl miktarı – sarf edilen HCl miktarı işlemi yapılarak eklenmesi gereken su miktarı tespit edilir.

2. $S = \frac{C(A-B)}{B}$ formülü kullanılarak da hesaplama yapılabilir.

S: İlave edilecek su miktarı

A: Faktörü belli olan çözeltiden sarf edilen miktar (ml)

B: Faktörü belli olmayan çözeltiden kullanılan miktar (ml)

C:Faktörü belli olmayan çözeltinin toplam hacmi

Eğer $f < 1$ ise $F=1$ olması için ihtiyaç duyulan madde miktarı ;

Fazla su miktarı = (Faktör x Şişedeki çözelti miktarı) – Mevcut çözelti miktarı

Elde edilen fazla su miktarı için gerekli olan asit miktarı hesaplanarak hazırlanan çözeltiye katılır ve faktör tekrar ayarlanır.

%4'lük Borik asit (H₃BO₄) çözeltisinin hazırlanması

40 gr H₃BO₄ tartılarak 960 ml saf suda çözülür.

3.2.6.g. Su ve kuru madde miktarının belirlenmesi

Çift tekerrürlü olacak şekilde temiz alüminyum kurutma kapları 2 saat süre ile 100 °C'lik etüvde bekletilir. Sürenin sonunda desikatöre alınan kurutma kaplarına, soğutulup 0,0001 g hassasiyetli tartıda daraları alındıktan sonra 10 g kadar örnek tartılıp kaydedilir. Örnek kurutma kabına iyice yayıldıktan sonra 100°C'lik etüvde sabit ağırlık elde edilinceye kadar (~18 saat) kurutulur. Örneklerin bulunduğu kurutma kapları etüvden çıkarıldıktan sonra hızlıca desikatöre konularak nem alması engellenir (Şekil 3.13). Örneğin su içeriği; ağırlık kaybının örnek ağırlığına bölünüp, 100 ile çarpılmasıyla hesaplanabilir (Gökalp vd 2001).

$$\% \text{ Kuru Madde} = \frac{(\text{Son Ağırlık} - \text{İlk Ağırlık})}{\text{Örnek Ağırlığı}} \times 100$$



Şekil 3.13. Desikatörde soğumaya bırakılan kuru madde numuneleri

3.2.6.h. Ham kül içeriğinin belirlenmesi

Kül miktarının belirlenmesinde kullanılacak olan porselen krezeler 525°C 'de 6-8 saat veya 650°C 'de 3 saat kadar tutulur. Kül fırınından çıkarılan krezeler desikatörde tartılır ve daraları kaydedilir. Soğuyan krezelere 0,0001 g hassasiyete sahip olan tartıda 5-10 g arasında örnek tartılarak kaydedilir. 100°C etüvde 10-12 saat kadar kurutma yapılır. Kurutma işleminden sonra kül fırının kapağı açık olacak şekilde duman çıkışı sonlanana kadar yakılır (Şekil 3.14). Yakma işleminin yavaş yavaş gerçekleştirilmesi gerekir, hızlı yakılması durumunda örnekler krezeden sıçrayabilir. Duman çıkışının sonlanmasından sonra fırının kapağı kapatılarak kademeli olarak sıcaklık artırılır (200°C 'de 5 dk, 300°C 'de 5 dk, 400°C 'de 5 dk). Son sıcaklık 525°C olacak şekilde 18 saat yakma yapılır. Fırından çıkarılıp desikatörde soğutulan örnekler tartılarak kaydedilir. Geriye kalan kül ağırlığının, örnek ağırlığına bölünüp, 100 ile çarpılmasıyla ham kül miktarı hesaplanabilir (Gökalp vd 2001).

$$\% \text{ K\u00fcl Miktar\u0131} = \frac{\text{K\u00fcl A\u011frılı\u011f\u0131}}{\text{\u00d6rnek A\u011frılı\u011f\u0131}} \times 100$$



Şekil 3.14. K\u00fcl fırınında yakma işlemi

3.2.6.i. α -Tokoferol miktarının belirlenmesi

~200 mg karaci\u011fer dokusu 50 ml'lik Falcon t\u00fcp\u00fc i\u00e7erisine tartılır. \u00dczerine 0,45 ml B sol\u00fcsyonundan ve 4,5 ml A sol\u00fcsyonundan eklenip, 3 kere 30'ar saniyelik periyotlarla t\u00fcp buz i\u00e7erisinde g\u00f6m\u00fcl\u00fc olacak Şekilde homojenize edilir. Homojenizasyondan sonra kapakları kapatılan t\u00fcpler 10 dakika boyunca 5000 RCF'te santrif\u00fcj edilir. Santrif\u00fcj sonrasında past\u00f6r pipeti yardımıyla s\u00fcpernatant temiz ve kuru 15 ml'lik Falcon t\u00fcp\u00fcne aktarılır. Tekrar 0,45 ml sol\u00fcsyon B ve 4,5 ml sol\u00fcsyon A eklenen t\u00fcpler 2'Şer kere 30'ar saniyelik s\u00fcrelerle homojenize edilip santrif\u00fcjlenir ve son s\u00fcpernatant toplanır. S\u00fcpernatant metanol (MeOH) ile 10 ml'ye tamamlanır. 0,45 μ m'lik filtre ile s\u00fcz\u00fclen \u00e7\u00f6zelti amber renkli cam viallere aktarılarak sıvı kromatografi (HPLC) cihazına yerleştirilir (Şekil 3.15). Hazırlanan standart numunenin y\u00fcr\u00fct\u00fclmesi ile elde edilen pik,

yürütülen numunelerin verdiği pik karşılaştırılarak E vitamini miktarı saptanır (Cort *et al.* 1983).



Şekil 3.15. Sıvı kromatografi cihazı (HPLC; Marka: Agilent)

Standart Hazırlanması;

~10 mg α -Tokoferol tartılıp 10 ml metanol içerisinde çözülerek 1000 ppm konsantrasyonlu standart elde edilir. Daha sonra bu standart üzerinden metanol ile seyreltme yapılarak 1 ppm, 0,5 ppm, 0,2 ppm, ve 0,05 ppm'lik konsantrasyonlar elde edilir. Elde edilen konsantrasyonlu standartlar filtre edilerek viallere aktarılır ve HPLC cihazında okutularak standart faz oluşturulur.

Solüsyon A : %1'lik Fosforik Asit (H_3PO_4) hazırlanması;

10 ml %85'lik H_3PO_4 tartılarak 990 ml metanol içerisinde çözülür.

Solüsyon B : %5'lik pyrogallol hazırlanması ;

2,5 g pyrogallol bir miktar metanol ile tamamen çözdürüldükten sonra balon jöje yardımıyla toplam hacim 50 ml'ye tamamlanır.

Mobil faz hazırlanması;

%93 MeOH + %6,5 H₂O + %0,5 H₃PO₄'ten oluşan çözelti hazırlanır.

3.2.7. Enzim aktiviteleri tayini**3.2.7.a. Enzim aktivitesi analizlerinde kullanılacak karaciğer örneklerinin hazırlanması**

Sıvı azotta dondurulup – 80 °C'de muhafaza edilen balıkların abdominal kısımları çözdürülmeden steril bir bisturi yardımıyla kesilmiş ve karaciğerleri safra içeriğinin dağılmamasına dikkat edilerek çıkarılmıştır. Çıkarılan karaciğer numuneleri ependorf tüplerine aktarılıp markalandıktan sonra hızlıca - 80°C'ye aktarılmıştır. Doku örneklerinin çıkarılmasında her balık ve grup için ayrı steril malzemeler kullanılmıştır.

3.2.7.b. Homojenat hazırlanması

Enzim çalışması yapılacak olan doku örneğinden ~ 1 g kadar tartılarak üzerine ağırlığının 3 katı kadar yani 3 ml fosfat tamponu eklenir. İçerisine metal bilye konulup doku parçalayıcısında 3 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Homojenizasyondan sonra doku örnekleri 13000 rpm'de 1 saat süre ile santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra süpernatant kısımları alınarak çalışmalarda kullanılmak üzere 4°C'de muhafaza edilmiştir (Atabeyoğlu 2011).

Fosfat tamponunun hazırlanışı;

2,04 g KH_2PO_4 tartılarak 250 ml saf suda çözdürülmüştür. Tamamen çözüldükten sonra üzerine 100 ml saf su daha eklenip pH 7,3'e ayarlanıp son hacim 500 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır.

3.2.7.c. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin ölçülmesi (SOD)

A: Prensip:

Enzimatik reaksiyon sonucu oluşan serbest radikallerinin, ortamda mevcut olan nitro blue tetrazolium (NBT)'u indirgemesi sırasında, numunede var olan süperoksit dismutaz (SOD) enziminin faaliyeti sonucunda serbest radikallerin engellenmesi prensibine dayanır. Ksantin, ksantin oksidaz enzimi ile etkileşimi sonucu ürik aside dönüştürülür. Bu dönüşüm esnasında meydana gelen süperoksit radikalleri, ortamda mevcut olan NBT ile reaksiyonun vererek formazon (mor) boyasının oluşmasına neden olur. Reaksiyon sonucunda gözlemlenen renk değişimi spektrofotometre ile 560 nm dalga boyunda ölçülür. Ortamda SOD enziminin mevcut olması halinde süperoksit radikalleri H_2O_2 'ye dönüştürüleceğinden formazon oluşumu azalacak ve buna bağlı olarak da spektrofotometrede ölçülecek absorban azalacaktır. Absorbansta meydana gelecek olan düşüş bize SOD aktivitesini verecektir.



