



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

SU ÜRÜNLERİ VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**GIDALARDA KORUYUCU OLARAK KULLANILAN SORBİK,
BENZOİK VE FORMİK ASİTLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI
(*Oncorhynchus mykiss*) SPERM HÜCRELERİNİN
MUHAFAZASINA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İzzet KÖKLÜ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Burak Evren İNANAN**

AKSARAY-2024



**T.C.
AKSARAY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

SU ÜRÜNLERİ VE HASTALIKLARI ANABİLİMDALI

**GIDALARDA KORUYUCU OLARAK KULLANILAN SORBİK,
BENZOİK VE FORMİK ASİTLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI
(*Oncorhynchus mykiss*) SPERM HÜCRELERİNİN
MUHAFAZASINA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İzzet KÖKLÜ

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Burak Evren İNANAN**

AKSARAY-2024

Aksaray Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

İzzet KÖKLÜ tarafından savunulan gıdalarda koruyucu olarak kullanılan sorbik, benzoik ve formik asitlerin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) sperm hücrelerinin muhafazasına etkilerinin incelenmesi isimli çalışma, jürimiz tarafından Su Ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Mustafa Öz

Aksaray Üniversitesi

Onaylıyorum

☐

Onaylamıyorum

☐

Danışman: Doç. Dr. Burak Evren İNANAN

Aksaray Üniversitesi

Onaylıyorum

☐

Onaylamıyorum

☐

Üye: Doç. Dr. Mustafa DURMUŞ

Çukurova Üniversitesi

Onaylıyorum

☐

Onaylamıyorum

☐

Bu tez, Aksaray Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Funda ÇETİNKAYA

Enstitü Müdürü

DOĞRULUK BEYANI

Gıdalarda koruyucu olarak kullanılan sorbik, benzoik ve formik asitlerin gökkuşuğı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) sperm hücrelerinin muhafazasına etkilerinin incelenmesi isimli yüksek lisans tezinin içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını bildiririm. Beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildiririm.

İzzet KÖKLÜ



TEŞEKKÜR

Gerek yüksek lisans eğitimimde gerek ise tez çalışmamda katkısını eksik etmeyen danışmanım Doç. Dr. Burak Evren İNANAN' a,

Tez çalışmasının örneklemesinde ve ilgili analizlerinde katkılarını sunan Prof. Dr. Mustafa ÖZ' e ve Doç. Dr. Tülden İNANAN' a

Tez çalışması deneylerinin yürütülmesini sağlayan, 2021/021 numaralı projeye desteklerinden dolayı Aksaray Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi'ne

Ayrıca desteklerinden dolayı tüm aileme,

Teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

İzzet KÖKLÜ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sorbik asit ve koruyucu olarak kullanımı.....	3
2.2. Benzoik asit ve koruyucu olarak kullanımı	3
2.3. Formik asit ve koruyucu olarak kullanımı	3
3. GEREÇ VE YÖNTEM	5
3.1. Balıklar ve Örneklemeler.....	5
3.2. Sperm Sulandırma ve Muhafaza Koşulları	5
3.3. Motilite Değerlendirilmesi	5
3.4. Sperm Oksidatif Stres Parametreleri ve Yağ Asidi Profilleri.....	6
3.5. İstatistiksel Analizler	6
4. BULGULAR	7
4.1. Sorbik, Benzoik ve Formik Asitlerin Sperm Motilite Parametrelerine Etkileri	7
4.2. Sorbik, Benzoik ve Formik Asitlerin Sperm Yağ Asitlerine Etkileri.....	9
4.3. Sorbik, Benzoik ve Formik Asitlerin Sperm Oksidatif Stres Parametrelerine Etkileri	10
5. TARTIŞMA.....	14
6. SONUÇ	17
KAYNAKÇA.....	18
EK-1: Etik Kurul Onayı	22

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDALARDA KORUYUCU OLARAK KULLANILAN SORBİK, BENZOİK VE FORMİK ASİTLERİN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) SPERM HÜCRELERİNİN MUHAFAZASINA ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

İzzet KÖKLÜ

Aksaray Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Su Ürünleri ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Burak Evren İNANAN

ÖZET

Bu tez çalışmasında, gıda koruyucu niteliği ile yaygın olarak kullanılan sorbik, benzoik ve formik asitlerin gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) sperm hücrelerinin *in vitro* muhafazasına etkileri değerlendirilmiştir. +4°C’de 7 günlük muhafaza sonrasında, motilite parametreleri (motilite, VCL, motilite süresi ve canlılık süresi), lipid peroksidasyon seviyeleri, toplam antioksidan kapasiteleri değerleri, SOD aktiviteleri ve DPPH inhibisyon kabiliyetleri tayin edilmiştir. Ayrıca örneklerin yağ asidi profilleri saptanarak, bu gıda koruyucu maddeleri içermeyen sulandırıcı ile sulandırılan örnekler ve hiçbir sulandırma yapılmayan örnekler ile karşılaştırmaları yapılmıştır. Sonuç olarak hem motilite parametreleri hem de sperm oksidatif stres parametreleri değerlendirildiğinde özellikle benzoik asidin, sperm muhafazasında kullanımının olumlu etkileri belirlenmiştir. Ayrıca, benzoik asidin sorbik ve formik aside kıyasla, sperm hücreleri yağ asidi profilini koruyucu özelliği gösterdiği de saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sperm, Gökkuşağı alabalığı, Sorbik asit, Benzoik asit, Formik asit.

Eylül, 2024; 22 sayfa

M.Sc. THESIS

EVALUATION OF USAGE OF SORBIC, BENZOIC AND FORMIC ACIDS AS FOOD PRESERVATIVES IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) SPERMATOZOA PRESERVATION

İzzet KÖKLÜ

**Aksaray University
Graduate School of Health Sciences
Department of Aquaculture and Diseases**

Supervisor: Assoc. Doç. Dr. Burak Evren İNANAN

ABSTRACT

In this study, the effects of sorbic, benzoic and formic acids, which are widely used as food preservatives, on *in vitro* storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa were evaluated. After 7 days of storage at +4°C, motility parameters (motility, VCL, motility duration and longevity), lipid peroxidation levels, total antioxidant capacity values, SOD activities and DPPH inhibition capabilities were determined. In addition, the fatty acid profiles of the samples were determined and compared with the samples untreated of these food preservatives and the samples which were not diluted. As a result, when both motility parameters and spermatozoa oxidative stress parameters were evaluated, positive effects of the usage of benzoic acid in spermatozoa preservation was determined. In addition, benzoic acid has been found to be protective of the fatty acid profile of spermatozoa compared to sorbic and formic acids.

Keywords: Sperm, Rainbow trout, Sorbic acid, Benzoic acid, Formic acid.

September, 2024; 22 pages

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Sorbik (a), benzoik (b) ve formik (c) asidin kimyasal yapıları.....	4
Şekil 4.1. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm motilitesi üzerine etkileri.	7
Şekil 4.2. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm VCL seviyelerine etkileri.	8
Şekil 4.3. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm motilite süresi üzerine etkileri.	8
Şekil 4.4. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm canlılık süresi üzerine etkileri.	9
Şekil 4.5. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm TBARS seviyelerine etkileri.	12
Şekil 4.6. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm TAK seviyelerine etkileri.	12
Şekil 4.7. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm SOD aktivite seviyelerine etkileri.	13
Şekil 4.8. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm DPPH inhibisyon seviyelerine etkileri.	13

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 4.1. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm yağ asidi asitlerine etkileri.....	10
--	----



SİMGELER VE KISALTMALAR

4-DPA	4,7,10,13,16-dokosapentaenoik asit
BSA	Sığır serum albümini
CaCl₂	Kalsiyum klorür
DHA	Dokosaheksaenoik asit
DPA	Dokosapentaenoik asit
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EPA	Eikosapentaenoik asit
KCl	Potasyum klorür
MgCl₂	Magnezyum klorür
MUFA	Toplam tekli doymamış yağ asitleri
NaCl	Sodyum klorür
NaHCO₃	Sodyum bikarbonat
PUFA	Toplam çoklu doymamış yağ asitleri
SFA	Toplam doymuş yağ asitleri
SOD	Süperoksit dismutaz enzimi
TAK	Toplam antioksidan kapasitesine
TBARS	Tiyobarbitürik ile reaksiyona giren maddeler
VCL	Kavisli hareket hızı

