

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI



PORTAKAL KABUĞU UÇUCU YAĞININ ALABALIK YEMİ
RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

AYŞENUR KANAT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOÇ. DR. OSMAN SABRİ KESBİÇ

OCAK - 2022
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Ayşenur KANAT tarafından hazırlanan “**Portakal Kabuğu Uçucu Yağının Alabalık Yemi Raf Ömrü Üzerine Etkileri**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **21.01.2022** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Doç. Dr. Osman Sabri KESBİÇ Kastamonu Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP Kastamonu Üniversitesi	
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Mustafa ÖĞÜTÇÜ Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. İzzet ŞENER

.....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Ayşenur KANAT

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PORTAKAL KABUĞU UÇUCU YAĞININ ALABALIK YEMİ RAF ÖMRÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

AYŞENUR KANAT

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN:DOÇ. DR. OSMAN SABRİ KESBİÇ

Portakal işleme endüstrisi atıkları, benimsenen teknolojiye bağlı olarak yaklaşık meyvenin %50 ila %70'ini oluşturmaktadır. Elde edilen ürün atık olarak nitelendirilmesine karşın pek çok değerli bileşiği içermekte ve firmalar için büyük ekonomik kayıplar da doğurmaktadır. Pazar doygunluğu nedeniyle firmalar atık yönetimi zorluklarıyla karşı karşıya kalmaktadır. Bu atıkların imhası kendine özgü özellikleri, ekonomik ve çevresel faktörlerden ötürü bazı yasal sınırlamaların da varlığıyla önemli bir sorun haline gelmektedir. Su ürünleri yetiştiriciliğinin en önemli faaliyet alanlarının başında ise balık yetiştiriciliği gelmektedir. Balık yetiştiriciliğinde toplam maliyetin %60–70'ini yem ve yemlemeye bağlı giderlerin oluşturduğu bilinmektedir. Bu nedenle yem kalitesi ve yem maliyetleri önemli bir konudur. Balık yemi üretiminde ise kullanılan balık yağı ve balık unu yemin hızlıca bozulmasına sebep olmaktadır. Bu bozulmanın ve diğer kalite kayıplarının önüne geçmek için de balık yemlerine sentetik katkıları katılmaktadır. Ancak son yıllarda gelen yasal sınırlandırmalar ve artan tüketici bilinci doğal katkılara olan ilgiyi artırmıştır. Bu çalışmanın amacı da portakal suyu endüstrisi atığı portakal kabuğundan izole edilen, doğal bir katkı olan uçucu yağın kalitatif içeriğini belirlemek ve bu yağla katılanmış balık yemlerinin depolama sürecinde meydana gelen değişimleri tespit etmektir. Bu kapsamda çalışma için kullanılacak olan portakal kabukları temin edilip hidrodistilasyon yöntemi ile çalışan clevenger düzeneği kullanılarak portakal kabuklarından uçucu yağ elde edilmiştir. Yağ içeriği gaz kromatografisi/kütle spektrometresi kullanılarak tespit edilmiş, elde edilen kromatogram W9N11 kütüphanesi ile kontrol edilerek yağın kalitatif içeriği belirlenmiştir. Yapılan analiz neticesinde elde edilen yağın uçucu içeriği belirlenmiş ve içeriğin majör bileşeninin D-limonen olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra içeriği belirlenen uçucu yağ literatürde alabalık için uygunluğu belirtilen yem rasyonuna %0; 0,5; 1; 3 oranlarında ilave edilerek deneysel yem grupları oluşturulmuştur. Yemler 60 gün boyunca standart depolama şartlarında, yem çuvaları içerisinde saklanmış ve depolama süresince periyodik örnekler alınıp örnekler üzerinde besinsel, mikrobiyolojik, yapısal ve oksidasyonu belirler analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonunda portakal kabuğu uçucu yağının balık yemlerinde üreyen toplam mezofilik aerobik bakteri, maya ve küfler üzerine koruyucu anlamlı bir etkisinin bulunmadığı ($p>0,05$), saklama süresinde besin madde değerlerinin zamana bağlı değişim gösterdiği ancak bu değişimin yemlerin içerdiği portakal kabuğu yağı miktarı ile anlamlı ilişki içerisinde olmadığı ($p>0,05$), yemlere katılan portakal kabuğu uçucu yağının yem taneciklerinin yapısal özellikleri üzerinde bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte portakal kabuğu

uçucu yağının yemlerde gerçekleşen yağ oksidasyonunu anlamlı ölçüde engellediği ($p<0,05$) gözlenmiştir. Bu sebeple balık yemleri içerisine en az %1 oranında portakal kabuğu uçucu yağı ilavesinin 60 günlük depolama süresi sonunda diğer gruplara nazaran yağ oksidasyonu sonucu oluşan peroksit miktarını hala kabul edilebilir değerlerde olmasını sağladığı gözlemlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Portakal uçucu yağı, balık yemi, yağ oksidasyonu, raf mr

Ocak 2022, 86 Sayfa

ABSTRACT

MSC. THESIS

EFFECT OF ORANGE PEEL ESSENTIAL OIL ON TROUT FEED SHELF LIFE

AYŞENUR KANAT

**KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING**

SUPERVISOR: ASSOC. PROF. OSMAN SABRİ KESBİÇ

The waste of the orange industry accounts for about 50% to 70% of the fruit, depending on the technology adopted. Although this product obtained is characterized as waste, it contains many valuable compounds and causes great economic losses for companies. In addition to being an economic loss, companies face waste management challenges due to market saturation. The disposal of orange industry waste is becoming an important problem due to its unique characteristics, economic and environmental factors, as well as some legal restrictions. One of the most important areas of aquaculture activity is fish farming. It is known that feed and feeding expenses account for 60 to 70% of the total cost of fish farming. Therefore, feed quality and feed costs are an important issues. The fish oil and fish meal used in the production of fish feed cause the fish feed to deteriorate rapidly. In order to prevent this deterioration and other quality losses, synthetic additives are added to fish feeds. However, in recent years, legal restrictions and increased consumer awareness have increased interest in natural contributions. The aim of this study is to determine the qualitative content of essential oil, which is a natural additive isolated from orange peel, a waste product of the orange juice industry, and to determine the changes occurring in the storage process of fish feeds added with this oil. In this context, orange peels to be used for the study were obtained and essential oil was obtained from orange peels using the Clevenger apparatus working with the hydrodistillation method. The fat content was determined using gas chromatography/mass spectrometry. The resulting chromatogram was checked with the W9N11 library and the qualitative content of the fat was determined. As a result of the analysis, the volatile content of the oil obtained was determined, and it was determined that the major component of the content was D-limonene. Then, the essential oil, the content of which was determined, was added to the feed ration, the suitability of which was indicated in the literature for trout, in the proportions of % 0; 0,5; 1; 3 and experimental feed groups were created. The feeds were stored under standard storage conditions for 60 days in feed sacks and periodic samples were taken during storage and nutritional, microbiological, structural, and oxidation-determining analyses were performed on the samples. At the end of the study, it was determined that orange peel essential oil had not protective effect on the total mesophilic aerobic bacteria, yeast, and molds growing in fish feeds ($p>0,05$). Nutrient values changed over time during storage, but this change was not significantly related to the amount of orange peel oil contained in feeds ($p>0,05$). Orange peel essential oil added to feeds had not effect on the structural properties of feed grains. However, it has been observed that orange peel essential oil significantly

inhibits the oxidation of oil in feed ($p<0,05$). For this reason, it has been observed that the addition of orange peel essential oil at least %1 to fish feeds still allows the amount of peroxide formed as a result of oil oxidation to be at acceptable values compared to other groups at the end of the 60-day storage period.

KEYWORDS: Orange essential oil, fish feed, oil oxidation, shelf life

January 2022, 86 Page

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince tecrübesi ile bana yol gösteren, ilgisi, bilgisi ve deneyimi ile her zaman yanımda olan, olumlu tavrı ile beni cesaretlendirerek kendimi geliştirmeme katkı sağlayan, değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Osman Sabri KESBİÇ'e teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi sırasında, labaratuvar analizlerinde bilgi ve tecrübeleri ile yardımlarını esirgemeyen Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Öğretim Görevlisi Sayın Dr. Fevziye Işıl KESBİÇ'e, Kastamonu Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölüm hocamız Sayın Doç. Dr. Müge HENDEK ERTOP'a ve değerli katkılarından dolayı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa ÖĞÜTÇÜ'ye teşekkür ederim.

Çalışmam boyunca desteklerini yanımda hissettiğim tüm yüksek lisans arkadaşlarıma ve ayrıca bilgisi ile bana destek olan Gıda Yüksek Mühendisi Rabia ATASOY'a teşekkür ederim.

Son olarak hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan, her şeyimi borçlu olduğum sevgili annem Şehri KANAT'a, babam İbrahim KANAT'a, ablalarım Perihan KANAT, Saide KANAT ve istatistiki analizlerde beni ayrıca destekleyen ablam Sibel KANAT'a, kıymetli küçüğüm Murat KANAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

AYŞENUR KANAT

Kastamonu, 2022

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Turunçgil Endüstrisi ve Atıkları	4
1.1.1 Turunçgil Endüstrisi	4
1.1.2 Turunçgil (Portakal) Atıkları	6
1.2 Portakal Kabuğu Yağı	8
1.3 Balık Yemi Endüstrisi	9
1.3.1 Türkiye ve Dünyada Balık Yemi	9
1.4 Balık Yeminde Kalite Parametreleri	10
1.5 Balık Yeminde Raf Ömrü ve Depolama	12
1.5.1 Raf Ömrü	12
1.5.2 Depolama	12
1.5.2.1 Depolamayı etkileyen faktörler.....	12
1.6 Balık Yeminde Katkı Maddeleri	15
1.6.1 Antioksidanlar.....	18
1.6.1.1 Etoksikuin (EQ)	18
1.6.1.2 Bütil hidroksi tolue (BHT).....	18
1.6.1.3 Bütil hidroksi anisol (BHA).....	19
1.6.1.4 Biberiye ekstraktı (BE)	19
1.6.1.5 Tokoferol.....	19
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	20
3. MATERYAL VE METOT	26
3.1 Materyal.....	27
3.1.1 Portakal Kabuğu	27
3.1.2 Deneme Yemleri	27
3.2 Metot	29
3.2.1 Uçucu Yağların Ekstraksiyonu ve Analizi.....	29
3.2.1.1 Portakal kabuklarından uçucu yağın ekstrakte edilmesi	29
3.2.1.2 Portakal kabuğu uçucu yağının bileşenlerinin belirlenmesi....	30
3.2.2 Depolama	30
3.2.3 Örnekleme.....	31
3.2.4 Besinsel Madde Analizleri.....	31
3.2.4.1 Ham kül analizi	31
3.2.4.2 Nem analizi	32
3.2.4.3 Ham protein analizi	32
3.2.4.4 Ham yağ analizi.....	33
3.2.4.5 Yağ asidi profili.....	34

3.2.5	Mikrobiyolojik Analizler	34
3.2.5.1	Toplam mezofilik aerobik sayımı	34
3.2.5.2	Maya ve küf sayımı	34
3.2.6	Oksidasyona Dayalı Analizler	35
3.2.6.1	Toplam antioksidan aktivite (DDPH)	35
3.2.6.2	Peroksit analizi	36
3.2.7	Yapısal Analiz.....	37
3.2.8	İstatiksel Analizler	38
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	39
4.1	Bulgular	39
4.1.1	Portakal Kabuğu Uçucu Yağı Bileşenleri	39
4.1.2	Yemin Fizikokimyasal ve Besinsel Nitelikleri	40
4.1.3	Yemde Gruplar Arası Mikrobiyolojik Değişimler.....	46
4.1.4	Portakal Kabuğu Uçucu Yağında Antioksidan Aktivite.....	47
4.1.5	Yem Örneklerinin Yağ Oksidasyon Seviyesi Değişimleri	48
4.1.6	Yemde Gruplar Arası Yapısal Analizler.....	53
4.2	Tartışma	54
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	71
5.1	Sonuç	71
5.2	Öneriler.....	72
	KAYNAKLAR	73
	ÖZGEÇMİŞ.....	86

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1 İş akış şeması	26
Şekil 3.2 Uçucu yağın çıkarıldığı portakallar	27
Şekil 3.3 Deneysel yemler.....	28
Şekil 3.4 Clevenger düzeneği.....	29
Şekil 3.5 Deneysel yemlerin depolama ortamı	30
Şekil 3.6 Kül analizi örnek tartımları ve kül fırını	31
Şekil 3.7 Metanol-kloroform karışımında yem örnekleri	33
Şekil 3.8 Süzülerek falcon tüplerine alınmış örnekler	33
Şekil 3.9 Antioksidan aktivite örneklerinin yüklendiği mikrolaka	35
Şekil 3.10 Örneklerin okutulduğu UV-VIS spektrofotometre	36
Şekil 3.11 Yem örneklerinde peroksit analizi	36
Şekil 3.12 Peroksit analizi için örneklerinin titrasyonu	37
Şekil 3.13 Sterio mikroskop altında yemlerin incelenmesi.....	37
Şekil 4.1 % Ham kül değerleri.....	40
Şekil 4.2 % Nem değerleri	41
Şekil 4.3 % Ham protein değerleri.....	43
Şekil 4.4 % Ham yağ değerleri	44
Şekil 4.5 Portakal kabuğu uçucu yağında % inhibisyon.....	47
Şekil 4.6 % inhibisyon değerleri	49
Şekil 4.7 Peroksit sayısı değerleri	52
Şekil 4.8 Yem peletlerinin sterio mikroskop altında genel görüntüsü (8x)	53
Şekil 4.9 Yem peletlerinin sterio mikroskop altında iç kesit görüntüsü (15x).....	54

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1.1 Dünya’da yıllara bağlı portakal üretim miktarları	5
Tablo 1.2 Portakal üreten ülkeler ve üretim miktarları	5
Tablo 1.3 Yıllara bağlı portakal üretim miktarları	6
Tablo 1.4 Türkiye’de yıllara göre balık yemi üretim miktarları.....	10
Tablo 3.1 Deneysel yem rasyonları.....	28
Tablo 3.2 Çalışmanın deneysel dizaynı	38
Tablo 4.1 Portakal kabuğu uçucu yağı bileşenleri.....	39
Tablo 4.2 Gruplar arasında ve içinde % ham kül düzeyleri.....	40
Tablo 4.3 Gruplar arasında ve içinde % nem düzeyleri	41
Tablo 4.4 Gruplar arasında ve içinde % ham protein düzeyleri.....	42
Tablo 4.5 Gruplar arasında ve içinde % ham yağ düzeyleri	43
Tablo 4.6 Yağ asitlerinin zamana bağlı değişimleri.....	45
Tablo 4.7 Deneysel yemlerle yapılan mikrobiyolojik analizler	47
Tablo 4.8 Gruplar arasında ve içinde antioksidan aktivite düzeyleri.....	48
Tablo 4.9 Gruplar arasında ve içinde peroksit sayısı düzeyleri	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	: Yüzde
<	: Küçüktür
>	: Büyüktür
±	: Artı-eksi
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
‰	: Binde
dk	: Dakika
g	: Gram
kg	: Kilogram
kob	: Koloni oluşturan birim
meq	: Miliekivalen gram
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
N	: Normalite
nm	: Nanometre
°C	: Santigrat derece
F	: Normalite faktörü
pH	: Aktif asitlik (hidrojen iyonu konsantrasyonunun negatif logaritması)
ppm	: Milyonda bir birim
vd	: Ve diğerleri

Kısaltmalar

AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
DPPH	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
EC	: Avrupa Konseyi
FAO	: Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı (Food and Agriculture Organization)
FRAP	: Demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü
GC-MS	: Gaz kromatografisi- Kütle spektrometresi
HCl	: Hidroklorik asit
NRC	: Kanada Ulusal Araştırma Konseyi (National Research Council of Canada)
PKUY	: Portakal Kabuğu Uçucu Yağı
TBARS	: Tiyoarbitürik asit reaktif maddeler testi
TEPGE	: Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü

TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UNDP	: Birleşmiş Milletler Kalkınma Programı (United Nations Development Programme)
USDA	: ABD Tarım Bakanlığı (United States Department of Agriculture)
UV-VIS	: Ultraviyole Görünür Işık

1. GİRİŞ

Dünyada yetiştiricilik yoluyla su ürünleri üretim miktarı, artan bir ivmeyle hızlanmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinin tarihine bakıldığında, günümüzden en az iki bin yıl öncesine dayanmaktadır. Birçok Asya ülkesinde pirinç tarlalarında sazan yetiştiriciliği ile uygulanmaya başlanmıştır. Milattan önce 473 yılında Fan Li adında bir kişi tarafından bu konuyla alakalı ilk eser yazılmış, daha sonra, Asya kıtasının büyük bir bölümüne ve Avrupa 'ya da yayılmıştır (Pierce, 1987).

Günümüzde su ürünleri yetiştiriciliği rakamlarına baktığımızda küresel ölçekte üretim yaklaşık; 178 milyon tondur ve bu üretimin 64 milyon tonu yetiştiricilik yoluyla sağlanmış, 96 milyon tonu ise avcılık faaliyetleri sonucu elde edilmiştir (FAO, 2018). Avcılık faaliyetleri sonucu yapılan üretim her ne kadar daha fazla olsa da 2000'li yıllardan bugüne yetiştiricilik faaliyetlerinde gözle görülür bir artış varken, avcılık miktarı sabittir. Bu durum sektörel anlamda büyümenin en önemli işaretlerinden biridir. Artan dünya nüfusu ile birlikte gıdaya olan ihtiyaç gün geçtikçe artmakta, bugüne kadar yürütülen faaliyetler bu talebi tam olarak karşılayamamaktadır. Bu nedenle arz talep dengesini sağlamak adına üretim sistemlerinin verimini arttırmak amaçlanmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliği verimi arttırmak maksadıyla yapılabilecek inovatif girişimleri yüksek kârlılıkla geri dönüştürebilecek üretim modelleri arasında yer almaktadır. Dolayısıyla, sektörde verimi arttırmaya yönelik girişimler son yıllarda hızlanmıştır (Phong vd. 2021). Su ürünleri yetiştiriciliğinin en önemli faaliyet alanlarının başında balık yetiştiriciliği gelmektedir. Balık, gıda maksadıyla yetiştiricilik yoluyla üretilen su ürünleri arasında üretim miktarı bakımından en önemli potansiyele sahip türleri barındırmaktadır. Son yayınlanmış verilere göre; küresel balık üretimi; 136 milyon ton iken, bu üretimin 57 milyon tonu yetiştiricilik, 79 milyon tonu ise avcılık faaliyetleri sonucu elde edilmiştir (FAO, 2019).

Yetiştiricilik yoluyla balık üretimi veriminin artırılmasında en önemli faktörlerden biri, aynı zamanda balık yetiştiriciliği sektörünün gider kalemlerinin ilki olan yem veriminin artırılmasıyla mümkün olabileceği düşünülmektedir. Bu sebeple endüstriyel balık yetiştiriciliğinin artması, paralelinde balık yemi gibi sektörlerin

gelişmesine de katkı sağlamış, daha da önemlisi bu sektörlerin gelişmesini zorunlu kılmıştır.

Tüm yetiştiricilik faaliyetlerinde olduğu gibi balık yetiştiriciliğinde de beslenme yetiştiricilik faaliyetleri arasındaki en önemli konulardan biridir. Balık yetiştiriciliğinin en önemli gider kalemlerinden bir tanesi olan yemin oluşturduğu maliyetler ve yem kalitesi de büyük öneme sahiptir (Eti, 2012). Bu etkenler ve sektörde yaşanan gelişmeler göz önüne alındığında; balık yetiştiriciliğinde toplam maliyetin %60–70’ini yem ve yemlemeye bağlı giderlerinin oluşturduğu bilinmektedir (Şamlı ve Onarbay, 2011). Doğal olarak balık yetiştiriciliği işletmelerine, yüksek kalitede yem sağlanmasının sürdürülebilirliği, verimli balık yetiştiriciliği için son derece büyük önem arz etmektedir. Bu sebeple yemlerin kalite parametrelerinin bozulmadan korunması, raf ömürlerinin uzatılması ve kayıpların en aza indirilmesi de balık yetiştiriciliği veriminin artırılması için son derece önemlidir (Eti, 2012).

Yetiştiriciliğin ilk dönemlerine bakıldığında doğal yem kaynakları (küçük balıklar, ipek böceği vb.) besin olarak kullanılırken, günümüzde endüstriyel balık yemleri kullanılmaktadır. Endüstriyel yemler; hayvanların yaşam ve gelişim payları için gereken besin ve enerji ihtiyacını veren bir veya birden fazla organik ve inorganik ham maddelerin karışımı olarak ifade edilmektedir (Erteken ve Hasimoğlu, 2005). Balık yetiştiriciliğinde doğal yemlerin yerini konsantre yemlere bırakması sonucunda da sentetik koruyucu katkı maddeleri de yemlere ilave edilmeye başlanmıştır. Geçtiğimiz 10 yıla kadar, yemleri korumak için antibiyotikler başta olmak üzere çeşitli sentetik koruyucular kullanılmıştır ancak, son yıllarda bu tip katkıların kullanımına sınırlandırmalar getirilmiş hatta bazı ülkelerde kullanımı yasaklanmıştır (OJEU, 2003). Antibiyotik kullanımı doğal mikrobiyotayı antibiyotiklere karşı dirençli hale getirdiği ve organizmada bıraktığı kalıntılar nedeniyle eleştirilmektedir. Sentetik ürünlerin neden olduğu sorunlar nedeniyle, Avrupa Parlamentosu ve Konseyi, Avrupa Birliği Resmî Gazetesinde yayınlanan hayvan yemlerinde kullanılan takviyelerle ilgili düzenlemelerde antibiyotik ve sentetik büyüme hızlandırıcılarının kullanımını sınırlandırılmıştır. Sonuç olarak, su ürünleri yetiştiriciliğinde, diğer doğal ürün alanlarında olduğu gibi yemlerde sentetik olmayan takviyelerin kullanılmasını içeren yeni bir eğilim başlamıştır. Bitki bazlı takviyeleri kullanmanın birincil avantajı zaten

doğal ortamda olmaları ve bunların çoğunun doğrudan tüketilebilir olmasıdır. Bu nedenle, bu tür ürünler sentetik ürünlere nazaran insan ve çevre dostu olarak kabul edilmektedir (Kesbiç, 2019). Son zamanlarda, bu beslenme alternatifleri, hastalıklara karşı direnci arttırmak ve salgınları önlemek, ayrıca balık büyümesini, hayvan refahını ve yem kullanımını iyileştirmek amacıyla balık üretiminde değerlendirilmiştir (Sutuli vd. 2018). Uçucu yağların içermiş oldukları biyo-aktif bileşenler, bu ürünlerin balık besleme araştırmalarında göz önünde bulundurulması gereken önemli hususlar haline getirir. Bu sebeple geçtiğimiz yıllarda birçok uçucu yağın balık besleme üzerine olumlu etkilerini bildiren çalışma yayınlanmıştır (Reverter vd. 2014).

Portakal kabuğu uçucu yağının balık beslemesinde kullanımı son yıllarda oldukça popüler bir konu haline gelmiştir. Portakal kabuğundan farklı yöntemlerle saflaştırılan uçucu yağın aromatik bileşikler arasında; D-limonen, β -mirsen, α -pinen, p-simen β -pinen, terpinolen gibi türlerinin bulunduğu bildirilmiştir. Bu bileşiklerin birçok yetiştiricilik türü için başta büyümeyi teşvik ettiği ve genel sağlık değerlerini iyileştirdiği hatta hastalıklara karşı direnç sağladığı bildirilmiştir (Kesbiç, 2019).

Yemlere yapılan katkılar hususundaki araştırmaların neredeyse tamamı yapılan katkının balık tüketimi sonrasında metabolizmaya olan faydaları üzerine olmuştur (Sutuli vd. 2018). Bununla birlikte balık yemine yapılan katkıların bir diğer majör görevi ise yemin üretiminde balık tüketimine sunulacağı zamana kadar kalite kriterlerini kabul edilebilir sınırlar arasında tutmaktır. Balık yeminin hızlı bozulmasına sebep olan başlıca hammadde balık yağıdır. Balık yağına alternatif olabilecek birçok yağ kaynağı, balık yeminin endüstriyel uygulamasın da ham madde olarak kullanılabilirliği hususunda çalışmalar yapılmıştır. Ancak yapılan çalışmalar farklı türler için balık yağının yemlerde farklı yağlarla ikame edilebileceğini, bununla birlikte balık yağının tamamen rasyondan çıkarılmasının mümkün olamayacağını bildirmiştir (Turchini vd. 2010). Su ürünleri yemleri aseptik koşullarda değil depo koşullarında saklanmaktadır. Dolayısı ile yemin üretim ve depolama süresince birçok mikroorganizma ile kontamine olabildiği gibi depolama esnasında yem içindeki mikroorganizmaların artışı da gözlenebilmektedir. Yem içerisine konulan katkı maddelerinin birçoğu da bu tip bozulmaları önlemek maksadı ile rasyona ilave edilmektedir (Yitbarek ve Tamir, 2014). Yem kalitesini etkileyen bir diğer önemli

faktör ise yağ oksidasyonudur. Balık yemleri türe ve beslenen balığın büyüklüğüne bağlı olmakla birlikte yüksek miktarda yağ içeriğine sahiptir. Yemin depolanması esnasında yağlarda gerçekleşen oksidasyon yemin besinsel içeriğini olumsuz yönde değiştirdiği gibi tüketimini de zorlaştırmaktadır (Gao vd. 2012). Bu sebeplerden ötürü balık yemlerinde kullanılacak olan katkı maddelerinden beklenen temel gereksinimler, yemi ilgili bozulmalara karşı koruması ve metabolize edildiğinde olumlu etkiler ortaya koymasındır. Dünyada yaşanan gelişmeler göz önüne alındığında; organik, doğal, çevreci katkı maddeleri olan bitki ekstraktlarının kullanılmasına yönelik bir eğilim başlamıştır. Turunçgillerin üretim teknolojileri gereği ortaya çıkardıkları atıklarda yer alan uçucu yağlar bu alanda kullanılabilir yan ürünler olarak önemli bir alternatif oluşturmaktadır.

Tüm bahsedilen veriler ışığında bu araştırmanın temel amacı; yeme ilave edildiğinde olumlu fizyolojik etki gösterdiği yapılan çalışmalarca ortaya konulan portakal kabuğu uçucu yağının gökkuşağı alabalığı yemlerinde zamana bağlı kalite değişimlerini tespit etmektir. Bu değişimleri tespit etmek için yemde zamana bağlı olarak, besinsel, yapısal, mikrobiyolojik ve yağ oksidasyonuna bağlı parametreler incelenmiştir.

1.1 Turunçgil Endüstrisi ve Atıkları

1.1.1 Turunçgil Endüstrisi

Turunçgiller, dünyada en çok yetiştirilen tarım ürünleri arasındadır (Cypriano vd. 2018). Turunçgiller *Rutaceae* familyasının *Aurantoideae* alt-familiyasına dâhillerdir. Birçok türleri olmasına rağmen, tarımı yapılan en önemli turunçgiller *Citrus limon* (limon), *Citrus aurantifolia* (misket), *Citrus aurantium* (acı portakal), *Citrus sinensis* (tatlı portakal), *Citrus reticulata* (mandarin, satsuma), *Citrus grandis* ya da *Citrus maxima* (pummelo) ve *Citrus paradisi* (altıntop)'dir (Yılmaz, 2002).

Turunçgiller içinde en çok üretimi yapılan tür ise istatistiklere göre portakaldır. Dünya'da 2020/2021 sezonunda yaklaşık olarak 98 milyon ton turunçgil üretimi gerçekleşmiştir. Bu üretimin yaklaşık olarak 49 milyon tonunu ise portakal üretimi oluşturmuştur (Tablo 1.1).

Tablo 1.1 Dünya’da yıllara bağlı portakal üretim miktarları (USDA, 2021)

Ülke	Üretim Miktarı (milyon ton)
2016/2017	53,8
2017/2018	48,2
2018/2019	54,0
2019/2020	45,7
2020/2021	49,3

Dünya portakal üretiminde 2020/21 üretim sezonunda önde gelen ülkeler üretim paylarına göre sırasıyla; Brezilya (%34), Çin (%15), AB (%13) ve ABD (%8)’dir. Türkiye 1,3 milyon tonluk üretim miktarı ile dünya portakal üretiminde 8. sırayı almaktadır (Tablo 1.2).