B. SOD aktivite ölçümü:

Çizelge 3.4. SOD aktivite ölçümü için kullanılacak çözelti miktarları

	NUMUNE	KÖR
Fosfat Tamponu (µl)	310	310
NBT (µl)	300	300
Na₂CO₃ (µl)	200	200
Sığır Albumin (µl)	100	100
Ksantin (µl)	40	40
Homojenat (µl)	30	-
Distile Su (µl)	-	30
Ksantin Oksidaz (µl)	20	20

Tüpler içerisine numune ve kör için Çizelge ---'de verilen oranlarda çözeltiler eklenip, 20 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Sürenin sonunda reaksiyonu durdurmak için tüm tüplere 500 (µl) CuCl₂ eklenmiş ve absorbans ölçülerek spesifik aktivite (EU/mg protein) hesabı yapılmıştır (Sun *et al.* 1988).

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(\text{Körün Absorbansı} - \text{Numunenin Absorbansı})}{\text{Körün Absorbansı}}$$

% İnhibisyon hesaplaması

Bir SOD ünitesi, NBT redüksiyonunu %50 oranında inhibe eden aktivite olarak kabul edildiğinden;

SOD Aktivitesi (EU/ml) = % İnhibasyon / 50 x 0,1'dir (Parlak, 2016)

C. Kullanılan çözeltiler:

1. **NBT (nitro blue tetrazolium):** 0,0123 gr + 100 ml saf su
2. **Na₂CO₃ (400 mM) :** 4,24 Na₂CO₃ + 100 ml saf su
3. **Sığır Albumin :** 0,1 gr BSA + 100 ml saf su

4. **Ksantin** : 0,0456 Ksantin + 100 ml saf su
5. **Ksantin Oksidaz x 1875** : Orijinal ambalaja 0,6 ml EDTA'dan 6 ml koy
6. **0,6 mM EDTA** : 0,018 gr EDTA + 100 ml saf su
7. **0,8 mM CuCl₂** : 0,0108 gr CuCl₂ + 100 ml saf su

3.2.7.d. GSH miktarının tayini

GSH, hayvan ve bitki dokularında yaygın olarak dağılan, hem indirgenmiş hem de oksitlenmiş formda bulunan, peroksitlerin ve serbest radikallerin yıkımı, zararlı bileşiklerin detoksifikasyonunda aktivite gösteren, eritrositlerde methemoglobin ve peroksitlerin redüksiyonuyla oksidatif hasarı önleyen ve aminoasitlerin hücre zarını geçişte taşınmasına katılan bir maddedir. GSH, DTNB ile 37°C'de 30 dakika inkübasyonu sonucu sarı renk oluşturur. Bu renk oluşumu 412 nm absorbans değerinde ölçülür (Sedlak *et al.* 1968).

Kullanılan Çözeltiler:

1) Homojenat Tamponu:

- a) 50 mM pH 7.4, Tris-HCl (1,514 g Tris 200 ml saf suda çözünür pH 7.4 yapılarak son hacim 250 ml'ye tamamlanır.)
- b) 1 ml - 1X PBS ile vidalı eppendorf tüpler alınmış göz ayarı yaklaşık 50-100 mg arası doku (qiagen Tissue Lyser II ile 30 Hz 3 dakika)

NOT: Serum numunelerinden 25 µl alınması yeterlidir.

2) Ölçüm Tamponu:

200 mM pH 8.2, 0,2 mM EDTA içeren Tris-HCL (6,05 g Tris ve 0,0146 g EDTA alınarak 200 ml saf suda çözülür pH 8,2 yapılarak son hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanır).

10 mM DTNB: 0,03963 g DTNB alınır 10 ml metanol içerisinde çözülür. DTNB çözeltisi kullanılacağı zaman hazırlanmalıdır aksi takdirde metanol uçabilir.

HOMOJENİZASYON

- 1) Dokular sıvı azot altında homojenize edilmeden önce PBS ile yıkanır
- 2) 0,1 g doku + 1 ml homojenat tamponu eklenir ve karıştırılır
- 3) Karışımı TİSSUE LYSER'da homojenize edilir
- 4) 12000 Rpm, 4°C, 15 dakika santrifüjle
- 5) Süpernatant (üstte kalan berrak kısım) GSH çözeltisi olarak kullanılır.

Çizelge 3.5. GSH tayini için plate yükleme şeması

Plate Yükleme Sırası		KÖR	NUMUNE	STANDART
	Ölçüm tamponu	150 µl	150 µl	150 µl
	Süpernatant	-	25 µl	25 µl
	Homojenat tamponu	25 µl	-	-
Tüm yüklemeler bittikten sonra DTNB eklenerek inkübasyona bırakılır				
	DTNB	10 µl	10 µl	10 µl

Çizelge 3.6. Standart eğri grafiği için alınacak miktarlar

	KÖR	2mM-GSH	1 mM-GSH	0,5 mM-GSH	0,25 mM-GSH	0,125 mM-GSH	0,0675 mM-GSH	0,035 mM-GSH
GSH (homojenat tamponunda)	-	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
Ölçüm Tamponu	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl	150 µl
DTNB	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl
Homojenat Tamponu	50 µl	-	-	-	-	-	-	-

Standart ölçümlerinden elde edilen sonuçlar ölçülen absorbansa karşı gelecek şekilde grafik haline getirilir. Numune ölçümleri yapılırken ise ölçülen absorbans değerleri

grafikteki yerlerine göre ölçülerek kaydedilir. Çıkan sonuçlar **mg GSH / g doku** (seyreltme faktörü) olarak ifade edilir.

Standart Stok Çözeltisinin Hazırlanması:

- 1) Standart Stok: 0,0614 g GSH + 2 ml homojenat tamponu (=100 mM)
- 2) Hazırlanan çözeltiden 20 µl alınıp üzerine + 980 µl homojenat tamponu eklenerek birinci standart hazırlanmış olur. Sonrasında aşağıdaki tabloda gösterilen şekilde seyreltmeler yapılır.

Çizelge 3.7. Standart stok çözeltilerinin hazırlanma şeması

Std No.	Konsantrasyonlar	Seri Dilüsyon	Eklenecek Hom. Tam
1.	2 mM	1 ml hazır	
2.	1 mM	Std 1'den 450 µl	450 µl Homojenat Tamponu
3.	0,5 mM	Std 2'den 450 µl	450 µl Homojenat Tamponu
4.	0,25 mM	Std 3'den 450 µl	450 µl Homojenat Tamponu
5.	0,125 mM	Std 4'den 450 µl	450 µl Homojenat Tamponu
6.	0,0675 mM	Std 5'den 450 µl	450 µl Homojenat Tamponu
7.	0,035 mM	Std 6'den 450 µl	450 µl Homojenat Tamponu
8.	Kör		450 µl Homojenat Tamponu

3.2.7.e. Lipit peroksidasyonunun ölçülmesi (MDA)

MDA lipit peroksidasyonunun zincirleme reaksiyonunun sekonder ürünüdür. Lipit peroksidasyonunun saptanmasında kullanılan en önemli veri MDA'dır. MDA, tiyobarbitürik asit ile 95°C'de inkübasyon sonucu pembe renkli bir görünüm kazanır. Bu renklenme spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ölçülür (Ohkawa *et al.* 1979; Gutteridge 1995).

Kullanılan Çözeltiler:

1. **0,1 M EDTA Çözeltisi:** 37,224 g EDTA-Na₂H₂O alınarak 1 litre distile su içerisinde çözülmüştür.
2. **%88 BHT Çözeltisi:** 0,220 g BHT alınarak 25 ml saf alkol içerisinde çözülmüştür.
3. **0,05 N NaOH Çözeltisi:** 2 g NaOH hassas terazide tartılıp 1 litre saf su içerisinde çözülmüştür.
4. **%1 TBA Çözeltisi:** 1 gr TBA bir miktar saf su içerisinde çözülür. Kolay çözünmesi için içerisine bir miktar 0,05 N NaOH eklenip 100 ml'ye tamamlanır.
5. **TCA (%30) Çözeltisi:** 30 gr TCA tartılıp 100 ml saf su içerisinde çözülmüştür.
6. **Fosfat Tamponu:** 8,1 g NaCl, 2,302 g Na₂HPO₄ + 0,194 gr NaH₂PO₄ + 900 ml saf suda çözdürülüp, pH'sı 7,4'e ayarlanır. Daha sonra toplam hacim 1 litreye tamamlanır.

Deneyin Yapılışı:

Tüplere;

200 µl Hemolizat ➤ 800 µl Fosfat Tamponu ➤ 25 µl BHT Çözeltisi ➤ 500 µl TCA

eklendikten sonra vorteksle karıştırılıp, 20 °C'de 2 saat süre ile bekletilmiştir. Süre bitiminde 15 dk 2000 rpm'de santrifüj edilip süpernatant kısmından 1 ml örnek alınıp yeni tüpe aktarılmıştır. Bu tüp üzerine 75 µl EDTA ve 250 µl TBA eklenmiştir. Tüpler tekrar vorteks ile karıştırılıp, 15 dk 90 °C'de sıcak su banyosunda bekletildi. Sürenin sonunda oda sıcaklığına gelen örnekler 532 nm dalga boyunda UV/Vis spektrofotometrede ölçülmüştür.

Hesaplaması:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

- A: Absorbans
- a: Ekstinksiyon
- b: Işıık yolu
- c: Konsantrasyon

MDA birimi olarak nmol/ml kullanılır.