1. GİRİŞ

Günümüzde tüketicilere sunulan gıdalar birçok katkı maddesi içermektedir. İnsanlara sürdürülebilir, gerekli seviyede beslenmelerini sağlayabilir ve makul bir fiyat ile erişilebilir hedeflerini kapsayan gıda güvencesinin sağlanmasında, üretilen gıdaların kayıplarının önlenmesi son derece önemlidir. Bununla birlikte, dönemsel olarak bolluğu değişen gıdalarda, kalitelerini koruyarak saklanabilmesi de gıda güvencesinin gereğidir. Bu durum gıda güvencesinin sağlanmasında, gıda katkı maddelerini zorunluluk haline getirmektedir (Yüzbaşıoğlu vd., 2019). Gıda katkı maddeleri, renklendiriciler, koruyucular, antioksidanlar, emülsifiyer-stabilizatörler, asit baz sağlayıcılar, tatlandırıcılar-koku verenler ve geniş amaçlı gıda katkı maddeleri olarak 7 gruba ayrılabilirler (Karatepe ve Ekerbiçer, 2017). Bu maddeler arasında koruyucu grubuna girenler, antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri sayesinde, gıdalardaki bakteri, küf, maya kaynaklı bozulmaları engelleyerek, doğal renk, tat ve aromayı koruyarak, renk kaybı ve oksidatif asiditeyi engellerler. Bu özellikleri nedeniyle de gıdaların raf ömürlerini uzatmak için kullanılır (Boğa ve Binokay, 2010). Bu koruyucu maddeler yasal olarak, Tarım ve Orman Bakanlığı'nca sunulan 30 Haziran 2013 tarih ve 28693 sayılı Resmî Gazetede yayımlanarak yürürlüğe giren Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği'nde tanımlanmışlardır. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın belirlediği gıda maddelerinde kullanılmasına izin verilen koruyucu maddeler ve market zincirlerinde satılan ürünlerin içerikleri incelendiğinde sorbik asit, benzoik asit ve formik asit yaygın olarak kullanılan koruyuculardan olduğu belirlenmektedir.

Diğer omurgalı canlılarda olduğu gibi balık gametlerinin *in vitro* muhafazası ve bu şekilde döllemede kullanım için hazırda bulundurulması önemli bir yardımcı üreme teknikniği uygulaması olarak değerlendirilmektedir. Bu uygulama üretimde birçok fayda sağlamanın yanında, çalışılan canlı grubunun üreme sistemi mekanizmalarının anlaşılması yönünde açıklamalar getirebilmektedir. Balıklarda, özellikle gametlerin laboratuvar ortamında muhafaza edilebilmesi ve bu gametlerden yavru balık elde edilmesi, anaç balıkların yönetiminde hem daha az yem ve daha az anaç balık kullanımı açısından önemli derecede katkı sağlama potansiyelindedir (Lee ve Donaldson, 2001; Isler, 2009). Günümüzde artan hayvansal gıda ihtiyacının karşılanması için, bu tür üretim uygulamalarındaki iyileştirmeleri zorunlu hale

gelmiştir. Son yıllarda, balıklarda yeni üretim tekniklerinde gametlerin laboratuvar ortamında muhafaza edilebilmesi biyoteknolojik bir çözüm olarak göz çarpmaktadır (Donaldson, 2006).

Alabalıklarda olduğu gibi birçok balık türünde sperm hücreleri vücut içerisinde hareketsizdirler. Bunlar dış ortama salınıp su ile karışıklarında hareket etmeye başlarlar. Bu hareket (motilite) kazanımından önce sağım yolu ile alınan sperm örneği seminal plazma içeriğine benzer solüsyonlarda hareket kazanmadan muhafaza edilebilmektedir. Alabalık çiftliklerinde pratikte uygulanan üretim yönteminde, sağılan sperm hücreleri, üretimde kullanılmak üzere hazırda bekletilmektedir. Bu solüsyon ortamının özellikleri, sperm motilite kalitesini ve diğer biyokimyasal parametrelerini etkilemektedir (Alavi ve Cosson, 2005). Sperm hücrelerinin muhafaza teknikleri genel olarak 2 kısımda sınıflandırılabilir; 1-) kısa süreli muhafaza, hücrelerin dondurulmadan +4°C’de saklanması 2-) uzun süreli muhafaza, sperm hücrelerinin son aşamada sıvı azot içerisinde -196°C’de saklanması. Bu muhafaza teknikleri sayesinde, sperm hücreleri, balık çiftliklerindeki üretim sırasında hali hazır bir şekilde bulundurulabilmektedir (İnanan ve Kanyılmaz, 2020a). Muhafaza solüsyonları, sperm hücrelerinin kısa ve uzun süreli saklama koşullarının geliştirilmesine katkı sunduğu gibi, sperm biyolojisinin daha iyi anlaşılmasına da imkân sağlamaktadır (İnanan ve Kanyılmaz, 2020b). En uygun saklama koşullarının belirlenmesinde, bu solüsyonlara, antioksidan ve antibakteriyel özellikteki maddelerin eklenmesi de önemli olmaktadır (Ubilla ve Valdebenito, 2011).

Bu tez çalışmasında gıda koruyucu olarak kullanılan sorbik, benzoik ve formik asitlerin sperm hücrelerine üzerine olan koruyucu etkileri değerlendirilmiştir. Bu amaç ile gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) bireylerinden elde edilen sperm örnekleri bu koruyucu maddeler ile muamele edilerek, +4°C’de 7 gün süre ile muhafaza edilmişlerdir. Bu örneklerle ait motilite parametreleri (motilite, VCL, motilite süresi ve canlılık süresi), lipid peroksidasyon seviyeleri, toplam antioksidan kapasiteleri değerleri, SOD aktiviteleri ve DPPH inhibisyon kabiliyetleri tayin edilmiştir. Ayrıca örneklerin yağ asidi profilleri saptanarak, bu gıda koruyucuları içermeyen sulandırıcı ile sulandırılan örnekler ve hiçbir sulandırma yapılmayan örnekler ile karşılaştırmaları yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sorbik asit ve koruyucu olarak kullanımı

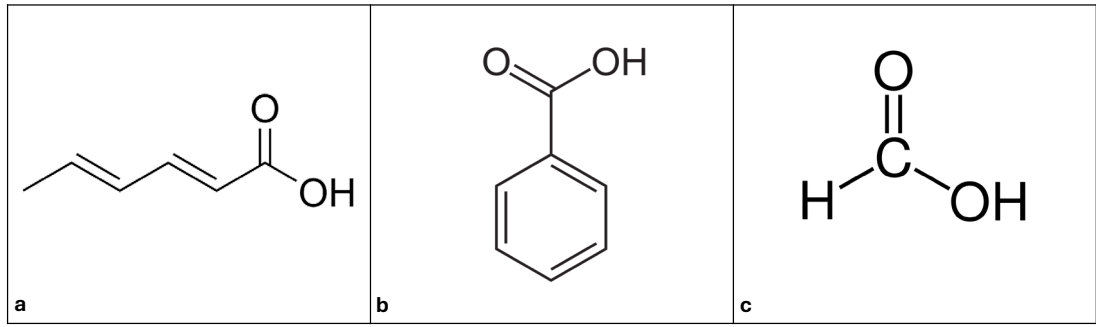
Molekül şekli Şekil 2.1’de sunulan sorbik asidin kimyasal formülü $C_6H_8O_2$, molekül kütlesi 112,13 g/mol’dür. Doğal koruyucu olan sorbik asidin, Avrupa Birliği tarafından gıda katkı maddeleri için belirlenen kodu (EC Code) E200’dür. E kodları her bir için Avrupa Birliği tarafından belirlenen kod numaralarıdır. İlk defa *Sorbus aucuparia* (üvez ağacı) meyvelerinden saflaştırılmıştır. Antimikrobiyal özelliği bulunmuş ve 1950 sonralarında endüstriyel üretimine başlanarak gıdalarda yaygın olarak koruyucu özelliği ile kullanılmıştır. Gıdalarda en yüksek olarak %0,1 ila 0,2 arsında kullanılmaktadır (Kıvanç, 1989; Kalyoncu, 2008).

2.2. Benzoik asit ve koruyucu olarak kullanımı

Molekül ağırlığı 122,12 g/mol olan benzoik asidin molekül şekli Şekil 2.1’de sunulmuş olup formülü $C_7H_6O_2$ ’dir. Doğal koruyucu olan benzoik asidin, Avrupa Birliği tarafından gıda katkı maddeleri için belirlenen kodu (EC Code) E210’dur. Benzoik asit birçok farklı bitki ve meyvelerde bulunabilmektedir. Gıdalarda kullanımı dışında kozmetik ve plastik sanayii gibi farklı sektörlerde de kullanılmaktadır. Maya ve mantarlara karşı koruyucu özelliği ile ön plana çıkmaktadır (Yentür ve Bayhan, 1990; Ünlü ve Bayır, 2022).