Tablo 1.2 Portakal üreten ülkeler ve üretim miktarları

Ülke	Üretim Miktarı (milyon ton) ¹	%Üretim
Brezilya	15,9	%34
Çin	7,5	%15
AB Ülkeleri	6,5	%13
ABD	4,2	%8
Meksika	4	%7,6
Mısır	3,4	%6,4
Güney Afrika	1,7	%3,4
Türkiye	1,3	%2,6

¹ USDA, 2021, ² TEPGE, 2021

Dünya’da Brezilya ve ABD, Amerika kıtasındaki iki büyük turunçgil üreticisidir. Bu iki ülkede toplanan turunçgillerin çoğunluğu portakaldır. On yıllardır Brezilya, elverişli hava koşulları nedeniyle, özellikle portakal olmak üzere turunçgil üretiminde dünyaya öncülük etmektedir (Ladaniya, 2008). Brezilya’nın portakal üretimi, toplam turunçgil üretiminin yaklaşık %76’sını oluşturmaktadır. Brezilya’da üretilen portakalların %70’den fazlasının işlenmekte olduğu tahmin edilmektedir (USDA, 2019). Bu durum toplam küresel ihracat pazarının dörtte üçünden fazlasını oluşturan dünyadaki en büyük portakal suyu ihracatçısı olmasını sağlamaktadır (USDA, 2019). Brezilya 2020/2021 sezonunda toplam portakal üretiminin %70,1’ni (11,1 milyon ton) işlemek için kullanmıştır (USDA, 2021). Dünyanın en büyük turunçgil üreticilerinden bir diğeri de Çin’dir. Ürettiği turunçgil çeşitleri arasında portakal 2. sırayı almaktadır. 2020/2021 sezonunda 7,5 milyon ton portakal üretmiştir. Ancak üretimin yalnızca 380 bin tonu (%5,1) işlemek için kullanılmıştır. Kalan üretim taze ürün olarak ayrılmıştır

(USDA, 2021). 2020/2021 sezonunda; Amerika toplam portakal üretiminin 2,6 milyon tonunu (%61,9), Meksika 2 milyon tonunu (%50), Avrupa ülkeleri ise 1,1 (%33,3) milyon tonunu işlemiştir. Türkiye ise 1,3 milyon tonluk üretimin yalnızca 286 bin tonunu (%22) endüstriyel olarak değerlendirebilmiştir (USDA, 2021). Ülkemizde ise 2020 yılında 4,3 milyon ton civarında turunçgil üretimi gerçekleşirken, üretimin %30,6'sını portakal oluşturmuştur. Türkiye'de üretilen portakal miktarı 1,33 milyon tondur. Üretilen portakal çeşitlerinin %70'i Washington, %4'ü Yafa ve yaklaşık olarak %25'ini de diğer portakal türleri oluşturmaktadır. Bölgeler olarak %84'ü Akdeniz, %15'i Ege ve %1 oranında bir üretim de diğer bölgeler tarafından karşılanmıştır (Tablo 1.3).

Tablo 1.3 Yıllara bağlı portakal üretim miktarları (TÜİK, 2020)

Yıl	Üretim Miktarı (milyon ton)
2010	1,71
2011	1,73
2012	1,66
2013	1,78
2014	1,77
2015	1,81
2016	1,85
2017	1,95
2018	1,90
2019	1,70
2020	1,33

Bu veriler ışığında dünya portakal üretiminin büyük bir kısmının endüstriyel olarak işlendiği görülmektedir.

1.1.2 Turunçgil (Portakal) Atıkları

Portakaldan meyve suyu üretiminde, taze portakal ağırlığının yaklaşık yarısı meyve suyuna dönüştürülmektedir (Braddock, 1995). Meyve suyu üretiminden sonra kalan katılar, turunçgil yan ürünleri (atık) olarak kabul edilir (Chen vd. 2019). Bir turunçgil atığı; flavedo (dış kabuk, birçok türde sarı/turuncu toplam meyve ağırlığının yaklaşık %10'u), albedo (iç beyaz süngerimsi kabuk yaklaşık %17), posa veya bez (yaklaşık %71) ve tohumlardan (yaklaşık %2) oluşmaktadır. Turunçgil atığı üretimi, benimsenen teknolojiye ve meyve çeşidine bağlı olarak işlenmiş meyvelerin yaklaşık %50 ila %70'i arasındadır (Zema vd. 2018). Bu ürünler turunçgil atığı olarak

adlandırabilir olsalar da hala lif, protein, pektin, polifenoller ve uçucu yağlar gibi büyük miktarlarda değerli bileşikler içermektedirler (Chen vd. 2019). Atık olarak ifade edilen bu ürün tipik olarak düşük pH (3-4), yüksek su içeriği (yaklaşık %80-90) ve yüksek organik madde içeriğine (toplam katıların yaklaşık %95'i) sahiptir.

Meyve suyu üretim şirketleri şu anda pazar doygunluğu nedeniyle atık yönetimi zorluklarıyla karşı karşıyadır. Tehlikeli olmayan atık yönetimi şemaları, düşük pH, kompostlama sürecini engelleyen uçucu yağların varlığı ve atığın kompost yığınlarında anaerobiyoz sorunlarına neden olabilecek hızlı biyodegradasyonu nedeniyle, genellikle turunçgil atıklarını kompostlama için kabul etmez. Yüksek su içeriği nedeniyle ısıtma işlem alternatifleri de (yakma, gazlaştırma veya piroliz) turunçgil atıklarına uygulanamamaktadır (Ruiz ve Floats, 2014). Atıklar düşük pH ve yüksek konsantrasyonlarda organik bileşikler içermesi, organik bileşikler arasında yer alan uçucu yağların varlığı (D-limonen'in birincil bileşen olduğu uçucu yağlar) ve antimikrobiyel özelliklerinden dolayı biyolojik atık yönetimi seçeneklerinin temel problemi olarak görülmektedir. Sahip oldukları özellikler Avrupa yönetmeliklerine göre düzenli olarak depolama alanlarına atılmamak anlamına gelmektedir (EC, 2009). Üretilen büyük miktardaki turunçgil atıkları kendine özgü özellikleri, ekonomik ve çevresel faktörlerden ötürü önemli kısıtlamalar içerir (Calabrò vd. 2016).

Günümüzde geleneksel turunçgil atıkları bertaraf stratejileri (yakma veya depolama), çevresel etkiler ve enerji verimliliği açısından yetersiz ve sorunludur (Satari ve Karimi, 2018). İmhası yüksek maliyetler gerektirir ve prosedür dışı imha edilmeleri potansiyel olarak toprağa büyük zararlar vermektedir. Turunçgil atığı içinde bulunan uçucu yağların toksitesi, toprak mikrobiotasındaki canlılara zarar verebilmektedir. Ayrıca kontrolsüz imha su kütlelerinin kirlenmesine neden olabilir; bazı durumlarda, özellikle su kütlesi atığı uygun şekilde seyreltmek için yetersiz olduğunda, su ekosisteminin tahrip edilmesi mümkündür (Zema vd. 2018). Yüksek su ve çözünür şeker içeriği, atıkları yüksek oranda bozulabilir ve kolayca fermente edilebilir hâle getirir, bu da birçok ekonomik ve çevresel soruna neden olmaktadır (Laufenberg vd. 2003; Montgomery, 2004). Turunçgil atıklarından elde edilen yan ürünler, farmasötik, nutrasötik, gıda ve kozmetik endüstrilerinde kullanılabilecek değerli bileşikler için ekonomik ve yenilenebilir bir kaynak olarak kabul edilmektedir (Mahato vd. 2018).

1.2 Portakal Kabuğu Yağı

Bitkiler sabit ve uçucu yağlar olmak üzere iki tür yağ sentezleyebilir. Sabit yağlar gliserol ve yağ asidi esterlerinden oluşurlar. Uçucu yağlar ise uçucu organik bileşiklerin karışımlarıdır. Bitkinin tadına, kokusuna katkıda bulunurlar ve tek bir botanik kaynaktan elde edilmekle birlikte bitki kimyasının önemli bileşenleri arasında yer alırlar (Tisserand ve Young, 2013). Uçucu yağlar; halk arasında uçucu yağ, eteri yağ, aromatik yağ, esans yağı veya esansiyel yağlar gibi farklı adlarla da adlandırılırlar (Bayaz, 2014). Uçucu yağlar; oda sıcaklığında buharlaşan konsantre, hidrofobik sıvılardır (Shan, 2016). Uçucu yağ üreten bitkiler birçok farklı botanik türe aittir. Dünya çapında 350.000 bitki türü olduğu ve bunların %5'inin (17.500 tür) aromatik olduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan 400'den fazlası aromatik hammaddeler için ticari olarak işlenir, yaklaşık %50'si yetiştirilir ve geri kalanı birincil bir endüstrinin yan ürünleri olarak elde edilir (Tisserand ve Young, 2013).

Turunçgil uçucu yağlarının genel özellikleri, diğer bileşenlerin yanı sıra turunçgil bitkilerinin uçucu aroma bileşiklerini içeren sıvılar olmalarıdır (Ruiz ve Flotats, 2014). Genellikle turunçgil kabuğundan elde edilirler (Kesbiç, 2019). Bileşimleri çeşitlilik, mevsimsellik, coğrafi köken ve meyvenin olgunluğu gibi faktörlere bağlı olarak değişir. Bununla birlikte, birkaç ortak özellikleri ana hatlarıyla belirtilebilir (Ruiz ve Flotats, 2014). Genellikle %85-99 uçucu ve %1-15 uçucu olmayan bileşenler içerirler (Fisher ve Phillips, 2008). Limonen, β -mirsen, α -pinen, p-simen, β -pinen, terpinolen ve diğer elementler birçok turunçgil türünün başlıca aromatik bileşikleridir (Osman, 2019).

Portakal uçucu yağı ise yoğunlukla portakalın flavedo (dış kabuk) denilen en üst turuncu renkli kısmından elde edilmektedir (Tao vd. 2009). Flavedo kısmı çoğunlukla gıda endüstrisinde lezzet ve koku için kullanılan uçucu yağları içeren kısımdır (Rafig, 2018). Yapılan araştırmalar portakal kabuğundan su distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ eldesinin, portakal kabuğu için yaklaşık %2,5 performansla gerçekleştiğini bildirmektedir (Tao vd. 2009). Bununla birlikte portakal kabuğu uçucu yağı aromatik bileşenlerini büyük ölçüde limonen, mirsen, γ -terpinen, α -pinen ve sabinen başta olmak üzere 30-60 üzerinde uçucu bileşikten oluştuğu yapılan farklı çalışmalarda

sunulmuştur (Acar vd. 2015; Gültepe 2018; Ruiz ve Flotats, 2014). Portakal kabuğu uçucu yağının ve diğer turunçgil uçucu yağlarının %97'si monoterpenlerden oluşur (Moufida ve Marzouk, 2003). Portakal kabuğu yağında da ana bileşen D-limonendir. Bu sebeple portakal kabuğundan elde edilen uçucu yağın karakterini bu molekülün konsantrasyonu önemli ölçüde belirlemektedir (Ruiz ve Flotats, 2014). Portakal kabuğu uçucu yağının limonen içeriği, kütlesinin %90 ila 95'i kadar olabilmektedir (Shan, 2016).

1.3 Balık Yemi Endüstrisi

Dünya nüfusu hızla artmaya devam etmektedir. Bu durum beraberinde küresel olarak deniz ürünlerine olan talebin artmasına, artan talep de su ürünleri yetiştiriciliğinin hızla gelişmesine neden olmaktadır (Gray vd. 2011). Su ürünleri yetiştiriciliği; hayvansal protein üretimini yetkin ve sürdürülebilir bir şekilde arttırmak için en umut verici alternatiflerden biridir (İbrahim vd. 2020). En hızlı büyüyen gıda üretim sektörüdür (Gradacap vd. 2019; Kong vd. 2020). Su ürünleri yetiştiriciliğinin gelişmesi, gelecekte balıkçılık ürünleri için arz ve talep arasındaki uçurumdan kaçınmanın tek yoludur (Gray vd. 2011).

1.3.1 Türkiye ve Dünyada Balık Yemi

Küresel su ürünleri pazarının toplam büyüklüğü, baktığınız rapora göre farklılık gösterir. Bununla birlikte, çoğu raporun ortak bir noktası vardır su ürünleri olan talebin artması nedeniyle su ürünleri yemi ihtiyacı artmaktadır (URL-1, 2018). Dünya yem üretimi için en kapsamlı istatistiksel çalışmaları gerçekleştiren Alltech, Küresel Yem Araştırması 2012 Raporunda dünya balık yemi üretim miktarını yaklaşık olarak 34 milyon ton olarak rapor etmiştir. Daha sonra 2013 yılında, önceki yıl 34 milyon ton olan balık yemi üretim miktarı rekor bir artışla 40 milyon tona, 2014 yılında ise 41 milyon tona ulaşmıştır. Alltech, Küresel Yem Araştırması raporunu her yıl güncellemektedir ve yine aynı rapor; 2015 yılında yem üretim miktarının kritik bir düşüşle 35 milyon tona gerilediğini bildirmiştir. 2016 yılı için 40 milyon ton, 2018 için 46,12 milyon ton, 2019 için 48,04 ve son olarak 2020 yılı için 49,39 milyon ton olarak bildirmiştir (URL- 2, 2021). Yine Expert Market Research'in yayınladığı 2017-2027

Küresel Su Ürünleri Yem Pazarı adlı raporda; küresel su ürünleri yem pazarının 2020'de 55 milyon tonluk bir hacme ulaştığı, tahminlere göre bu rakamın 2026 yılına kadar 99,6 milyon tona ulaşacağını bildirmiştir (URL-3, 2021).

Tablo 1.4 Türkiye’de yıllara göre balık yemi üretim miktarları (Emiroğlu vd. 2019).

Yıl	Üretim Miktarı (Bin ton)
2006	70,15
2007	164,61
2008	159,15
2009	171,51
2010	184,81
2011	239,27
2012	300,02
2013	355,38
2014	355,57
2015	375,47
2016	461,09

1.4 Balık Yeminde Kalite Parametreleri

Yem kalitesi etkileyen birçok faktör vardır. Başlıca etkili faktörler; ham madde türü ve kalitesi, yem formülasyonu, teknik özellikler, lojistik ve yem depolama olarak sıralanabilir (Robb vd. 2013). Balık yeminin kalitesine ilişkin öngörüler ise çoğunlukla balıkların büyüme performansı, yemden yararlanma oranları ve yeme dayalı et kalitesi üzerine kurgulanmış olmakla birlikte, bu yaklaşım tek başına yeterli değildir (Kong vd. 2020). Balıkçılığın sağlıklı bir şekilde geliştirilmesi için ABD, Avrupa ve Çin’de balık yemi için bazı standartlar formüle edilmiştir. Amerikan Ulusal Araştırma Konseyi tarafından yayınlanan "Balık ve Karidesin Besin Gereklilikleri" ve Avrupa Parlamentosu ve Konseyi tarafından yayınlanan EC NO767/2009 Yönetmeliği gibi içerikler bu standartlara örnek verilebilir (Kong vd. 2020; NRC, 2011; EC, 2009). Türkiye’de ise balık yemi için özel olarak hazırlanmış bir yem kanunu olmamakla birlikte, balık yemleri için diğer hayvan yemleri gibi 27610 sayılı, Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanununda yer alan gerekliliklerin uygulanması zorunludur (Anonim, 2010). Bu standartlarda, besin göstergeleri öncelikle ham protein, yağ, kül, kalsiyum, fosfor, lizin vb. olarak sıralanmaktadır ancak bu göstergeler belirli limitler yerine esas olarak “alt limit kuralını” takip etmektedir. Bu durum balık yemi için, içeriği ayrıntılı bir standart oluşturmayı

engellemektedir. Bu nedenle üretilen yemler temel standartları karşılamakla beraber farklı kalitede olabilmektedir (Kong vd. 2020).

Balık yemleri, kesin kurallarla belirlenmiş bir standarda tabi olmadığından genellikle çiftlik hayvanı yemlerine kıyasla daha zengin bir içerik yelpazesi kullanılarak üretilirler (O'Keefe ve Campabadal, 2015). Bir balığın beslenme gereksinimleri esas olarak türüne, boyutuna, yaşam evresine ve çevreye bağlı olarak değişir. Her balığın sağlıklı ve verimli bir şekilde büyümesi için belirli bir besin gereksinimi vardır. Yapılan birçok araştırma çeşitli balık türleri için en ideal besin gereksinimlerini belirlemiştir ve bu bilgiler diğer birçok balık türü içinde hâla geliştirilmektedir (Robb vd. 2013). Yemler ise diyetle uygulandığında balığa beslenme gereksinimlerini karşılamının yanında etkili bir bağışıklık sistemi, büyüme ve üremede dâhil çeşitli fizyolojik işlevleri yerine getirmeye katkıda bulunması amacıyla formüle edilmektedir (Nates, 2015). Balık yemi bileşenlerinden bazıları, yemin depolanmalarını zorlaştıran belirli kimyasal bileşim özelliklerine sahiptir. Balık unu, daha yüksek yağ içeriği nedeniyle oksidasyona duyarlıdır. Bu nedenle balık için hazırlanan yemler çabuk bozulan ürünler olarak değerlendirilebilir ve bu bozulmalar beraberinde birçok ekonomik kaybı da getirmektedir (O'Keefe ve Campabadal, 2015).

Balık yeminin kalitesini etkileyen bir başka parametre ise ham madde kalitesidir. Balık yeminin üretiminde kullanılan hammaddeler çeşitlilik bakımından sınırlı olmakla birlikte ürün kalitesi bakımından dünya çapında geniş bir yelpazeye sahiptir. Kullanılan ham madde türü ve kalitesi balık yeminin kalitesini doğrudan etkileyecektir. Farklı ham maddeler farklı besin içeriklerine sahip olacağından, ham madde kalitesinin düşük ve/veya bu kalitenin değişken olması yem endüstrisi için büyük bir problemdir. Kültür yoluyla balık üretimi için en büyük maliyetlerin yem giderleri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle üreticiler daha düşük maliyetler için kalitesi düşük ham maddelere başvurabilmektedir. Ancak besin kalitesi yüksek bir yem, besin kalitesi zayıf bir yemden kilogram başına daha pahalı olabilmekle beraber, uygun kullanımda ekonomik geri dönüşüm oranı üretici için daha iyi olabilmektedir (Robb vd. 2013).

1.5 Balık Yeminde Raf Ömrü ve Depolama

1.5.1 Raf Ömrü

Raf ömrü, ürünün üretimden itibaren satılabilir, kullanılabilir ve yenilebilir olarak kaldığı süre şeklinde tanımlanabilir. Balık yemi kültür balıkçılığında önemli bir rol oynamaktadır, çünkü harcanan işletme giderinin çoğu balıkların yemleme giderlerine harcanmaktadır. Bu nedenle su ürünleri yem endüstrisinde yemin raf ömrü önemli bir kriterdir. Raf ömrü için önerilen süre, ürünlerin taze kalması için belirtilen dağıtım ve depolama koşullarının yerine getirilmesi ile ürünün belirli bir oranının tanımlanan kalite kriterlerinin kabul edilebilir kaldığı maksimum süre denilebilir (Bhilave, 2018). Su ürünleri yemlerinde, bitmiş yemin saklama süresi, kullanımına bağlı olarak değişim göstermektedir. Entegre bir tesiste üretilen yem birkaç gün içinde tüketilebilirken, ticari satış için üretilen yemlerde bu süre kesin olarak bilinmemektedir. Yem üretim tesisinin coğrafi konumu, yem üretim hacmi gibi faktörler göz önüne alınarak bu süre 4-6 ay arası olabilmektedir (O'Keefe ve Campabadal, 2015).

1.5.2 Depolama

Balık yemleri üreticilerin raf ömrünü uzatmak için yaptıkları girişimlere rağmen doğası gereği bozulmaktadır. Bozulmalar ve kırılmalar nedeniyle önemli miktarda yem israf olmaktadır. Bu nedenle yemde depolama çok önemli bir etkidir, çünkü balığa sunulan yemin kalitesini etkilemektedir. Yemin hızlı ya da yavaş bozulması kısmen üretildiği, satın alındığı ve teslim edildiği zamanki kalitesine bağlı olmakla birlikte, büyük ölçüde bir depoda nasıl saklandığına da bağlıdır. Yem depolama sırasında zarar görebilir veya bozulabilir. Su ürünleri sektörünün sürdürülebilirliği için yem güvenliği önemlidir. Yem güvenliği için de depolama önemli bir aşamadır (Robb vd. 2013).

1.5.2.1 Depolamayı etkileyen faktörler

Depolamada yem kalitesini etkileyecek çeşitli faktörler vardır. Bunlar doğrudan veya dolaylı olarak yem kalitesi üzerinde etkilidir. Bunlar; çevresel faktörler (nem ve bağıl nem, sıcaklık, ışık, oksijen), zararlılar (haşaratlar, kemirgenler, mantarlar) ve

depolama zamanına bağı yem kalitesinde meydana gelen faktörler olarak sınıflandırılabilir. Depolanan yemlerin bozulma derecesini belirleyen çevresel faktörler, böcek ve mikrobiyotanın büyüklüğünü önemli ölçüde etkiler. Bahsi geçen çevresel faktörlerin başında, ortam sıcaklığı ve bağıl nem gelir. Diğer çevresel faktörler, depolama alanlarının genel temizliği ve depolama binasının tasarım özellikleri ile ilgilidir (FAO ve UNDP, 1978). Depolama tesislerinde yüksek nem ve bağıl nem seviyeleri, yemlerin orijinal haliyle kullanılmasını zorlaştırarak doğrudan kayıplara neden olur. Çünkü yemlerin çok nemli hâle gelmesine sebebiyet vererek, böcek istilası ve mikroorganizmaların gelişmesi için uygun ortam oluşturur. Depoya konulan yemlerin nem içeriği başlangıçtaki nem içeriğinden bağımsız olarak, depodaki havanın bağıl nemine bağıl olarak sürekli bir dengeye ulaşacaktır. Genel olarak, belirli bir ürün için güvenli bir nem seviyesi, %75 bağıl nemde gelişen seviyedir. Bağıl nemin yüksek olduğu tropikal/sub-tropikal bölgelerde ise yem tüketime sunulmadan hemen önce tedarik edilip mümkün olduğunca kısa süre depolanmalıdır (Atter vd. 2017). Aksi durumda bağıl nemin çok düşük olduğu kurak bölgelerde ise yem üretimi esnasında, yem sahip olduğu nemi kuru hava sebebiyle depolama öncesinde kaybedeceğinden bu tip iklim koşullarında da yem mümkün olduğunca kısa süre depolanmalıdır. Yemin ideal nem miktarından uzaklaşarak aşırı kuruması sertliğini arttıracığından mekanik sindirimini de zorlaştıracaktır.

Yüksek sıcaklıklar yemlerin kalitesini etkiler ve bu nedenle yemler uzun süre yüksek sıcaklıkta saklanmamalıdır. Yemin endojen sıcaklığı, ortam sıcaklığı, depolanma şekli, mantar ve böceklerin büyümesiyle oluşan ısı nedeniyle yükselebilir. Büyük yem yığınları içindeki sıcaklık artışlarının kendiliğinden yanmaya neden olduğu bilinmektedir. Sıcaklıktaki artış, protein denatürasyonuna bağıl olarak yemlerdeki amino asitlerin mevcudiyetini azaltabilir. Yem içindeki organik bileşiklerin birçoğu oldukça reaktif ve kararsızdır. Olumsuz koşullar altında ısı, oksijen, nem ve hatta ultraviyole ışıkla kolayca denatüre olabilirler. Bu nedenle doğrudan, yemin güneş ışığına ve oksijene maruz kalmasından kaçınılmalıdır (Atter vd. 2017).

Yem depolama tesisleri, güve, bit ve kınkanatlı böcekler için yem tükettiklerinden cazip yerlerdir. Bu böcekler yem depolarında normal sıcaklıklarda (26-37°C) çok iyi büyürler. Böceklerin çoğu büyümek için %12-14 neme ihtiyaç duyarlar ve bu böcekler

yeme zarar vererek kalite ve kilo kaybına neden olurlar. Bu böcekler depolanan yemle beslenirler ve vücut parçaları, kötü kokular, dışkı, mikroorganizmalar vb. ile yemleri kontamine edebilirler. Sıçanlar ve fareler gibi kemirgenler depolanan yiyeceklerle beslenirler. Ancak yemin saklandığı paket ve çuvalara zarar vererek daha fazla yem kaybına ve yem üzerinde büyüyen böceklerin daha fazla istilasına neden olabilirler. Bu kemirgenler, birçok hastalık için vektör görevi gördüklerinden depo çalışanları için sağlık riski oluşturmaktadır (O'Keefe ve Campabadal, 2015). Yemdeki mikroorganizmaların büyümesi, yüksek sıcaklık ve nem seviyelerini teşvik eder. Yemlerin üretimi sırasında birçok mikroorganizma yok edilir, ancak sporları hayatta kalır ve depolama sırasında çevresel koşullar oluşursa, yemi daha sonra yeniden enfekte edebilir. Mikroorganizma gelişimi yemde; sıcaklıkta, nemde artışa, bayatlığa, renk bozulmasına ve balıklar ile tüketiciler için toksik olan mikotoksin üretimine neden olabilir (Atter vd. 2017).

Yemdeki bir başka önemli bozulma kriteri ise ransiditedir (acılaşma). Acılaşmaya üç ana kimyasal süreç neden olmaktadır ve bunlar; oksidasyon, hidroliz, keton oluşumu olarak sıralanabilir. Depolanan yem maddelerinde oksidasyon önemlidir. Lipid oksidasyonundan kaynaklanan acılaşma, depolanan yem maddelerinde meydana gelen en önemli sorun olarak görülmektedir. Yüksek oranda doymamış “yağ” yada “yağ asidi” içeren yem maddeleri (örneğin pirinç kepeği ve balık unu, balık yağı) oksidasyona özellikle duyarlıdır. Lipid oksidasyonunun mekanizması, lipidlerin hidroperoksitler oluşturmak için moleküler oksijen ile doğrudan reaksiyonunu içeren oto-oksidasyon ile başlar. Lipid oksidasyon sürecinin tamamlanması ile yemde, tatsız genellikle acılaşma ile ilişkilendirilen toksik bileşikler oluşur. Yemin besleyici değerinde kayıplar yaşanır. Balık lipidleri dolayısıyla yağlı bir ürün olan balık unu oksidasyona daha çok duyarlıdır. Balık lipidleri, yağ asitlerinin daha fazla zincir uzunluğuna ve yağ asidi zincirleri boyunca daha fazla sayıda doymamış karbon-karbon bağına sahip olması nedeniyle hızlı okside olabilme potansiyeline sahiptir. Balık ununun depolanması, kendiliğinden yanmaya yol açabilecek ekzotermik oksidasyonun sık meydana gelmesi nedeniyle sorunludur. Üretilen ısı ayrıca proteinin sindirilebilirliğini azaltan amino şeker reaksiyonlarına da yol açar (FAO ve UNDP, 1978).

1.6 Balık Yeminde Katkı Maddeleri

Tüm bu kayıpların önlenmesi, balık yeminin kalitesi ve balık sağlığının korunması için balık yemlerine çeşitli katkı maddeleri ilave edilmektedir. Yem katkı maddeleri çok geniş bir yelpaze içinde ele alınabilir. Katkı maddelerinin doğası ve özellikleri oldukça çeşitlidir, bunların diyet formülasyonlarına uygulanması belirli bir amacı hedeflemektedir. Bazı yem katkı maddeleri yem kalitesini hedeflerken bazıları ise hayvan sağlığının korunması amacı ile diyetlere ilave edilmektedir. Amaç; optimum fiziksel ve kimyasal özellikleri elde etmek ve sürdürmektir (Dawood vd. 2018). Bu katkı maddeleri pelet bağlayıcılar, antioksidanlar, yem koruyucuları (küf önleyici ve antimikrobiyal bileşikler), enzimler vb. gibi çeşitlendirilebilmektedir (Encarnaç o, 2016).