3.2.8. İstatistiki analizler

Araştırılan bütün parametrelerin deneysel diyetlere göre değişimi tek yönlü varyans analizi ile test edilmiş (one-way ANOVA) ve diyetlerin söz konusu parametrelere etkisinin önemli olduğu durumda Duncan çoklu karşılaştırma testi ile gruplar arasındaki farklar ortaya konmuştur. DiyetSEL yağ oksidasyonu ve fındık yağı takviyesinin etkileri ise iki yönlü varyans analizi (2-way ANOVA) ile test edilmiştir. Önem seviyesi 0,05 olarak alınmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Büyüme ve yem değerlendirme verileri

Dokuz hafta süren besleme çalışması sonunda balıkların büyüme performansları tasarlanan deneysel yemlerden önemli derecede etkilenmiştir ($P<0,05$; izelge 4.1). Farklı deneysel yemlerle beslenen balıkların büyüme performansları arasında oluşan fark altıncı haftadan itibaren gözlemlenmeye baŐlamıŐ, dokuzuncu haftanın sonunda en yüksek bireysel ağırlığa FY2 yemi ile beslenen balıklar ulaŐırken, en d Őuk bireysel ağırlık OBY yemi ile beslenen balıklarda g r lm Őt r (izelge 4.1, Şekil 4.1). Aynı durum ağırlık kazancı ve spesifik büyüme parametreleri için de gözlemlenmiştir. Yem değerlendirme katsayısı (YDK) deneysel uygulamalardan önemli ölçüde etkilenmiş olup ($p<0,05$), en iyi yem değerlendirme FY2 yemi ile beslenen balıklarda görülürken, en kötü yem değerlendirme OBY yemi ile beslenen balıklarda gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığına ait büyüme performansı ve hayatta kalma oranı. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki olarak önemli fark olduğunu gösterir ($P<0,05$)

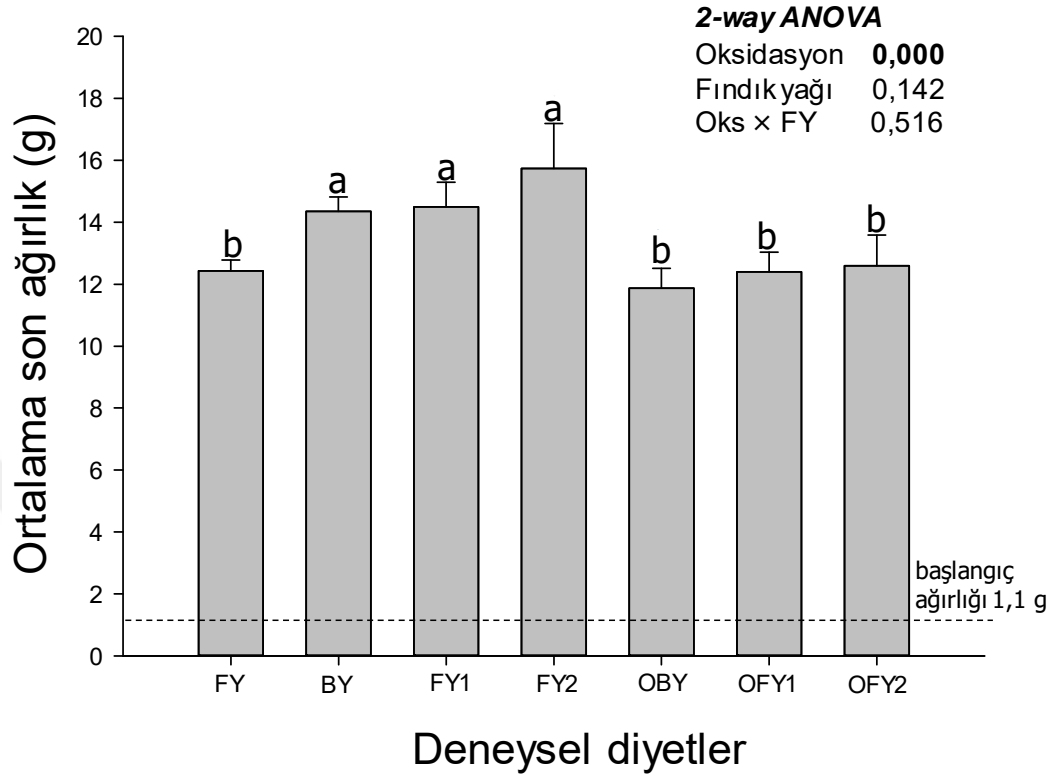
<i>Büyüme parametreleri</i>	Deneysel yemler							2-way ANOVA		
	FY	BY	FY1	FY2	OBY	OFY1	OFY2	Oksidasyon	Fındık Yağı	Oks \times FY
İlk ağırlık (g)	1,1 \pm 0,04	1,1 \pm 0,02	1,1 \pm 0,05	1,1 \pm 0,04	1,1 \pm 0,03	1,1 \pm 0,02	1,1 \pm 0,01	NS	NS	NS
Son ağırlık (g)	12,4 \pm 0,3 ^b	14,4 \pm 0,5 ^a	14,3 \pm 0,8 ^a	15,7 \pm 1,4 ^a	12,0 \pm 0,6 ^b	12,4 \pm 0,6 ^b	12,6 \pm 0,9 ^b	S	NS	NS
Ağ. kazancı (%) ¹	1028 \pm 33 ^b	1195 \pm 52 ^a	1187 \pm 17 ^a	1313 \pm 121 ^a	1015 \pm 42 ^b	1050 \pm 102 ^b	1021 \pm 103 ^b	S	NS	NS
SB (%) ²	3,8 \pm 0,0 ^b	4,1 \pm 0,1 ^a	4,1 \pm 0,0 ^a	4,2 \pm 0,1 ^a	3,8 \pm 0,1 ^b	3,9 \pm 0,1 ^b	3,8 \pm 0,1 ^b	S	NS	NS
YDK ³	1,4 \pm 0,1 ^{ab}	1,3 \pm 0,1 ^b	1,3 \pm 0,0 ^b	1,2 \pm 0,0 ^b	1,6 \pm 0,1 ^a	1,5 \pm 0,1 ^a	1,6 \pm 0,1 ^a	NS	NS	NS
Yaşama oranı (%)	97,8 \pm 1,9	97,8 \pm 1,9	100,00 \pm 0,00	99,7 \pm 0,5	96,7 \pm 0,0	96,5 \pm 1,9	98,9 \pm 1,9	NS	NS	NS

¹Ağırlık kazancı= [(son ağırlık – ilk ağırlık) x 100] / ilk ağırlık

²Spesifik büyüme (SB) = [(ln son ağırlık – ln ilk ağırlık) x 100] / deneme süresi (gün)

³Yem değerlendirme katsayısı (YDK) = tüketilen yem (g) / ağırlık kazancı (g)

S: önemli ($P<0,05$); NS: önemli değil ($P>0,05$)



Şekil 4.1. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığının ortalama bireysel deneme sonu ağırlıkları. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün *P* değeri koyulaştırılmıştır

Diyetsel yağ oksidasyonunun büyüme parametreleri üzerine etkisi ve fındık yağı takviyesinin etkileri ayrı ayrı incelendiğinde okside olmuş yağların büyüme parametrelerini önemli derecede etkilediği ($p < 0,05$), ancak yapılan fındık yağı takviyesi ve bu iki faktörün etkileşiminin büyüme üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı görülmektedir. Bunlara ek olarak hazırlanan rasyonlarda gerek taze balık yağı, gerekse okside olmuş balık yağı kullanıldığı her iki durumda da diyetsel fındık yağı takviyesi arttıkça büyümede de artış eğilimi görülmüştür.

4.2. Tüm Vücut Yağ İçeriği ve Yağ Asidi Kompozisyonu

Deneme sonunda yapılan analizlerde balıkların tüm vücut yağ içeriği gruplar arasında önemli derece değişmemiş olup ($p < 0,05$), en yüksek değer BY yemi ile beslenen

balıklarda elde edilirken, en düşük değer OBY yemi ile beslenen balıklarda görülmüştür (Şekil 4.2). Balıkların tüm vücut yağlarına ait yağ asidi profili incelendiğinde deneysel rasyonlardan en fazla etkilenen yağ asitlerinin oleik asit (OA; 18:1n-9) ve dokozahekzaenoik asit (DHA; 22:6n-3) olduğu görülmektedir. Rasyonlara eklenen fındık yağı miktarının artmasıyla tüm vücut yağlarına ait oleik asit miktarında da artış görülmüştür ($p<0,05$). En yüksek oleik asit (OA) miktarı doğal olarak tamamen fındık yağı ile hazırlanan yemlerle beslenen gruplarda görülürken, en düşük miktar ise içerisinde hiç fındık yağı içermeyen BY ve OBY yemi ile beslenen gruplarda görülmüştür. Ayrıca hazırlanan diyetlerdeki yağ oksidasyonunun balıkların oleik asit miktarlarında önemli bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 4.3). Balıkların DHA içeriği ise hem diyetset lipit oksidasyonundan, hem fındık yağı takviyesinden hem de her iki faktörün interaksyonu tarafından önemli derecede etkilenmiştir ($p<0,05$). Diyetlerde fındık yağı oranının artması DHA oranında azalmaya sebep olmuş, bu azalış ise diyetlerde okside olmuş yağ kullanımının yüksek olduğu durumda daha da fazla olmuştur (Şekil 4.4).