2.3. Formik asit ve koruyucu olarak kullanımı

CH_2O_2 formülüne sahip olan formik asit molekül şekli Şekil 2.1’de verilmiştir. Formik asidin molekül ağırlığı 46,03 g/mol’ dür. Doğal asit ve koruyucu olan benzoik asidin, Avrupa Birliği tarafından gıda katkı maddeleri için belirlenen kodu (EC Code) E236’dur. Formik asit karıncalar ve diğer bazı böcekler tarafından üretilmektedir. Antimikrobiyal etkiye sahiptir ve hayvan yemlerinde de katkı maddesi olarak kullanılabilmektedir (Ricke vd., 2020).



Şekil 2.1. Sorbik (a), benzoik (b) ve formik (c) asidin kimyasal yapıları.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Balıklar ve Örnekleme

Tez çalışması ile ilgili deneyler, Aksaray Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2022/11-51 karar sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması kapsamında ticari bir gökkuşağı alabalığı işletmesinden, rutin üretimde kullanılan anaç gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) bireylerinden elde edilen sperm örnekleri kullanılmıştır. Bu kapsamda 3 yaşındaki 7 bireyden alınan sperm örnekleri çalışma deneylerinde kullanılmıştır. Sağım yöntemi ile alınan örneklerde su, kan veya idrar gibi herhangi bir kirleticinin etkisinden kaçınılmıştır.

3.2. Sperm Sulandırma ve Muhafaza Koşulları

Çalışmada temel sperm sulandırıcı olarak Kobayashi vd. (2004) tarafından önerilen ve içeriğinde NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂ ve NaHCO₃ bulunan solüsyon pH 8.0 seviyesinde kullanılmıştır. Bu solüsyonun pH değerini değiştirmeyecek miktarlar olan 1 mM sorbik asit, 1 mM benzoik asit ve 10 ppm formik asit, ilgili stok solüsyonlardan hazırlanmıştır. Sulandırmalarda hacimsel 1:9 sperm:sulandırıcı oranı korunmuştur (İnanan, 2020). Gıda koruyucu içermeyen Kobayashi solüsyonu ile sulandırılan örnekler kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. Ayrıca sağıl ile alınmış taze örnek olan ilk örnekleri ve hiçbir sulandırma yapılmayan inkübasyon örnekleri de sulandırılan örnekler ile aynı işlemlere tabi tutulmuştur. Her sulandırma denemesi 3 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.3. Motilite Değerlendirilmesi

Çalışmada sperm hücreleri motilite aktivasyonu %0,5 BSA, 60 mM NaHCO₃, 50 mM Tris içeren pH=9,0 seviyesindeki aktivasyon solüsyonu ile 1:400 oranı korunarak sağlanmıştır (Lahnsteiner, 2000; İnanan ve Yılmaz, 2018). Çalışmada sperm motilite parametreleri olarak motilite (%), motilite süresi (s), canlılık süresi (s) ve VCL (kavisli hareket hızı, µm/s) belirlenmiştir. Motilite süresi, sperm hücrelerinin progresif harekete başlaması ile hareketlerinin dairesel harekete dönüştüğü an arasındaki süre olarak, canlılık süresi ise hareketin başladığı an ile hareketin titreşime dönüştüğü an arasındaki süre olarak kabul edilmiştir ve bu değerler saniye olarak kaydedilmiştir (Billard ve Cosson, 1992; Rurangwa vd., 2004). VCL sperm

hücrelerinin aktivasyonunun 12. saniyesinde görüntüye göre belirlenmiştir. $VCL > 25 \mu\text{m/s}$ olan sperm hücreleri motil olarak değerlendirilmiştir. Motilite parametrelerinin belirlenmesinde, Leica DM750 mikroskop ve Leica MC190 HD kamera (Wetzlar, Almanya) kullanılmıştır (Wilson-Leedy ve Ingermann, 2007; Boryshpolets vd., 2013). Her örnek 3 tekrarlı olarak değerlendirilmiştir.

3.4. Sperm Oksidatif Stres Parametreleri ve Yağ Asidi Profilleri

Sulandırılan sperm örnekleri $1.000 \times g$ hızında 4°C 'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatantlar atılmıştır. Elde edilen hücreler buz içerisinde ultrasonikasyon ile 10 s boyunca homojenize edilmiştir. Homojenatlar 4°C 'de 10 dakika $5.000 \times g$ hızında tekrar santrifüj edilerek içlerinden hücre kalıntılarından kurtarılmıştır. Buradaki süpernatantlar oksidatif stres parametrelerinin ölçümünde kullanılmıştır.

TBARS (Tiyobarbitürik ile reaksiyona giren maddeler) değerleri spektrofotometrik olarak 535 nm'de belirlenmiştir (Asakawa ve Matsushita, 1980; Dzyuba vd., 2014). Toplam antioksidan kapasitesi (TAK) ise molibden indirgenmesi temelinde ve askorbik asit (AA) eşleneği olarak ölçülmüştür (Prieto vd., 1999). Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) aktivitesi pirogallolun otooksidasyonuna göre 420 nm'de tayin edilmiştir (Marklund ve Marklund, 1974). DPPH serbest radikalinin inhibisyonu kabiliyeti ölçümü, 517 nm'de gerçekleştirilmiştir (Wang vd., 2014).

Yağ asitleri analizleri için örneklerden yağ ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir ve daha sonrasında yağ asitleri miktarları belirlenmiştir (Bligh ve Dyer, 1959). Yağ asidi profili GC/MS (Shimadzu GCMS QP 2010 ULTRA) sistemi kullanılmıştır (İnanan vd., 2021).

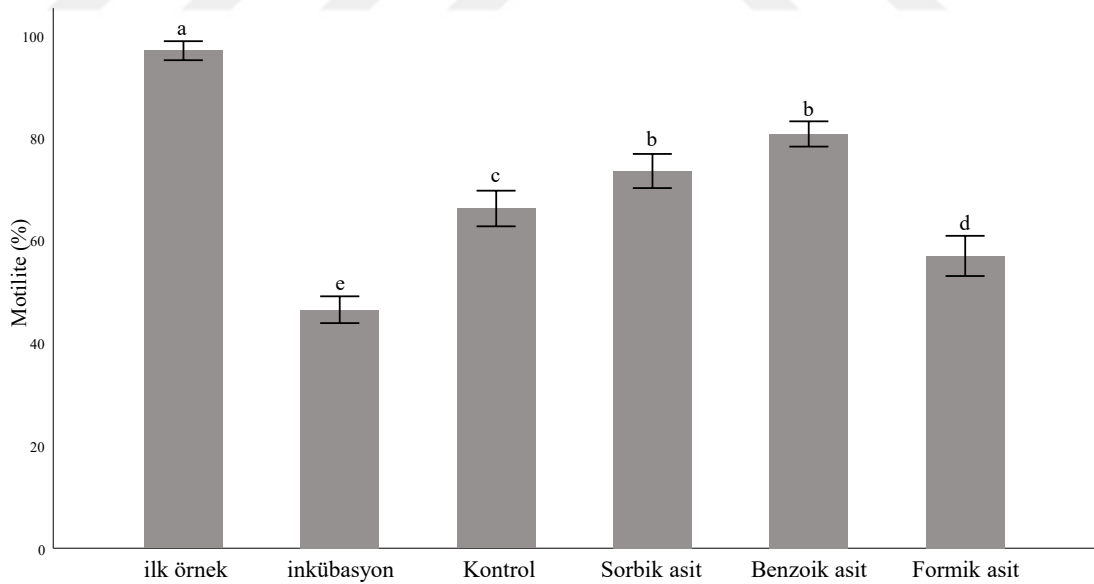
3.5. İstatistiksel Analizler

Elde edilen veriler önce tek yönlü varyans (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Daha sonra ikili karşılaştırmalar için Tukey's testi uygulanmıştır. İstatistiki farklılıkların tespitinde, önem derecesi 0,05 olarak kabul edilmiştir. Veriler, grafiklerde ve metinde ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. Grafiklerde, istatistiki farklılıklar farklı küçük harfler ile ifade edilmiştir.