Bu amaçla geçtiğimiz 10 yıla kadar yemleri korumak için ilave edilen katkı maddeleri, antibiyotikler başta olmak üzere çeşitli sentetik koruyucular olmuştur, ancak son yıllarda bu tip katkıların kullanımına sınırlandırmalar getirilmiş hatta bazı ülkelerce kullanımı yasaklanmıştır (OJEU, 2003). Antibiyotik kullanımı doğal mikrobiyotayı antibiyotiklere karşı dirençli hâle getirdiğı ve organizmada bıraktığı kalıntılar nedeniyle eleştirilmektedir. Sentetik  r nlerin neden olduğı sorunlar nedeniyle, Avrupa Parlamentosu ve Konseyi, Avrupa Birliğı Resmi Gazetesinde yayınlanan hayvan yemlerinde kullanılan takviyelerle ilgili düzenlemelerde antibiyotik ve sentetik büyüme hızlandırıcılarının kullanımı sınırlandırılmıştır (Kesbiç, 2019). Bu gelişmeler doğırtusunda bilim adamları, hayvanların yaşam aktivitesini, sağlığını ve bağışıklık sistemini geliştiren güvenli diyet takviyeleri ve katkı maddelerini belirleme ve geliştirme çabalarını yoğunlaştırmıştır (Chakraborty ve Hancz, 2011). Sektörde sentetik katkıların doğal bitki bazlı alternatiflerle değıştirilmesine yönelik ilgi ve talep artmıştır, sadece güvenlik sorunları nedeniyle değıl, aynı zamanda artan tüketicisi bilinci, doğal ürünlere olan ilgi ve doğal antioksidanların olası sağlık yararları nedeniyle sentetik koruyucu ve katkıların yerini alması istenmektedir (Hermund, 2018).

Balık yemleri kısmen veya tamamen deniz bileşenlerine dayanır, yüksek oranda çoklu doymamış n-3 yağı asitleri içerir ve bu nedenle lipid oksidasyonuna duyarlıdırlar

(Hamre vd. 2010). Lipit bileşenlerini kalite bozulmasından korumak için ise gıdalara antioksidanlar eklenir (Peter ve Shylaja, 2012). Gıdalarda antioksidanların kullanımı, Hindistan, Tayland ve Çin'in bazı bölgelerinde (Sichuan Eyaleti gibi) sıcak iklimlerde yaşayan popülasyonların, gıdalara baharat eklemenin raf ömrünü uzattığını ve bozulmayı önlediğini öğrendiği antik çağlardan beri istemeden uygulanmıştır (Shahidi, 2015). Antioksidanlar, gıdada bulunduklarında, oksidasyonu ve gıda kalitesinin bozulmasını geciktiren, kontrol eden veya inhibe eden maddeler olarak tanımlanabilir (Shahidi, 2015). EQ'nun (etoksikuin), butillenmiş hidroksi anizol (BHA), butile hidroksi toluen (BHT), propil galat (PG) ve tert-butil hidrokinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar yaygın olarak kullanılanlardır (Peter ve Shylaja, 2012; Błaszczuk vd. 2013). Serbest radikalleri tutmak, oksidasyonu ve kötü lezzet gelişimini kontrol etmek için (BHA), (BHT), (PG) ve (TBHQ) kullanılan birincil sentetik antioksidanlardır (Shadidi, 2015). Ancak şimdiye kadar araştırılan sentetik bileşiklerden üçünün yemler ve yem bileşenleri için en etkili antioksidanlar olduğu bulunmuştur. Bu bileşenler (EQ), BHA, BHT 'dir. Bununla birlikte, etoksikuinin en etkili olduğu kanıtlanmıştır. BHT ve BHA etkinlik açısından EQ'yu yakından takip etmektedir (FAO ve UNDP, 1978). Bu antioksidan ürünler tipik olarak daha ucuzdur ve doğal antioksidanlardan daha kolay işlenebilir ancak sağlık riskleri ve toksisiteleri nedeniyle kullanımlarında kısıtlanmalar uygulanmaktadır (Hermund, 2018). Bu sebeple doğal antioksidanlar için talep artmakta ve bu ürünler üzerine yapılan çalışmalar hız kazanmaktadır (Peter, 2012; Shadidi, 2015).

Fitojenikler, su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde son zamanlarda ilgi çeken nispeten genç bir yem katkı maddesi grubudur. Doğası ve özellikleri oldukça çeşitlidir ve bunların diyet formülasyonlarına uygulanması belirli bir amacı hedeflemektedir (Encarnaço, 2016). Fitojenik bileşikler, çok çeşitli bitkilerden türetilmiş doğal biyoaktif bileşikler içerir (Yang vd. 2015). Kimyasal yapılarına bağlı olarak, bitki aktif bileşikleri temel olarak alkaloidler, flavonoidler, pigmentler, fenolikler, terpenoidler, steroidler ve uçucu yağlar olarak kategorize edilebilir (Chakraborty ve Hancz, 2011). Bu katagörize sistemde uçucu yağlar ana grup olarak sınıflandırılırlar (Yang vd. 2015). Son derece heterojen bir yem katkı maddesidir, su ürünleri yemlerinde kullanılan en yaygın fitojenik ürün grubu da ana grup olarak nitelendirilen uçucu yağlardır (Encarnaço, 2016).

Antimikrobiyal aktivite uçucu yağların en çok araştırılan yönüdür. Etki dereceleri içerdikleri etken maddelerin çeşit ve miktarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir çünkü; bu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlardır (Bayaz, 2014). Önemli antimikrobiyel ajanlar olarak görülmektedir, özellikle gıda patojenlerine karşı koruyucu olarak kimyasal koruyucu ve antibiyotiklere alternatif olabilme potansiyelleri vardır (Evren ve Tekgüler, 2011). Uçucu yağlar gram (-) ve gram (+) bakteriler dâhil, birçok mikroorganizma üzerine antibakteriyel etki göstermektedir (Bayaz, 2014).

Antioksidan etki, organ ve hücrelerdeki fizyolojik stresi azaltması nedeniyle beslenme açısından önemlidir. Antioksidan mekanizması ile ilişkili olarak; hayvan ve insanlarda hastalıklara direnç ve immun yeterlilik gösterilebilmektedir. Lipidler okside olma riski en yüksek bileşiklerdir. Hammaddenin depolanması, işlenmesi, ısıtılma işlemi uygulanması ve son ürünlerin depolanması sırasında lipid oksidasyonu gerçekleşmektedir. Peroksitler, hidrokarbonlar, aldehitler, ketonlar, alkoller ve asitler gibi birçok bileşik oksidasyon sırasında meydana gelmektedir. Gıdaların acılaşılarak duyu özelliklerini yitirmesi, ürünün besin değerinin düşmesi ve raf ömrü kısalması bunun sonucudur. Sentetik antioksidanlar genellikle gıdaların raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır. Endüstriyel gıda işlemede kullanılan sentetik antioksidanların canlı organizma üzerinde karsinojenik etki gösterdiği toksikolog ve beslenmeciler tarafından belirtilmektedir. Bu nedenle uçucu yağların alternatif antioksidan olarak kullanımı ile ilgili çalışmalara son yıllarda hız verilmiştir (Bayaz, 2014).

Fitojeniklerin genel olarak hayvanlar, tüketiciler ve çevre için güvenli olduğu kabul edilmektedir (Liu vd. 2011; Sutuli vd. 2018). Bu ürünler, sucul türlerde bildirilen; büyümeyi teşvik etme, iştahı uyarma, immünomodülatör ve antioksidan etkilerin yanı sıra yukarıda da belirtildiği gibi antiparaziter, antibakteriyel, anestetik ve antistres aktiviteleri gibi bir dizi faydalı biyolojik etki nedeniyle su ürünleri yetiştiriciliği sistemlerinde kullanım için büyük bir potansiyele sahiptir (Sutuli vd. 2018).

1.6.1 Antioksidanlar

1.6.1.1 Etoksikuin (EQ)

Etoksikuin $C_{14}H_{19}NO$ formülü ile sembolize edilir. Primer bir antioksidandır ve yemlerde uzun yıllardır kullanılmaktadır (Błaszczuk vd. 2013; Chen vd. 2013; Orhan, 2008). İlk olarak 1920 yılında Alman kimyager Emil Knoevenagel tarafından sentezlenmiştir. EQ, kullanımı pratiktir ve ayrıca çok etkilidir (URL-4, 2021).

Lipitlerin oksidasyonunu önlemek ve yağda çözünen vitaminleri stabilize etmek amacıyla kullanılır (Merel vd. 2019). EQ kullanıldığı üründe tek başına 150 mg/kg konsantrasyondan fazla, diğer antioksidanlarla birlikte kullanıldığında ise toplam antioksidan miktarı 150 mg/kg'ı geçmemelidir (Anonim, 2017). Avrupa Birliği'nde uzun yıllar boyu, 70/524/EEC direktifi ve EC 1831/2003 yönetmeliği kapsamında EQ kullanımına izin verilmiştir. Ancak, EC 2017/962 yönetmeliği kapsamında bu izin askıya alınmakla birlikte, belirli geçiş önlemleri kapsamında EQ içeren malzemelerden üretilen yemin 31 Mart 2020'ye kadar piyasaya sürülmesine izin vermiştir (Merel, 2019).

1.6.1.2 Bütil hidroksi toluen (BHT)

BHT $C_{15}H_{24}O$ formülü ile sembolize edilir ve otooksidasyonun başlamasını engellemek amacıyla ürüne ilave edilir. BHT primer antioksidanlar olarak ifade edilen gruptadır. BHT beyaz renkli, kristal yapıya sahip bir madde olup, suda çözünür etki göstermezken yağda çok iyi çözünebilen bir antioksidandır. Yüksek sıcaklıklara dayanıklıdır (1 atmosfer basınç altında kaynama noktası 265 °C). Bazı antioksidanlarla kullanıldığında sinerjistik bir etki gösterir.

BHT balık yağlarına oksidasyonun başlamasını engellemek amacıyla katılan, en etkili sayılan antioksidanlardan biridir (Orhan, 2008; Payan, 2007; Soydan 2019;). BHT kullanıldığı üründe tek başına 150 mg/kg konsantrasyondan fazla, diğer antioksidanlarla birlikte kullanıldığında ise toplam antioksidan miktarı 150 mg/kg'ı geçmemelidir (Anonim, 2017).

1.6.1.3 Bütıl hidroksi anisol (BHA)

BHA $C_{11}H_{16}O_2$ formülü ile sembolize edilir ve BHT’de olduğu gibi primer antioksidanlar grubunda yer alır. Beyaz mumsu parçacıklar halinde, katı bir formdadır (Çakmakçı ve Gökalp, 1992). Suda çözünmezken, bitkisel ve hayvansal yağlarda çözünür bir yapıya sahiptir (Orhan 2008; Soydan, 2019). BHA yağ ihtiva eden gıdaları korumak için kullanılan ilk sentetik antioksidandır (Çakmakçı ve Gökalp, 1992). Fenolik yapıdaki antioksidanların bir arada kullanılması ile ortaya çıkan pozitif yöndeki artış nedeniyle BHA genellikle diğer antioksidanlarla beraber kullanılmaktadır (Soydan, 2019). BHA kullanıldığı üründe tek başına 150 mg/kg konsantrasyondan fazla, diğer antioksidanlarla birlikte kullanıldığında ise toplam antioksidan miktarı 150 mg/kg’ı geçmemelidir (Anonim, 2017).

1.6.1.4 Biberiye ekstraktı (BE)

Fenolik bileşikler açısından son derece zengin olan biberiye ekstraktı, lipit oksidasyonunu inhibe etmek için gıdalarda kullanılan ticari olarak en önemli doğal fenoliktir. Biberiye ekstraktındaki başlıca serbest radikal süpürücüler karnosik asit, rosmarinik ve karnosol asit olarak sıralanabilir. Biberiye ekstraktındaki aktif maddeler, fenolik halka yapısı dâhil olmak üzere serbest radikal süpürücülerin yapısal gerekliliklerine sahiptir. Biberiye ekstraktının tadı ve kokusu, nihai ürünün lezzetini etkileyebilir. Bu nedenle biberiye ekstraktının kullanımı son ürüne bağlıdır (Kasbo, 2011).

1.6.1.5 Tokoferol

A-tokoferol balık yağı içerisinde yer alan doğal bir antioksidandır. E vitamini olarak da adlandırılır. Lipofilik özellikleri vardır. Lipit emülsiyonlarında karşı antioksidan olarak etkilidir. Tokoferoller α , β , γ ve δ olmak üzere dört farklı grup hâlinde bulunurlar. Balık türüne, hasat edilen mevsim gibi faktörlere bağlı olarak balık yağının ihtiva ettiği α -tokoferol seviyesi farklılık gösterir. Taze bir balıkta bu seviye 350 ppm'lere kadar ulaşabilmektedir. Normal aralık ise 25-60 ppm arasında değişir (Kasbo, 2011).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Portakalın da içinde bulunduğu turunçgillerden elde edilen uçucu yağın, içerdiği biyoaktif bileşenler sebebi ile birçok olumlu etki gösterdiği yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Örneğin portakal (*Citrus sinensis Valencia*) kabuğu uçucu yağının antifungal etkinliğinin iki farklı yöntemde tespiti için yapılan bir çalışmada portakal kabuğu uçucu yağının bileşenleri de belirlenmiştir. Uçucu yağ taze portakal kabuklarından hidro distilasyon yöntemiyle elde edilmiş ve gaz kromatografisi- kütle spektrometresi aracılığıyla analiz edilmiştir. Mevcut çalışma sonunda portakal kabuğu uçucu yağında en baskın bileşik limonen olarak tespit edilmiştir. Uçucu yağın bileşen içeriği; limonen (%96,62), β -Mirsen (%1,72), β -Pinen (%0,53), α -Pinen (%0,47), sitral-z (%0,34) ve sitral-e (%0,31) olarak bulunmuştur (Velázquez-Nuñez vd. 2013).

Ticari turunçgil uçucu yağlarının kimyasal bileşiminin belirlendiği bir araştırmada ise portakal (*Citrus sinensis*), limon (*Citrus limon*) ve mandalina (*Citrus reticulata*) turunçgil uçucu yağları incelenmiştir. Bu araştırmada gaz kromatografisi- kütle spektrometresi (GC/MS) analizi ile yağlar içerisindeki uçucu bileşenler belirlenmiştir. Mevcut çalışma sonunda limonenin üç uçucu yağ grubunda da ana bileşen (%59-85) olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonunda elde edilen yağların kimyasal bileşimleri portakal için sırasıyla; limonen (%85,5), mirsen (%0,92), karveol (%0,59), linalool (%0,47), dekanal (%0,43) bulunmuştur. Limon için ise limonen (%59,1), y-terpinen (%9,6), b-pinen (%5), B-alfabisabolen (%3,61), p-simen (%3,2) olarak tespit edilmiştir (Espina vd. 2011).

Portakal yağı konsantrelerinin kimyasal bileşimini incelendiği bir başka çalışmada gaz-sıvı kromatografisi (GLC) kullanılarak konsantre yağın bileşenlerinin ölçülmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma için yerel bir turunçgil işletmesinden soğuk presleme yöntemi ile elden edilen tatlı portakal (*Citrus sinensis Valencia*) yağı örnekleri temin edilmiştir. Bu yağlar, en yaygın yöntemlerden biri olan vakum damıtma işlemi ile konsantre edilmişlerdir. Daha sonra konsantre edilen yağ örneklerinde bulunan bileşenler GLC ile tespit edilmiştir. Mevcut çalışma sonunda konsantre yağ bileşiminde en baskın bileşenin limonen olduğu (%91,4) ve onu sırasıyla α -pinen

(%1,4), sabinene (%0,40) ve mirsen'in (%4,30) takip ettiği bulunmuştur (Pino vd. 1992).

Beş turunçgil çeşidinin biyokimyasal karakterizasyonunun tespitinin amaçlandığı çalışmada, bu amaçla kan portakalı, tatlı portakal (*Citrus sinensis*), limon, bergamot ve acı portakal türleri seçilmiş ve seçilen turunçgil türlerinin aroma bileşikleri, yağ asitleri ve bazı fiziko-kimyasal parametreleri gaz kromatografisi ile tespit edilmiştir. Mevcut çalışma sonucunda tüm türler için en baskın aroma bileşenin limonen olduğu bulunmuştur. Tatlı portakal için aroma bileşenleri içeriği sırasıyla limonen (%88,19), α -pinen (%6,37), p-simen (%2,3), β -pinen (%0,08) ve linolol (%0,018) olarak tespit edilmiştir. Limon için sırasıyla limonen (%78,4) osimen (%3,8), p-simen (%1,7) valensen (%1,34) olarak tespit edilmiştir (Moufida ve Marzouk, 2003).

Yukarıda başta portakal olmak üzere farklı turunçgil uçucu yağlarının kimyasal bileşimini veren çeşitli referanslara yer verilmiştir. Bu çalışmalardan da anlaşılabacağı üzere turunçgil uçucu yağlarındaki ana bileşenin limonen olduğu tespit edilmiştir.

Acı portakal, tatlı portakal, limon ve mandalinadan elde edilen uçucu yağların antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada yağların antibakteriyel ve antioksidan aktivitesi, minimum inhibitör konsantrasyonlar (MİK'ler) olarak ifade edilmiş ve seçilmiş yağlar için MİK'ler 15–250 $\mu\text{g/mL}$ aralığında uygulanmıştır. İlgili çalışma sonucunda, tüm yağların hem gram (-) hem de gram (+) bakterilere karşı iyi bir antibakteriyel aktivite gösterdiği, en düşük 15 $\mu\text{g/mL}$ ve 20 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda *Xanthomonas citri* suşlarına karşı etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Seçilen tüm turunçgil yağları, konsantrasyona bağlı olarak yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, en yüksek antioksidan aktiviteyi %70'lik radikal süpürücü etki ile limon yağının gösterdiği tespit edilmiştir (Frassinetti vd. 2011).

Bir başka çalışmada, portakal çeşitleri (yafa, kan portakalı ve mosambi), greyfurt ve mandalina kabuklarının antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada antioksidan aktiviteler DPPH yöntemi ile belirlenmiştir. İlgili çalışma sonunda yafa çeşidi portakal %70,4 ile en yüksek radikal süpürücü aktiviteyi göstermiştir. Daha sonra sırasıyla, kan portakalı %61,06 ve greyfurt %57,72 oranında radikal süpürücü aktivite göstermiştir.

En düşük radikal süpürücü aktivite ise mosambi çeşidinde %2,33 olarak belirlenmiştir (Khan vd. 2012).

Limon (*Citrus lemon L.*), mandalina (*Citrus reticulata L.*), greyfurt (*Citrus paradisi L.*) ve portakalın (*Citrus sinensis L.*) uçucu yağlarının agar seyreltme yöntemi kullanılarak yaygın olarak gıda bozulmalarıyla ilişkili küfler: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum* ve *Penicillium verrucosum* üzerinde etkileri incelenmiştir. Tüm yağlar farklı konsantrasyonlarda (%0,27; %0,47; %0,71 ve %0,94) ve 40-45 °C sıcaklıkta petri kaplarına dökülmüştür. Mevcut çalışma sonucunda bütün yağlar, tüm küflere karşı antifungal aktivite göstermiştir. Portakal uçucu yağı *A. niger*'e karşı en etkili, mandalina uçucu yağı ise *Aspergillus flavus*'un büyümesini azaltmada en etkili iken greyfurt *P. chrysogenum* ve *P. verrucosum* kalıplarının en iyi inhibitör etkiyi göstermiştir. Turunçgil uçucu yağları, gıda endüstrisinde kullanılan kimyasal katkı maddelerine uygun alternatifler olarak düşünülebileceği sonucuna ulaşılmıştır (Viuda vd. 2008).

Portakal kabuğu uçucu yağının içermiş olduğu D-limonen, β -mirsen, α -pinen, p-simen, β -pinen, terpinolen gibi bileşenler sebebi ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir. Bununla birlikte portakal kabuğu uçucu yağı yada turunçgiller ile balık yemi üzerine yapılmış bir çalışmaya literatür taramasında ulaşamamıştır. Ancak portakal kabuğunun ve turunçgil yağlarının balık yemlerine ilavesi ve bu yemlerle beslenen balıkların büyüme performansı, sağlık parametreleri ve hastalık dirençleri üzerine yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır.

Vicente vd. 2019 yılında yaptıkları çalışmada, erkek nil tilapia yavrusu diyetlerine farklı konsantrasyonlarda (%0; %0,2; %0,4; %0,6; %0,8) portakal (*Citrus Sinensis*) kabuğu rendesi eklenilerek 5 farklı diyet grubu oluşturulmuştur. Yavrular 70 gün süreyle deneysel yemlerle beslenmişlerdir. Bu çalışmayla portakalla ile desteklenen diyetlerin, ısı/çözünmüş oksijen kaynaklı stres altındaki erkek Nil tilapia yavrularının büyüme performansı, hematolojik değişkenler, antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Mevcut çalışma sonucunda portakal kabuğu ilavesinin Nil tilapia hematolojik parametreleri üzerine olumsuz etki

göstermediği ve antioksidan kapasitesini geliştirmek için uygun bir takviye olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte büyüme performansı üzerinde kayda değer bir değişiklik göstermediği gözlemlenmiştir.

Portakal kabuğu ile ilgili yapılan bir başka çalışmada, Hint Sazanı (*Catla catla*) yemlerine farklı konsantrasyonlarda (0 g/kg; 2 g/kg; 6 g/kg; 10 g/kg) *Citrus sinensis* kabuğu ekstraktı ilave edilmiştir. 4 farklı beslenme gurubu oluşturulmuş ve bu gruplar 45 gün süreyle deneysel yemlerle beslenmişlerdir. Balıklara *Citrus sinensis* kabuğu ekstraktı ilavesi ile Hint Sazanlarının büyüme performansı, sindirim enzim aktivitesi, kas biyokimyasal bileşimi ve balıkların metabolik enzim durumu üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Mevcut çalışmanın sonunda *C. Sinensis* kabuğunun 2-6 g/kg metanolik ekstraktının diyetle eklenmesinin, hayatta kalma, büyüme performansı, sindirim enzimi aktiviteleri, kas biyokimyasal bileşenleri ve aminoasitleri önemli ölçüde iyileştirdiğini ortaya koyulmuştur. Yapılan yem katkısının (2-6 g/kg) balıkların sağlık parametreleri üzerine anlamlı etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Farklı konsantrasyonlar arasında 6 g/kg oranında *C. Sinensis* kabuğu eklenen diyetin Hint Sazanları üzerinde diğer deneysel yemlere göre daha iyi performans sergilediği de yapılan analizler sonucunda tespit edilmiştir (Shabana vd. 2019).

Gökkuşaağı alabalığı yemlerinin portakal kabuğu uçucu yağı ile katkılı olduğu çalışmada gökkuşaağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) diyetlerine farklı konsantrasyonlarda (0‰; 0,5‰; 1‰ ve 3‰) portakal uçucu yağı ilave edilmiştir. Balıklar 90 gün süre ile günde 2 kez olmak suretiyle beslenmişlerdir. Mevcut çalışmanın sonunda portakal kabuğu uçucu yağı takviyeli diyetlerle beslenen balıklarda konsantrasyonlardaki uçucu yağ takviyeli deneysel yem grupları arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmanın sonunda en iyi büyüme performansı 1‰ portakal kabuğu uçucu yağı içeren diyetle beslenen grupta olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında grupların; son ağırlık, kilo alımı, spesifik büyüme hızı, yem dönüşüm oranı, protein verimlilik oranı açısından da istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur (Gültepe, 2018).

Su ürünleri balık yetiştiriciliği için önemli türler arasında yer alan Nil Tilapyası (*Oreochromis niloticus*) yavruları diyetlerine farklı oranlarda (0 g/kg; 1 g/kg; 2 g/kg; 4 g/kg) portakal kabuğu ile ilave edilen çalışmada; yavrular, 12 farklı akvaryumda 60

gün boyunca günde iki kez olmak suretiyle beslenmişlerdir. Bu çalışmayla Nil tilapia yavrularına portakal kabuğu ilavesinin, büyüme performansı, yem kullanımı, bağırsak morfolojisi ve yakın vücut kompozisyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Mevcut çalışmanın sonunda portakal kabuğu bazlı diyetle beslenen balıkların, en iyi ağırlık artışına, nihai ağırlığa, spesifik büyüme hızına ve yem dönüşüm oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Nil tilapyası yavruları için en ideal katkı oranının 2 g/kg oranda portakal kabuğu ilavesi olduğu tespit edilmiştir (Salem ve Abdel-Ghany, 2018).

Aynı ailenin farklı bir türü olan Mozambik tilapyaları ile yapılan çalışmada, tilapia diyetlerine farklı konsantrasyonlarda (%0; %0,1; %0,3 ve %0,5) tatlı portakal kabuğundan (*Citrus Sinensis*) ekstrakte edilen esansiyal yağ ilave edilmiştir. Tilapialar, 12 farklı akvaryumda 90 gün boyunca günde üç kez olmak suretiyle denem yemleri ile beslenmişlerdir. Bu çalışmayla tilapia diyetlerine tatlı portakal kabuğu uçucu yağı ilavesi ile büyüme performansı, hematolojik ve biyokimyasal değişkenler, immün parametreler ve *Streptococcus iniae*'ye karşı olası hastalık direnci üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi ve araştırılması amaçlanmıştır. Mevcut çalışmanın sonunda tatlı portakal kabuğu yağı ilavesi yapılan diyetlerle beslenen balıklarda tüm performans parametrelerin kontrol grubundan önemli ölçüde yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca portakal kabuğu uçucu yağı ile kaykılanmış yemlerle beslenen tilapyalarda *S. iniae* enfeksiyonuna karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir (Acar vd. 2015).

Paku (*Colossoma macropomum*) yavrularının diyetlerine farklı konsantrasyonlarda (0; 0,25; 0,5; 1 ve 2,0 mL/kg) diyet limon *Citrus × latifolia* hibrit meyvesi kabuğu uçucu yağı ilave edilmiştir. Yavrular 8 ayrı tankta 60 gün süreyle 5 farklı deneysel yemle beslenmiştir. Bu çalışmayla paku yavruları diyetlerine uçucu yağı ilavesinin, büyüme performansı, histolojik parametreler, oksidatif parametreler ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Mevcut çalışma sonunda; 2 mL/kg'a kadar konsantrasyonda yağın diyetle ilave edilmesi büyüme üzerine bir etkisi olmadığı, bununla birlikte, 1 ve 2 mL/kg yağ ilaveli diyetle beslenen balıklar 60 gün sonunda yaşama oranlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Tüm değerlendirmeler sonunda sağkalım, dokuların antioksidan kapasitesi ve bağırsak

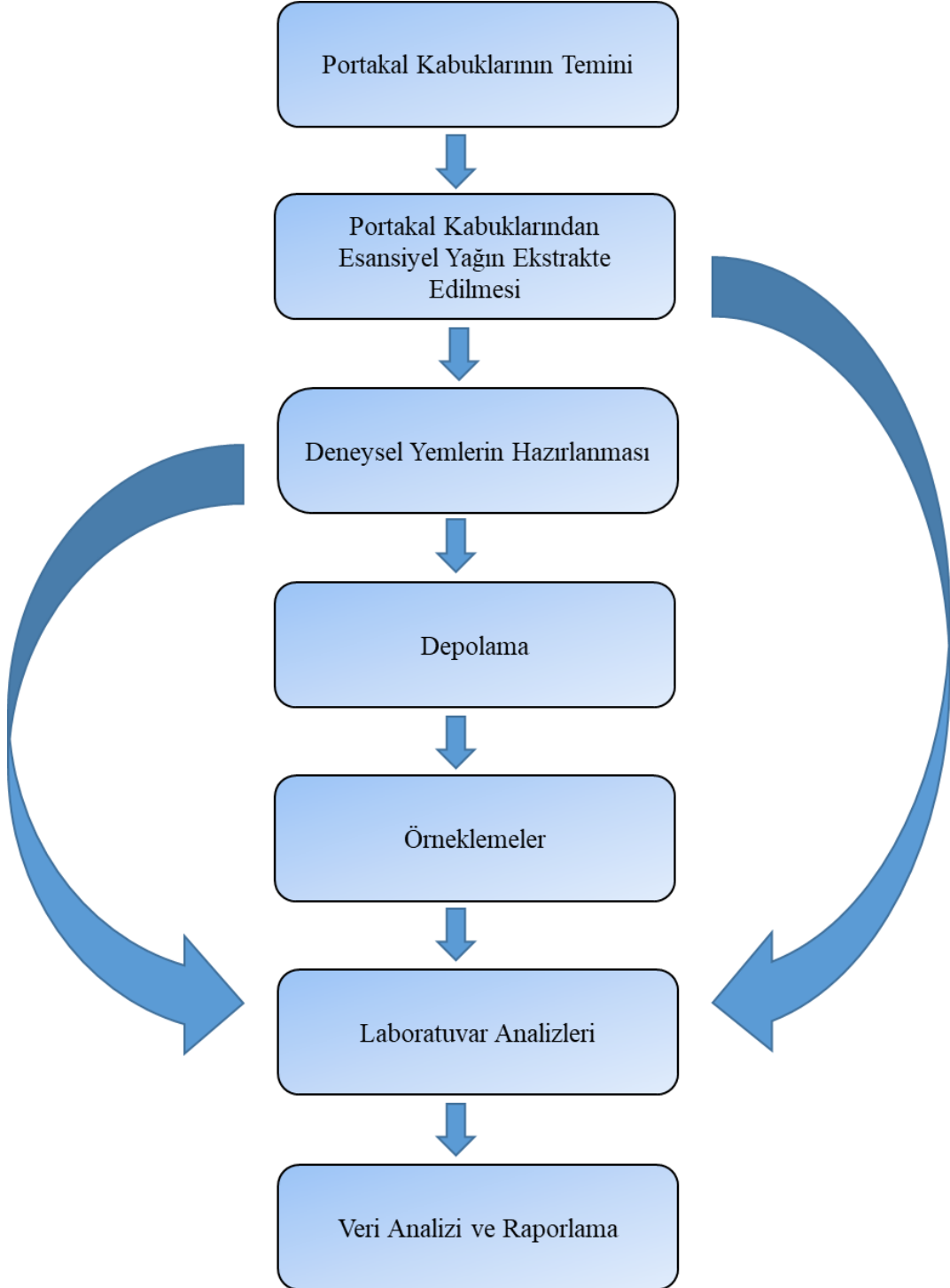
emilim alanının artması için paku yavruları diyetlerine, 1 mL/ kg diyet olacak şekilde hibrit meyve kabuğunun uçucu yağı eklenmesi önerilmiştir (Lopes vd. 2020).