Çizelge 4.2. Deneysel yemlerin % yağ asidi içeriği

<i>Yağ Asitleri</i>	Deneysel diyetler						
	FY	BY	FY1	FY2	OBY	OFY1	OFY2
14:0	6,8	6,1	8,4	7,5	5,4	10,3	8,1
14:1	0,0	0,2	1,1	0,0	0,2	0,0	0,0
15:0	0,0	0,8	0,5	0,3	0,8	0,4	0,3
16:0	9,1	19,8	14,4	12,4	20,4	14,6	12,5
16:1	1,0	4,8	3,0	2,3	5,1	3,1	2,3
17:0	0,0	0,6	0,4	0,0	0,6	0,0	0,0
18:0	3,4	4,9	4,0	3,8	4,9	4,1	3,8
18:1n-9	61,4	24,3	38,3	47,2	24,9	38,6	47,1
18:2n-6	15,0	9,0	10,7	12,3	9,4	11,2	12,6
18:3n-3	0,7	2,0	1,5	1,0	2,0	1,3	1,1
18:4n-3	0,0	1,4	0,8	0,6	1,2	0,7	0,6
20:0	0,2	0,7	0,5	0,3	0,8	0,5	0,5
20:1n-9	0,0	0,2	0,2	0,0	0,2	1,0	0,0
20:2n-6	0,0	0,3	1,1	0,1	0,3	0,2	0,0
20:3n-3	0,0	0,0	0,2	0,2	0,5	0,2	0,1
20:4n-6	0,4	0,9	0,6	0,5	0,9	0,6	0,5
20:4n-3	0,0	0,0	0,2	1,0	0,3	0,2	0,8

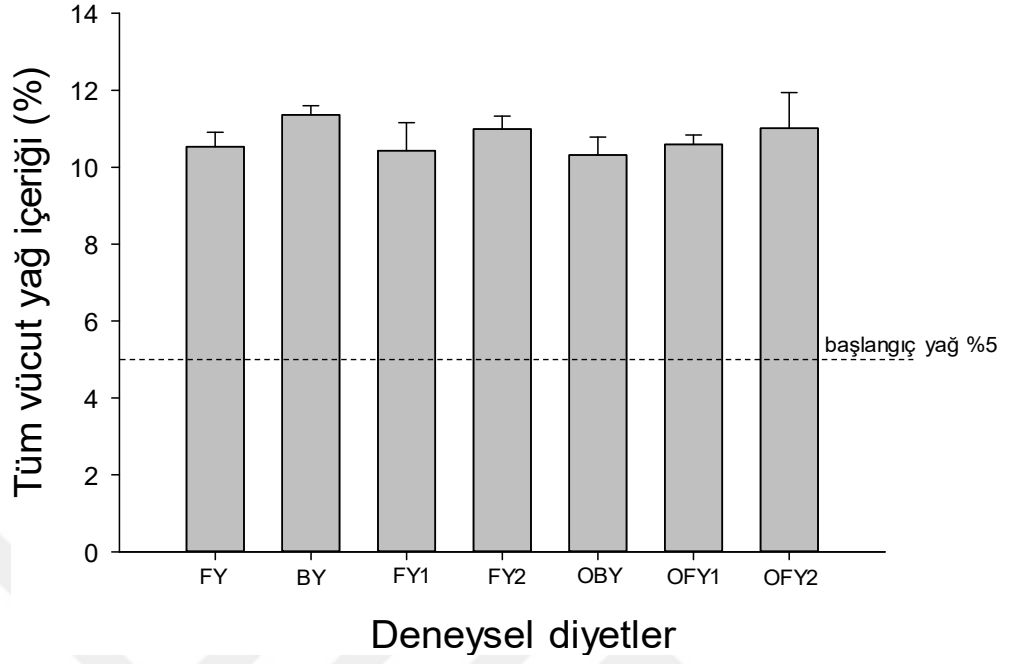
Çizelge 4.2. (devam)

20:5n-3	0,6	8,0	4,6	3,2	7,7	4,6	3,0
22:0	0,0	0,8	0,7	1,0	0,2	0,2	0,7
22:4n-6	0,0	0,6	0,3	0,3	0,5	0,2	0,2
22:5n-3	0,0	0,8	0,4	0,3	0,7	0,6	0,4
22:6n-3	1,3	13,4	7,9	5,4	12,5	7,3	5,1
24:1n-9	0,0	0,5	0,2	0,2	0,4	0,2	0,3
Σ Doymuş	19,4	33,7	28,9	25,3	33,1	30,1	25,9
Σ Tekli doymamış	62,5	30,0	42,9	49,7	30,7	42,9	49,7
Σ Çoklu doymamış	18,1	36,3	28,2	25,0	36,2	27,0	24,4
Σ n3	2,7	25,5	15,6	11,8	25,1	14,8	11,1
Σ n6	15,4	10,8	12,7	13,3	11,1	12,2	13,3
n3/n6	0,2	2,4	1,2	0,9	2,3	1,2	0,8

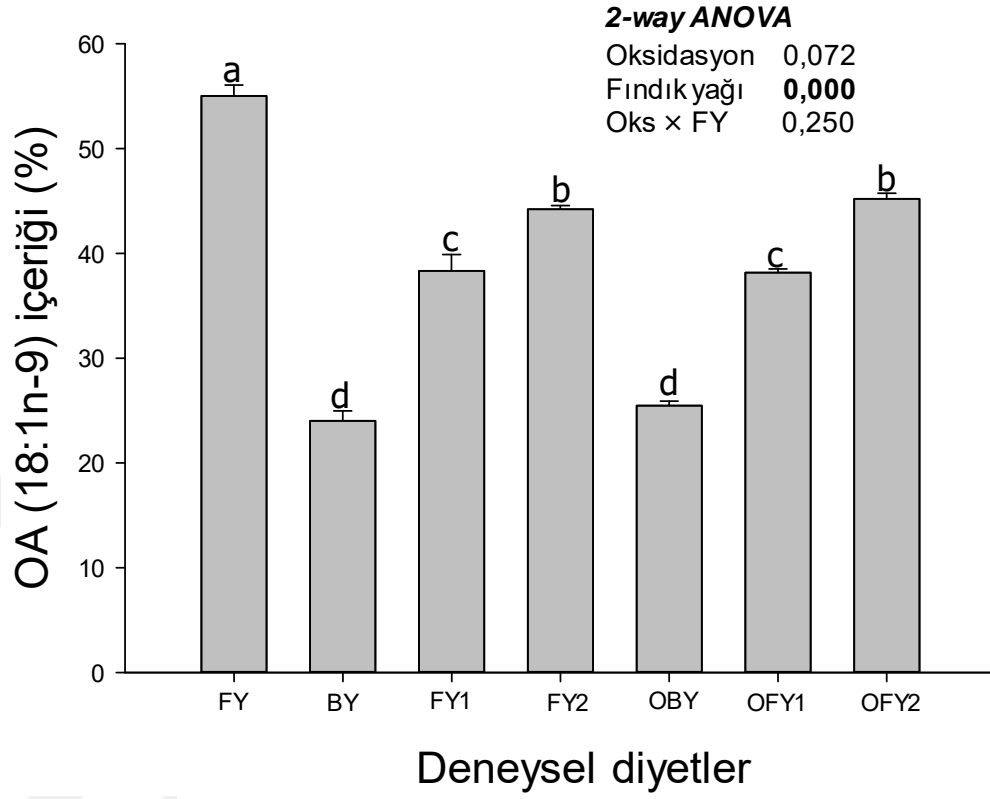
Çizelge 4.3. Balıkların tüm vücuda ait % yağ asidi içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler istatistiki olarak önemli fark olduğunu göstermektedir ($P<0,05$)