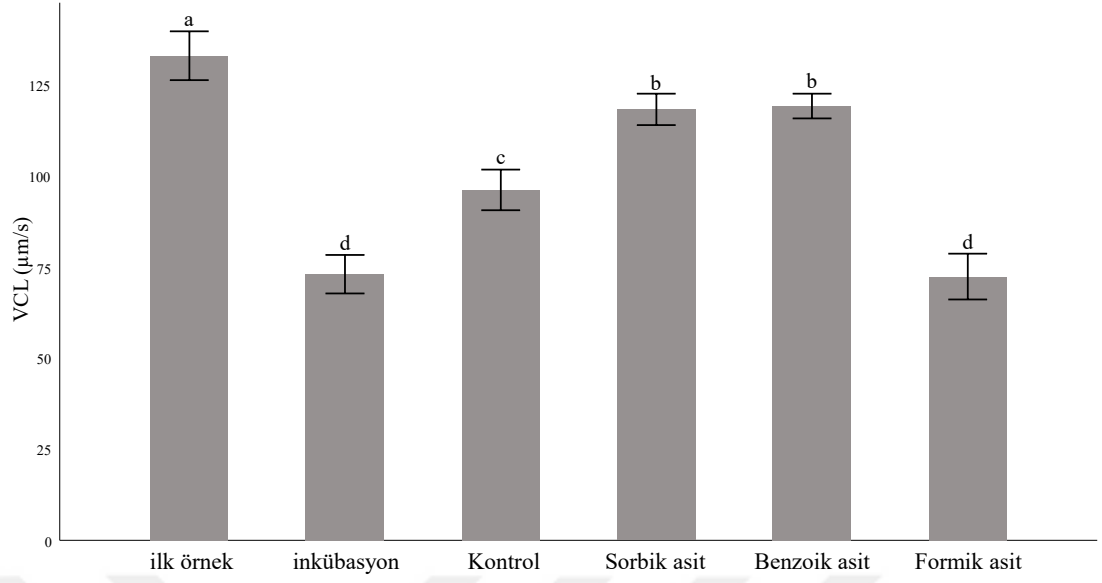
4. BULGULAR

4.1. Sorbik, Benzoik ve Formik Asitlerin Sperm Motilite Parametrelerine Etkileri

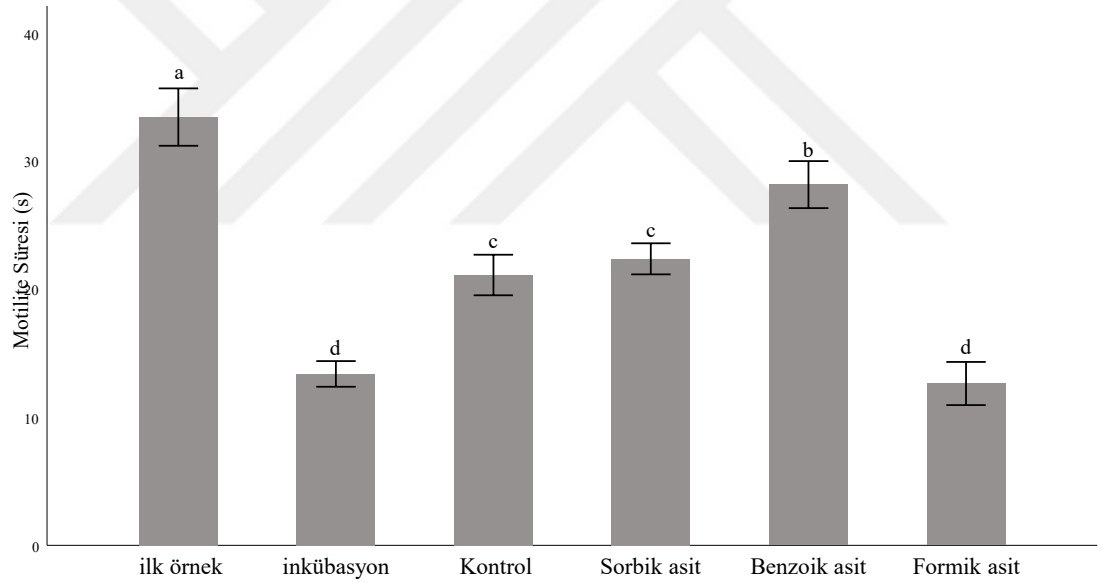
Çalışmada, 7 gün sonunda sorbik, benzoik ve formik asitleri içeren sulandırıcılar ile muamele edilmiş örnekler ile, bu asitleri içermeyen sulandırıcı ile sulandırılan örnekler ve hiçbir sulandırma yapılmayan örnekler hem birbirleri ile hem de taze sağılmış sperm örnekleri ile sperm motilite parametreleri açısından karşılaştırılmışlardır. Bu örneklerle ait motilite, VCL, motilite süresi ve canlılık süresi değerleri Şekil 4.1, 4.2, 4.3 ve 4.4’de sırasıyla verilmiştir. Tüm sperm motilite parametreleri genel olarak değerlendirildiğinde, 7 günlük muhafaza sonunda sulandırma yapılan tüm örneklerin motilite parametrelerinin, sulandırma yapılmayan örnekten daha yüksek, ilk örneğe göre ise daha düşük farklarda olduğu istatistiki olarak bulunmuştur ($P < 0,05$). Sulandırılan örnekler içerisinde sorbik ve benzoik asit içeren gruplarda motilite parametreleri, diğer gruplara göre daha yüksek seviyededir ($P < 0,05$). Özellikle motilite süresi benzoik içeren örneklerde en yüksek seviyede kaydedilmiştir.



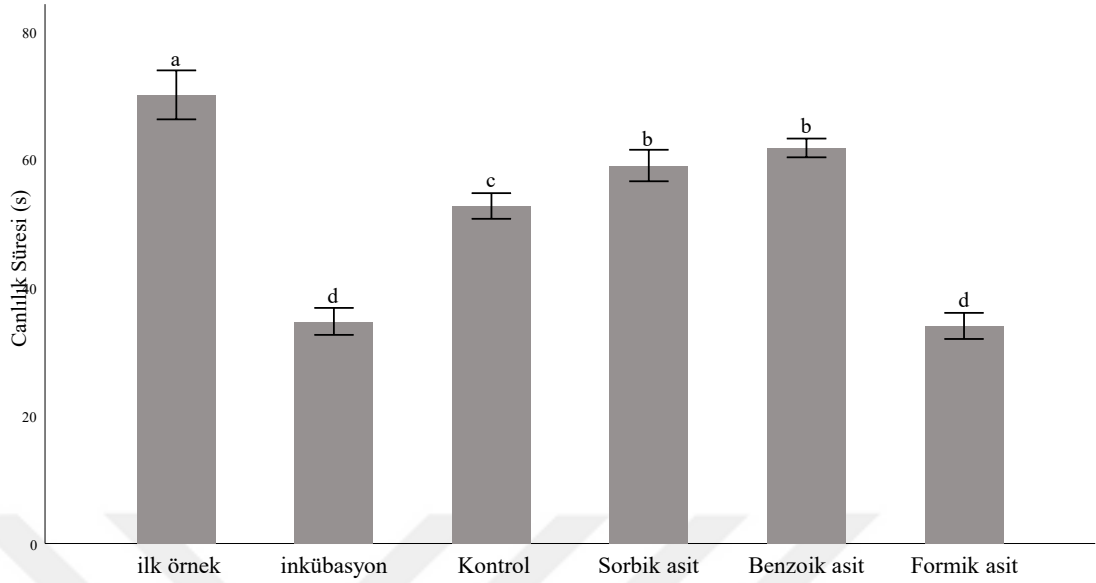
Şekil 4.1. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm motilitesi üzerine etkileri.



Şekil 4.2. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm VCL seviyelerine etkileri.



Şekil 4.3. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm motilite süresi üzerine etkileri.



Şekil 4.4. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm canlılık süresi üzerine etkileri.

4.2. Sorbik, Benzoik ve Formik Asitlerin Sperm Yağ Asitlerine Etkileri

Çalışmada, gıda koruyucu maddeler olan sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm hücrelerindeki yağ asidi değerlerine etkileri incelenmiştir. Ayrıca, sulandırılan örneklerdeki yağ asidi profilleri, sulandırma yapılmayan ve sağım yoluyla alınan taze örneklerle ait yağ asidi profilleri ile farklılıkları değerlendirilmiştir. Çizelge 4.1’de ölçülen yağ asitlerindeki değişimler sunulmuştur. Muhafaza sonrasında örnek gruplarındaki SFA, MUFA ve PUFA değerlerinin taze olarak sağılan ilk gruptaki dağılım arasında istatistiki farklar tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Muhafaza edilen örneklerde SFA ve MUFA yüzdelерinde istatistiki artışlar gözlemlenirken, PUFA yüzdelерinde istatistiki azalmalar bulunmuştur ($P < 0,05$). SFA arasında en yüksek değere sahip yağ asidi tüm gruplarda palmitik asit, MUFA arasında en yüksek değere sahip yağ asidi oleik asit, PUFA arasında ise en yüksek değere sahip yağ asitleri sırasıyla EPA, DHA, eicosatetraenoik asit ve linoleik asit olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm yağ asidi asitlerine etkileri.