Gümüş yayın balığı (*Rhamdia quelen*) diyetlerine farklı konsantrasyonlarda (0; 0,25; 0,5; 1 ve 2 mL/kg) turunç (*Citrus aurantium*) uçucu yağı ilave edilmiştir. Yavrular 20 ayrı tankta 60 gün süreyle 5 farklı deneysel yemle beslenmiştir. Bu çalışmayla gümüş yayın balığı diyetlerine turunç uçucu yağı ilavesinin, balıkların büyüme performansı, oksidatif ve metabolik parametreleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Mevcut çalışma sonucunda 2 mL/kg turunç yağı ile beslenen balıklar, kontrol diyetiyle beslenenlere göre önemli ölçüde daha iyi büyüme performansı sergilemiştir. Metabolik ve oksidatif parametrelerde de, farklı konsantrasyonlarda yağ ilavesi yapılan diyetlerle kontrol grubu arasında kayda değer değişiklikler belirlenmiştir. Tüm bu değerlendirmeler sonucunda turunç uçucu yağının gümüş yayın balığı diyetlerine ilavesi, balıklarda büyüme performansı, biyokimyasal ve antioksidan parametreleri iyileştirildiği saptanmıştır (Lopes vd. 2019).

Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*) diyetlerine farklı konsantrasyonlarda (%0; %0,5; %1 ve %2) bergamot (*Citrus bergamia*) uçucu yağı ilave edilmiştir. Balıklar 3 tekrarlı tanklarda 4 farklı gruba ayrılmış, 8 hafta süreyle deneme yemleri ile beslenmişlerdir. Bu çalışmayla Nil tilapia balığı diyetlerine bergamot uçucu yağı ilavesinin, balıkların büyüme performansını, hematoloji ve serum biyokimyasal parametreleri üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Mevcut çalışma sonucunda, özellikle %0,5 konsantrasyonda yağ ilavesi yapılan diyetle beslenen balıkların büyüme performansının önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Hematoloji ve serum kimyasal parametreleri üzerine de kayda değer değişiklikler saptanmıştır. Tüm bu değerlendirmeler sonucunda Nil tilapiası diyetlerine %0,5 konsantrasyonda bergamot uçucu yağı ilavesinin balığın kan parametreleri ile ilgili büyüme performansını, yem kullanımını ve sağlık durumunu optimize ettiği ortaya çıkmıştır (Kesbiç vd. 2020).

3. MATERYAL VE METOT

Uygulanan tez çalışmasına ilişkin iş akış şeması Şekil 3.1’de gösterilmektedir.



Şekil 3.1 İş akış şeması

3.1 Materyal

3.1.1 Portakal Kabuğu

Araştırma için gerekli olan uçucu yağın çıkarılmasında kullanılacak olan portakallar Kastamonu'daki yerel halk pazarlarından temin edilmiştir. Portakallar şekil 3.2'de gösterilmektedir.



şekil 3.2 Uçucu yağın çıkarıldığı portakallar

3.1.2 Deneme Yemleri

Deneme yemleri, temel protein kaynağı balık unu, temel yağ kaynağı balık yağı kullanılarak %48 ham protein ve %23 ham yağ içerecek şekilde Çanakkale 18 Mart Üniversitesi, Su rnleri Fakültesi Laboratuvarları'nda hazırlanmıştır. Yem rasyonlarına sırasıyla %0 (P0); %0,5 (P5); %1 (P10); %3 (P30) olarak portakal kabuğu uçucu yağı katılmıştır. Yem yapımında, balık unu, balık yağı, portakal kabuğu uçucu yağı, buğday unu, vitamin-mineral premiksleri ve nişasta kullanılmıştır. Elenmiş ve homojen bir şekilde karıştırılmış yem hammaddelerinden oluşan hamur şeklindeki karışım, pelet makinesinden 3 mm olacak şekilde geçirilip pelet haline getirildikten sonra yaklaşık 40°C'de 24 saat kurutulmuş ardından kontrollü şartlarda

depolanmaya başlanmıştır. Deneysel yem rasyonları Tablo 3.1’de ve deneysel yemler Şekil 3.3’te gösterilmiştir.

Tablo 3.1 Deneysel yem rasyonları

%	P0	P5	P10	P30
Balık unu ¹	59	59	59	59
Soya Proteinini ²	18	18	18	18
Buğday unu ³	1	1	1	1
Mısır Nişastası ⁴	1	1	1	1
Vit.Min Pre. ⁵	4	4	4	4
Balık Yağı ⁶	17	16,95	16,90	16,70
PKUY ⁷	0	0,05	0,10	0,30
Besin madde içerikleri*				
Ham Protein	48,01	48,01	48,01	48,01
Ham Yağ	23,08	23,08	23,08	23,08
Ham Kül	9,70	9,70	9,70	9,70
Ham Selüloz	1,90	1,90	1,90	1,90
Azotsuz Öz madde (NFE)	17,31	17,31	17,31	17,31

*Hazırlanan yemlerin besinsel içerikleri kullanılan hammaddelerin analiz sonuçlarına göre hesaplanmıştır.

¹ Balık unu: Kuru madde %91, ham protein %65, ham yağ %10, ham kül %15, ham selüloz %1; NFE %10

² Soya Proteinini: Kuru madde %90, ham protein %52, ham yağ %0.5, ham kül %4.6, ham selüloz %7, NFE %42.9

³ Buğday Unu: Kuru madde %86, ham protein %10.8, ham yağ %1.7, ham kül %2, ham selüloz %2.8, NFE %85.5

⁴ Mısır Nişastası: Ham protein %0.3, ham yağ %0.1, ham selüloz %1.5, NFE %99.6

⁵ Vitamin/Mineral Premiks: vit. A, 18.000 IU; vit. D3, 2500 IU; vit. E, 250 mg/kg; vit. K3, 12 mg/kg; vit. B1, 25 mg; vit. B2, 50 mg; vit. B3, 270 mg; vit. B6, 20 mg; vit. B12, 0,06 mg; vit. C, 200 mg; folik asit, 10 mg; kalsiyum D-pantotenat, 50 mg; biyotin, 1 mg; inositol, 120 mg; kolin klorür, 2000 mg./Fe, 75.3 mg; Cu, 12.2 mg; Mn, 206 mg; Zn, 85 mg; ben, 3 mg; Se, 0.350 mg;

⁶ Balık Yağı: Ham yağ %100

⁷ Portakal Kabuğu Uçucu Yağı



Şekil 3.3 Deneysel yemler

3.2 Metot

3.2.1 Uçucu Yağların Ekstraksiyonu ve Analizi

Portakal kabuklarından uçucu yağ elde etmek için hidrodistilasyon yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen uçucu yağ gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) ile analiz edilmiş, elde edilen pikler W9N11 kütüphanesi ile kıyaslanmak suretiyle belirlenmiştir. Benzerlik oranı %95 üzeri olan pikler tanımlanmış olarak kabul edilmiştir.

3.2.1.1 Portakal kabuklarından uçucu yağın ekstrakte edilmesi

Araştırma için kullanılacak portakal kabuklarının temini için, halk pazarından alınan portakallar soyulmuş ve taze kabuklar elde edilmiştir. Bu kabuklar daha sonra 1000 ml, altı yuvarlak balon içerisine, balonun 3/2'si olacak şekilde doldurulmuş ve üzerine 100 g 300 mL⁻¹ saf su eklenmiştir. Kaynama sıcaklığında ortalama 2-8 saat süreyle kabuklar kaynatılmıştır. Uygulama esasında; su distilasyonu yöntemine dayanmamaktadır ve Clevenger düzeneği yardımı ile uçucu yağlar elde edilmiştir. Yöntem, soğutucu ile irtibatlandırılan bir cam balon içerisinde su ve materyalin 2-8 saat süre ile kaynatılarak, su buharı ile birlikte hareket eden uçucu yağ moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasına dayanmaktadır (Ferhat vd. 2006). Çalışma için hazırlanan Clevenger düzeneği Şekil 3.4'de gösterilmiştir.



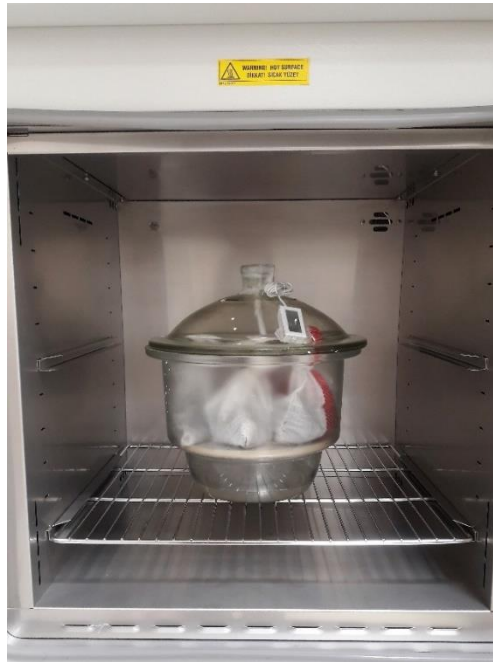
Şekil 3.4 Clevenger düzeneği

3.2.1.2 Portakal kabuğu uçucu yağının bileşenlerinin belirlenmesi

Portakal kabuğu uçucu yağının uçucu bileşenlerinin belirlenmesi için Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarından hizmet alımı yapılmıştır. Portakal kabuğu uçucu yağının uçucu bileşenlerinin belirlenmesi için 0,70 Kw'da elektron iyonizasyon modunda çalışan, QP 2010; Shimadzu marka GC-MS cihazı ve bölünmüş/bölünmemiş enjektör sistemi (250°C) kullanılmıştır. Cihaz konfigürasyonları, mobil gaz, ara yüz ve iyon kaynağı enjeksiyon yöntemi Acar vd. 2018'e göre uygulanmıştır. Kolonun fırın sıcaklık rampası programı Kesbiç (2019) tarafından önerildiği gibi programlanmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µL ve m/z aralığı 45 ila 450 arasında olarak analiz gerçekleştirilmiştir. Tespit edilen kromatogramlar Wiley kütüphanesi (W9N11) ve literatür ile karşılaştırılarak analiz edilmiştir (Adams, 1997).

3.2.2 Depolama

Hazırlanan deneysel yemler depolama koşullarının simüle edildiği Nüve FN-120 inkübasyon kabininde, şeker çuvallarında, 25 ± 2 °C sıcaklıkta, 50 ± 5 nem değerlerinde ve karanlık ortamda depolanmıştır. Depolanma ortamı Şekil 3.5'te gösterilmiştir. Her bir grup için 300'er g örnek depolanmıştır.



Şekil 3.5 Deneysel yemlerin depolama ortamı

3.2.3 Örnekleme

Hazırlanan deneysel yemlerde örneklemeler 15 ve 30 günde bir yapılmıştır. Örneklemede sanite edilmiş aparatlarla her tekerrürden 60 g numune alınmış ve numuneler üzerinde besinsel, mikrobiyolojik, yağ oksidasyonuna bağlı parametreler ve yapısal incelemeye dayalı testler uygulanmıştır. Stoklama zamanının yem besin kompozisyonu üzerine etkilerini belirlemek amacıyla besin madde analizleri 30 günlük periyotlar halinde, antioksidan aktivite ve peroksit analizleri 15 günlük periyotlar halinde, mikrobiyolojik analizler ve yapısal analizler deney sonunda gruplar arası karşılaştırmalar şeklinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.4 Besinsel Madde Analizleri

Besin madde analizleri için alınan örnekler sıvı azotta dondurulmuş ve porselen havan ile ezilerek homojenize edilmiştir. Yapılan besin madde analizleri elde edilen bu homojenizat kullanılarak 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.1 Ham kül analizi

Kül analizi gravimetrik yöntemle hesaplanmıştır (942.05, AOAC,1998). Kül analizi için 0,5 g örnek alınarak önceden darası alınan porselen krozelere konulmuştur. Daha sonra krozeler JSR marka kül fırınında 525°C’de 12 saat boyunca yakılmış ve ardından desikatöre alınarak sabit tartıma gelene kadar bekletilmiştir (Şekil 3.6). Kül yüzdeleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.



Şekil 3.6 Kül analizi örnek tartımları ve kül fırını

$$\% \text{Ham Kül} = ((M2 - M)/(M1 - M)) \times 100 \quad (3.1)$$

M: Dara

M1: İlk tartım

M2: Son tartım

3.2.4.2 Nem analizi

Nem analizi gravimetrik yöntemle yapılmıştır (934.01,AOAC,1998). Analiz için darası alınan kaplara yemler tartılarak konulmuş ve 105  C’de ağırlıkları sabit kalana kadar Mikrotest MST-55 etüvde kurutulmuştur. Daha sonra etüvden çıkarılan yemler tekrar tartılmıştır.   ıkan sonuçlar yerine konularak nem yüzdeleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Nem} = ((G2 - G)/(G1 - G)) \times 100 \quad (3.2)$$

G: Dara

G1: İlk tartım

G2: Son tartım

3.2.4.3 Ham protein analizi

Ham protein miktarının belirlenmesi için Kjeldahl yöntemi kullanılmıştır (AOAC, 2000). Kjeldahl tüplerine 1’er g örnek tartılmış ve üzerine 25 mL derişik sülfürik asit (%95)   z  ltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışım içerisine bir adet katalizör tableti ilave edilerek yakma işlemine başlanmıştır. Yakma işlemi örneklerin rengi a  ılana kadar s  rd  r  lm  ştir. Tüpler soğıutulup daha sonra destilasyon cihazına yerleştirilmiştir (Buchi-K-355). Numune   zerine NaOH (%40) ve H₃BO₃ (%3) ilave edilerek destilasyon işlemi başlatılmıştır. Destilasyon işleminden sonra 0,1 N HCl ile titre edilmiş ve sarfiyat miktarı aşağıdaki formülde yerine konularak protein miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Azot miktarı (\%)} = ((V_{\text{HCl}} - V_{\text{K  r}}) \times N_{\text{HCl}} \times 14.007) / \text{örnek ağırlığı} \times 100 \quad (3.3)$$

V_{HCl}:   rnek için harcanan HCl (ml)

V_{K  r}: K  r için harcanan HCl (ml)

$$\text{Protein miktarı (\%)} = \text{Azot miktarı} \times 6,257 \quad (3.4)$$

3.2.4.4 Ham yağ analizi

Yağ analizinde alkol ekstrasyon yöntemi uygulanmıştır (954.02, AOAC,1998). Yağ analizi için yem örneklerinden 1 g tartılmış ve daha sonra kapaklı deney tüplerinde metanol-kloroform (1,2 v:v) karışımında 24 saat bekletilmiştir (Şekil 3.7). Bekletilen örnekler süzme işleminden geçirildikten sonra darası alınmış falcon tüplerine alınarak (Şekil 3.8), evaporatörde solventler uzaklaşana kadar muamele edilmiştir. Tüpler 20 dk, sıcaklığı 75°C olan Nüve FN -120 etüvde bekletilerek kalan solventin tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. Devamında desikatöre alınan tüpler sabit ağırlığa geldikten sonra tartımları yapılmıştır. Ham yağ miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Ham Yağ Miktarı (\%)} = ((M2-M1)m) \times 100 \quad (3.5)$$

M1: İlk Tartım

M2: Son Tartım

m: Örnek ağırlığı



Şekil 3.7 Metanol-kloroform karışımında yem örnekleri



Şekil 3.8 Süzülerek falcon tüplerine alınmış örnekler

3.2.4.5 Yağ asidi profili

Yağ asidi tayini için ekstrakte edilen yağ kullanılmıştır. Yağ laboratuvarında esterleşme işlemine tabi tutulduktan sonra gaz kromatografisinde kantitatif analiz uygulanmıştır. Uygulanan yöntemde öncelikle 0,1 g yağ numunesine 10 mL n-hekzan ile muamele edilmiş, 0,5 mL 2N metanollü potasyum hidroksit çözeltisi (KOH) eklenmiştir. Çözelti 2 saat karanlık ortamda bekletilerek üst faz alınmıştır. Daha sonra QP 2010; Shimadzu marka GC-MS cihazında kantitatif analizi gerçekleştirilmiştir. Yağ asitlerinin belirlenmesi hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.

3.2.5 Mikrobiyolojik Analizler

3.2.5.1 Toplam mezofilik aerobik sayımı

Yem numuneleri laminar hava kabini içerisinde 1:9 oranında Maximum Recovery Diluent ile homejenize edilerek 10^{-1} 'lik bir dilüsyon hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan dilüsyon seyreltilip 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ve 10^{-5} 'lik diğer desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan steril petri kaplarına 1'er ml aktararak üzerine daha önceden hazır hale getirilmiş PCA (Plate Count Agar) dökme plak yöntemi ile inoküle edilmiştir. Ekimler iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. İnokülasyon işleminden sonra petri kapları ters çevrilerek 28 ± 2 °C'lik Nüve FN-120 inkübatörde 48 ± 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnküasyon süresi sonunda koloni sayımları yapılmış ve seyreltme faktörü gözetilerek hesaplamalar yapıp, kayıt altına alınmıştır. Sonuçlar kob/g olarak verilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

3.2.5.2 Maya ve küf sayımı

Yem numuneleri laminar hava kabini içerisinde 1:9 oranında Maximum Recovery Diluent ile homejenize edilerek 10^{-1} 'lik bir dilüsyon hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan dilüsyon seyreltilip 10^{-2} ; 10^{-3} ; 10^{-4} ve 10^{-5} 'lik diğer desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her bir dilüsyondan steril petri kaplarında önceden hazır hale getirilmiş Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerlerine dökme plak yöntemiyle inoküle edilmiştir. İnokülasyon işlemi sonrasında petri kapları ters çevrilerek 25 ± 2 °C'de 5 gün Nüve FN-120 inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İnküasyon süresi sonunda sayımları

yapılmış ve seyreltme faktörü gözetilerek hesaplamalar yapıp, kayıt altına alınmıştır. Sonuçlar kob/g olarak verilmiştir (Cemeroğlu, 2013).

3.2.6 Oksidasyona Dayalı Analizler

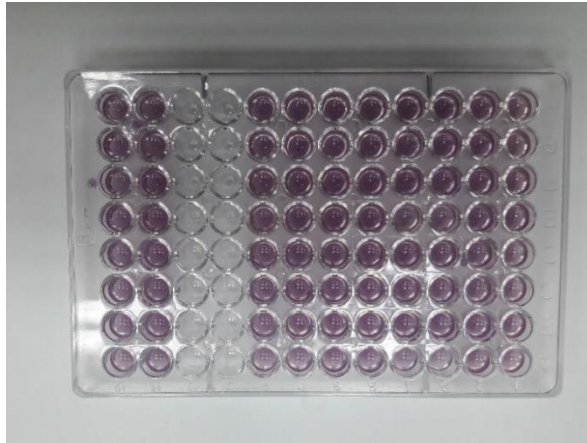
3.2.6.1 Toplam antioksidan aktivite (DPPH)

Toplam antioksidan aktivite analizi Beta vd. (2005)'nin yöntemine göre uygulanmıştır. Ekstraksiyon amacıyla 1 g numune tartılarak behere konulmuş ve üzerine 10 mL %80'lik metanol ilave edilmiştir. Ardından ağzı kapatılarak beher 2 saat 37°C'de dairesel karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Daha sonra üst fazları alınarak filtre kâğıdından süzölmüş ve antioksidatif aktivite tayininde kullanılmak üzere kaplara alınmıştır. Ekstrakt içerisindeki fenolik bileşiklerin DPPH radikali üzerindeki süpürücü etkisini tespit etmek amacıyla, 2,4 mL DPPH çözeltisi ile 100 mL %80'lik metanolden oluşan karışım hazırlanmış ve daha sonra hazırlanan bu solüsyondan 9,75 µl alınarak 0,25 µl ekstrakt ile karıştırılmış ve karışım 96 kuyucuklu plakalara yüklenmiştir (Şekil 3.9). İşlem sonunda plakalar ivedilikle Biotek Epoch 2 UV-VIS spektrofotometrede 515 nm'de 0 ve 30'uncu dk'da okutularak kuyucukların absorbansları tespit edilmiştir (Şekil 3.10). Aşağıdaki formöl ile % inhibisyon değeri tespit edilmiştir.

$$\% \text{ inhibisyon değeri} = [1 - (A_s/A_0)] \times 100 \quad (3.6)$$

AS: Örnek ekstraktına ait absorbans değeri

A0:Şahit DPPH çözeltisinin absorbans değeri



Şekil 3.9 Antioksidan aktivite örneklerinin yüklendiği mikroparka



Şekil 3.10 Örneklerin okutulduğu UV-VIS spektrofotometre

3.2.6.2 Peroksit analizi

Peroksit analizi AOCS Official Method Cd 8b-90'de belirtilen yönteme göre yapılmıştır. Bu amaçla erlenmayer içerisine tartılan 0,5 g örnek 2,5 mL kloroform ile çözülerek, 7,5 mL asetik asit ve 0,5 mL doymuş potasyum iyodür ilavesinden sonra 10 dk karanlık ortamda ve oda sıcaklığında bekletilmiştir (Şekil 3.11). Beklemenin ardından 37,5 mL destile su ve birkaç damla nişasta (%1'lik) indikatörlüğünde 0,01 N ayarlı sodyum tiyosülfat ile titrasyon işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.12). Titrasyon bitiş noktası olan berrak renk oluşumuyla elde edilen sarfiyat aşağıdaki formülde yerine konulup peroksit sayıları hesaplanmış ve sonuçlar meq O₂/kg yağ şeklinde verilmiştir.



Şekil 3.11 Yem örneklerinde peroksit analizi

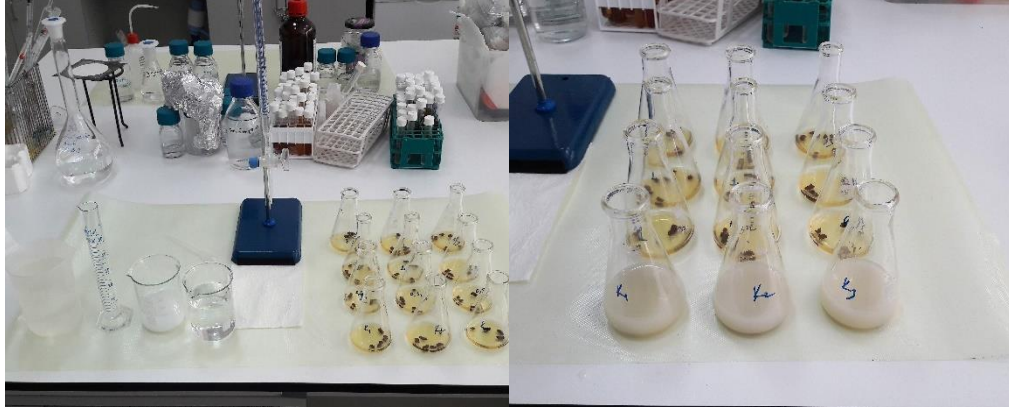
$$\text{Peroksit sayısı} = [(V1 - V0) \times N] / M \quad (3.7)$$

V1: Örnek için harcanan miktar

V0: Kör için harcanan miktar,

N: Titrasyon çözeltisinin normalitesi

M: Örnek ağırlığı



Şekil 3.12 Peroksit analizi için örneklerinin titrasyonu

3.2.7 Yapısal Analiz

Yem peletlerindeki yapısal değişimin takibi için örnekleme sonunda tüm gruplardan tam şansa dayalı yöntemle seçilen 3'er yem peleti sterio mikroskop (Optika Microscope İtaly C-P6) altında incelenmiş ve değişimler fotoğraflanarak kaydedilmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13 Sterio mikroskop altında yemlerin incelenmesi

3.2.8 İstatiksel Analizler

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 (IBM SPSS, Türkiye) programı kullanılmıştır. Çalışma verileri değerlendirilirken parametrelerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilks testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma verileri değerlendirilirken normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve farklılığa neden olan grubun tespitinde Dunn's testi kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin grup içi ve toplamda düzeylerin karşılaştırmalarında Friedman testi ve farklılığa neden olan dönemin tespitinde Wilcoxon işaret testi kullanılmıştır.

Tablo 3.2 Çalışmanın deneysel dizaynı

Analiz	Tekerrür	Paralel
Ham Kül	3	1
Nem Analizi	3	1
Ham Protein	3	1
Ham Yağ	3	1
Yağ Asitleri	1	1
Mikrobiyolojik	2	4
Peroksit Sayısı	3	1
Antioksidan Aktivite	8	1
Yapısal Analizler	1	3

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Bulgular

4.1.1 Portakal Kabuğu Uçucu Yağı Bileşenleri

Çalışmada kullanılmak üzere elde edilen portakal kabuğu uçucu yağının tanımlanabilen uçucu bileşenleri Tablo 4.1’de listelenmiştir. Bileşenlerin tespiti için GS/MS analizi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.1 Portakal kabuğu uçucu yağı bileşenleri

İsim	Alıkonma Zamanı(dk')	%Miktar
α -Pinen	9,168	2,01
Mirsen	11,526	2,91
β -mirsen	11,610	2,71
Oktanal	12,002	3,07
Δ^3 -Karmen	12,197	2,74
Linalil asetat	12,460	1,73
D-limonen	13,360	59,27
1-Oktonol	15,071	2,54
Linalool	16,204	6,04
α -Terpineol	19,493	2,49
Dekanal	19,956	1,23
Sitronellol	20,843	1,52
Neral	21.306	1,35
Sitral	22,393	2,29
Diğerleri		8,1
Toplam		100,00

Tanımlanan bileşenler arasında D-limonen %59,27 oranla majör bileşen olarak tespit edilmiştir. Diğer majör bileşenler ise linalool %6,04, oktonol %3,07, mirsen %2,91, Δ^3 -Karmen %2,74, β -mirsen %2,71 olarak sıralanabilir. Konsantrasyonu %1 ve üzerinde olan toplam 14 bileşik tespit edilmiş olup, yapılan GS/MS analizi ile portakal kabuğu uçucu yağının bileşimi %100 oranında belirlenmiştir.