Yağ asitleri	DeneySEL yemler						2-way ANOVA			
	FY	BY	FY1	FY2	OBY	OFY1	OFY2	Oksidasyon	Fındık Yağı	Oks \times FY
14:0	6,0 \pm 0,3 ^{ab}	4,0 \pm 0,1 ^{bc}	2,5 \pm 0,1 ^c	5,9 \pm 3,4 ^{ab}	3,9 \pm 0,1 ^{bc}	2,6 \pm 0,1 ^c	7,8 \pm 0,5 ^a	NS	S	NS
14:1	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0 ^a	0,1 \pm 0,1 ^b	0,1 \pm 0,0 ^b	0,1 \pm 0,1 ^b	0,1 \pm 0,0 ^b	0,0 \pm 0,0	NS	S	NS
15:0	0,1 \pm 0,0 ^d	0,4 \pm 0,3 ^b	0,4 \pm 0,0 ^b	0,3 \pm 0,0 ^c	0,6 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0,0 ^b	0,3 \pm 0,0 ^c	NS	NS	NS
16:0	10,2 \pm 0,1 ^d	16,4 \pm 0,3 ^a	14,3 \pm 0,5 ^b	12,7 \pm 0,6 ^c	16,7 \pm 0,4 ^a	14,7 \pm 0,3 ^b	12,7 \pm 0,2 ^c	NS	S	NS
16:1	1,4 \pm 0,1 ^d	5,0 \pm 0,0 ^a	3,3 \pm 0,0 ^b	2,6 \pm 0,2 ^c	5,0 \pm 0,1 ^a	3,5 \pm 0,1 ^b	2,5 \pm 0,1 ^c	NS	S	NS
17:0	0,1 \pm 0,0 ^d	0,4 \pm 0,0 ^a	0,3 \pm 0,0 ^b	0,2 \pm 0,0 ^c	0,4 \pm 0,0 ^a	0,3 \pm 0,0 ^b	0,3 \pm 0,0 ^b	NS	S	NS
18:0	3,5 \pm 0,1 ^d	4,0 \pm 0,0 ^b	4,0 \pm 0,1 ^{bc}	3,7 \pm 0,3 ^{bcd}	4,3 \pm 0,1 ^a	3,9 \pm 0,1 ^{bc}	3,7 \pm 0,1 ^{cd}	NS	S	NS
18:1n-9	56,1 \pm 0,8 ^a	26,8 \pm 0,5 ^c	41,3 \pm 0,1 ^c	46,5 \pm 1,6 ^b	29,0 \pm 0,6 ^d	42,4 \pm 0,6 ^c	46,0 \pm 0,2 ^b	NS	S	NS
18:2n-6	12,1 \pm 0,4 ^a	10,4 \pm 0,1 ^b	11,8 \pm 0,2 ^a	11,8 \pm 0,7 ^a	10,7 \pm 0,3 ^b	12,3 \pm 0,3 ^a	12,0 \pm 0,1 ^a	NS	S	NS
18:3n-3	1,7 \pm 0,1 ^{ab}	2,4 \pm 0,3 ^a	2,0 \pm 0,1 ^{ab}	1,4 \pm 0,9 ^b	2,2 \pm 0,0 ^a	2,1 \pm 0,1 ^{ab}	1,8 \pm 0,1 ^{ab}	NS	S	NS
18:4n-3	0,5 \pm 0,2	1,1 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1	0,9 \pm 0,8	1,0 \pm 0,2	0,4 \pm 0,1	0,5 \pm 0,2	NS	NS	NS
20:0	0,0 \pm 0,0	0,3 \pm 0,1 ^a	0,2 \pm 0,1 ^b	0,1 \pm 0,1 ^c	0,3 \pm 0,1 ^a	0,1 \pm 0,1 ^c	0,1 \pm 0,1 ^c	NS	S	NS
20:1n-9	0,8 \pm 0,0 ^a	0,2 \pm 0,1 ^c	0,2 \pm 0,0 ^c	0,3 \pm 0,0 ^b	0,2 \pm 0,1 ^c	0,2 \pm 0,2 ^c	0,3 \pm 0,0 ^b	NS	NS	NS
20:2n-6	0,6 \pm 0,1 ^a	0,5 \pm 0,0 ^b	0,7 \pm 0,1 ^a	0,7 \pm 0,1 ^a	0,5 \pm 0,0 ^b	0,7 \pm 0,1 ^a	0,6 \pm 0,1 ^a	NS	S	NS
20:3n-3	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,2 ^b	0,2 \pm 0,0 ^b	0,0 \pm 0,1	0,3 \pm 0,0 ^a	0,1 \pm 0,1 ^b	0,0 \pm 0,0	NS	S	NS
20:4n-6	1,0 \pm 0,0 ^b	1,2 \pm 0,0 ^a	0,9 \pm 0,0 ^c	0,8 \pm 0,0 ^d	1,2 \pm 0,0 ^a	0,9 \pm 0,0 ^c	0,8 \pm 0,0 ^d	NS	S	NS
20:4n-3	0,0 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0 ^b	0,4 \pm 0,0 ^c	0,3 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1 ^b	0,2 \pm 0,2 ^d	0,1 \pm 0,1 ^e	S	S	NS
20:5n-3	0,5 \pm 0,0 ^g	5,9 \pm 0,1 ^a	3,0 \pm 0,0 ^c	1,8 \pm 0,1 ^c	5,3 \pm 0,0 ^b	2,8 \pm 0,1 ^d	1,6 \pm 0,0 ^f	S	S	S
22:0	0,9 \pm 0,0 ^a	0,3 \pm 0,0 ^c	0,4 \pm 0,0 ^b	0,5 \pm 0,0 ^b	0,4 \pm 0,0 ^b	0,3 \pm 0,2 ^c	0,4 \pm 0,0 ^b	NS	NS	NS
22:4n-6	0,5 \pm 0,0 ^a	0,5 \pm 0,0 ^a	0,4 \pm 0,0 ^b	0,3 \pm 0,0 ^c	0,5 \pm 0,0 ^a	0,3 \pm 0,1 ^c	0,2 \pm 0,1 ^d	NS	S	NS
22:5n-3	0,1 \pm 0,1 ^g	1,4 \pm 0,1 ^a	0,8 \pm 0,0 ^c	0,5 \pm 0,1 ^e	1,2 \pm 0,0 ^b	0,6 \pm 0,1 ^d	0,4 \pm 0,0 ^f	S	S	NS
22:6n-3	3,6 \pm 0,1 ^g	17,7 \pm 0,3 ^a	11,8 \pm 0,3 ^c	8,6 \pm 0,2 ^c	15,6 \pm 0,2 ^b	11,1 \pm 0,1 ^d	7,8 \pm 0,1 ^f	S	S	S
24:1n-9	0,2 \pm 0,0	0,1 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	0,2 \pm 0,0	NS	NS	NS
Σ Doymuş	20,9 \pm 0,4 ^b	25,8 \pm 0,9 ^a	22,2 \pm 0,7 ^b	23,3 \pm 2,6 ^b	26,5 \pm 0,7 ^a	22,3 \pm 0,5 ^b	25,3 \pm 0,2 ^a	NS	S	NS
Σ Tekli doymamış	58,5 \pm 0,8 ^a	32,3 \pm 0,5 ^c	45,2 \pm 0,2 ^c	49,6 \pm 1,8 ^b	34,5 \pm 0,6 ^d	46,3 \pm 0,5 ^c	49,0 \pm 0,3 ^b	S	S	S
Σ Çoklu doymamış	20,6 \pm 0,6 ^g	41,9 \pm 0,4 ^a	32,7 \pm 0,7 ^c	27,1 \pm 0,9 ^e	39,0 \pm 0,1 ^b	31,5 \pm 0,3 ^d	25,7 \pm 0,1 ^f	S	S	S
Σ n3	6,3 \pm 0,2 ^g	29,2 \pm 0,2 ^a	18,9 \pm 0,4 ^c	13,6 \pm 0,3 ^e	26,1 \pm 0,2 ^b	17,3 \pm 0,4 ^d	12,1 \pm 0,1 ^f	S	S	S
Σ n6	14,3 \pm 0,5 ^a	12,7 \pm 0,2 ^c	13,8 \pm 0,3 ^a	13,5 \pm 0,8 ^{ab}	12,9 \pm 0,3 ^{bc}	14,2 \pm 0,4 ^a	13,6 \pm 0,2 ^{ab}	NS	S	NS
n3/n6	0,4 \pm 0,0 ^g	2,3 \pm 0,0 ^a	1,4 \pm 0,0 ^c	1,0 \pm 0,1 ^d	2,0 \pm 0,1 ^b	1,2 \pm 0,1 ^d	0,9 \pm 0,0 ^e	S	S	S

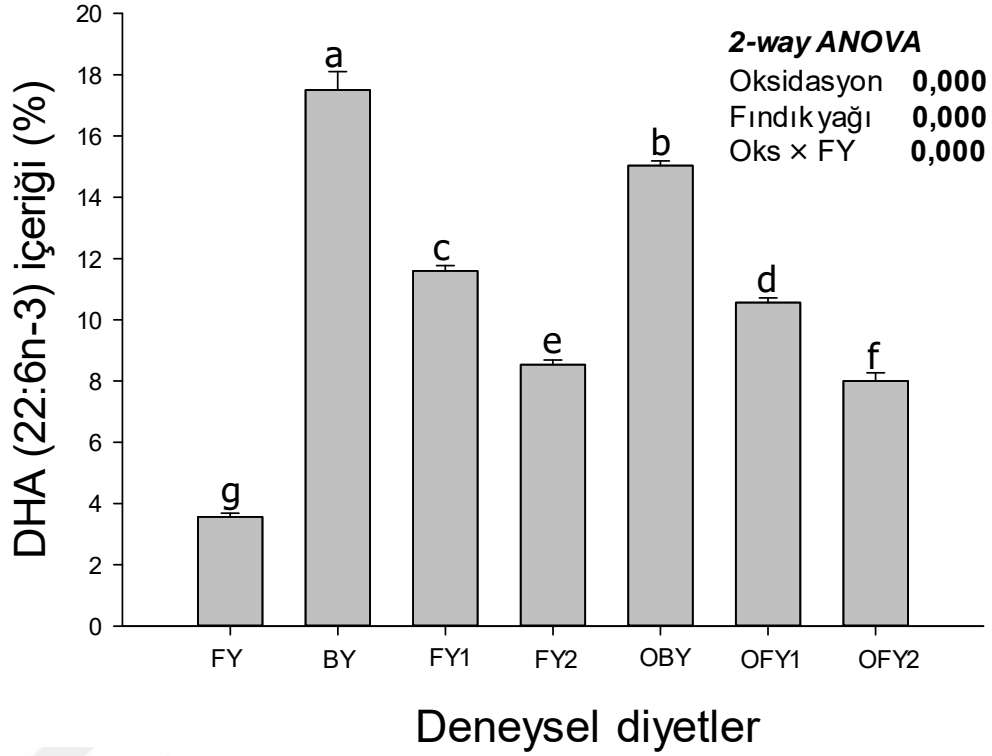
S: önemli ($P<0,05$); NS: önemli değil ($P>0,05$)



Şekil 4.2. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığının tüm vücut yağ içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığının tüm vücut yağlarına ait OA içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün P değeri koyulaştırılmıştır

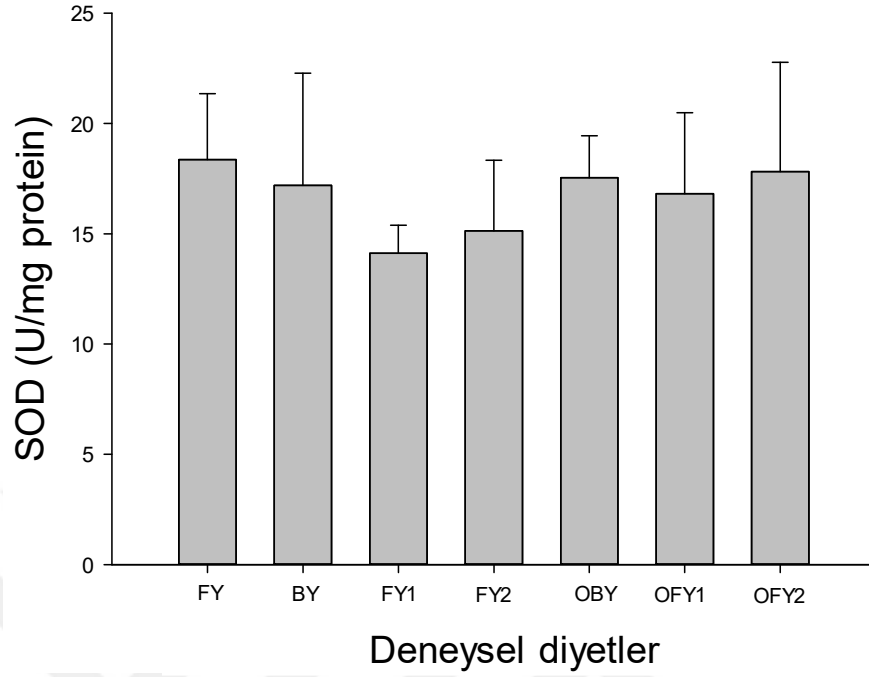


Şekil 4.4. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığının tüm vücut yağlarına ait DHA içeriği. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistik açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistik olarak önemli olan faktörün *P* değeri koyulaştırılmıştır