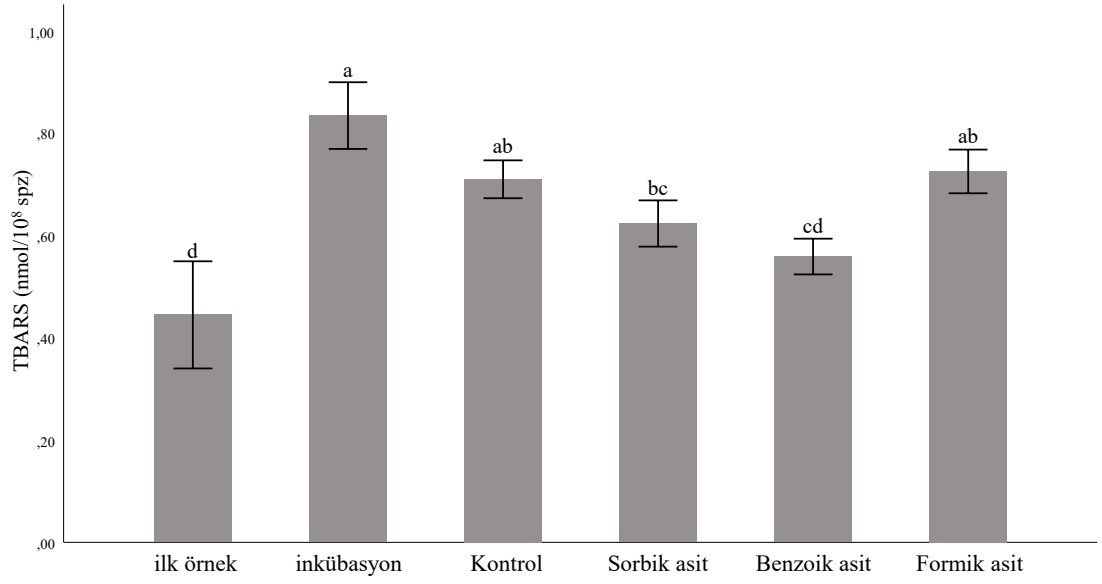
Yağ Asitleri (%)	İlk örnek	İnkübasyon	Kontrol	Sorbik	Benzoik	Formik
Miristik ¹	0,41±0,02 ^c	0,77±0,06 ^a	0,61±0,02 ^b	0,62±0,02 ^b	0,56±0,02 ^b	0,57±0,02 ^b
Pentadesilik ¹	0,13±0,01 ^b	0	0,15±0,01 ^{ab}	0,17±0,02 ^a	0,16±0,01 ^a	0
Palmitoleik ²	0,54±0,02 ^d	0,61±0,04 ^{cd}	0,74±0,03 ^{ab}	0,76±0,04 ^a	0,72±0,03 ^{ab}	0,68±0,02 ^{bc}
Palmitik ¹	17,17±0,19 ^c	24,57±0,79 ^a	22,81±0,31 ^{bc}	23,41±0,36 ^b	22,22±0,25 ^{cd}	21,59±0,32 ^d
Heptadeanoik ¹	0,15±0,03 ^b	0,19±0,02 ^{ab}	0,21±0,02 ^a	0,22±0,01 ^a	0,21±0,02 ^a	0,22±0,01 ^a
Linoleik ³	7,88±0,14 ^a	6,01±0,31 ^c	7,66±0,1 ^a	7,38±0,31 ^a	7,62±0,13 ^a	6,79±0,14 ^b
Oleik ²	9,41±0,15 ^d	12,65±0,69 ^a	11,54±0,24 ^b	11,14±0,1 ^{bc}	11,34±0,21 ^b	10,29±0,3 ^{cd}
Octadecenoik ²	4,13±0,11 ^b	5,61±0,47 ^a	5,04±0,06 ^{ab}	5,28±0,05 ^{ab}	5,1±0,05 ^{ab}	4,79±0,17 ^b
Linolenik ³	0,17±0,02 ^a	0	0	0	0,12±0,01 ^b	0
Stearik ¹	5,1±0,08 ^b	5,12±0,08 ^b	5,5±0,02 ^a	5,54±0,08 ^a	5,4±0,21 ^{ab}	5,16±0,13 ^b
Eicosatetraenoik ³	11,23±0,23 ^a	7,6±0,45 ^d	10,31±0,21 ^b	10,42±0,24 ^b	9,72±0,27 ^{bc}	9,07±0,05 ^c
EPA ³	15,29±0,28 ^a	5,83±0,23	9,64±0,2 ^b	9,47±0,2 ^{bc}	8,99±0,14 ^{cd}	8,4±0,29
Eicosatrienoik ³	2,74±0,06 ^a	1,65±0,23 ^c	2,58±0,07 ^{ab}	2,37±0,06 ^{bc}	2,07±0,06 ^{cd}	1,87±0,12 ^{de}
Araşidonik ³	1,8±0,09 ^a	0,25±0,04 ^c	0,32±0,02 ^c	0,34±0,03 ^c	0,52±0,04 ^b	0,35±0,04 ^c
Eicosadienoik ³	2,33±0,06 ^a	1,13±0,05 ^d	1,66±0,05 ^{bc}	1,67±0,04 ^b	1,66±0,06 ^{bc}	1,51±0,08 ^c
Paullinik ²	0,55±0,04 ^a	0,24±0,05 ^c	0,33±0,01 ^b	0,31±0,01 ^{bc}	0,34±0,02 ^b	0,32±0,04 ^b
α -Linolenik ³	0,37±0,05 ^a	0	0	0	0,16±0,03 ^b	0
4-DPA ³	1,04±0,04 ^d	7,91±0,27 ^a	1,28±0,03 ^{cd}	0,99±0,56 ^d	1,82±0,03 ^c	6,13±0,11 ^b
DHA ³	17,45±0,17 ^c	19,39±0,62 ^a	18,79±0,24 ^{ab}	18,65±0,43 ^{ab}	18,01±0,51 ^{bc}	19,61±0,35 ^a
Adrenik ³	0,44±0,03 ^b	0	0	0,45±0,04 ^b	0,67±0,04 ^a	0
DPA ³	1,67±0,05 ^b	0,47±0,04 ^d	0,83±0,01 ^c	0,82±0,07 ^c	2,59±0,04 ^a	2,64±0,15 ^a
SFA ¹	22,96±0,06 ^c	30,65±0,64 ^a	29,28±0,28 ^{bc}	29,95±0,34 ^{ab}	28,55±0,11 ^c	27,54±0,19 ^d
MUFA ²	14,63±0,31 ^d	19,11±1,07 ^a	17,65±0,28 ^b	17,49±0,13 ^{bc}	17,5±0,24 ^b	16,09±0,43 ^c
PUFA ³	62,41±0,18 ^a	50,24±1,04 ^d	53,07±0,42 ^c	52,57±0,47 ^c	53,95±0,35 ^c	56,38±0,14 ^b