4.1.2 Yemin Fizikokimyasal ve Besinsel Nitelikleri

Tablo 4.2’de yemlerin kül değerleri ve Şekil 4.1’de yemlerin kül değerlerinin grafiksel gösterimi yer almaktadır. Elde edilen verilerle yapılan analizler neticesinde, depolama süresi boyunca yemlerde kül değerlerinin korunduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.2 Gruplar arasında ve içinde % ham kül düzeyleri

Kül (%)	P0 (n=3)	P5 (n=3)	P10 (n=3)	P30 (n=3)	Total (n=12)	p ¹
0.gün	8,07±0,05 (8,1)	7,97±0,16 (7,9)	8,47±0,26 (8,5)	7,95±0,52 (8)	8,11±0,34 (8,1)	0,129
30.gün	8,85±0,11 (8,9)	8,81±0,14 (8,9)	8,44±0,33 (8,6)	8,83±0,27 (8,9)	8,73±0,26 (8,8)	0,264
60.gün	8,54±0,02 (8,5)	8,45±0,15 (8,4)	8,9±0,46 (8,8)	8,65±0,26 (8,5)	8,63±0,29 (8,5)	0,459
p ²	0,050	0,050	0,717	0,097	0,004*	
0.-30.gün p ³	-	-	-	-	0,006*	
0.-60.gün p ³	-	-	-	-	0,004*	
30.-60.gün p ³	-	-	-	-	0,239	

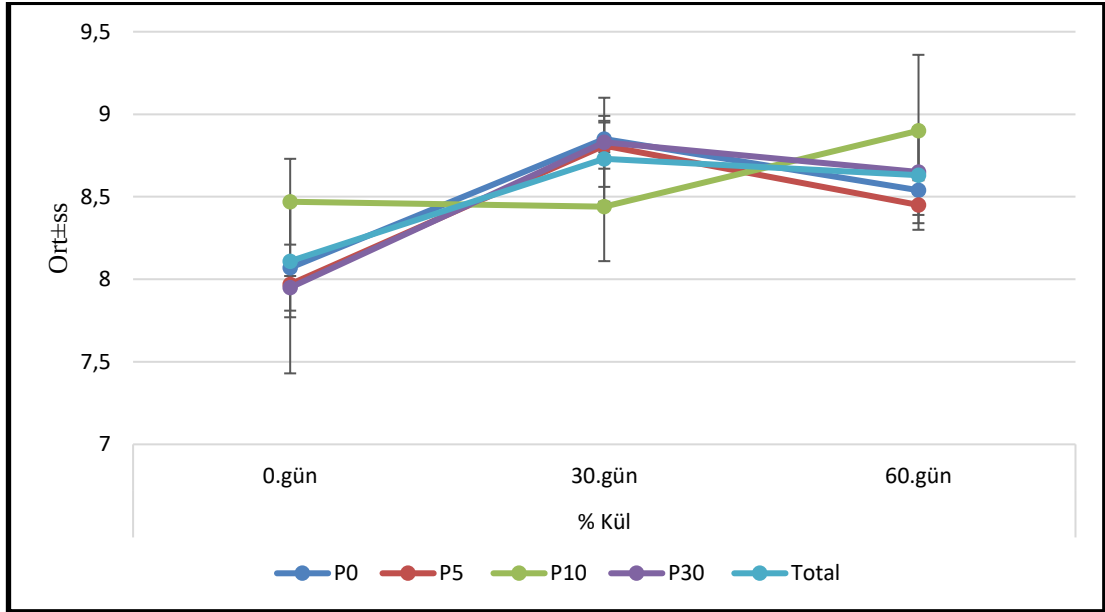
¹Kruskal Wallis Test

²Friedman Test

³Wilcoxon Sign Test

*p<0,05

P0: %0; P5: %0,5; P10: %1; P30: %3 miktarında portakal kabuğu uçucu yağı ilave edilen yemler



Şekil 4.1 % Ham kül değerleri

Deneme başında en düşük kül değeri P30 (%7,95), en yüksek kül değeri ise P10 (%8,47) grubunda bulunmuştur. Depolama süresi sonunda yapılan ölçümlerde ise en düşük kül değeri P5 (%8,45) grubunda, en yüksek kül değeri P10 (%8,90) grubunda tespit edilmiştir. Zamana bağlı olarak artış eğilimleri gözlemlenmiş ancak yapılan çalışma süresince deneysel grupların tamamında, gruplar arasında ve içinde 0, 30 ve

60'ıncı günlerde % kül değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$). Konsantrasyona ve zamana bağlı olarak kül değerlerinde anlamlı bir değişim yaşanmamıştır.

Tablo 4.3 ve Şekil 4.2'de ise yemlerin nem değerleri yer almaktadır. Yapılan analizler ile elde edilen sonuçlar, depolama süresi boyunca nem değerlerinde bir azalma eğilimi yaşandığını göstermektedir. Ancak bu azalma eğilimi deneysel grupların arasında ve içinde 0, 30 ve 60'ıncı günlerde % nem değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.3 Gruplar arasında ve içinde % nem düzeyleri

Nem (%)	P0 (n=3)	P5 (n=3)	P10 (n=3)	P30 (n=3)	Total (n=9)	p ¹
0.gün	9,52±0,01 (9,5)	10,01,15±0,01 (10)	8,97±0,01 (9)	9,81±0,01 (9,8)	9,61±0,46 (9,7)	0,072
30.gün	7,65±0,01 (7,6)	7,66±0,01 (7,7)	7,24±0,01 (7,2)	7,79±0,01 (7,8)	6,83±2,46 (7,7)	0,184
60.gün	7,78±0,01 (7,8)	7,79±0,01 (7,8)	7,89±0,01 (7,9)	7,83±0,01 (7,8)	7,82±0,05 (7,8)	0,072
p ²	0,135	0,135	0,135	0,135	0,000*	
0.-30.gün p ³	-	-	-	-	0,011*	
0.-60.gün p ³	-	-	-	-	0,011*	
30.-60.gün p ³	-	-	-	-	0,011*	

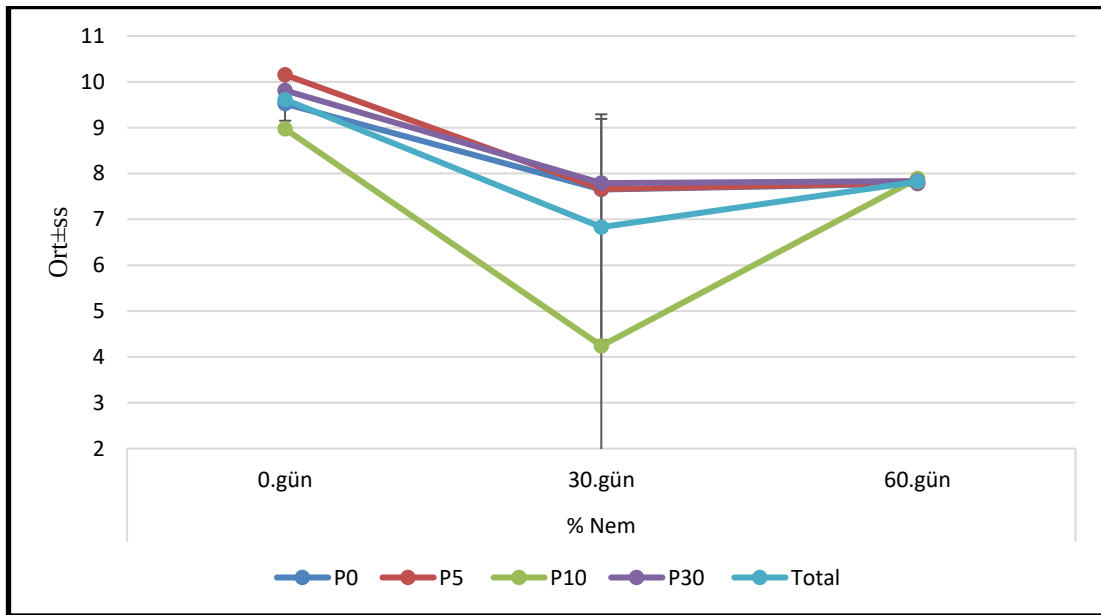
¹Kruskal Wallis Test

²Friedman Test

³Wilcoxon Sign Test

* $p<0,05$

P0: %0; P5: %0,5; P10: %1; P30: %3 miktarında portakal kabuğu uçucu yağı ilave edilen yemler



Şekil 4.2 % Nem değerleri

Deneme başında yapılan ölçümlerle en küçük nem değeri P10 (%8,97) grubunda, en yüksek nem değeri ise P5 (%10,01) grubunda tespit edilmiştir. Depolama süresi sonunda en yüksek nem seviyesi P10 (7,89) ve en düşük nem seviyesi P0 (%7,78) grubunda tespit edilmiştir. Kül değerlerinde olduğu gibi nem değerlerinde de ilave edilen uçucu yağın konsantrasyonu ve depolama zamanı anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır.

Tablo 4.4’de yemlerin ham protein değerleri ve Şekil 4.3’de bu değerlerin grafiksel gösterimi yer almaktadır. Tablo 4.3’de verilen nem değerlerinde olduğu gibi protein değerlerinde de depolama süresi boyunca tüm gruplarda azalma eğilimi olduğu tespit edilmiştir. Ancak çalışma süresince deneysel grupların tamamında, gruplar arasında ve içinde 0, 30 ve 60’ıncı gün protein değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.4 Gruplar arasında ve içinde % ham protein düzeyleri

Protein (%)	P0 (n=3)	P5 (n=3)	P10 (n=3)	P30 (n=3)	Total (n=12)	p ¹
0.gün	48,64±0,42 (48,7)	48,6±0,82 (48,8)	48,66±0,16 (48,8)	48,53±0,24 (48,5)	48,61±0,42 (48,7)	0,922
30.gün	45,42±0,38 (45,5)	45,74±0,9 (46,1)	46,16±1 (46,6)	45,87±0,97 (45,8)	45,8±0,77 (45,8)	0,617
60.gün	40,7±0,25 (40,8)	40,53±0,37 (40,7)	40,34±0,36 (40,3)	41,79±1,76 (41,6)	40,84±0,98 (40,7)	0,369
p²	0,050	0,050	0,050	0,050	0,000*	
0.-30.gün p³	-	-	-	-	0,002*	
0.-60.gün p³	-	-	-	-	0,002*	
30.-60.gün p³	-	-	-	-	0,002*	

¹Kruskal Wallis Test

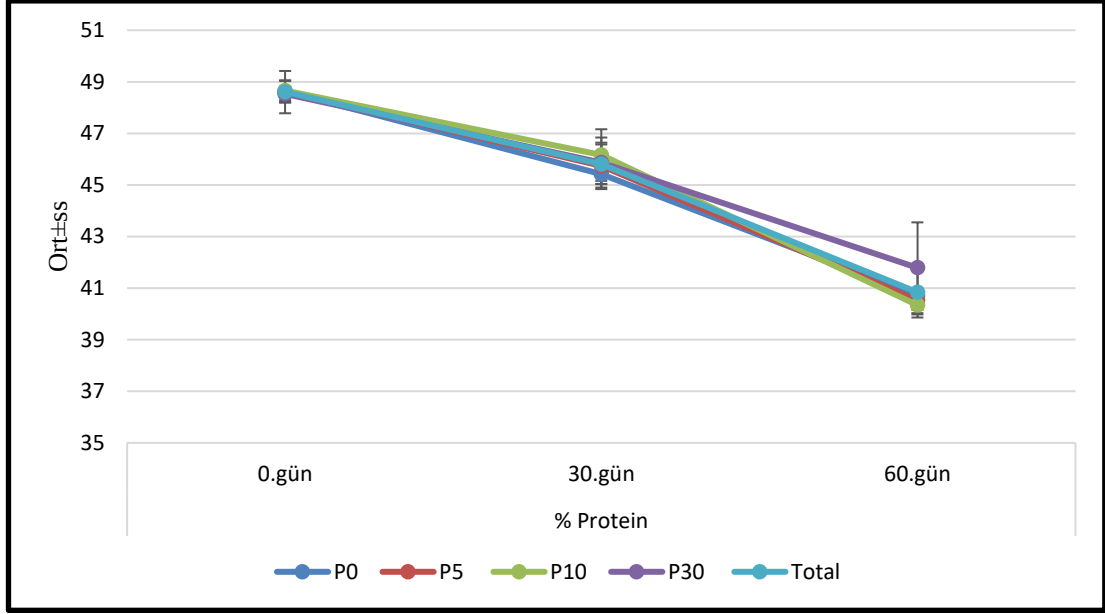
²Friedman Test

³Wilcoxon Sign Test

* $p<0,05$

P0: %0; P5: %0,5; P10: %1; P30: %3 miktarında portakal kabuğu uçucu yağı ilave edilen yemler

Protein değerleri incelendiğinde, 0’ıncı günde en düşük protein değeri P30 (48,53), en yüksek protein değeri ise P10 (48,66) grubunda ölçülmüştür. Bununla birlikte depolama süresi sonunda en düşük protein değeri P10 (%40,34) grubunda tespit edilirken, en yüksek protein değeri ise P30 (%41,79) grubunda bulunmuştur. Zamana bağlı olarak protein değerlerinde kayıpların yaşandığı gözlemlenirken, uçucu yağ ilavesinin protein değerleri üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.3 % Ham protein değerleri

Tablo 4.5’de yemlerin ham yağ değerleri ve Şekil 4.4’de bu değerlerin grafiksel gösterimi yer almaktadır. Yapılan çalışmada tüm gruplarda zamana bağlı olarak ham yağ değerlerinde azalma eğilimi olduğu gözlemlenmiştir. Bu azalış eğilimi çalışma süresince gruplar arasında ve içinde istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve % yağ değerleri açısından 0, 30 ve 60’ıncı günlerde anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 4.5 Gruplar arasında ve içinde % ham yağ düzeyleri

Yağ (%)	P0 (n=3)	P5 (n=3)	P10 (n=3)	P30 (n=3)	Total (n=12)	p ¹
0.gün	23,23±0,6 (23)	23,02±0,12 (23)	22,97±0,15 (23)	23,06±0,2 (23,1)	23,07±0,3 (23)	0,933
30.gün	21,35±0,69 (21,6)	20,79±2,39 (22)	20,71±1,04 (20,3)	21,41±1,85 (22,2)	21,07±1,43 (21,7)	0,715
60.gün	18,52±1,01 (18,9)	16,2±1,34 (15,7)	17,05±4,46 (15,9)	14,75±1,96 (15,4)	16,63±2,62 (16,1)	0,270
p ²	0,050	0,050	0,097	0,050	0,000*	
0-30.gün p ³	-	-	-	-	0,002*	
0-60.gün p ³	-	-	-	-	0,002*	
30-60.gün p ³	-	-	-	-	0,003*	

¹Kruskal Wallis Test

²Friedman Test

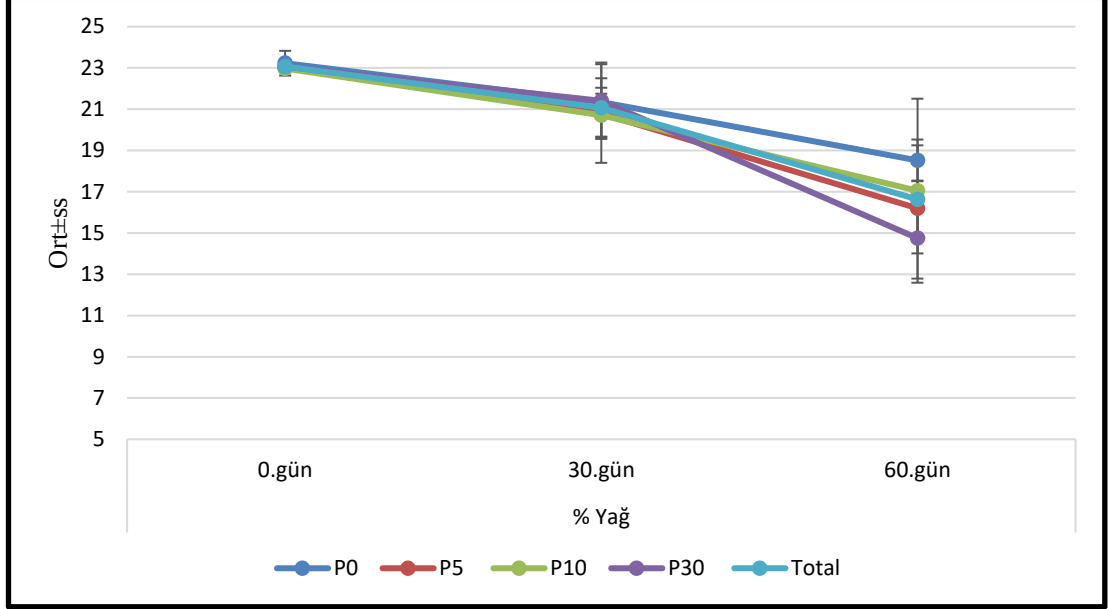
³Wilcoxon Sign Test

* $p<0,05$

P0: %0; P5: %0,5; P10: %1; P30: %3 miktarında portakal kabuğu uçucu yağı ilave edilen yemler

Deneme başında en düşük yağ değeri P10 (% 22,97), en yüksek yağ değeri ise P0 (% 23,23) grubunda tespit edilmiştir. Depolama süresi sonunda ise yine en yüksek yağ değeri P0 (%18,52) grubunda tespit edilirken, en düşük yağ değeri ise P30 (%14,75) grubunda tespit edilmiştir. Uçucu yağ ilavesinin yemin yağ değerleri üzerinde olumsuz

bir etki oluşturmadağı ancak protein değerlerinde olduğu gibi yağ değerlerinde zamana bağılı olarak besin kayıplarının oluştđu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4 % Ham yağ değerleri

Tablo 4.6’da yağ asitlerinin zamana bağılı değişimlerinin verildiğı veriler yer almaktadır. Tablo 4.6 incelendiğinde, tüm gruplarda en yüksek oranda doymuş yağ asitlerinin yer aldığı görülmektedir. Doymuş yağ asitlerinde en yüksek konsantrasyonda miristik asit ve onu takiben palmitik asit tespit edilmiştir. Zamana bağılı olarak yaşanan değişimlere bakıldığında, miristik asit deneme başında P0 grubunda %12,52 oranında iken sırasıyla P5, P10 ve P30 gruplarında, %12,92; %13,43; %13,23 oranında bulunmuştur. Depolama süresi sonunda ise miristik asit miktarında azalış eğilimi tespit edilmiştir. Palmitik asit miktarı deneme başında P0 grubunda %35,75 oranında iken sırasıyla P5, P10, P30 gruplarında, %36,26; %35,29; %37,07 oranında bulunmuştur. Yapılan son ölçümlerde P0, P10 ve P30 gruplarında artış eğilimi gözlemlenmiştir. Depolama süresi sonunda toplam doymuş yağ asidi miktarında da artışlar yaşandığı tespit edilmiştir.

Tablo 4.6 Yağ asitlerinin zamana bağlı değişimleri

Yağ Asitleri (%)		P0			P5			P10			P30		
		0	30	60	0	30	60	0	30	60	0	30	60
C8:0	(Kaprilik)	0,034	0,075	0,066	0,027	0,12	0,26	0,075	0,186	0,167	0,028	0,061	0,094
C10:0	(Kaprik)	0,05	0,12	0,085	0,04	0,24	0,51	0,14	0,37	0,3	0,05	0,1	0,12
C12:0	(Laurik)	0,22	0,29	0,25	0,22	0,46	0,81	0,36	0,65	0,55	0,13	0,14	0,16
C13:0	(Tridekanoik)	0,16	0,25	0,21	0,15	0,43	0,81	0,28	0,62	0,52	0,17	0,18	0,2
C14:0	(Miristik)	12,52	11,46	11,95	12,92	11,91	11,68	13,43	12,7	12,66	13,23	11,72	11,54
C16:0	(Palmitik)	35,75	39,98	40,13	36,26	37,76	34,96	35,79	35,31	38,2	37,07	40,16	40,94
C17:0	(Heptadekonoik)	1,42	1,64	1,58	1,41	1,74	1,99	1,49	1,81	1,92	1,47	1,64	1,64
C18:0	(Stearik)	6,70	7,99	8,40	6,63	7,61	8,62	6,70	7,03	7,56	6,87	7,93	8,09
C20:0	(Araşidik)	1,31	1,31	1,35	1,28	1,52	1,92	1,39	1,72	1,61	1,33	1,32	1,32
C21:0	(Heneikosanoik)	0,18	0,27	0,22	0,17	0,49	0,93	0,30	0,71	0,57	0,18	0,25	0,26
C22:0	(Behenik)	0,43	0,53	0,50	0,42	0,71	1,12	0,53	0,90	0,80	0,44	0,51	0,52
C23:0	(Trikosanoik)	0,145	0,26	0,20	0,137	0,45	0,87	0,26	0,65	0,54	0,15	0,24	0,25
C24:0	(Lignoserik)	0,27	0,58	0,52	0,26	0,70	1,08	0,35	0,80	0,76	0,27	0,57	0,61
Toplam Doymuş Yağ Asitleri		59,18	64,755	65,46	59,924	64,14	65,56	61,095	63,456	66,157	61,388	64,821	65,744
C16:1	(Palmitoleik)	12,27	10,11	10,33	12,29	10,02	8,86	11,95	10,24	9,81	12,49	10,13	7,86
C18:1	(Oleik)	18,24	15,82	15,97	18,00	15,35	13,57	17,52	14,96	14,65	18,04	15,67	15,32
C24:1	(Nervonik)	1,09	1,27	1,13	1,07	1,19	1,29	1,00	1,18	1,18	1,06	1,15	1,11
C20:1	(Eikosenoik)	0,90	0,77	0,76	0,87	0,96	1,22	0,94	1,15	0,99	0,89	0,75	0,74
Toplam Tekli Doymamış Yağ Asitleri		32,5	27,97	28,19	32,23	27,52	24,94	31,41	27,53	26,63	32,48	27,7	25,03
C18:2	(Linoleik)	2,21	2,66	2,44	2,17	2,73	3,12	2,77	2,69	2,53	1,98	2,63	2,69
C18:3	(Alfa linolenik)	0,55	0,48	0,41	0,53	0,67	1,03	0,58	0,85	0,66	0,45	0,45	0,44
C20:3	(Eikosatrienoik)	0,09	0,15	0,11	0,08	0,33	0,67	0,18	0,50	0,39	0,08	0,14	0,14
C20:4	(Araşidonik)	0,51	0,46	0,45	0,50	0,63	0,95	0,55	0,84	0,71	0,49	0,45	0,44
C20:5	(Eikosapentaenoik)	1,75	1,00	0,85	1,60	1,16	1,21	1,25	1,34	0,94	1,10	0,91	0,93
C21:5	(Heneikosapentaenoik)	0,17	0,18	0,098	0,16	0,31	0,43	0,18	0,35	0,27	0,12	0,14	0,11
C22:6	(Dokosaheksaenoik)	3,05	2,34	1,91	2,81	2,51	2,08	1,99	2,47	1,83	1,82	2,57	2,45
Toplam Çoklu Doymamış Yağ Asitleri		8,33	7,27	6,26	7,85	8,34	9,49	7,5	9,04	7,33	6,04	7,29	7,2
Genel Toplam		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

P0: %0; P5: %0,5; P10: %1; P30: %3 miktarında portakal kabuğu uçucu yağı ilave edilen yemler

Toplam yağ asitleri içinde konsantrasyon olarak en yüksek olan diğer grup ise tekli doymamış yağ asitleri olarak bulunmuştur. Tekli doymamış yağ asitlerinden en yüksek konsantrasyonda oleik asit ve palmitoleik asit tespit edilmiştir. Deneme başında oleik asit miktarı P0 grubunda %18,24 iken sırasıyla P5, P10 ve P30 gruplarında, %18; %17,52; %18,04 oranında bulunmuştur. Palmitoleik asit için P0 grubunda %12,27 oranında iken sırasıyla P5, P10 ve P30 gruplarında, %12,29; %11,95; %12,49 oranında tespit edilmiştir. Depolama süresince tüm gruplarda oleik ve palmitoleik asit miktarında azalış eğilimi gözlemlenmiştir. Toplam tekli doymamış yağ asitleri incelendiğinde, zamana bağlı olarak yağ asitlerinin miktarında kayıplar yaşandığı tespit edilmiştir. Son olarak yağ asitleri içinde en düşük konsantrasyonda çoklu doymamış yağ asitleri tespit edilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitleri içinde en yüksek miktarda tespit edilen linoleik asit, deneme başında P0 grubunda %2,21 oranında iken sırasıyla P5, P10, P30 gruplarında, %2,17; %2,77; %1,98 oranında bulunmuştur. Depolama süresi sonunda ise tüm gruplarda artış eğilimi gözlemlenmiştir. Bir diğer yağ asidi eikosapentaenoik asit 0'ıncı günde P0 grubunda %1,75 oranında iken sırasıyla P5, P10 ve P30 gruplarında, %1,60; %1,25; %1,10 oranında bulunmuştur. Depolama süresi sonunda ise tüm gruplarda azalış eğilimi gözlemlenmekle birlikte P0 grubunda ki azalışın P5, P10 ve P30 gruplarına göre daha yüksek oranda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Dokosaheksaenoik asit ise deneme başında P0 grubunda %3,05 oranında iken sırasıyla P5, P10 ve P30 gruplarında, %2,81; %1,99; %1,82 oranında bulunmuştur. Depolama süresi sonunda, P0 grubunda ki azalışın P5, P10 ve P30 gruplarına göre daha yüksek oranda gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Toplam çoklu doymamış yağ asiti miktarına bakıldığında, depolama süresi sonunda P0 ve P10 grupları için bir azalış eğilimi tespit edilirken, P5 ve P10 grupları için bir artış eğilimi tespit edilmiştir. Bununla birlikte veri sayısı yetersiz olduğundan, yağ asitleri için yapılan tüm değerlendirmeler; gruplar özelinde ve zamana bağlı olarak istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

4.1.3 Yemde Gruplar Arası Mikrobiyolojik Değişimler

Tablo 4.7'de mikrobiyolojik analizler sonucu oluşan koloniler yer almaktadır. Depolama süresi sonunda gruplar arası karşılaştırmalar için yapılan ekimler neticesinde, sayılabilir maya ve küf gelişimi gözlenememiştir. Değerler 10^6 kob/g'ın

altında tespit edilmiştir. Bu değer Feed Safety Assurance tarafından sınır değer olarak bildirilmiştir (FSA, 2019). Yine aynı şekilde toplam mezofilik aerobik bakteri ekimi sonucunda mikroorganizma gelişimi tespit edilmemiştir.

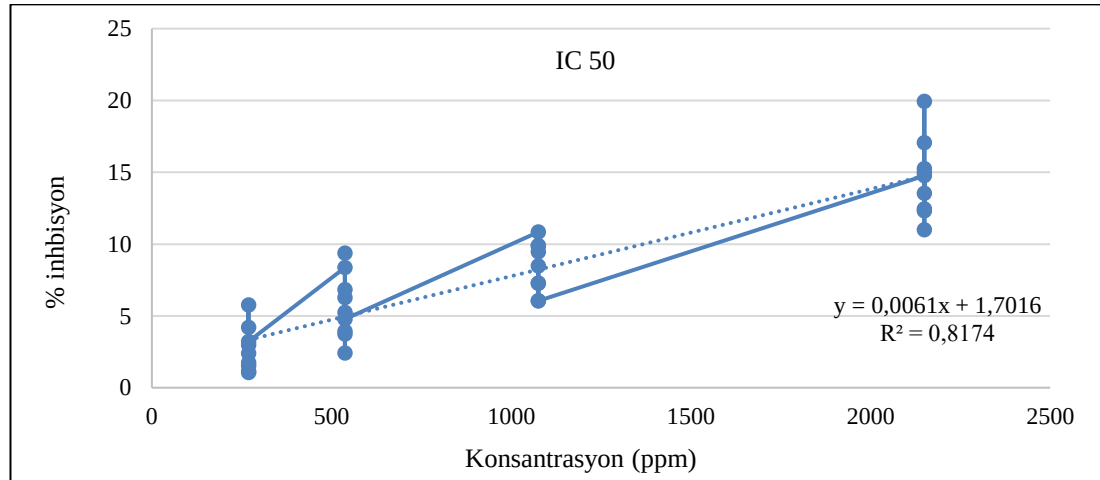
Tablo 4.7 Deneysel yemlerle yapılan mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyoloji (kob/g)	Maya	Küf	Mezofilik Aerobik Bakteri
P0	$< 10^6$	$< 10^6$	TE
P5	$< 10^6$	$< 10^6$	TE
P10	$< 10^6$	$< 10^6$	TE
P30	$< 10^6$	$< 10^6$	TE

TE: Tespit edilemedi

4.1.4 Portakal Kabuğu Uçucu Yağında Antioksidan Aktivite

Şekil 4.5’de çalışmada kullanılan portakal kabuğu uçucu yağının antioksidan aktivitesinin grafiği verilmiştir. Regresyon analizi ile R^2 değeri belirlenmiş ve IC50 değerinin hesaplanması için formül oluşturulmuştur.



Şekil 4.5 Portakal kabuğu uçucu yağında % inhibisyon

Portakal kabuğu uçucu yağı antioksidan aktivite analizi sonucunda PKUY’un DPPH radikaline karşı süpürücü aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda konsantrasyona bağlı olarak radikal süpürücü aktivitenin arttığı gözlemlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında, formül yardımı ile IC 50 değeri hesaplanmış ve 7,9 g L⁻¹ olarak bulunmuştur.