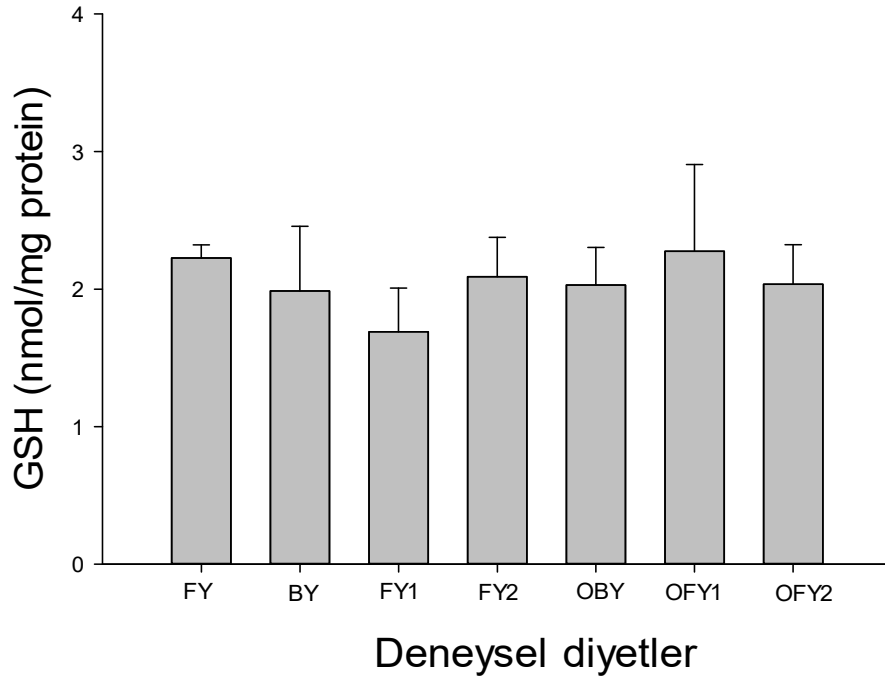
4.3. Enzim aktiviteleri

4.3.1. Superoksit dismutaz (SOD) ve Glutasyon (GSH) Aktiviteleri

Karaciğer numunelerinde yapılan antioksidan enzim çalışmalarında, süperoksit radikallerinin zararlı etkisine karşı koruyucu rol oynayan süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi ile antioksidan savunma sisteminin en önemli unsurlarından olan glutasyon (GSH) seviyesinde kullanılan deneysel diyetlerle bağlantılı olarak herhangi bir önemli etki görülmemiştir ($p > 0,05$) (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).



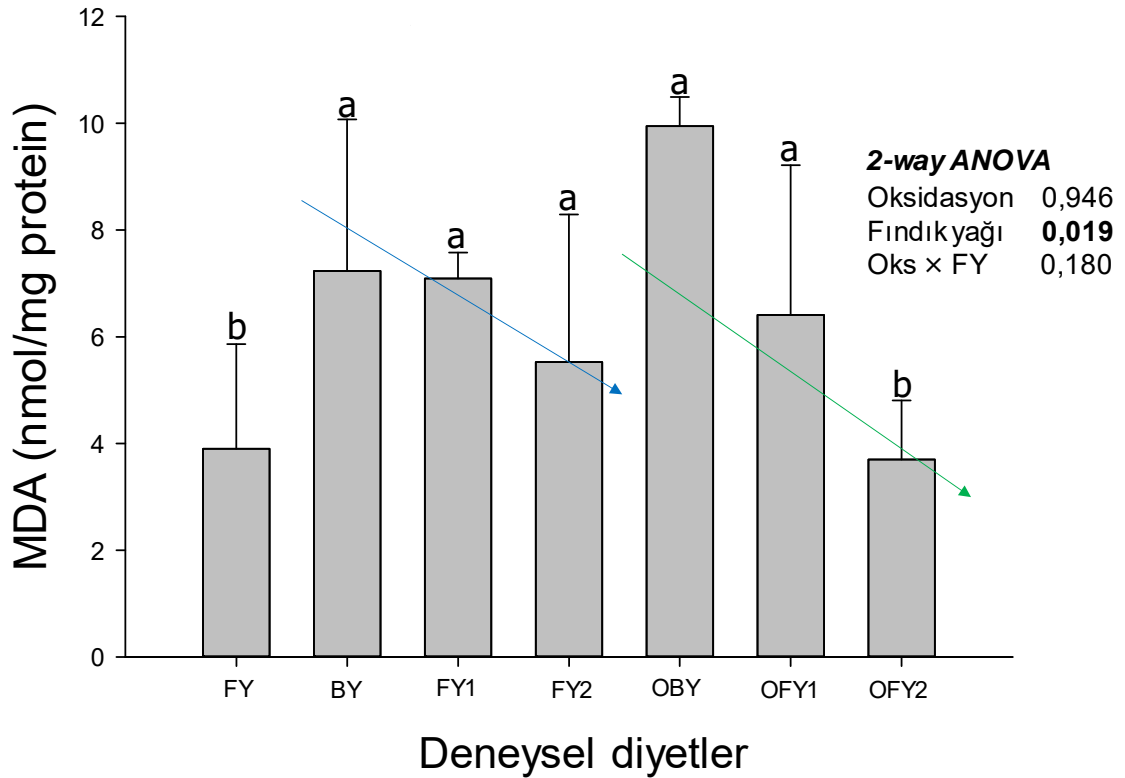
Şekil 4.5. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğer SOD aktivitesi. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir



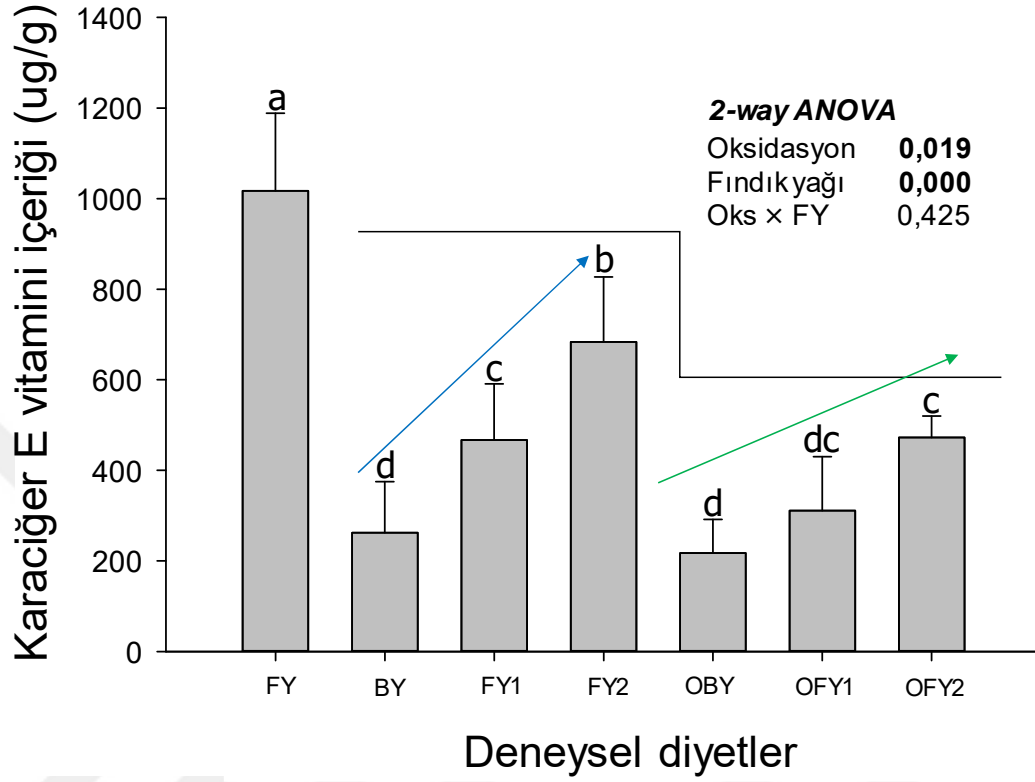
Şekil 4.6. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğer GSH miktarı. Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir

4.3.2. Malondialdehit (MDA) miktarı ve lipid peroksidasyon seviyesi

Malondialdehit (MDA) miktarı ile ifade edilen lipid peroksidasyon seviyesi besleme yapılan rasyonlara göre gruplar arasında önemli derecede değişmiş olup ($p<0,05$), artan vitamin E takviyesi ile düşüş göstermiştir. Karaciğer dokularından elde edilen değerlere göre karaciğer MDA seviyesinde sadece balık yağına eklenen fındık yağı etkili olurken, E vitamini içeriği hem fındık yağı takviyesi hem de diyetel yağların oksidasyonu ile önemli derecede etkilenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.7). Rasyonlara yapılan fındık yağı takviyesi karaciğerdeki E vitamini seviyesini artırırken, lipid oksidasyonu E vitamini içeriğinin azalmasına sebep olmuştur (Şekil 4.8).