4.3. Sorbik, Benzoik ve Formik Asitlerin Sperm Oksidatif Stres Parametrelerine Etkileri

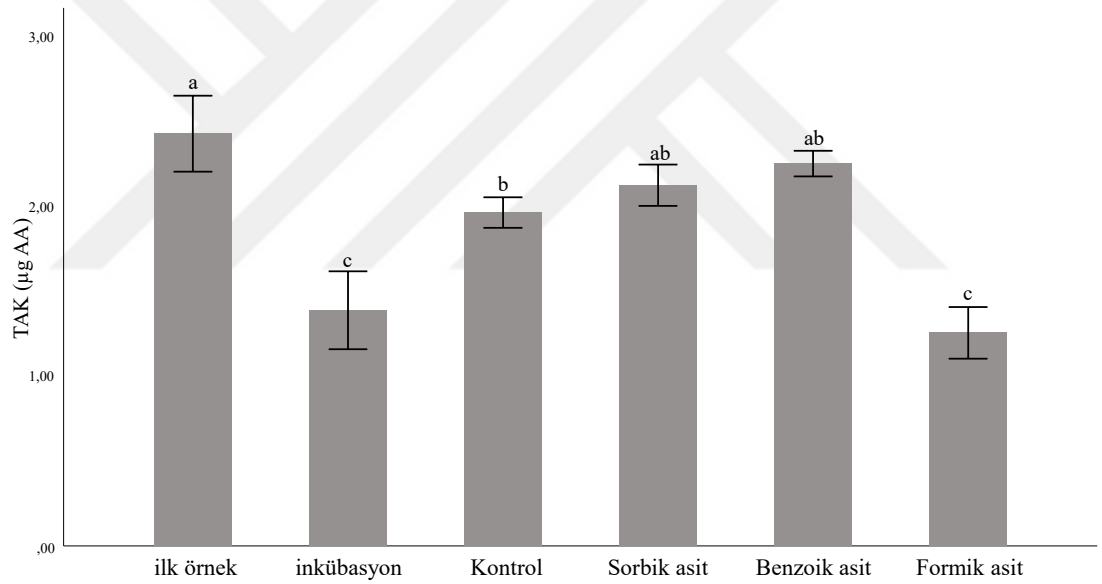
Sperm hücrelerinin muhafazası sonunda, elde edilen TBARS değerleri Şekil 4.5’de sunulmuştur. Benzoik asit grubunda ölçülen TBARS değerleri istatistiki olarak ilk örnek ile fark olmadığı bulunmuştur ($P > 0,05$). Buna karşın, formik asit grubundaki TBARS seviyeleri sulandırma yapılmayan inkübasyon grubu ve kontrol grubu ile fark göstermemektedir. Bu gruplardaki sperm TAK seviyelerindeki değişimler Şekil 4.6’da verilmiştir. Kontrol grubu ile sorbik ve benzoik asit grupları arasında istatistiki açıdan benzerlik bulunmaktadır. Buna karşın, formik asit grubundaki

TAK değeri, bu gruplara daha düşük seviyede olduğu bulunmuştur ($P < 0,05$). Şekil 4.7’de sunulan, gıda koruyucuların spermatozoa SOD aktivitesi seviyelerine etkileri incelendiğinde, sulandırılan örneklerde bu değerlerde farklılıklar olduğu gözlemlenmektedir. SOD aktivitesi seviyesinden en az artma benzoik asit grubunda tespit edilmiştir. Sulandırma yapılmayan inkübasyon örneğinde en yüksek SOD değeri bulunmuştur. Örneklerde DPPH inhibisyonları istatistiki farklılıklarının olduğu da belirlenmiştir ($P < 0,05$). Sulandırılan örneklerde en yüksek DPPH inhibisyonu benzoik asit grubunda tespit edilmiştir.

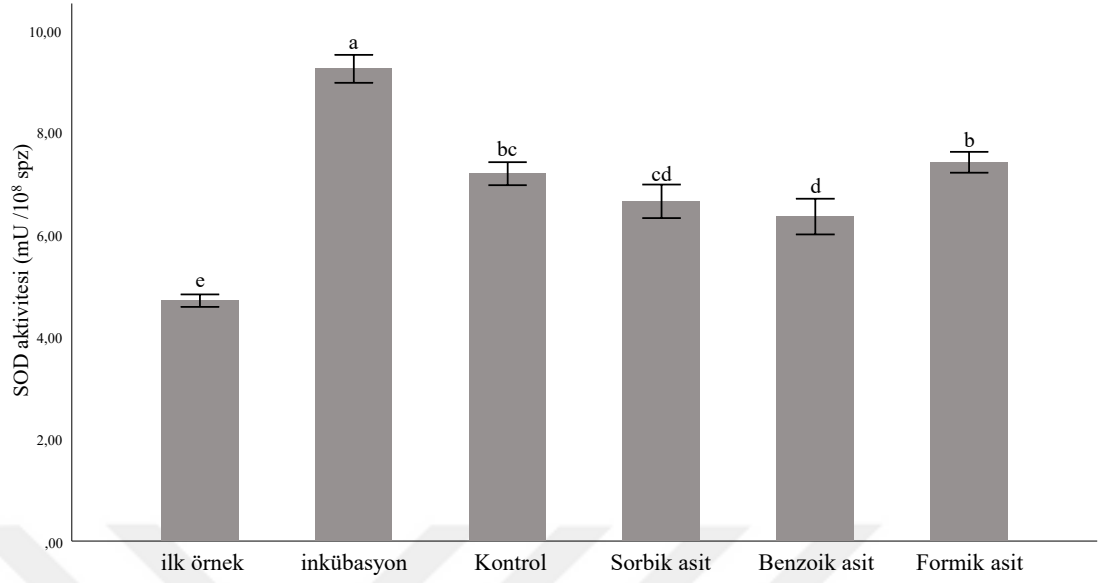




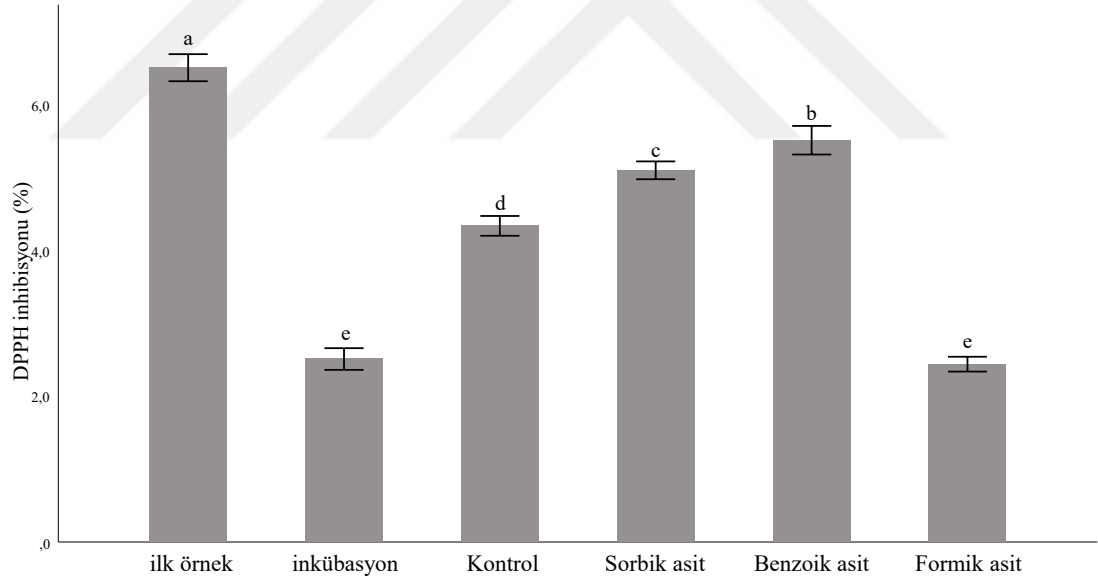
Şekil 4.5. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm TBARS seviyelerine etkileri.



Şekil 4.6. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm TAK seviyelerine etkileri.



Şekil 4.7. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm SOD aktivite seviyelerine etkileri.



Şekil 4.8. Sorbik, benzoik ve formik asitlerin alabalık sperm DPPH inhibisyon seviyelerine etkileri.

5. TARTIŞMA

Balık üretimi ve üreme özelliklerinin daha iyi anlaşılması yanında, gamet muhafazasının diğer faydasının da gen bankalarının oluşturulması konusunda olacağı öngörülmektedir. Gen bankaları oluşturulması balık kültüründe istenilen gen özelliklerinin saklanması ve üretimdeki avantajının yaygın bir şekilde kullanılmasını olası kılma potansiyelindedir (Martínez-Páramo vd., 2009). Öte yandan, çevre kirliliği temelli birçok antropojenik faktör sebebi ile baskı altında olan biyoçeşitlilik konusunda da gen bankalarının önemi vurgulanmaktadır. Farklı canlı gruplarında olduğu gibi balık türlerinde soyu tükenme tehlikesi ile karşı karşıyadır. Bu türlerin gen kaynaklarının korunabilmesi gametlerinin uygun muhafazası ile yakında ilişkilidir. Gametlerin uygun muhafaza koşullarının belirlenmesi bu konuda çözüm sunabilecek potansiyeldedir (Lubzens vd., 1997; Martínez-Páramo vd., 2017).