4.1.5 Yem Örneklerinin Yağ Oksidasyon Seviyesi Değişimleri

Tablo 4.8 ve Şekil 4.6’de çalışma süresince yemlerde tespit edilen antioksidan aktivite düzeyleri verilmiştir. Yapılan çalışmada antioksidan aktivite kapasitesinin zamana bağlı olarak azalış eğilimi gösterdiği tespit edilmiştir.

Tablo 4.8 Gruplar arasında ve içinde antioksidan aktivite düzeyleri

% inhibisyon	P0 grubu (n=8)	P5 grubu (n=8)	P10 grubu (n=8)	P30 grubu (n=8)	Total (n=32)	p ¹
0.gün	19,38±4,61 (19,5)	22,27±9,59 (20,1)	22,1±10,94 (17,7)	19,05±3,26 (18,2)	20,7±7,57 (18,9)	0,952
15.gün	12,24±1,92 (12,7)	15,6±4,6 (14,9)	16,35±4,64 (16)	15,63±4,11 (13,9)	14,95±4,11 (13,5)	0,133
30.gün	7,96±2,78 (7)	10,77±3,12 (9,7)	11±4,04 (10,6)	11,9±3,34 (11,1)	10,41±3,52 (10,2)	0,101
45.gün	7,7±2,18 (7,8)	8,86±2,18 (8,5)	9,4±1,6 (9,6)	11,63±1,29 (11,7)	9,4±2,28 (9,5)	0,003*
60.gün	2,84±2,68 (2,3)	3,51±1,9 (3,7)	4,51±1,61 (4,8)	6,43±2,65 (5,6)	4,32±2,55 (4,5)	0,049*
p²	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	
0.-15.gün p³	0,021*	0,021*	0,326	0,093	0,000*	
0.-30.gün p³	0,012*	0,012*	0,012*	0,012*	0,000*	
0.-45.gün p³	0,012*	0,012*	0,012*	0,012*	0,000*	
0.-60.gün p³	0,012*	0,012*	0,012*	0,012*	0,000*	
15.-30.gün p³	0,012*	0,017*	0,069	0,036*	0,000*	
15.-45.gün p³	0,017*	0,025*	0,012*	0,036*	0,000*	
15.-60.gün p³	0,012*	0,012*	0,012*	0,012*	0,000*	
30.-45.gün p³	0,889	0,327	0,484	0,674	0,369	
30.-60.gün p³	0,036*	0,012*	0,012*	0,017*	0,000*	
45.-60.gün p³	0,012*	0,012*	0,012*	0,017*	0,000*	

¹Kruskal Wallis Test

²Friedman Test

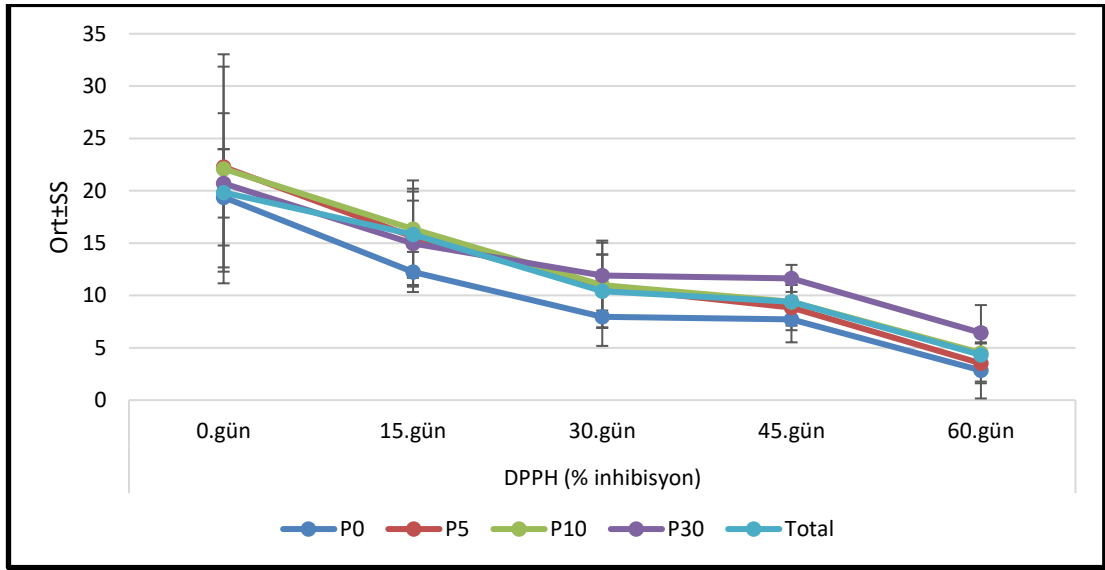
³Wilcoxon Sign Test

*p<0,05

P0: %0; P5: %0,5; P10: %1; P30: %3 miktarında portakal kabuğu uçucu yağı ilave edilen yemler

Yapılan analizler sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, gruplar arasında 0, 15 ve 30’uncu gün % inhibisyon değerleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ancak gruplar arasında 45 ve 60’uncu gün % inhibisyon değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$). Değerler açısından, 45’inci günde gruplar arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda istatistiksel farklılığın P30 grubu inhibisyon değeri olan %11,63’ün, sırasıyla P0 ve P5 gruplarının inhibisyon değerleri olan %7,7 ve %8,86 anlamlı düzeyde yüksek bulunmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir ($p:0,003$; $p:0,031$; ($p<0,05$)). Gruplar arasında 60’uncu gün % inhibisyon değerleri açısından yapılan ikili karşılaştırmalar sonucunda ise P30 grubu inhibisyon değeri olan %6,43’ün, sırasıyla P0 ve P5 grupları % inhibisyon değerleri olan 2,84 ve 3,51’den

anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p:0,027$; $p:0,021$; ($p<0,05$)). Diğer gruplar arasında 45'inci ve 60'uncu gün % inhibisyon değerlerinde ise anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$). Depolama süresince belirli periyotlarda yapılan analiz sonuçları 30'uncu günden itibaren antioksidan kapasitenin konsantrasyona bağlı olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. Depolama süresi sonunda en yüksek antioksidan kapasiteyi P30 (%6,43) grubu gösterirken, en düşük antioksidan kapasiteyi ise kontrol grubu olan P0 (%2,84) grubu göstermiştir.



Şekil 4.6 % inhibisyon değerleri

Gruplar içinde zamana bağlı olarak % inhibisyon miktarları değerlendirilmiş ve tüm gruplarda 0, 15, 30 ve 45'inci gün % inhibisyon düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir ($p:0,000$; $p<0,05$). Aşağıda yer alan P değerleri sırasıyla Dunn testi yardımı ile yapılan ikili karşılaştırmaların sonuçlarını temsil etmektedir. P0 grubunun 0'ıncı gün % inhibisyon değerlerine göre diğer periyotlarda yapılan analizlerde elde edilen % inhibisyon değerleri anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p:0,021$; $p:0,012$; $p:0,012$; $p:0,012$; ($p<0,05$)). Aynı şekilde 15'inci gün değerlerine göre diğer periyotlar anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p:0,012$; $p:0,017$; $p:0,012$; ($p<0,05$)). Diğer bir periyot 30'uncu gün ile 45'inci gün arasında anlamlı değişim görülmezken ($p>0,05$), 60'uncu günde yaşanan değişim anlamlı bulunmuştur ($p:0,036$; $p<0,05$). Son olarak 45'inci güne göre depolama süresi sonunda yaşanan düşüş eğiliminde ki farkda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p:0,012$; $p<0,05$). Diğer gruplar için yapılan ikili karşılaştırmalarda; P5 grubu için

0'ıncı gün ve diğer periyotlar arasında ki farklar anlamlı bulunmuştur ($p:0,021$; $p:0,012$; $p:0,012$; $p:0,012$; ($p<0,05$)). P10 ve P30 grubu için 0 ile 15'inci gün arasında anlamlı düşüş yaşanmazken ($p>0,05$), diğer günlerde yaşanan düşüşler ($p:0,012$; $p<0,05$) anlamlı bulunmuştur. Bir diğer periyot olan 15'inci gün % inhibisyon değerleri ile diğer günler arasındaki değişimler incelendiğinde P5 ($p:0,017$; $p:0,025$; $p:0,012$) ve P30 gruplarında ($p:0,036$; $p:0,036$; $p:0,012$) diğer günler arasında yaşanan düşüşler anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($p<0,05$). P10 grubunda ise 30'uncu gün % inhibisyon değerlerinde anlamlı değişim görülmezken ($p>0,05$), 45 ve 60'ıncı gün % inhibisyon değerlerinde görülen düşüşler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p:0,012$; $p<0,05$). P0 grubunda olduğu gibi diğer gruplarda da 30 ve 45'inci günler arasında ki düşüşler anlamlı olmazken, 30 ve 60'ıncı günler arasında ki düşüşler P5 ($p:0,012$), P10 ($p:0,012$) ve P30 ($p:0,017$) grupları için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Son olarak diğer gruplarda da 45'inci güne göre depolama süresi sonunda yaşanan düşüş eğilimindeki fark P5 ($p:0,012$), P10 ($p:0,012$) ve P30 ($p:0,017$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Zamana bağlı olarak antioksidan kapasitedeki değişimler incelendiğinde 0'ıncı günde tüm gruplarda en yüksek % antioksidan kapasite görülürken (19,38; 22,27; 21,10; 19,05), depolama süresi sonunda tüm gruplarda daha düşük düzeyde antioksidan kapasite (2,84; 3,51; 4,51; 6,43) tespit edilmiştir. Son olarak elde edilen tüm veriler ışığında, zamana bağlı olarak yemde antioksidan kapasitenin tüm gruplar için azaldığı, ancak PKUY ilaveli gruplarda konsantrasyona bağlı olarak koruyuculuğun P0 grubuna göre daha yüksek olduğu ve 45 ve 60'ıncı günlerde bu koruyuculuğun istatistiksel olarakta anlam kazandığı tespit edilmiştir.

Portakal kabuğu uçucu yağı ilavesi ile oluşturulan yemlerin zamana bağlı oksidasyon seviyesi değişimlerini belirlemek için yapılan analizlerden, peroksit sayısı için elde edilen veriler Tablo 4.9 ve Şekil 4.7'da gösterilmektedir. Veriler incelendiğinde tüm gruplar arasında zamana bağlı olarak peroksit sayısı değerlerinde bir artış eğilimi olduğu gözlemlenmiştir ancak gruplar arasında yapılan istatistiksel analizler sonucu 0, 15 ve 30'uncu günlerde peroksit sayısı değerleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Bununla birlikte yapılan analizler gruplar arasında 45'inci gün ve 60'ıncı gün peroksit değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermiştir ($p<0,05$).

Tablo 4.9 Gruplar arasında ve içinde peroksit sayısı düzeyleri

Peroksit sayısı (meq O ₂ /kg)	P0 grubu (n=3)	P5 grubu (n=3)	P10 (n=3)	P30 (n=3)	Total (n=12)	p ¹
0.gün	1,8±0,54 (1,5)	1,42±0,09 (1,4)	1,23±0,22 (1,2)	2,34±0,25 (2,3)	1,7±0,52 (1,5)	0,057
15.gün	1,91±0,61 (1,9)	2,27±0,64 (1,9)	2,43±0,53 (2,2)	4,28±1,55 (5,2)	2,72±1,25 (2,3)	0,183
30.gün	3,48±1,24 (3,6)	3,71±1,32 (4,4)	4,97±1,55 (5,8)	6,66±3,8 (8,2)	4,71±2,32 (4,5)	0,442
45.gün	15,61±3,99 (15,4)	11,75±3,96 (11,6)	9,19±2,19 (8)	3,89±3,9 (3,9)	10,11±5,4 (9,8)	0,041*
60.gün	33±2,51 (34,3)	29,18±3,23 (28,9)	19,59±2,29 (20)	17,46±4,39 (19,8)	24,81±7,29 (23,9)	0,029*
p ²	0,022*	0,017*	0,017*	0,066	0,000*	
0.-15.gün p ³	0,593	0,109	0,109	-	0,004*	
0.-30.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,002*	
0.-45.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,004*	
0.-60.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,002*	
15.-30.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,015*	
15.-45.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,006*	
15.-60.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,002*	
30.-45.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,023*	
30.-60.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,002*	
45.-60.gün p ³	0,109	0,109	0,109	-	0,002*	

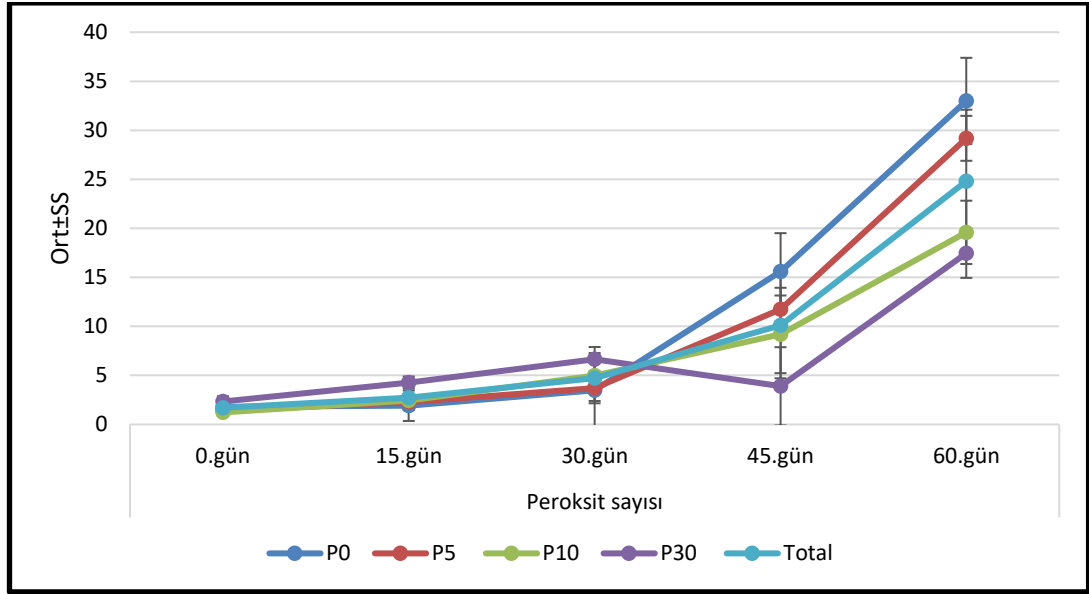
¹Kruskal Wallis Test²Friedman Test³Wilcoxon Sign Test

*p<0,05

P0: ‰0; P5: ‰0,5; P10: ‰1; P30: ‰3 miktarında portakal kabuğu uçucu yağı ilave edilen yemler

Yapılan ikili karşılaştırmalarla 45'inci günde P30 grubu peroksit sayısı değeri olan 3,89 meq O₂/kg, P0 grubu peroksit sayısı değeri 15,61 meq O₂/kg anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0,028$; $p<0,05$). Yine 60'ıncı günde ikili karşılaştırmalar gerçekleştirilmiş ve P0 grubu peroksit sayısı değeri 33 meq O₂/kg, P30 peroksit sayısı değeri 17,46 meq O₂/kg ve P10 peroksit sayısı değeri 19,59 meq O₂/kg anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p_1=0,009$; $p_2=0,024$; $p<0,05$). Diğer gruplar arasında 45 ve 60'ıncı gün peroksit değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Depolama süresi sonunda ise en düşük peroksit sayısı değeri P30 (17,46 meq O₂/kg) grubunda tespit edilirken, en yüksek peroksit sayısı değeri kontrol grubu olan P0 (33 meq O₂/kg) grubunda tespit edilmiştir.

Veriler zamana bağlı olarak gruplar içinde incelendiğinde ise P0, P5 ve P10 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Aşağıda sırayla verilen P değerleri, farklılığın hangi zamandan kaynaklandığını tespit etmek için yapılan Dunn testi sonuçlarını temsil etmektedir.



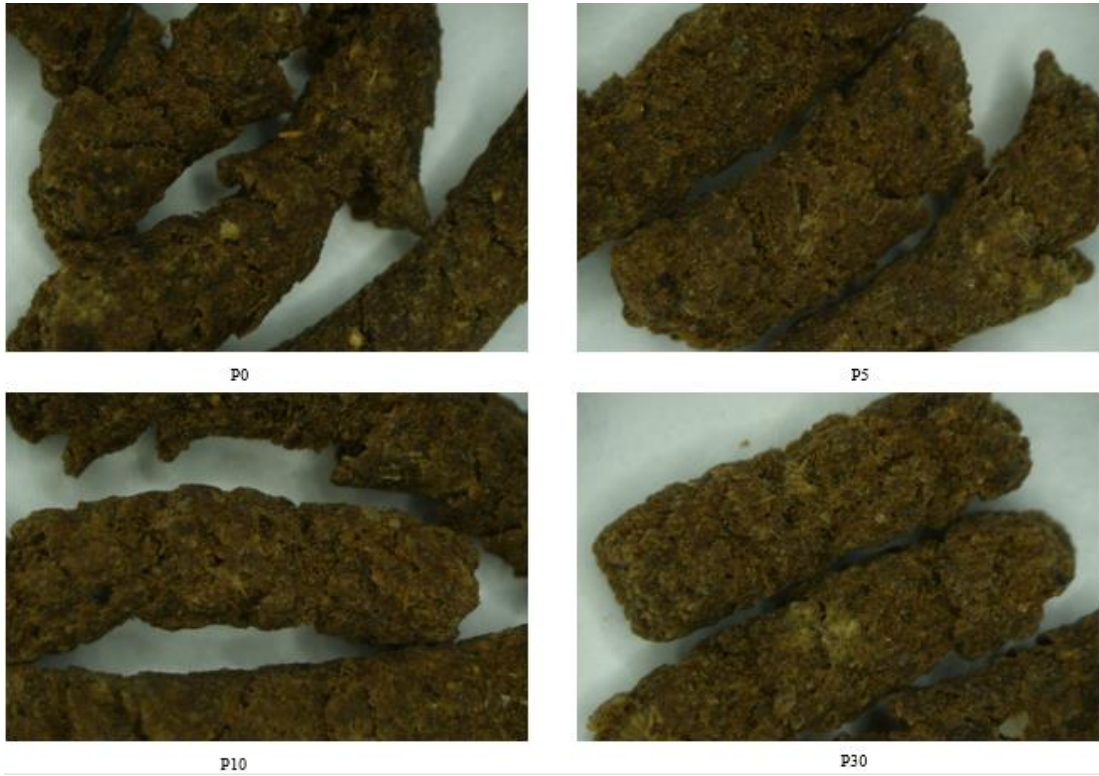
Şekil 4.7 Peroksit sayısı değerleri

Yapılan ikili karşılatırmalar sonucunda ise 0'ıncı gün peroksit sayısı değerlerine göre 15, 30 ve 45'inci günlerde, 15'inci gün peroksit sayısı değerlerine göre 30 ve 45'inci günlerde ve son olarak 30'uncu gün peroksit sayısı değerlerine göre 45'inci gün peroksit sayısı değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$). Tekerrür ve paralel sayısı artılarak farklılığın hangi zamandan kaynaklandığının daha kesin sonucuna ulaşılabilir. Diğer grubumuz olan P30 grubunda, grup içi yapılan karşılatırmalarda ise 0, 15, 30 ve 45'inci gün peroksit sayısı düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Zamana bağlı olarak 0'ıncı günde en düşük peroksit sayısı değerleri (1,8; 1,42; 1,23; 2,34 meq O₂/kg) tespit edilirken, en yüksek peroksit sayısı değerleri (33; 29,18; 19,59; 17,46 meq O₂/kg) ise depolama süresi sonunda tespit edilmiştir. Sonuç olarak gruplar içinde zamana bağlı olarak peroksit sayısı değerleri tüm gruplarda artarken, gruplar arasında PKUY konsantrasyonuna bağlı olarak peroksit sayısı değerlerinin kontrol grubu olan P0 grubuna göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık 45'inci ve 60'ıncı günlerde gruplar arasında, P0, P5 ve P10 gruplarında ise grup içinde istatistiksel olarakta anlamlılık kazanmıştır ($p<0,05$). Depolama süresi sonunda gruplar arasında yapılan karşılatırmalarda maksimum peroksit sayısı değeri kontrol grubu olan P0 grubunda tespit edilirken, minumum peroksit sayısı değeri ise P30 grubunda tespit edilmiştir. Depolama süresi boyunca peroksit oluşumunun arttığı

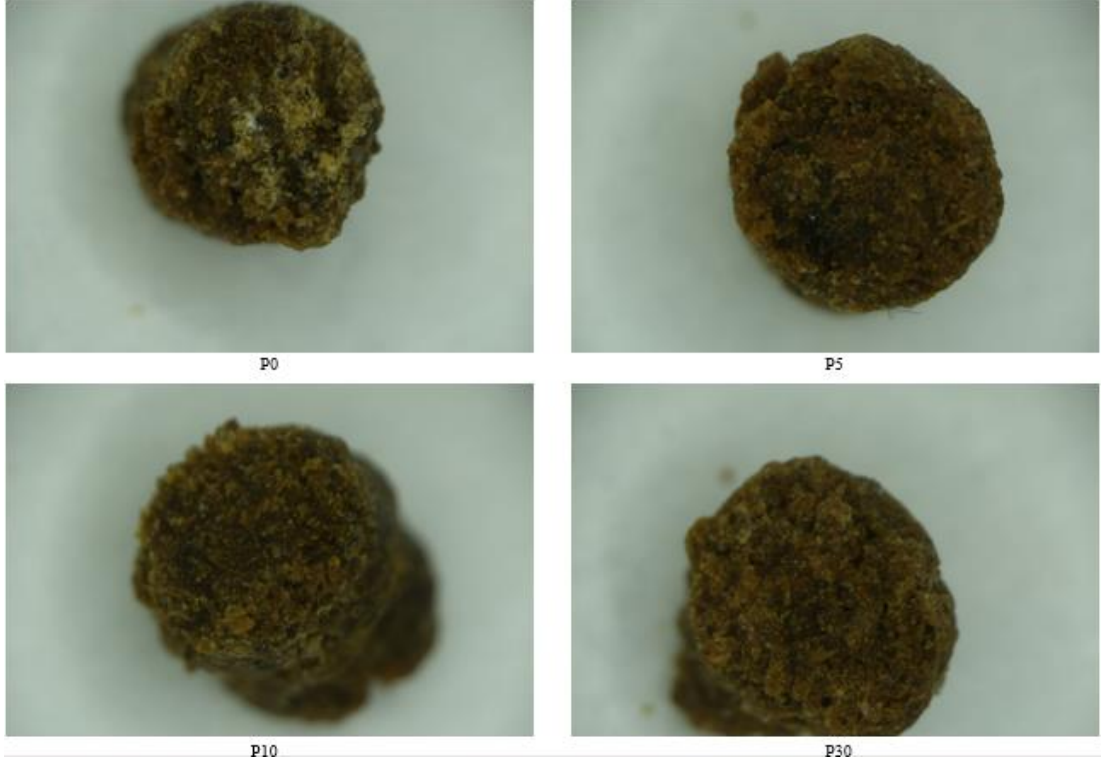
gözlemlenmiş olup, deneysel yemlerde oksidasyonun ilave edilen uçucu yağın konsantrasyonuna bağlı olarak engellendiği tespit edilmiştir.

4.1.6 Yemde Gruplar Arası Yapısal Analizler

Depolama süresi sonunda yem gruplarından tam şansa dayalı yöntemle örnekler seçilmiş ve sterio mikroskop altında incelenmiştir. Yem peletlerinin sterio mikroskop altında genel ve iç görüntüsü Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da verilmiştir. Deneysel yemlerin genel ve iç görünüşün, sterio mikroskop altında yapılan incelemeleri sonucunda kayda değer bir değişime rastlanmamıştır. Yemlere ilave edilen portakal kabuğu uçucu yağının yemlerin yapısal özellikleri üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.8 Yem peletlerinin sterio mikroskop altında genel görüntüsü (8x)



Şekil 4.9 Yem peletlerinin sterio mikroskop altında iç kesit görüntüsü (15x)

4.2 Tartışma

Turunçgil uçucu yağlarının bileşimi çeşitlilik, mevsimsellik, coğrafi köken ve meyvenin olgunluğu gibi faktörlere bağlı olarak değişir. Bununla beraber birkaç ortak özellik ana hatlarıyla birbirine benzerlik gösterebilir (Ruiz ve Flotats, 2014). Uçucu yağın ortak özelliklerinin tespiti için öncelikle bileşiminin belirlenebilmesi gerekmektedir. Bileşenlerin tespiti ise en basit haliyle iki aşamada gerçekleştirilir. Öncelikle uçucu yağın çeşitli yöntemlerle üründen ekstrakte edilmesi ve daha sonra ise ekstrakte edilen yağın kimyasal bileşiminin tanımlanması gerekir. Birçok çalışma da portakal kabuğu uçucu yağı (PKUY) için bu iki aşama gerçekleştirilmiş olup yaptığımız çalışmada da portakal kabuğunun iki aşamalı incelemesi gerçekleştirilmiştir (Espina vd. 2011; Moufida ve Marzouk, 2003; Velázquez-Nuñez vd. 2013).