Şekil 4.7. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşuğu alabalığının karaciğer lipid peroksidasyon seviyesi (MDA). Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün P değeri koyulaştırılmıştır



Şekil 4.8. Farklı oranlarda oksitlenmiş balık yağı ve fındık yağı içeren yemlerle 9 hafta boyunca beslenen gökkuşacağı alabalığının karaciğer vitamin E içeriği (ug/g). Sonuçlar ortalama \pm std. sapma olarak verilmiştir. Farklı harfler istatistiki açıdan önemli farkları göstermektedir. 2-way ANOVA sonucunda istatistiki olarak önemli olan faktörün *P* değeri koyulaştırılmıştır

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Su ürünleri yetiştiriciliğinin temelini oluşturan, balıkların ihtiyaçları doğrultusunda gerek duydukları besinsel hammaddeleri alabilmelerini sağlayan yemler yetiştiriciliğin temelini oluşturmaktadır. Ayrıca balık beslemede kullanılan yemler yetiştiriciliğin en maliyetli kısmını oluşturmaktadır. Yetiştiricilikte kullanılan yemlerin hazırlanmasında kullanılan hammaddeler, balıkların ihtiyaç duyduğu besinleri karşılayacak kompozisyonda olması, sağlıklı ve refah içerisinde yaşamalarını sağlayacak şekilde kaliteli olması ve maliyet açısından daha uygun olması istenmektedir. Bu istekler doğrultusunda balık yem rasyonlarında kullanılan hammaddelerin yerine daha uygun ve bulunabilirliği diğer hammaddelere göre daha kolay olan ve bunları ikame edecek alternatif ürünlerin arayışına gidilmiştir.

Beslemede kullanılan balık yemleri içerdikleri hammaddeler bakımından çeşitli fiziksel (nem, sıcaklık, ışık), kimyasal (zararlı kimyasal komponentler) ve biyolojik (bakteriler, küfler, zararlı böcekler vs.) faktörler tarafından zarara uğramaya müsait bir yapıdadır. Balık yemlerinin bu tür faktörler ile temas etmesinin engellenebilmesi için, uygun miktarda havalandırmanın yapıldığı, ekstrem sıcak ve soğuklardan izole edilmiş, böcekler ve kemirici hayvanların erişemeyeceği ve özellikle ışık almayacak şekilde tasarlanmış özel yem depolarında belirlenen süre boyunca stoklanmalıdır. Bahsi geçen saklama koşullarında tutulmayan yemlerin balık beslemede kullanılması beslemenin aksamasına gidebilecek kadar sorunlara sebebiyet vermektedir. Bu yüzden son dönemlerde yapılan çalışmalarda yemlerden kaynaklanan olumsuzlukların giderilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

Balık yemlerinin hazırlanmasında enerji kaynağı olarak kullanılan balık yağının yapısı gereği oksidasyona çok müsait olması ve bu zararlı oluşumun canlı materyale zarar vermemesi için farklı koruyucu madde arayışına gidilmiştir. Doğal yapıda bulunan koruyucuların yanı sıra yapay koruyucu katkı maddelerinin kullanımı yaygınlaşmaktadır (Çakmakçı ve Gökalp 1992). Okside olmuş balık yağının beslemede kullanılmasının ve zararlı etkisinin tokoferolce zengin olan fındık yağının balık

rasyonlarında kullanılmasının yemlerdeki zararlı bileşenlerin elemine edilmesine sağlayacağı katkıların araştırıldığı çalışmamızda gökkuşacağı alabalıklarının büyüme, yem değerlendirme, % su, % ham protein, % yağ, yağ asitleri, % kül içeriklerindeki etkisi ve antioksidan enzim aktivitesi üzerinde durulmuştur.

Araştırma toplamda 9 hafta boyunca 3 tekerrürlü olarak laboratuvar koşullarında okside edilen balık yağı ve ikame edecek oranlarda takviye edilen ham fındık yağı ile hazırlanan rasyonlar kullanılarak yürütülmüş ve deneme süresinin bitiminde örnekler sıvı azot ile dondurularak -80°C’de saklanmıştır. Yapılan analizler sonucunda aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

Gao *et al.* (2014) tarafından yapılan bir çalışmada 167,8 meq/kg peroksit değerine ulaştırılan taze balık yağı ile hazırlanan rasyonlara katılan vitamin E ve vitamin C katkılarının balıkların HSI değerlerinde düşüşe neden olduğu ve vitamin E katkısının yapılmadığı rasyonlarla beslenen balıkların esansiyel yağ asitlerinde önemli derecede düşüş gözlemlendiği rapor edilmiştir. Zhong *et al.* (2008)’un kod balıklarının beslenmesinde kullandıkları diyetel okside yağın, gruplar arasında büyüme performansı, FCR ve yem alımı açısından önemli bir fark ($p>0,05$) arz etmediğini ve vitamin E katkısının yapıldığı gruplarda hemolizde düşüş görüldüğünü ve büyümede pozitif etki yaptığını belirtmişlerdir.

Yaptığımız bu çalışmada diyetel okside balık yağının gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yavrularının beslenmesinde kullanımının balıkların büyümeleri üzerindeki etkisinin daha net anlaşılabilmesi ve vitamin E kaynağı olarak fındık yağı katkısının olumlu etkisinin incelenebilmesi adına farklı oranlarda taze balık yağı ve okside balık yağı ile yer değiştirilmiştir. Deneme sonunda başlangıç ağırlıkları ~1,1 g olan alabalık yavruları ağırlıklarının ~15 katına çıkmıştır. Deneme boyunca %100 okside balık yağı ile beslenen balıkların yem alımı diğer gruplara nazaran daha düşük olmuş ve dolayısıyla en düşük büyümeyi bu grup sergilemiştir. Beslemede okside balık yağına, e vitamini kaynağı olarak okside balık yağı ile ikame edilerek eklenen fındık yağının kullanıldığı gruplarda, okside balık yağı ile beslenen gruplara nazaran Peng *et*

al. (2009) yılında Karadeniz çipuralarında, Dicharry *et al.*'un 2014 yılında Gökkuşığı alabalıklarında ve Yang *et al.* (2015) yılında Pasifik beyaz karideslerinde yaptıkları çalışmalar ile aynı doğrultuda artış görülmüştür.

Denemeye ait antioksidan enzim analizleri incelendiğinde, SOD seviyesinin en düşük değeri FY1 yemi ile beslenen gruplarda görülürken en yüksek SOD aktivitesi FY yemi ile beslenen gruplarda görülmüştür. GSH enzim aktivitesi incelendiğinde en düşük aktivite SOD aktivitesinde olduğu gibi FY1 yemi ile beslenen grupta olurken en yüksek aktivitesi ise OxHO1 grubunda kaydedilmiştir. Karaciğerde oluşan peroksidasyonun ölçütü olarak yapılan MDA analizlerinde en yüksek değer OBY grubunda gözlemlenirken vitamin E takviyesi ile peroksit değerinde düşüş olduğu görülmüştür. Elde edilen verilere rağmen gruplar arasında antioksidan enzimlerden SOD ve GSH bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamışken MDA değerlerinin gruplar arasında farklılık arz ettiği gözlemlenmiştir.

Balıkların tüm vücut yağlarına ait yağ asitleri incelendiğinde, diyetsel fındık yağı oranının artışı ile birlikte OA miktarında gözle görülür bir artış olmuş ve dolayısıyla balıklarda ki DHA miktarında düşüş gözlemlenmiştir. Arslan vd (2012) yapmış oldukları bir çalışmada, elde ettiğimiz sonuçları doğrular nitelikte balık beslemede kullanılan yağın içerdiği yağ asidinin balık dokularında artışının görüldüğü rapor edilmiştir. Bunların yanı sıra balıkların beslenmesinde okside balık yağının kullanımının, taze balık yağı ile beslenen gruplara nazaran DHA içeriğinde düşüşe neden olduğu ve vitamin E içeren fındık yağının kullanımının antioksidan özelliği sergilemesinden dolayı bu düşüşte yavaşlamayı sağladığı gözlemlenmiştir.

Deneme sonunda elde edilen veriler ve literatür edinimleri göz önünde bulundurulduğunda okside olmuş balık yağının gökkuşığı alabalıklarının beslenmesinde kullanımının, balıklarda oksidatif strese ve büyümede geriliğin yaşanmasına neden olduğu, hazırlanan rasyonlarda diyetsel fındık yağının kullanımının tam tersi bir etki göstererek yaşanan oksidatif stresi azaltmaya yöneldiği ve büyümeyi pozitif yönde etkilediği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Hameid, N. A. H., Abidi, S. F., and Khan, M. A., 2012. Dietary vitamin E requirement for maximizing the growth, conversion efficiency, biochemical composition and haematological status of fingerling *Channa punctatus*. *Aquaculture Research*, 43 (2), 226-238.
- Aebi, H., 1984. "Catalase in vitro". *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Arslan, M., Sirkecioglu, N., Bayir, A., Arslan, H., and Aras, M., 2012. The influence of substitution of dietary fish oil with different vegetable oils on performance and fatty acid composition of brown trout, *Salmo trutta*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12 (3).
- Baker, R. T. M., and Davies, S. J., 1997. Modulation of tissue α -tocopherol in African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell), fed oxidized oils, and the compensatory effect of supplemental dietary vitamin E. *Aquaculture Nutrition*, 3 (2), 91-97.
- Bogolino, A., Darias, M. J., Estévez, A., Andree, K. B., Sarasquete, C., Ortiz-Delgado, J. B., Sole, M., and Gisbert, E., 2014. The effect of dietary oxidized lipid levels on growth performance, antioxidant enzyme activities, intestinal lipid deposition and skeletogenesis in Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae. *Aquaculture nutrition*, 20(6), 692-711.
- Chen, Y. J., Liu, Y. J., Yang, H. J., Yuan, Y., LIU, F. J., Tian, L. X., Liang, G. Y., & Yuan, R. M., 2012. Effect of dietary oxidized fish oil on growth performance, body composition, antioxidant defence mechanism and liver histology of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Aquaculture Nutrition*, 18(3), 321-331.
- Cort, W.M., V, T.S., Waysek, E.H. ve Williams B.D., 1983. "Vitamin E content of feedstuffs determined by high performance liquid chromatographic fluorescence". *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 31, 1330-1333.
- Çakmakçı, S. ve Gökalp, H. Y., 1992. Gıdalarda kısaca oksidasyon; antioksidantlar ve gıda sanayiinde kullanımları. *Journal of the Faculty of Agriculture*, 23(2), 174-192.
- Dong, G. F., Huang, F., Zhu, X. M., Zhang, L., Mei, M. X., Hu, Q. W., and Liu, H. Y., 2012. Nutriphysiological and cytological responses of juvenile channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to dietary oxidized fish oil. *Aquaculture Nutrition*, 18 (6), 673-684.
- Dong, G., Zhu, X., Ren, H., Nie, B., Chen, L., Li, H., and Yan, B., 2014. Effects of oxidized fish oil intake on tissue lipid metabolism and fatty acid composition of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture research*, 45 (11), 1867-1880.
- Dündar, Y. ve Aslan, R., 2000. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları. Afyonkarahisar.
- Dyck, S.V., 2007. Aqua feed Quality: lipid Oxidation. Kemin agrifoods Europe, Belgium.
- Folch, J., Lees, M. ve Stanley, G.H.S., 1957. "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues". *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.