Tez çalışmasında, gıda koruyucu olan sorbik, benzoik ve formik asitlerin gökkuşağı alabalığı sperm hücrelerinin muhafazası üzerine etkileri incelenmiştir. Buna göre, öncelikle benzoik asidin ve sonrasında sorbik asidin spermatozoa motilite parametrelerini istatistiki olarak olumlu yönde etkidiği belirlenmiştir. Başarılı bir sperm muhafazasının temel amacı, motilitenin korunmasıdır. Motilite kazanan sperm hücreleri, yumurtaya ulaşarak döllemenin gerçekleşmesi sağlar. Bu bağlamda, daha iyi motilite parametrelerine sahip hücrelerinin dölleme kabiliyetlerinin de daha iyi olması beklenir (İnanan, 2020). Kısa süreli muhafaza süresince, farklı iyonik bileşiklerin, antioksidan ve antimikrobiyal maddelerin, amino asitlerin ve vitaminlerin sulandırıcı ortamlarına eklenmesinin motilite üzerine olumlu etkileri olmaktadır (Lahnsteiner, 2009; Ubilla vd., 2015).

Sperm hücrelerinin oksidatif dengesinin anlaşılması için gerçekleştirilen analizlerde, benzoik asidin koruyucu özelliği daha bariz şekilde saptanmıştır. Benzoik asit grubunda, diğer sulandırmalara göre lipid peroksidasyonundaki artmanın daha az olduğu belirlenmiştir. TBARS değerleri lipid peroksidasyonunu e dolayısıyla sperm motilitesi ile yakından ilişkili olan oksidatif stres koşullarının etkin bir göstergesidir (Dzyuba vd., 2014). *In vitro* muhafaza sürecinde artış gösteren bu değer, farklı sulandırıcı ortamları ile azaltılabilmektedir (Shaliutina vd., 2013).

Çalışma deneylerinde, sperm hücrelerinin +4°C’de 7 günlük muhafaza sonrasında TAK ve DPPH inhibisyon seviyelerinin benzoik asit grubunda taze sağılmış ilk örneğe en yakın değerlere sahip olduğu gözlemlenmektedir. Diğer vücut doku ve sıvılarında olduğu gibi spermatozoa ve seminal plazma TAK değerleri sağlıklı olma ile ilişkilidir. TAK seviyelerindeki değişimler sperm kalite parametrelerini doğrudan etkilemektedir (Sikka vd., 1995; İnanan vd., 2016).

Muhafazası sonrası SOD aktiviteleri değerlendirildiğinde, sulandırma yapılmayan inkübasyon örneğinde artış gösteren bu aktivitelerin, benzoik asit grubunda diğer gruplara kıyasla kısıtlı bir artış göstermektedir. SOD enzimi, hücreleri oksidatif strese karşı koruyan enzimatik sistemin en önemli elementlerindendir (Dzyuba vd., 2014). SOD aktivitesi, in vitro muhafaza sırasında artabilmektedir. Bu durum, hücrelerin muhafaza esnasında oluşan oksidatif stres koşullarını bertaraf etmeye çalışması ile açıklana bilemektedir (Shaliutina vd., 2013).

Balıklarda spermatozoa motilitesinin kalite parametreleri membran özellikleri ve enerji metabolizması ile doğrudan ilgilidir. Balık sperm hücrelerini temel organik bileşen gruplarında olan yağ asitleri, enerji metabolizmasının göstergeleri olarak kabul edilmekle birlikte bu hücreler için kritik öneme sahip membran özelliklerinden sorumlulardır (Lahnsteiner vd., 1994; 1998). Bunun beraber, sperm muhafazası sırasında, sperm hücrelerinin oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) ile mücadele etmesi önemli bir durum oluşturmaktadır. Fazla miktarda ROS kaynaklı olarak oluşan oksidatif stres koşulları spermatozoa motilitesini olumsuz olarak etkilemektedir (Dzyuba vd., 2014; Ubilla vd., 2015). Bu olumsuz etkilerinin, sperm hücrelerinin içerdiği yüksek PUFA miktarından dolayı oksidatif strese karşı hassas olmalarından dolayı olduğu belirtilmektedir (Zhou vd., 2006; Runnalls vd., 2007). Bununla beraber, PUFA içeriğinin yanında MUFA içeriğinin de sperm hücrelerinin olumsuz koşullar ile karşılaşması sebebiyle etkilendiği gösterilmiştir (Gündüz ve İnanan, 2024). Bu tez çalışmasında, muhafaza sonrasında spermatozoa PUFA yüzde miktarında azalma tespit edilirken, MUFA ve SFA miktarlarında artmalar gözlenmiştir. Muhafaza sonrasında, sulandırılan örneklerde ve PUFA değerlerinin daha yüksek olması bu örneklerde oksidasyonun azaldığını göstermektedir (Çizelge 4.1). Bu durum TBARS seviyeleri ile de uygunluk göstermektedir (Şekil 4.5). Benzoik asidin, sorbik, formik asitlere göre spermatozoa oksidasyonunu daha azaltıcı

etkiye sahip olduğu saptanmaktadır. Benzer şekilde farklı etken maddelerin oksidasyon azaltıcı etkileri gökkuşaağı alabalığı fileto (kas) örneklerinde de gösterilmiştir (Durmuş, 2020). Yağ asitleri gruplarının yanı sıra, muhafaza sonrasında, saptanan her bir yağ asidinde, taze alınan ilk örneğe göre istatistiki olarak farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0,05$). Özellikle EPA, linolenik, α -linolenik ve adrenik değerlerinde azalmalar göze çarpıcıdır. Bu yağ asitleri özellikle hücre zarında bazı temel süreçlere katılmaktadırlar. Bu yağ asitlerinin azalması hücre zarı vizkozitesine zarar vermekte ve zar kanallarındaki madde alışverişini engelleyici olabilmektedir (Bryan vd., 2001; Swanson vd., 2012; Mahoney-Sánchez vd., 2021). Bu sebeplerin sonucu olarak sperm motilitesinde azalmalar olduğu düşünülmektedir.



6. SONUÇ

Günümüzde, artan dengeli beslenme ve protein ihtiyaçlarının karşılanması toplumsal sorunlar arasında yer almaktadır. Dünya’da ve ülkemizde en önemli kültür balıklarından olan gökkuşığı alabalığı, Türkiye için en yaygın su ürünleri türlerindendir ve ticari ölçekli üretimi çok yüksektir. Türkiye İstatistik Kurumu su ürünleri istatistiklerine göre, ülkemizde 2000 yılında 14 bin ton civarında olan alabalık üretimi günümüzde 150 bin ton civarındadır. Benzer şekilde, su ürünleri yetiştiricilik üretimi 2000’li yılların başında 61 bin ton iken, 2021 yılında yüzde 673 artarak 472 bin tona ulaşmıştır. Bu artışlar, söz konusu balık üretimini ile ilgili çalışmalarında önemini arttırmıştır. Bu üretimi arttırmadaki önemli konulardan biri de sperm hücrelerinin fonksiyonlarını kaybetmeden muhafaza edilerek, dölleme öncesinde hazır halde bulundurulmasıdır.

Sonuç olarak, tez çalışması kapsamında gökkuşığı alabalığı sperm örnekleri model olarak kullanılarak, sorbik, benzoik ve formik asitlerin balık sperm muhafazasında kullanımları değerlendirilmiştir. Gerek motilite parametreleri gerek ise sperm oksidatif stres parametreleri değerlendirildiğinde özellikle benzoik asidin, sperm muhafazasında kullanımının olumlu etkileri belirlenmiştir.