Uçucu yağın elde edilmesi için çeşitli yöntemler mevcuttur. Bunlar temelde; distilasyon (buhar, vakum ve hidro), ekstraksiyon (geleneksel ve modern) ve mekanik yöntem (presleme) olarak sıralanabilir (Kılıç, 2008). Gıda endüstrisinde ise yaygın

olarak soğuk pres, hidro distilasyon ve buhar distilasyonun yöntemleri en yaygın uçucu yağ ekstraksiyon yöntemleri olarak bilinir. Narenciye uçucu yağları ise endüstriyel olarak genellikle soğuk presleme yöntemi ile elde edilirler. Bununla beraber özellikle laboratuvar ölçekli yapılan çalışmalarda hidrodistilasyon oldukça yaygın kullanılan yöntemler arasındadır (Gavahian vd. 2019). Uçucu yağların kimyasal bileşiminin (kalitatif) tespiti için kullanılan en yaygın analitik yöntem GC-MS yöntemidir. Son dönemde yapılan çalışmalarla çeşitli alternatifler de üretilmektedir. Bunlara örnek olarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) verilebilir ancak literatürde HPLC ile yapılan uçucu yağ analizlerine ilişkin az sayıda çalışma bulunmaktadır (Smelcerovic, 2013). GC-MS yönteminin çalışmalar ise literatürde daha fazla bulunmaktadır (Acar vd. 2015; Bourgou vd. 2012; Espina vd. 2011; Ferhat vd. 2006; Kirbaslar ve Kirbaslar, 2003; Radan vd. 2018; Velázquez-Nuñez vd. 2013). Mevcut çalışmamızda ise PKUY Clevenger düzeneği (Şekil 3.4) yardımıyla hidro distilasyon yöntemi ile kabuklardan ekstrakte edilmiş ve daha sonra QP 2010; Shimadzu marka GC-MS cihazı ile kantitatif analizi yapılarak kimyasal bileşimi belirlenmiştir. Yağın ekstraksiyonu ve kimyasal bileşiminin tanımlanması için kullanılan yöntem literatürde verilen yöntemlerle benzerlik göstermektedir. GC-MS analizi sonunda çalışmada kullanılmak için belirlenen PKUY'in tanımlanabilen uçucu bileşenleri (Tablo 4.1) bulgular kısmında verilmiştir. Analiz sonucunda miktarı %1 ve üzeri olan toplam 14 bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenler toplam yağın %91,9'luk kısmını ve geri kalan miktarı %1 ve altında olan bileşenler ise %8,1 lik kısmını oluşturmuştur. Yapılan GC-MS analizi sonucunda bileşenlerin %100'üde tespit edilmiştir. Elde edilen veriler ışığında en yüksek konsantrasyondaki bileşenin %59,27'lik bir oranla D-limonen olduğu belirlenmiştir. Tanımlanan diğer bileşenler arasında linalool (%6,04); oktanal (%3,07); mirsen (%2,91); Δ^3 -karmen (2,74); β -mirsen (2,71) gibi bileşenlerde yer almaktadır. PKUY ile ilgili daha öncesinde yapılan çalışmalarda elde edilen içerik incelendiğinde; Velázquez-Nuñez vd. 2013 yılında yaptıkları çalışmada D-limonen oranını %96,62 olarak tespit ettiğini bildirmişlerdir. Espina vd. 2011 yılında portakal kabuğundan ekstrakte ettikleri yağda D-limonen oranını %85,5 olarak bulmuştur. Bir diğer çalışmada ise Orta Doğu Sicilya bölgesinden elde edilen 12 farklı Citrus Sinensis çeşidinin yağları ekstrakte edilerek incelenmiş ve inceleme sonucunda D-limonen oranları %73,9-%97 arasında değişkenlik göstermiştir (Geraci vd. 2017). Yukarıda verilen örneklerde olduğu gibi portakal kabuğunu farklı amaçlarla kullanan

Çalışmaların bazılarında portakal kabuğu içeriği benzer yöntemlerle analiz edilmiş ve yapılan analizler neticesinde yağın majör bileşeninin D-limonen olduğu rapor edilmiştir (Acar vd. 2015; Duman ve Amir, 2016; Martins vd. 2017; Moufida, ve Marzouk, 2003; Pino vd. 1992). PKUY zerine yapılan araştırmalar neticesinde ortaklık gösteren majör parametre, D-limonenin majör bileşen olduğudur. Yapmış olduğumuz çalışmada da majör bileşen olarak D-limonen bulunmuştur. Bununla birlikte D-limonen ve diğer bileşenlerinin miktarının ve çeşitlerinin farklılık göstermesini etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar çeşitli referanslarda belirlenmiştir. Guo vd. (2018) iki farklı yöntemle (soğuk pres ve moleküler damıtma) PKUY’u ekstrakte etmiş ve bu çalışma sonucunda soğuk preslenmiş uçucu yağ ve moleküler damıtma ile elde edilen yağda sırasıyla 27 ve 20 kimyasal bileşen tanımlanmıştır. Limonen, soğuk preslenmiş uçucu yağın %85,32'sini ve moleküler damıtma ile elde edilen yağın %60,44’n oluşturan ana bileşen olarak belirlenmiştir. Ayala vd. (2017) Meksika ve Amerika’dan temin ettikleri portakalların kabuklarından uçucu yağ eldesi için farklı yöntemler kullanmışlardır ve bu yöntemlerle elde ettikleri sonuçlarla hem yöntemden hem de ürünün temin edildiği bölgeden kaynaklı farklılıklar tespit edilmiştir. Aynı alışmada Kolombiya, Tunus, Yunanistan, Venezuela, Almanya ve İşpanya’dan temin edilen portakalların kimyasal karakterizasyonları verilmiş ve portakalların elde edildiği bölgeye göre farklı çeşitte ve oranda bileşenlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada ise Citrus ailesinin bir diğer yesi olan acı portakal (*Citrus aurantium L.*) 3 farklı dönemde hasat edilmiş ve olgunlaşma derecesinin kimyasal karakterizasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonunda, en iyi limonen seviyesine 3. aşamada ulaşıldığı tespit edilmiştir (%93,47). Aşamada 1’in ise meyvenin linalool, mirsen ve α -terpineol için en iyi hasat dönemi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca 1. aşamadaki uçucu maddenin %100’n temsil eden toplam 31 bileşik, 2. aşamada uçucu maddenin %99,75’ini temsil eden 22 bileşik ve 3. aşamada uçucu maddenin %99,57’sini temsil eden 24 bileşik tespit edilmiştir. Bu çalışmayla yağların kimyasal bileşimlerinin olgunlaşma sırasında değiştiği tespit edilmiştir (Rowshan ve Najafian, 2015). Yukarıda verilen referanslar ve güncel çalışma dikkate alındığında portakal kabuğundan elde edilen yağın uçucu bileşen içeriğinde ki değişikliklerin; ekstraksiyon yöntemine, ürünün hasat edildiği dönemdeki olgunluk derecesine, ürünün toplandığı iklim ve coğrafi koşullara bağlı olarak değişiklik gösterebileceği neticesine varılmıştır. Çalışmada elde edilen bileşen

miktarındaki farklılıkların da yukarıda bahsedilen faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebileceği düşünülmektedir.

Depolamanın hiçbir zaman yem kalitesini artırmayacağı ancak uygun koşullarda depolamanın yemin kalitesinin korumasında ve raf ömrünün uzamasında etkili olacağı bilinmektedir. Yapılan çalışmada PKUY ilavesinin Alabalık Yemleri Raf Ömrü Üzerine etkilerinin anlaşılması için, yemin kalitesinin değerlendirildiği çeşitli analizler yapılmış ve bu analizler sonucu elde edilen veriler ışığında bir kısım çıkarımlar elde edilmiştir.

Çalışmamız için yapılan ilk besin madde analizi yemin ham kül analizidir. Kül terimi organik maddenin tamamen yakılmasından sonra kalan inorganik kalıntı olarak açıklanabilir (Park ve Bell, 2004). Bununla birlikte gıdanın kül içeriği gıdada bulunan toplam mineral miktarının bir ölçüsü olarak da ifade edilebilir. Kül içeriği gıdanın; besin kalitesini, mikrobiyolojik kararlılığını, işlenebilirliği gibi özelliklerini etkilemektedir. Bu nedenle besin madde analizleri açısından gıdanın kül içeriğinin belirlenmesinde önem arz etmektedir (URL-6, 2021). Mevcut çalışmada % kül düzeyleri (Tablo 4.2) zamana bağlı olarak gruplar arasında ve içinde değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonunda gruplar arasında ve içinde % kül değerlerinin korunduğu ve istatistiki olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Tüm gruplar için 0'ıncı günde % kül değerleri 7,95-8,97 arasında değişmiştir. Depolama süresi sonunda ise tüm gruplarda % kül düzeyleri 8,45-8,9 arasında tespit edilmiştir. Literatür incelendiğinde balık yemlerinin depolanması sırasında yemde ki kül değişimlerinin değerlendirildiği sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır. Bunlardan biride Hossen vd. (2011) yaptığı çalışmadır. Çalışmada 60 gün süreyle üç farklı ticari balık yemi depolanarak, sıcaklık ve depolama süresinin yemler üzerinde ki etkisi incelenmiştir. Oda sıcaklığında depolanan yemlerin besin değerleri 15 günlük periyotlarla ölçülmüştür. Yemlerin kül değerleri deneme başında %16,13; %14,41 ve %17,05 olarak ölçülmüştür. Depolama süresi sonunda ise kül düzeylerinde azalışlar olmakla birlikte anlamlı bir değişiklik yaşanmadığı tespit edilmiştir. Literatür ile mevcut çalışmamız karşılaştırıldığında; çalışmalar depolama süresi ve depolanma sıcaklıkları açısından benzerlik göstermiştir. Depolama süresi boyunca iki çalışmada da kül değerlerinin korunduğu görülmektedir. Kül değerlerindeki miktar

farklılıklarının rasyondan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Mevcut çalışmamızda depolama süresi sonunda kül değerlerinde anlamlı bir değişiklik olmamasına karşın, artış eğilimlerinin yaşandığı tespit edilmiştir. Bu durumun yemin nem değeri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. İki çalışmada da depolama süresinin kül değerleri üzerinde etkisinin olmadığı gözlemlenmiş ve çalışmamızın literatür ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çalışmamızdaki yemlerin nem değerleri 60 gün süreyle 30 günlük periyotlarla ölçülmüştür. Deneysel yemlerin % nem düzeyleri (Tablo 4.3) zamana bağlı olarak gruplar arasında ve içinde değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonunda gruplar arasında istatistiki bir anlamlılık tespit edilememiştir. Bununla beraber tüm gruplarda, grup içinde % nem değerlerinde bir azalma eğilimi olmakla beraber, bu azalmada istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Tüm gruplar için 0'ıncı günde % nem değerleri 8,97-10,15 değerleri arasında değişmiştir. 60 günlük depolama süresi sonunda ise tüm gruplarda % nem düzeyleri 7,78-7,89 arasında kalmıştır. Yine Hossen vd. (2011) yılında yaptığı çalışmada yemlerin nem değerleride ölçülmüş ve deneme başında %11,34; %11,84 ve %11,96 olarak belirlenmiştir. Mevcut çalışmamızdan farklı olarak nem değerlerinde depolama süresi sonunda artış eğilimi meydana gelmiştir ancak mevcut çalışmamızda da olduğu gibi bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. İki çalışmada saklama sıcaklıkları ve depolama süreleri benzerlik göstermektedir, çalışmamızda nem değerlerindeki azalış eğiliminin ortamın bağıl nemi ile yemin nemi arasındaki ilişkiden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Balık yemlerinde kalite parametrelerinin korunması için balık yeminin belirli sınırlar içinde nem düzeyini koruması gerektiği de bilinmektedir. Kuru balık yemlerinde nem düzeyi %10'u aşarsa yemin muhafazasının zorlaşacağı ve % nem değerlerinin hammadde ve son üründe %14,5-15,5'i geçmesi halinde ise ortamda mikroorganizmaların oluşacağı literatürde bildirilmiştir (Kop ve Korkut, URL-5, 2003). Aynı zamanda gıdaların kül içeriği gıdaya göre değişmekle birlikte kül ve nem arasında ters bir ilişki olduğuda söylenebilir. Gıdanın kül içeriği kuru madde içeriğinin bir parçasını oluşturmaktadır ve nem değerlerinde ki azalış, yem içinde ki kül miktarının % olarak artışına neden olacaktır. Çalışmada elde edilen nem ve kül verileride bu açıdan benzer bir eğilim göstermektedir. Tüm bu veriler ışığında

koruyucu katkı maddesi olarak kattığımız PKUY'un yemin nem düzeyi ve kül düzeyi üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı, tüm gruplarda nem düzeyinin optimal sınırlar içinde korunduğu, kül ve nem değerlerinde depolama süresi boyunca anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.

Balık yemleri için bir diğer önemli konu protein içeriğidir. Ticari balık yemleri farklı oranlarda protein içermektedir (Hossen vd. 2011). Balığın diyetteki protein gereksinimi türe göre değişiklik gösteren bir konu olduğundan, farklı balık türleri için farklı rasyonlar hazırlanmaktadır. Çalışmamıza konu olan alabalık karnivor türü balıklar grubundadır ve yapılan literatür araştırmasında edinilen bilgilere göre de karnivor türü balıklar için yemlerde protein oranı %40-55 olarak önerilmektedir (Hoşsu vd. 2012). Çalışmamızda deneysel yemlerin, % protein düzeyleri arasında rakamsal olarak bir azalış eğilimi olmakla beraber (Tablo 4.4) zamana bağlı olarak gruplar arasında ve içinde yapılan değerlendirmelerde istatistiki olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Tüm gruplar için 0'ıncı gün % protein değerleri 48,53-48,66 arasında değişmiştir, 60 günlük depolama süresi sonunda ise tüm gruplarda % protein değerleri 40,34-41,79 arasında tespit edilmiştir. Literatür incelendiğinde Solomon vd. (2016) yaptıkları çalışmada 3 ticari balık yemini, üç farklı ortamda depolamışlar ve 6 aylık depolama süresi sonunda meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Yemlerin protein değerlerinin çevresel koşulların etkilediğini ve depolama süresi ile protein değerleri arasında ters orantı olduğunu bildirmişlerdir. Hossen vd. (2011) nem ve kül değerlerini inceledikleri çalışmada protein değerlerini incelemişlerdir. Deneme başında üç farklı yem için protein değerlerini %23,89; %24,70 ve %29,10 olarak bildirmişlerdir. 60 günlük depolama süresi sonunda tüm yemlerde ham protein içeriği azalmış, oda sıcaklığında sırasıyla %21,64; %21,29 ve %23,72 olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışma ve literatürde bildirilen çalışmalarda depolama süresi ile protein içeriğinin ters orantılı olduğu görülmektedir. Çalışmamızda yemlerde yaşanan protein kayıpları depolama süresi boyunca arttığından bu açıdan literatür ile benzerlik göstermektedir. Hossen vd. (2011) yılında yaptıkları çalışmada yer alan yemlerin protein miktarları ve çalışmamızdaki yemlerin protein miktarında ki farklılıkların rasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yine yapılan analizler neticesinde % yağ düzeyleri (Tablo 4.5) zamana bağlı olarak gruplar arasında ve içinde değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonunda gruplar arasında istatistiki bir anlamlılık tespit edilememiştir. Bununla beraber grup içinde % yağ değerlerinde bir azalma eğilimi olmakla beraber, bu azalmada istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Tüm gruplar için 0'ıncı günde % yağ 22,97-23,23 değerleri arasında değişmiştir, 60 günlük depolama süresi sonunda ise tüm gruplarda % yağ düzeyleri 14,75-18,52 arasında tespit edilmiştir. Yapılan literatür araştırmasında yem yağ oranının depolama süresi ile ters orantılı olarak değişim gösterdiği bildirilmiştir (Hossen, 2011). Benzer eğilim yapılan çalışmada da gözlenmiştir. Bir başka çalışmada Eti (2011) alabalık yemlerine sarımsak ve kekik aromatik yağları ilave ederek iki farklı sıcaklıkta, iki ay süre ile depolamıştır. Oda sıcaklığında depolanan yemlerin 1'inci ay sonunda % ham yağ değerleri sırasıyla kontrol, kekik ve sarımsak için 12,49; 12,27 ve 13,58 olarak tespit edilmiş, 2'inci ay sonunda ise sırasıyla; 12,2; 11,78 ve 12,96 olarak bildirilmiştir. Çalışma sonunda yapılan değerlendirmelerde ilave edilen aromatik yağların yemlerin ham yağ değerleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Depolama süresince, anlamlı olmamakla birlikte yağ değerlerinde kayıpların yaşandığıda gözlemlenmiştir. Yaptığımız çalışma ile literatür saklama sıcaklıkları ve türü farklı olmakla birlikte yemlere yapılan yağ ilaveleri açısından benzerlik içerisindedir, iki çalışma da yapılan yağ ilavesinin yemlerin ham yağ değerleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, anlamlı olmamakla birlikte depolama süresi boyunca yağ değerlerinde azalma eğilimleri tespit edilmiştir. Mevcut çalışma ve literatür verileri bu açılardan da örtüşmektedir. Yemlerin yağ miktarlarındaki farklılıkların yemin rasyonundan kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Literatürde bildirilen çalışmalar ve mevcut çalışmamızda yaşanan besin kayıpları üzerinde rasyon, depolama sıcaklığı ve süresi dışında; ışık, oksijen ve nem gibi çevresel faktörlerin etkiside unutulmamalıdır. Yem içindeki birçok organik bileşiğin reaktif ve kararsız olduğu bilinmektedir. Bu nedenle organik bileşikler olumsuz koşullar altında çevresel faktörlerin etkisiyle, denatüre olabilir, oksidasyona uğrayabilirler (Atter vd. 2017). Özellikle oksijen varlığında gerçekleşen oksidasyon sonucu, depolama süresi boyunca yağ değerlerinde besinsel kayıplar oluşabilmektedir. Bununla birlikte yemin nem içeriğinde yaşanacak değişimler oluşabilecek kayıplar

için önemli bir etkidir. Özellikle düşük nemli ve çoklu doymamış yağ asitlerince zengin olan gıdalarda lipoksigenaz enziminin aktivitesi, artan nem içeriği ile etkisini artırabilir özelliğe sahiptir (Özçelik ve Evranuz). Ancak mevcut çalışmamızda nem içeriğinde anlamlı bir değişiklik yaşanmadığından, yaşanan protein kayıplarında oksijen, ışık gibi diğer faktörlerin sebep olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak elde ki tüm veriler, literatür ile yapılan karşılaştırmalar ışığında koruyucu katkı maddesi olarak kattığımız PKUY'un yem protein ve yağ düzeyi üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Balık yemleri için diğer bir önemli konuda yağ asitleridir. Çalışmamıza ait yemlerin yağ asidi bileşimine dayalı değişiklikler bulgular kısmında (Tablo 4.6) verilmiştir. Yağ asidi ihtiyaçlarına göre balık türleri kategorize edilmiş olsalar da bu konuda elde edilmiş kesin veriler bulunmamaktadır. Yapılan araştırmalar balıkların diğer hayvanlara göre n-3 ve n-6 grubu yağ asitlerine daha fazla ihtiyaç duyduğunu göstermektedir (Bayır vd. 2010). Balık yemlerinin oksidasyona uğramasına neden olan yağ asitleride balık yağı içinde yer alan PUFA'lardır (Korkut vd.2007). Bunların en önemlileri n-3 yağ asitleri olan eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA)'dır. Bu yağlar esansiyel yağ asitleridir ayrıca balık yağını ayırt etmek içinde kullanılırlar (Soydan, 2019). Balıkların yağ asidi ihtiyaçları ile ilgili yapılmış çeşitli çalışmalar vardır. Cho ve Covey (1991), yaptıkları çalışmada alabalık türleri için n-3 grubu yağ asitlerinin daha önemli olduğu ve n-6 grubu yağ asitlerine daha az oranda ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir. Alabalık türlerinden olan Gökkuşluğu alabalığı için n-3 grubu yağ asitlerinin elzem olduğunu ve balık yemlerinde %2-3 oranında alfa linoleik asit yâda %1-1,5 oranında EPA ve DHA'ya ihtiyaç duyulduğunu, bununla n-6 grubu yağ asitlerine daha az oranda ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir (Hoşsu vd. 2012). Castell vd. (1972), yaptıkları çalışmada bu oranı kuru ağırlığın %0,7-1 oranında linolenik asit olarak, Takeuchi ve Watanabe (1976) bu oranı kuru ağırlığın %0,4-0,5 EPA ve DHA olarak bildirmişlerdir (NRC, 2011). Yemdeki yağ asidi profilinin balıkların vücutlarında ki lipid kompozisyonunu direk etkilediği literatürde bildirilmiştir. Esansiyel yağ asitlerinin eksikliği durumunda da balıkların büyüme, yemden yararlanma, ölümlerde artış vb. birçok soruna yol açtığı bildirilmiştir (Bayır vd. 2010). Tüm bu referanslar ele alındığında balıklar için esansiyel olan yağ asitlerinin yemlerde yeterli düzeyde bulunmasının elzem olduğu anlaşılmaktadır.

Mevcut çalışmamızda deneysel yemlerin yağ asidi profilleride belirlenmiş ve linoleik asitte artış eğilimi görülmekle beraber, asit düzeyinin korunduğu gözlemlenmiştir. EPA ve DHA'da azalış eğilimi belirlenmiş ancak PKUY ilaveli gruplardaki azalaşın P0 grubuna göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, yağın doymamışlık derecesi arttıkça oksidasyon hızıda artmakta ve oksidasyon ürünleri oluşmaktadır (Başaran, 2016). Tablo 4.6'da görüldüğü üzere P0 grubunda doymamış yağ asidi içeriği diğer deneysel yem gruplarına göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. Literatür incelendiğinde doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunda ortaya çıkan ilk ürünler peroksitler olarak bildirilmiştir (Özden ve Gökoğlu, 1997). Bu nedenle doymamış yağ asitleri ile peroksit sayısı değerleri arasında ters yönlü bir ilişkinin varlığı söylenebilir. Tablo 4.9'da yer alan peroksit sayısı değerlerinde, P0 grubunun verilerine bakıldığında diğer gruplara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Zamana bağlı olarak peroksit değerlerinde artışlar yaşanırken, yağ asitleri bileşiminde ki doymamış yağ asitlerinin miktarının azaldığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte veri sayıları yeterli olmadığı için peroksit sayısı ve doymamış yağ asitleri arasındaki ilişkiye, gruplar özelinde ve istatistiksel anlamda bakılamamıştır. Daha kesin ve anlamlı sonuçlar elde etmek için daha yüksek veri sayıları ile çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

PKUY aynı zamanda antimikrobiyal etkinlik gösterdiği literatürde bildirilmiştir. PKUY'un antimikrobiyal etkinliği üzerine yapılan birçok çalışma literatürde yer almaktadır. Frassinetti vd. (2011) yaptıkları çalışmada portakal uçucu yağının gram (-) ve gram (+) bakteriler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Citrus ailesinden 5 farklı meyvenin uçucu yağlarının kullanıldığı bir çalışmada PKUY'da kullanılmış ve çalışma sonunda PKUY'un tüm konsantrasyonlarında *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum* ve *Penicillium verrucosum* küflerine karşı inhibütör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Viuda vd. 2008). Bir başka çalışmada farklı bölgelerden toplanan portakallardan çıkarılan üç farklı PKUY'un *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerine etkileri incelenmiş ve tüm yağların bu iki bakteri grubuna karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Dikmetaş vd. 2019). Yapılan diğer çalışmalarda PKUY'un gram (-) ve gram (+) bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini desteklemektedir (Geraci vd.2017; Guo vd. 2018; Kırbaşlar vd. 2019). Mevcut çalışmamızda ise depolama süresi sonunda yapılan gruplar arası maya ve küf karşılaştırmalarında, yemlerde

sayılabilir mikroorganizma gelişimi gözlenememiştir, değerler 10^6 kob/g'ın altında tespit edilmiştir. Toplam mezofilik aerobik ekimi sonucunda da mikroorganizma gelişimi tespit edilememiştir. Çalışmamıza ait sonuçlar Tablo 4.7'de yer almaktadır. Bu durumun PKUY'un antimikrobiyel etki göstermiş olduğu bakteri grupları arasında, yemdeki olası bakteri gruplarının yer almamasından kaynaklanabileceği ya da depolama süresinde oluşabilecek muhtemel bakteri grupları için yaptığımız depolamanın süresinin yeterli olmayabileceği ihtimali düşünülmektedir. Bunların yanında mevcut çalışmada deneysel yemlerin nem değerleri %10 ve altında tespit edilmiştir, bu değerler yemde mikroorganizma gelişmesi için gerekli olan kritik nem seviyesinin (%14,5-15,5') altında olduğundan mikroorganizma gelişimi için uygun koşulların oluşmadığıda söylenebilir (Kop ve Korkut, 2002). Nitekim Solomon vd. (2016) yaptıkları çalışmada nemdeki artışın, yemin nem içeriğinin yükselmesine ve bu durumunda yemin mikroorganizma yükünün artmasına sebep olabileceğini bildirmişlerdir. Yemin nem seviyesi mikroorganizma gelişimi açısından kritik bir öneme sahiptir (Kop ve Korkut, 2002).

Yağ içeren besinler için lipid oksidasyonu, kalite bozulmalarının başlıca nedenidir ve ürün kalitesini üzerine olumsuz etkileri vardır. Besinlerdeki oksidatif değişiklikler, kötü tatların gelişmesine, besinlerin ve biyoaktif maddelerin kaybına ve hatta potansiyel olarak toksik bileşiklerin oluşumuna yol açarak, yağları veya yağ içeren besinlerin tüketim için uygunsuz hâle getirir (Shahidi ve Zhong, 2010). Bu nedenle besinler için oksidatif stabilite önemli bir konudur. İşlenme ve depolanma sırasında yağların oksidasyona karşı gösterdiği dirence oksidatif stabilite denir (Can, 2019; Choe ve Min, 2006). Lipitlerin oksidatif stabilitesinin iyileştirilmesi içinse çeşitli yöntemler mevcuttur. Bunlardan biri de besinlere antioksidan ilavesidir. Lipid oksidasyonunu engellemek için besinlere antioksidan ilavesi yıllardır kullanılan en yaygın, en etkili, en ekonomik ve en kolay olan yöntemlerden biri olarak bilinir (Shahidi ve Zhong, 2010) ve bu antioksidanlar, sentetik ve doğal olarak ikiye ayrılmaktadırlar (Gökalp vd. 2002; Kasnak ve Palamutoğlu, 2015). Tarihsel olarak bakıldığında ticari hayvan yemlerine antioksidan ilavesi de aynı amaçla gerçekleştirilmektedir. Lipit oksidasyonu ve buna bağlı oksidatif acılaşmayı önlemek için ticari yemlere antioksidanlar eklenmiştir. Diyetleri çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) açısından zengin içerikli formüle etme eğilimi ise hayvan yemlerinde

antioksidanların kullanımını artırmıştır. PUFA açısından zengin gıdalar ve yemler lipid oksidasyonuna karşı oldukça hassastır (Salami vd. 2016).

Balık yemi üretiminde de PUFA'lar tarafından oldukça zengin olan balık yağı ve balık unu kullanılmaktadır ve bu iki bileşen rasyonun büyük bir oranını oluşturmaktadır. Yapılan çalışmada da benzer bir rasyon kullanılmış olup çalışmaya ait rasyonlar (Tablo 3.1) materyal kısmında verilmiştir. PUFA açısından oldukça zengin olan bu ürünler balık yemini oksidatif stabiliteye karşı duyarlı hâle getirirler (Hamre vd.2010; Korkut vd. 2007; Meriç ve Demir, 2011; Mol, 2008). İstenmeyen bu durumun önüne geçilmesi için balık yemlerine yıllardır çeşitli sentetik antioksidanlar ilave edilmiştir. Balık unu için EQ ve balık yağı için BHT ve BHA en yaygın kullanılan antioksidanlar olarak bilinmektedir (Hamre vd. 2010). Bu antioksidanlar tipik olarak daha ucuz ve oldukça etkin bileşikler olarak bilinirler. Yem maliyetlerini düşürmek amacıyla da yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Deveci vd. 2016; Hermund, 2018; Orhan, 2008). Ancak sağlık riskleri ve toksiteleri nedeniyle, sentetik antioksidanların kullanımında kısıtlanmalar uygulanmaktadır, hatta bazı yasal otoriteler tarafından kullanımları artık yasaklanmıştır (Hermund, 2018; OJEU, 2003). Bu ürünlerin istenmeyen karsinojenik ve teratojenik gibi yan etkilerinin olduğu belirtilmiş ve buna bağlı olarak güvenlikleri hakkında tüketiciler tarafından endişe duyulmaya başlanmıştır (Deveci vd. 2016; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013; Samaraweera vd. 2012; Song vd. 2010; Venugopal vd. 2009). Tüm bu rerefanslar, yasal zorunluluklar, artan tüketici bilinci ve tüketici tercihleri göz önüne alındığında sentetik antioksidanların yerine kullanılabilecek doğal antioksidan maddelerin kullanımına yönelik bir eğilim oluşmuş ve doğal antioksidan kaynakları bulunmasına yönelik yoğun araştırmalar yapılmaya başlanmıştır (Deveci vd. 2016; Gümüş vd. 2019; Kasnak ve Palamutoğlu, 2015).