- Fontagné, S., Bazin, D., Brèque, J., Vachot, C., Bernarde, C., Rouault, T., and Bergot, P., 2006. Effects of dietary oxidized lipid and vitamin A on the early development and antioxidant status of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae. *Aquaculture*, 257 (1), 400-411.
- Fontagné-Dicharry, S., Lataillade, E., Surget, A., Larroquet, L., Cluzeaud, M., & Kaushik, S., 2014. Antioxidant defense system is altered by dietary oxidized lipid in first-feeding rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 424, 220-227.
- Gao, J., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., & Mamauag, R. E. P., 2014. Interactive effects of vitamin C and E supplementation on growth performance, fatty acid composition and reduction of oxidative stress in juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* fed dietary oxidized fish oil. *Aquaculture*, 422, 84-90.
- Gao, J., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Mamauag, R. E. P., & Han, Y., 2012. Effects of dietary oxidized fish oil with vitamin E supplementation on growth performance and reduction of lipid peroxidation in tissues and blood of red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*, 356, 73-79.
- Gao, J., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Nguyen, B. T., & Mamauag, R. E., 2013. Effect of dietary oxidized fish oil and vitamin C supplementation on growth performance and reduction of oxidative stress in Red Sea Bream *Pagrus major*. *Aquaculture Nutrition*, 19(1), 35-44.
- Gao, J., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Ren, T., Komilus, C. F., & Han, Y., 2012. Effects of dietary palm oil supplements with oxidized and non-oxidized fish oil on growth performances and fatty acid compositions of juvenile Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 324, 97-103.
- Hamre, K., Kolås, K., Sandnes, K., Julshamn, K., and Kiessling, A., 2001. Feed intake and absorption of lipid oxidation products in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets coated with oxidised fish oil. *Fish Physiology and Biochemistry*, 25(3), 209-219.
- Han, Y. Z., Ren, T. J., Jiang, Z. Q., Jiang, B. Q., Gao, J., Koshio, S., and Komilus, C. F., 2012. Effects of palm oil blended with oxidized fish oil on growth performances, hematology, and several immune parameters in juvenile Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicas*. *Fish physiology and biochemistry*, 38 (6), 1785-1794.
- Huang, C. H., and Huang, S. L., 2004. Effect of dietary vitamin E on growth, tissue lipid peroxidation, and liver glutathione level of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*, fed oxidized oil. *Aquaculture*, 237 (1), 381-389.
- Hunt, A. Ö., Özkan, F., & Altun, T., 2007. Balık yemlerinde beslenmeyi sınırlandırıcı maddeler ve etkileri. *Türk Sucul Yaşam Dergisi Ulusal Su Günleri 2007Özel Sayı*, 5(8), 634-642.
- Koca, N., & Karadeniz, F., 2003. Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 16, 32-37.
- Korkut, A. Y., Kop, A., & Demir, P., 2007. Balık yemlerinde kullanılan balık yağı ve özellikleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 24(1-2), 195-199.
- Lewis-McCrea, L. M., and Lall, S. P., 2007. Effects of moderately oxidized dietary lipid and the role of vitamin E on the development of skeletal abnormalities in

- juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 262 (1), 142-155.
- Lim, C., Yildirim-Aksoy, M., Shelby, R., Li, M. H., and Klesius, P. H., 2010. Growth performance, vitamin E status, and proximate and fatty acid composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, fed diets containing various levels of fish oil and vitamin E. *Fish physiology and biochemistry*, 36 (4), 855-866.
- Lubrizol, Lubrizol Stanstard Procedure, Peroxide value- AOCS method. 516-01.
- Mates JM, Perez-Gomez C, Nurez de Castro I., 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem*. 328: 595-603.
- Messenger, J. L., Stéphan, G., Quentel, C., and Laurencin, F. B., 1992. Effects of dietary oxidized fish oil and antioxidant deficiency on histopathology, haematology, tissue and plasma biochemistry of sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Living Resources*, 5 (3), 205-214.
- Metcalf, L.D. ve Schmitz, A.A., 1961. "The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis". *Analytical Chemistry*, 33, 363-364.
- Montero, D., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J. M., and Izquierdo, M. S., 2001. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 11 (6), 473-490.
- Mourente, G., Bell, J. G., & Tocher, D. R., 2007. Does dietary tocopherol level affect fatty acid metabolism in fish?. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33(3), 269-280.
- Mourente, G., Díaz-Salvago, E., Tocher, D. R., and Bell, J. G., 2000. Effects of dietary polyunsaturated fatty acid/vitamin E (PUFA/tocopherol ratio on antioxidant defence mechanisms of juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Osteichthyes, Sparidae). *Fish Physiology and Biochemistry*, 23 (4), 337-351.
- Ng, W. K., Chong, C. Y., Wang, Y., & Romano, N., 2013. Effects of dietary fish and vegetable oils on the growth, tissue fatty acid composition, oxidative stability and vitamin E content of red hybrid tilapia and efficacy of using fish oil finishing diets. *Aquaculture*, 372, 97-110.
- Niu, H., Jia, Y., Hu, P., Meng, Z., and Lei, J., 2014. Effect of dietary vitamin E on the growth performance and nonspecific immunity in sub-adult turbot (*Scophthalmus maximus*). *Fish & shellfish immunology*, 41 (2), 501-506.
- Özel, G. S. K. Ve Birdane, Y. O. , 2014. Antioksidanlar. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 7(2), 41-52.
- Öztürk, T., & Erdem, O. 2007. Okside Olmuş Yemin Gökkuşığı Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Büyümesi Ve Karaciğeri Üzerine Etkisi. *Journal of Fisheries Sciences*, 1 (2), 81-87.
- Peng, S., Chen, L., Qin, J. G., Hou, J., Yu, N., Long, Z., Li, E., and Ye, J. 2009. Effects of dietary vitamin E supplementation on growth performance, lipid peroxidation and tissue fatty acid composition of black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*) fed oxidized fish oil. *Aquaculture Nutrition*, 15 (3), 329-337.
- Peng, S., Chen, L., Qin, J. G., Hou, J., Yu, N., Long, Z., Li, E. & Ye, J., 2009. Effects of dietary vitamin E supplementation on growth performance, lipid peroxidation and tissue fatty acid composition of black sea bream (*Acanthopagrus schlegeli*) fed oxidized fish oil. *Aquaculture Nutrition*, 15(3), 329-337.
- Roche. 1992. Vitamin E ve Et Kalitesi, Roche Müstazaları Sanayii Ltd. İstanbul

- T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı., 2017. Su Ürünleri İstatistikleri. <https://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BSGM.pdf>
- Taşbozan, O., Emre, Y., Gökçe, M. A., Özcan, F., Erbaş, C., and Kurtoğlu, A. 2015. Alternative vegetable oil sources for white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles: Effects on growth and body chemical composition. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15 (3), 447-456.
- Tocher, D. R., Mourente, G., Van der Eecken, A., Evjemo, J. O., Diaz, E., Wille, M., Bell, J.G., and Olsen, Y. 2003. Comparative study of antioxidant defence mechanisms in marine fish fed variable levels of oxidised oil and vitamin E. Aquaculture International, 11 (1), 195-216.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 39: 44-84.
- Webb, G.P., 2006. Dietary Supplements and Functional Foods. School of Health and Biosciences, University of East London, 242, UK.
- Yang, S. P., Liu, H. L., Wang, C. G., Yang, P., Sun, C. B. and Chan, S. M. 2015. Effect of oxidized fish oil on growth performance and oxidative stress of *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture Nutrition, 21(1), 121-127.
- Yarsan, E., 1998. Lipid peroksidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 9(1), 89-95.
- Zhong, Y., Lall, S. P., and Shahidi, F. 2008. Effects of dietary oxidized oil and vitamin E on the growth, blood parameters and body composition of juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* (Linnaeus 1758). Aquaculture research, 39 (15), 1647-1657.

ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Erzurum'da doğdum. İlköğretim ve ortaöğretim hayatımı Erzurum'da tamamladım. 2010 yılında girdiğim Erzurum Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümünden 2014 yılında mezun oldum. 2014 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladım.