KAYNAKÇA

- Alavi, S.M.H., & Cosson, J. (2005). Sperm Motility in Fishes. I. Effects of Temperature and pH: a Review. *Cell Biology International*, 29, 101-110.
- Asakawa, T., & Matsushita, S. (1980). Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides, *Lipids*, 15, 137-140.
- Billard, R., & Cosson, M.P. (1992). Some problems related to the assesment of sperm motility in freshwater fishes. *J. Exp. Zool.*, 261, 122-131.
- Boğa, A., & Binokay, S., (2010). Gıda Katkı Maddeleri ve Sağlığımıza Etkileri. *Arşiv*, 19(3), 141-154.
- Boryshpolets, S., Kowalski, R.K., Dietrich, G.J., Dzyuba, B., & Ciereszko, A. (2013). Different computer-assisted sperm analysis (CASA) systems highly influence sperm motility parameters. *Theriogenology*, 80, 758-765.
- Bryan, D.L., Hart, P., Forsyth, K., & Gibson, R. (2001). Incorporation of alpha-linolenic acid and linoleic acid into human respiratory epithelial cell lines. *Lipids*, 36(7), 713-717.
- Donaldson, E.M., (1996). Manipulation of reproduction in farmed fish. *Animal Reproduction Science*, 42(1-4), 381-392.
- Durmuş, M. (2020). The effects of nanoemulsions based on citrus essential oils (orange, mandarin, grapefruit, and lemon) on the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets at $4 \pm 2^\circ\text{C}$ 40(1), e12718.
- Dzyuba, B., Bondarenko, O., Fedorov, P., Gazo, I., Prokopchuk, G., & Cosson J. (2017). Energetics of fish spermatozoa: The proven and the possible. *Aquaculture*, 472, 60-72.
- Dzyuba, V., Dzyuba, B., Cosson, J., Boryshpolets, S., Yamaner, G., Kholodniy, V., & Rodina, M. (2014). The antioxidant system of sterlet seminal fluid in testes and Wolffian ducts. *Fish Physiol. Biochem.*, 40(6), 1731-1739.
- Gündüz S., & İnanan, B.E. (2024). Effects of captan, mancozeb and azoxystrobin fungicides on motility, oxidative stress and fatty acid profiles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa, *Aquatic Toxicology*, 273, 107017.
- Isler, V.I. (2009). Biotechnology applied to salmoniculture. *Bras. Zootec.*, 38, 36-42.
- İnanan, B. E., Öğretmen, F., İnanan, T., & Yılmaz, F. (2016). Total antioxidant capacity, catalase activity, and lipid peroxidation changes in seminal plasma of sex-reversed female and male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during spawning season. *Theriogenology*, 86, 1975-1982.
- İnanan, B.E. (2020). Fertilization rate, motility, lipid peroxidation and pH changes after chilled storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs and spermatozoa by a RMPI medium. *Aquaculture Research*, 51, 222-231.

- İnanan, B.E., & Kanyılmaz, M. (2020a). Effect of alpha-lipoic acid on oxidative stress, viability and motility in the common carp (*Cyprinus carpio*) spermatozoa after short-term storage and cryopreservation. *Cryobiology*, 94, 73–79.
- İnanan, B.E., & Kanyılmaz, M. (2020b). In Vitro Effects of Fenugreek, Sunflower, Green Cardamom and Seed Extracts on Motility Parameters and Oxidative Stress of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa. *TURJAF*, 8(1), 214-219.
- İnanan, B.E., & Yılmaz, F. (2018). Seasonal and age-related changes in semen characteristics and composition of seminal plasma in sex-reverse female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in comparison with normal males. *Anim. Reprod. Sci.*, 196, 160-167.
- İnanan, B.E., Acar, Ü., & İnanan, T. (2021). Effects of dietary *Ferula elaeochytris* root powder concentrations on haematology, serum biochemical parameters, spermatozoa parameters, and oxidative status in tissues of males goldfish (*Carassius auratus*). *Aquaculture*, 544, 737087.
- Kalyoncu, F. (2008). Gıda Sanayinde Sıklıkla Kullanılan Antifungal Katkı Maddeleri. *Engineering Sciences*, 3(3), 462-426.
- Karatepe, T.U., & Ekerbiçer, H.Ç. (2017). Gıda Katkı Maddeleri. *Sakarya Tıp Dergisi*, 7(4), 164-167.
- Kıvanç, M. (1989). Gıda Koruyucusu Olarak Sorbik Asit ve Tuzları: I Genel Özellikleri. *Gıda*, 14(5).
- Kobayashia, T., Fushiki, S., & Ueno, K. (2004). Improvement of sperm motility of sex-reversed male rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by incubation in high-pH artificial seminal plasma. *Environ. Biol. Fish*, 69, 419-425.
- Lahnsteiner, F. (2000). Semen cryopreservation in the Salmonidae and in the Northern pike. *Aqua. Res.*, 31, 245-258.
- Lahnsteiner, F. (2009). The role of free amino acids in semen of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* and carp *Cyprinus carpio*. *J. Fish Biol.*, 75, 816-833.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R.A., & Weismann, T. (1994). The spermatid duct of salmonid fishes. Fine structure, histochemistry and composition of the secretion. *J. Fish Biol.*, 42, 79-93.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., & Patzner, R.A. (1998). Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. *Aquaculture*, 163 163-181.
- Lee, C.D., & Donaldson, E.M., (2001). General discussion on “Reproductive biotechnology in finfish aquaculture”. *Aquaculture*, 197, 303-320.

- Mahoney-Sánchez, L., Bouchaoui, H., Ayton, S., Devos, D., Duce, J.A., & Devedjian, J.C. (2021). Ferroptosis and its potential role in the physiopathology of Parkinson's Disease. *Prog. Neurobiol.*, 196, 101890.
- Marklund, S., & Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European Journal of Biochemistry*, 47, 469-474.
- Prieto, P., Pineda, M. & Aguilar., M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
- Ricke, S.C., Dittoe, D.K., Richardson, K.E. (2020). Formic Acid as an Antimicrobial for Poultry Production: A Review. *Front. Vet. Sci.*, 7, 563.
- Runnalls, T.J., Hala, D.N., & Sumpter, J.P. (2007). Preliminary studies into the effects of the human pharmaceutical clofibrilic acid on sperm parameters in adult Fathead minnow. *Aquat. Toxicol.*, 84, 111–118.
- Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F. & Nash, J.P. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish, *Aquaculture*, 234, 1-28.
- Shaliutina, A., Hulak, M., Gazo, I., Linhartova, P., & Linhart, O. (2013). Effect of short-term storage on quality parameters, DNA integrity, and oxidative stress in Russian (*Acipenser gueldenstaedtii*) and Siberian (*Acipenser baerii*) sturgeon sperm. *Anim. Reprod. Sci.*, 139, 127-135.
- Sikka, S.C., Rajasekaran, M., & Hellstrom, W.J. (1995). Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *J. Androl.*, 16, 464-468.
- Swanson, D., Block, R., & Mousa, S.A. (2012). Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life. *Advances in Nutrition*, 3(1), 1-7,
- Ubilla, A., & Valdebenito, I., (2011). Use of Antioxidants on Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) Sperm Diluent: Effects on Motility and Fertilizing Capability. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 39(2), 338-343.
- Ubilla, A., Fornari, D., Figueroa, E., Effer, B., & Valdebenito, I. (2015). Short-term cold storage of the semen of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) incorporating DMSO in the sperm diluent. Effects on motility and fertilizing capacity. *Aquaculture Research*, 46, 37–44.
- Ünlü, D., & Güneş Bayır, A. (2022). Koruyucu Gıda Katkı Maddeleri ve Sağlık Etkisi. *Akademik Et ve Süt Kurumu Dergisi*, (4), 55-68.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2014). Structural characterization and bioactivity of released exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* 70810. *Int. J. Biol. Macromol.*, 67, 71-78.

- Wilson-Leedy, J.G., & Ingermann, R.L. (2007). Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology*, 67, 661-672.
- Yentür, G., & Bayhan, A. (1990). Bazı gıda maddelerinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının araştırılması. *Gıda*, 15(2).
- Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N., & Ünal, F. (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda*, 39(3), 179-186.
- Zhou, B.S., Liu, W.H., Siu, W.H.L., O'Toole, D., Lam, P.K.S., & Wu, R.S.S. (2006). Exposure of spermatozoa to duroquinone may impair reproduction of the common carp (*Cyprinus carpio*) through oxidative stress. *Aquat. Toxicol.*, 77, 136-142.



EK-1: Etik Kurul Onayı

	T.C. AKSARAY ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL BAŞKANLIĞI	Doküman No	KYS-FRM-093	
		İlk Yayın Tarihi	30.04.2018	
		Revizyon Tarihi	30.04.2018	
		Revizyon No	00	
		Sayfa No	1/1	

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
05.12.2022	2022/11	51

Aksaray Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 5 Aralık 2022 tarihinde Saat 14.00'te toplanarak aşağıdaki kararları almıştır:

Burak Evren İNANAN'ın yürütücü olarak görev aldığı "Gıdalarda Koruyucu Olarak Kullanılan Maddelerin Gökkuşuğu Alabalığı (Oncorhynchus mykiss) Sperm Hücrelerinin Muhafazasında Kullanılması" başlıklı çalışma,

Çalışmada kullanılacak Sperm örneklerinin "B.01.01.0011 işletme numaralı Öz Alabalık Üretim Tesisi, Aşçıbekirli Mahallesi, Pozantı, Adana" işletmesinden alınacağı ve hayvanlar üzerine bir müdahalede bulunulmayacağından 15.02.2014 tarih ve 28914 sayılı Yönetmeliğin 8 inci maddesinin (k) bendi "Ölü hayvan veya dokusu, mezbaha materyalleri, atık fetuslar ile yapılan prosedürler" kapsamında değerlendirilerek HADYEK iznine tabi değildir kararı katılanların oy birliği ile verilmiştir.