Bu kapsamda çeşitli aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağların antioksidan aktivitelerinin belirlendiği birçok çalışma literatürde yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada akdeniz diyetinde yaygın olarak kullanılan beş baharat bitkisinin farklı konsantrasyonlarda (5 g/l; 10 g/l; 20 g/l; 50 g/l) uçucu yağlarının antioksidan aktivitesi çeşitli yöntemlerle [tiyobarbitürik asit reaktif maddeler testi (TBARS), demir iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) yöntemi ve 2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) radikal söndürücü kapasite yöntemi] ölçülmüştür. Kontrol grubu olarak BHT ve

askorbik asit kullanılmıştır. Yapılan çalışmada TBARS testine göre en yüksek inhibisyon değerini %89,84 ile uçucu yağlarda kekik uçucu yağı göstermiştir. FRAP testine göre en yüksek trolox eşdeğer antioksidan kapasitesini (TEAC) 1,47 TEAC ile karanfil uçucu yağı göstermiştir. DPPH testi ile elde edilen sonuçlara göre ise karanfil uçucu yağı tüm konsantrasyonlarda en yüksek % inhibisyon değerini (sırasıyla; 97,85; 98,40; 98,45; 98,74) göstermiştir ve antioksidan değeri en yüksek olan uçucu yağ olduğu belirlenmiştir. Tüm uçucu yağlar en yüksek % inhibisyon değerlerini 50 g/l konsantrasyonda göstermişlerdir. Bu konsantrasyonda uçucu yağların radikal süpürücü etkileri büyükten küçüğe; karanfil (98,74) > askorbik asit (97,92) > BHT (97,69) > kekik (93,94; 87,19) > adaçayı (66,59) > biberiye (56,95) olarak belirlenmiştir (Viuda vd. 2010). Uçucu yağların antioksidan aktivitesinin ölçüldüğü bir başka çalışmada ise ticari olarak temin edilen 6 popüler bitki uçucu yağının (lavanta, nane, biberiye, limon, greyfurt ve buhur) antioksidan aktiviteleri lipid peroksidasyonu ve DPPH testi ile karşılaştırılmıştır. GC-MS yöntemi ile de ana bileşenleri belirlenen yağlar için referans madde olarak ticari şekilde temin edilen 1,8-sineol, a-pinen, β -pinen, limonen ve askorbik asit kullanılmıştır. Yapılan antioksidan aktivite analizi sonucunda uçucu yağlar doza bağlı olarak DPPH radikali oluşumunu azaltmışlardır. Limonen (%93,1) ve lavanta yağı (%93,4) aktivite ile askorbik asit (%96,5) referansı ile yakın düzeylerde bir etki oluşturmuşlardır. Nane (%57,9) ve limon (%48,9) oranları ile orta, biberiye (%34,1) ve buhur (%26,6) oranları ile düşük düzeyde bir süpürücü aktivite göstermişlerdir. 1,8-sineol (%1,2) ve a-pinen (%1,3) oranları en düşük aktiviteyi sergilemişlerdir. Aynı çalışmada linoleik asit tahlil sistemi kullanılarak yapılan lipid peroksidasyonu analizinde ise referans madde olarak mısır yağı kullanılmıştır. 5 gün sonunda uçucu yağ içermeyen linoleik asit emülsiyonunun absorbansı hızla artmıştır. Bu durum yüksek bir peroksit konsantrasyonu olduğunu göstergesi olarak kabul edilmiştir. 10'uncu günde lavanta yağının lipid peroksidasyonuna karşı diğer yağlara göre önemli ölçüde daha etkili olduğu belirlenmiştir. Depolamanın 10'uncu gününde lavanta, buhur, biberiye, greyfurt, limon, nane ve mısır yağının peroksidasyonuna karşı inhibisyon yüzdesi sırasıyla %58,2; %43,3; %41,3; %37,5; %35,6; %33,6 ve %31,2 olarak tespit edilmiştir (Yang vd. 2010). Geniş kapsamlı bir araştırmanın yapıldığı bir başka örnekte, 48 farklı botanik aileden 423 uçucu yağın antioksidan aktiviteleri, DPPH yöntemi kullanılarak, serbest radikal süpürücü ajanlar olarak antioksidan aktiviteleri açısından

değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda 73 adet uçucu yağ 1,25 mg/ml'lik bir konsantrasyonda %50 veya üzerinde inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir (Anthony vd. 2012). Otuz dört çeşit narenciye uçucu yağının kullanıldığı bir başka araştırmada antioksidan aktivite analizi kullanılarak HPLC yöntemiyle radikal temizleme aktiviteleri araştırılmıştır. Yağların radikal süpürücü aktivitelerini belirlemek için standart bir antioksidan olan Trolox kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonunda uçucu yağların hepsininin %17,7-%64 aralığında radikal süpürücü etkilerinin olduğu belirtilmiştir. 34 çeşit narenciyeden 31 tanesinin etkisinin troloxtan daha güçlü ya da kıyaslanabilir düzeyde olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Choi vd. 2000). Aynı çalışmada Tarocco ve Valencia portakal çeşitlerinin radikal süpürücü etkisinde belirlenmiştir. Tarocco portakal uçucu yağının süpürücü etkisi DPPH radikaline karşı %58,1 ve Valencia portakalının ise %51,3 olarak tespit edilmiştir (Choi vd. 2000). Bitkisel kaynaklı uçucu yağların antioksidan kapasitelerinin tespit edildiği örnekler literatür incelenerek genişletilebilir (Misharina ve Samusenko, 2008; Ruberto vd. 2002; Wang vd. 2008).

Benzer bir şekilde mevcut çalışmamızda kullanılan portakal kabuğu uçucu yağının serbest radikal süpürücü etkisi antioksidan aktivite analizi ile belirlenmiştir. Analiz sonuçları bulgular kısmında (Şekil 4.5) yer almaktadır. Mevcut çalışmamızda elde edilen sonuçlar PKUY'un DPPH radikaline karşı antioksidan aktivite gösterdiğini ve bunun konsantrasyona bağlı olarak arttığını göstermektedir. Çalışmamızda kullanılan PKUY'un IC 50 değeri hesaplanmış ve 7,9 g L⁻¹ olarak bulunmuştur. Literatür araştırmasında Yang vd. (2017) yaptıkları çalışmada Çin'in Gannan eyaletinden elde edilen portakalların kabuğun elde edilen uçucu yağın antioksidan kapasitesini iki farklı yöntemle belirleyerek, IC 50 değerini DPPH yöntemi ile elde edilen sonuçlara göre 2,19 ppm ve ABTS analizi ile elde edilen sonuçlara 2 ppm olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak yaptığımız çalışmadan elde edilen sonuçların literatür ile benzerlik gösterdiği, uçucu bir yağ olan PKUY'un antioksidan aktivite etkisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Uçucu yağın antioksidan kapasite etkisinin; ürünün elde edildiği bölgeye, ürün çeşidi, hasat zamanı, ekstraksiyon yöntemi vb. farklılıklara göre değişkenlik gösterdiği bilindiğinden, konsantrasyon miktarları ve IC 50 miktarındaki farklılıklarının sebebinde bu faktörler olabileceği düşünülmektedir.

Uçucu yağların antioksidan kapasitelerinin incelendiği birçok çalışma olmasına karşın, yemlerde sentetik antioksidanların yerine doğal ürünlerin antioksidan olarak kullanılmaları ve bunların yem üzerindeki etkilerinin araştırılmasına ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Mevcut çalışmamızda yemlerin yağ oksidasyon seviyelerini ölçmek için antioksidan aktivite ve peroksit analizi yöntemleri kullanılmıştır. Antioksidan aktivite analizinde DPPH radikali kullanılır ve antioksidanın bu serbest radikali yakalama yeteneği ölçülerek antioksidan aktivite tanımlanır (Öztan, 2006). Peroksit sayısı ise 1g yağdaki aktif oksijenin mikrogram olarak miktarıdır. Peroksitler yağın oksidasyonu sırasında ortaya çıkan birincil oksidasyon ürünleridir. Peroksit sayısıyla yağın bozulmuşluk düzeyi arasında pozitif bir ilişki vardır (Can, 2019; EÜGM, 2019). Çalışmamız sonucunda elde edilen antioksidan aktivite analizi sonuçları (Tablo 4.8) bulgular kısmında verilmiştir. İnhibisyon değerleri açısından 0, 15 ve 30'ucu günlerde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Bununla birlikte 45'inci ve 60'ıncı günlerde deney grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p<0,05$). Depolama başında % inhibisyon değerleri 19,05-22,07 değerleri arasında tespit edilirken, depolama süresi sonunda % inhibisyon değerleri 2,84-6,43 değerleri arasında değişmiştir. Yapılan litetatür taramasında Soydan ve Erdoğan (2019) yaptıkları çalışmada, balık yemlerinin ana yağ kaynağı olan balık yağlarına dört farklı (A, B, C ve D) ticari antioksidan ilave ederek, hangisinin daha etkili olduğunun tespiti için 90 gün süreyle depolamışlardır. Toplam antioksidan aktivenin tayini için peroksit ve p-anisidin değerleri ölçülerek TOTOX değeri hesaplanmıştır. Çalışma sonunda tüm gruplarda depolama süresi boyunca TOTOX değerinin değiştiği ve arttığı tespit edilmiştir. Ölçülen peroksit sayısı ve p- anisidin değerleri ile tüm antioksidanların etkisi farklı olmakla birlikte koruyucu etkisinin olduğunu göstermiştir. Çalışmada antioksidanların etkisinin depolama süresi ile ters orantılı olduğu, zamanla etkisinin azaldığı görülmektedir. Farklı antioksidanların koruculuğunun farklı olduğu tespit edilmiştir. Bir başka çalışmada Yıldırım ve Çantaş (2020) deniz levreği ve çipura yemlerinin iki farklı sıcaklıkta, 45 gün süreyle depolanması sürecinde TOTOKS değerlerinin zamana bağlı değişimlerini incelemişlerdir. Depolamanın 45'inci gününde yaşanan artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve depolama süresi arttıkça antioksidan aktivitenin düştüğü tespit edilmiştir. Mevcut çalışmamız ile literatür karşılaştırıldığında, Soydan ve Erdoğan'ın (2019) çalışma konuları olan balık yağının, çalışmamızda kullanılan yemlerin ana yağ

kaynağı olduğu görülmektedir. İki çalışmada da depolama süresi ile antioksidan aktivitenin etkisinin ters orantılı olduğu tespit edilmiştir. Yıldırım ve Çantaş'da (2020) yaptıkları çalışmada aynı tespitte bulunmuşlardır. Bizim çalışmamızda antioksidan kapasite tespiti için DPPH yöntemi kullanılması örnek verilen çalışmalarla farklılık gösterebilir, DPPH yöntemi bu amaçla kullanılan yaygın bir yöntem olduğundan literatürle örtüşmektedir. Ayrıca Yıldırım ve Çantaş'ın (2020) çalışmalarında 45'inci günde istatistiksel anlamda oluşan farklılık mevcut çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Soydan ve Erdoğan'ın (2019) çalışmasında farklı ticari antioksidanlar kullanılmıştır, bizim çalışmamızda ise farklı antioksidanlar yerine, farklı konsantrasyonlarda ilave edilen PKUY'un konsantrasyona bağlı olarak koruculuğunun arttığı tespit edilmiştir. Son olarak kontrol grubuna göre PKUY ilaveli grupların peroksit değerlerinde yaşanan artışların fazla olması, yine antioksidan etkinin PKUY ilaveli gruplarda yüksek bulunması, PKUY'un balık yemlerinde antioksidan olarak kullanılabilirliğini kanıtlar niteliktedir ve literatür ile örtüşmektedir.

Oksidasyonun tespiti için kullanılan diğer bir yöntem olan peroksit sayısı analizinin mevcut çalışmamız için sonuçları (Tablo 4.9) bulgular kısmında verilmiştir. Deneysel yem grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda 0, 15 ve 30'uncu gün peroksit sayısı değerleri açısından istatistiksel olarak bir anlamlılık tespit edilememiş ($p>0,05$), ancak 45 ve 60'uncu günlerde yaşanan değişiklikler anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmamızda peroksit değerleri deneme başında tüm gruplarda 1,23- 2,34 meq O₂/kg, depolama süresi sonunda ise tüm gruplarda 17,46-33 meq O₂/kg arasında tespit edilmiştir. Literatür incelendiğinde yine Yıldırım ve Çantaş (2020) yaptıkları çalışmada deniz levreği ve çipura yemlerinin iki farklı sıcaklıkta, 45 gün süreyle depolaması sürecinde peroksit değerlerini incelemişlerdir. Depolama süresi boyunca 0, 15, 30 ve 45'inci günlerde peroksit sayısı değerleri ölçülmüş ve sırasıyla 5,94; 5,64; 6,54; 8,86 meq O₂/kg olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizlerle 45'inci gün peroksit değerlerinin anlamlı farklılık oluşturduğu tespit edilmiştir. Depolama süresine bağlı olarak peroksit değerlerinde artış yaşandığı gözlemlenmiştir. Mevcut çalışmamız ile karşılaştırıldığında, depolama sıcaklığı ve ölçüm periyotları açısından iki çalışmanın benzerlik gösterdiği görülmektedir. Depolama süresi boyunca iki çalışmada da peroksit değerlerinin zamana bağlı olarak artış eğiliminde olduğu tespit edilmiş ve 45'inci gün peroksit sayısı değerlerinde istatistiksel olarak bir anlamlılık

yaşandığı belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda ki peroksit sayısı değerleri, literatürde ki çalışmaya göre çok daha yüksek tespit edilmiştir. Farklılığın yem rasyonu ve diğer çevresel koşulların etkisinden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Yine Solomon vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada da yemlerin peroksit değerleri incelenmiştir. Depolamanın sonlandırıldığı 6 ayın sonunda tüm gruplarda peroksit sayısı değerlerini arttığı tespit edilmiştir. Peroksit miktarları iki çalışma arasında farklılık göstermiş olsa da depolama süresi boyunca yaşanan artış eğilimi benzerlik göstermektedir.

Peroksit sayısı değerleri birincil oksidasyon ürünleri olduğu bilinmektedir ve eklenen PKUY'un konsantrasyonu arttıkça peroksit sayısı değerlerinin zamana bağlı artış hızının azaldığı tespit edilmiştir. Deney grupları arasında oksidasyon seviyesi en düşük olan grup %03 oranında PKUY ilave edilen P30 grubu olarak bulunmuştur. Balık yeminde peroksidasyonun kaynağı olan balık yağları için peroksit değerinin 20 meq O₂/kg'ı geçmesi istenmeyen bir durumdur (Korkut vd. 2007), bu bilgide göz önüne alındığında yaptığımız çalışmada balık yemine en az %01 oranında PKUY ilave edilmesi gerektiği tespit edilmiştir. Ayrıca antioksidan aktivite ve peroksit sayısı analizi arasında ise negatif bir korelasyon vardır. Antioksidan aktivite analizi antioksidan kapasiteyi ölçerek ve buna bağlı ürünlerdeki lipid oksidasyonunun engellenme derecesini bulmak için kullanılan bir yöntemken, peroksit sayısı analizi ise üründe meydana gelen oksidasyonun derecesinin bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır. Mevcut çalışmada antioksidan aktivite ve peroksit sayısı analizleri arasında ki ilişkide bu durumu doğrulamaktadır. Yapılan literatür taraması sonucunda uçucu yağların ve PKUY'un antioksidan etkilerinin olduğu, lipid oksidasyonunu yavaşlattığı yukarıda verilen referanslarla doğrulanmıştır. Mevcut çalışma sonucunda elde edilen verilerde literatürdeki sonuçlarla örtüşmektedir.

Yapılan yapısal analiz sonuçlarına bakıldığında ise mevcut çalışmamıza ait yemdeki yapısal değişiklikler (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10) bulgular kısmında verilmiştir. PKUY ilavesi sonucu sterio mikroskop altında yapılan incelemelerde herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır. Literatür incelendiğinde, Eti'nin (2012) balık yemlerine aromatik yağ ilavesi yaptığı çalışmada, yem peletlerini sterio mikroskop altında incelediği ve kayda değer bir sonuca ulaşamadığı bulunmuştur. Literatürde ki bu bilgi de ele alındığında

mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlarla, literatürden elde edilen sonuçlar örtüştüğü düşünülmektedir.

Son olarak balık yemlerine PKUY ilavesi ile depolama sürecinde meydana geçen değişimleri inceleyen herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmadığı ancak buna karşın balık yemlerine portakal kabuğu yağı ilavesinin canlı metolizması üzerinde olumlu etkilerinin tespit edildiği çalışmaların (Acar vd. 2015; Gültepe, 2018; Shabana vd. 2019; Vicente vd. 2019) literatürde yer aldığı, yapılan araştırma sonucu tespit edilmiştir. Okside olmuş yemlerle beslenen balıkların metobolizmaları üzerinde çeşitli sorunların ortaya çıktığında yapılan araştırmalarla belirlenmiştir (Chen vd. 2012; Yang vd.2014; Yıldırım ve Çantaş, 2020). Büyümede yavaşlama, yem veriminin düşük olması, uzun süre bu yemlerle beslenen balıklarda ölüm oranlarında ki artış vb. sorunlar bunlara örnek verilebilir sorunlar olarak belirtilmiştir (Kop vd. 2019).

Literatürde yer alan bu bilgilerde ele alındığında balık yemindeki oksitlenmenin istenmeyen bir durum olduğu görülmektedir. Mevcut çalışmamızda elde edilen sonuçlar PKUY ilavesinin yemin oksidasyon stabilitesi üzerinde olumlu etkisinin olduğunu göstermiş ve elde edilen bu sonuçların literatür ile örtüştüğü çeşitli referanslarla gösterilmiştir. Bununla birlikte PKUY ilaveli yemlerle beslenen canlılarda görülen olumlu sonuçlar ve doğal katkıların balık yemleride sentetik antioksidanlar yerine kullanılabilirliğini destekleyen çalışmalar (Hernandez vd. 2014; Hamre vd. 2010), PKUY'un balık yemleri için sentetik katkı maddeleri yerine kullanılabilir bir katkı olduğunu desteklemektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuç

Portakal Kabuğu Uçucu Yağının Alabalık Yemi Raf Ömrü Üzerine Etkileri adlı çalışmamız neticesinde; çalışmada kullanılan PKUY'un uçucu bileşen içeriği GC-MS analizinde %100 oranında tespit edilmiştir. D-limonen (%59,57); linalool (%6,04); oktanal (3,07); mirsen (2,91); Δ^3 -karmen (2,74); β -mirsen (2,71); 1-Oktonol (%2,54); α -Terpineol (%2,49); Sitral (%2,29) ve α -Pinen (%2,01) majör bileşenler olarak bulunmuştur. Yemlere %0; %0,5; %1 ve %3 oranlarında konulan PKUY'un zamana ve konsantrasyonlara bağlı olarak % nem ve % kül değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği tespit edilmiştir ($p>0,05$). Protein ve yağ değerlerinde tüm gruplarda zamana bağlı olarak bir azalış eğilimi olmakla birlikte, rakamsal bu azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Depolama süresi sonunda gruplar arası yapılan mikrobiyolojik analizler neticesinde sayılabilir mikroorganizma gelişimi tespit edilememiş, maya küf için değerler $< 10^6$ kob/g'ın altında belirlenmiştir. Antioksidan aktivite değerlerinde 0, 15 ve 30'uncu gün % inhibisyon değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ancak deney grupları arasında 45 ve 60'ıncı günlerde % inhibisyon değerleri arasında ki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Depolama süresi sonunda PKUY'un konsantrasyona bağlı olarak antioksidan aktivitesinin arttığı, oluşan farklılığın 45 ve 60'ıncı günlerde istatistiki olarakta anlam kazandığı ve en iyi aktivenin P30 grubunda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Peroksit sayısı değerlerinde 0, 15 ve 30'uncu gün peroksit sayısı değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ancak deney grupları arasında 45 ve 60'ıncı günlerde peroksit değerleri arasında ki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Depolama süresi sonunda PKUY'un konsantrasyona bağlı olarak, oksidasyona karşı koruyuculuğunun arttığı, oluşan farklılığın 45 ve 60'ıncı günlerde istatistiki olarak anlam kazandığı ve en iyi aktivenin P30 grubunda belirlenmiştir. Bununla birlikte peroksit sayısı değerlerinin istenen düzeylerde kalması için yemlere en az %1 oranında PKUY ilave edilmesi gerektiği tespit edilmiştir. PKUY'un DPPH radikaline karşı antioksidan aktivite gösterdiği ve IC 50 değerinin 7,9 g L⁻¹ olduğu

bulunmuştur. Depolama süresi bitiminde, sterio mikroskop altında yapılan gruplar arası karşılaştırmalar sonunda yem grupları arasında bir farklılık olmadığı, PKUY ilavesinin yapısal olarak yemler üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Tüm elde edilen veriler neticesinde katkı maddesi olarak yeme ilave edilen PKUY'un yemin fizikokimyasal ve besinsel nitelikleri açısından olumsuz bir etkisinin olmadığı, mikrobiyolojik ve yapısal analiz sonuçları doğrultusunda olumsuz bir değişikliğe sebebiyet vermediği neticesine ulaşılmıştır. Ayrıca antioksidan aktivite ve peroksit sayısı değerlerinde pozitif bir etkisinin olduğu, yemi oksidasyona karşı koruduğu tespit edilmiştir.

5.2 Öneriler

PKUY'un %03 oranda alabalık yemine ilavesi ile en iyi performans gösterdiği ve en az %01 oranında PKUY'un depolama süresince balık yemlerinin korunması maksadıyla yemlere ilave edilmesinin faydalı olacağı önerilmektedir.

İleride bu konu ile alakalı olarak yapılacak çalışmalarda portakal kabuğu ve başka uçucu yağların balık yemi üzerinde ki koruyucu etkisinin belirlenmesi ve ticarileşmesi, buna benzer yöntemler veya daha gelişmiş yöntemler kullanan çalışmaların yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- AACC, (2000). American Association of Cereal Chemists Approved Methods of the AACC. 11th Edition the Association, St. Paul. MN. USA.
- Acar, Ü., Kesbiç, O. S., Yılmaz, S., Gültepe, N., & Türker, A. (2015). Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*, 437, 282-286.
- Adams, R.P., (1997). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. *J. Am. Soc. Mass Spectrom*, 6, 671-672
- Anonim, (2011). Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu. Sayı: 27610, <https://www.mevzuat.gov.tr/mevzuatmetin/1.5.5996.pdf> Erişim Tarihi: 08/10/2021
- Anonim, (2017) Hayvan Beslemede Kullanılan Yem Katkı Maddeleri Hakkında Yönetmeliğin 16. Maddesine Göre Kullanımına İzin Verilen Yem Katkı Maddeleri Kayıt Listesi, Tarım ve Orman Bakanlığı, Ankara, 2017, 197s. <https://www.tarimorman.gov.tr/Konu/950/Yem-Katki-Maddeleri-Kayit-Listesi> Erişim Tarihi: 05/10/2021
- Anthony, K. P., Deolu-Sobogun, S. A., & Saleh, M. A. (2012). Comprehensive assessment of antioxidant activity of essential oils. *Journal of food science*, 77(8), C839-C843.
- AOAC, (1998). Official Methods of Analysis, 15th Ed., Association Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- AOCS Official Method Cd 8b-90, (2017). The American Oil Chemists' Society, Peroxide Value, Acetic Acid, Isooctane Method.
- Atter, A., Anyebuno, G. A. A., Oduro-Obeng, H., Amponsah, S., Arthur, W., Tandoh, I., & Agyakwah, S. K. (2017). Training manual on fish feed storage and handling. *Council for Scientific and Industrial Research*, 16, Accra, Ghana.
- Ayala, J. R., Montero, G., Campbell, H. E., García, C., Coronado, M. A., León, J. A., ... & Pérez, L. J. (2017). Extraction and characterization of orange peel essential oil from Mexico and United States of America. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4), 897-914.
- Başaran, S. H. (2016). Keten Tohumu Yağı, Ayçiçeği Yağı Ve Zeytinyağının Otoksidasyonu Sırasında Epoksi Yağ Asitleri Oluşumunun İncelenmesi. Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. İstanbul.
- Bayaz, M. (2014). Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 12(3).

- Bayır, M., Sirkecioğlu, A. N., Bayır, A., Yanık, T., & Aras, N. M. (2010). Yağ Asitlerinin Balıkların Büyüme ve Stres Toleransına Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(1), 65-70.
- Beta, T., Nam, S., Dexter, J. E., & Sapirstein, H. D. (2005). Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions. *Cereal chemistry*, 82(4), 390-393.
- Bhilave, M. P. (2018). Study of shelf life of formulated fish feed. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6(1), 174-176.
- Błaszczak, A., Augustyniak, A., & Skolimowski, J. (2013). Ethoxyquin: an antioxidant used in animal feed. *International journal of food science*, 2013.
- Bourgou, S., Rahali, F. Z., Ourghemmi, I., & Saïdani Tounsi, M. (2012). Changes of peel essential oil composition of four Tunisian citrus during fruit maturation. *The Scientific World Journal*, 2012.
- Braddock, R. J. (1995). By-products of citrus fruit. *Food Technol.*, 49, 74-77
- Calabrò, P., Pontoni, L., Porqueddu, I., Greco, R., Pirozzi, F., Malpei, F. (2016). Effect of the concentration of essential oil on orange peel waste biomethanization: Preliminary batch results. *Waste Manage.* 48, 440–447.
- Cemeroğlu, B.S. (2013). *Gıda Analizleri*. 3. Baskı, Ankara: Bizim Grup Basımevi.
- Chakraborty, SB ve Hancz, C. (2011). Fin balığı kültüründe immünostimulan, antipatojenik ve antistres ajanları olarak fitokimyasalların uygulanması. *Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde İncelemeler*, 3 (3), 103-119.
- Chen, Y. J., Liu, Y. J., Tian, L. X., Niu, J., Liang, G. Y., Yang, H. J., & Zhang, Y. Q. (2013). Effect of dietary vitamin E and selenium supplementation on growth, body composition, and antioxidant defense mechanism in juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) fed oxidized fish oil. *Fish physiology and biochemistry*, 39(3), 593-604.
- Chen, Y., Barzee, T. J., Zhang, R., & Pan, Z. (2019). *Integrated Processing Technologies for Food and Agricultural By-Products*, <https://www.elsevier.com/books/integrated-processing-technologies-for-food-and-agricultural-by-products/pan/978-0-12-814138-0> Erişim Tarihi: 07/07/2021
- 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.
- Choe, E., & Min, D. B. (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 5(4), 169-186.

- Choi, H. S., Song, H. S., Ukeda, H., & Sawamura, M. (2000). Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: detection using 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(9), 4156-4161.
- Pierce, B. A. (1987). Aquaculture in ancient Hawaii. *BioScience*, 37(5), 320-331.
- Cypriano, D. Z., da Silva, L. L., & Tasic, L. (2018). High value-added products from the orange juice industry waste. *Waste Management*, 79, 71-78.
- Çakmakçı, S., & Gökalp, H. Y. (1992). Gıdalarda kısaca oksidasyon; antioksidantlar ve gıda sanayiinde kullanımları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2).
- Dawood, M. A., Koshio, S., & Esteban, M. Á. (2018). Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 10(4), 950-974.
- Deveci, H. A., Gökhan, N. U. R., Ali Kırpık, M., Harmankaya, A., & Yıldız, Y. (2016). Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 26-32.
- Dikmetaş, D. N., Konuşur, G., Mutlu-İngök, A., Gülsünoğlu, Z., & Karbancıoğlu-Güler, F. (2019). Portakal (Citrus sinensis) Kabuğundan Elde Edilen Hidrosol/Esansiyel Yağların Antimikrobiyal ve Antioksidan Özellikleri. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(1), 274-283.
- Duman, E., & Amir Soltanbeigi, M. M. (2016). Chemical compositions of essential oil of some Citrus spp.(Sour, Lemon, Kumquat, Mandarin and Orange) peels. *Zeitschrift für Arznei- & Gewürzpflanzen*, 21(4), 153-159
- EC, (2009). N767/2009 of the European Parliament and of the Council laying down rules for the prevention, control and eradication of certain transmissible spongiform encephalopathies. Official Journal of the European Communities.
- Emiroğlu, D. İ., Tolon, M. T., Günay, D. B., & Yapıcı, S. N. (2019). Türkiye balık yem sanayisinin gelişimi. *Su Ürünleri Dergisi*, 36(1), 75-80.
- Encarnaç o, P. (2016). Functional feed additives in aquaculture feeds. In *Aquafeed formulation*, 217-237.
- Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, (2019) Gıda Analizleri ve Teknolojisi Laboratuvar Föyü, <https://gida.erciyes.edu.tr/upload/DGBZAJ06.-hafta-yaglarda-peroksit-sayisi-tayini-1.pdf> Erişim Tarihi: 11/12/2021
- Erteken, A., Hasimoğlu, A., (2005). Ülkemizde Balık Yemi Teknolojisinin Gelişimi. *Sümae Yunus Araştırma Bülteni*, 5(1).
- Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., & Pagán, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation

of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food control*, 22(6), 896-902.

- Eti, S. (2012). Alabalık Yemlerine Aromatik Yağ İlavesinin Yemlerin Kimyasal, Mikrobiyolojik Ve Mikroskobik Özellikleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, *Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Tekirdağ.
- Evren, M., & Tekgüler, B. (2011). Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(3), 28-40.
- FAO, (2018). FAOSTAT, Food Agriculture Organisation of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim Tarihi: 09/11/2021).
- FAO, (2019). FAOSTAT, Food Agriculture Organisation of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. (Erişim Tarihi: 09/11/2021).
- FAO/UNDP, (1978). Fish Feed Technology: lectures presented at the training course in fish feed technology. <https://www.fao.org/3/x5738e/x5738e00.htm#Contents> Erişim Tarihi: 07/09/2021
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M. (2013). Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265.
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J., & Chemat, F. (2006). An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 121-126.
- Fisher, K., & Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer?. *Trends in food science & technology*, 19(3), 156-164.
- Frassinetti, S., Caltavuturo, L., Cini, M., Della Croce, C. M., & Maserti, B. E. (2011). Antibacterial and antioxidant activity of essential oils from Citrus spp. *Journal of Essential Oil Research*, 23(1), 27-31.
- FSA, (2019). Specific Feed Safety Limits. <https://www.gmpplus.org/media/krqjkz5h/gmp-ba1-en-20191217.pdf> Erişim Tarihi: 28/01/2022
- 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.
- Gavahian, M., Chu, Y. H., & Mousavi Khaneghah, A. (2019). Recent advances in orange oil extraction: An opportunity for the valorisation of orange peel waste a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 925-932.

- Geraci, A., Di Stefano, V., Di Martino, E., Schillaci, D., & Schicchi, R. (2017). Essential oil components of orange peels and antimicrobial activity. *Natural product research*, 31(6), 653-659.
- Gökalp H., Kaya M., Zorba Ö. (2002). Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, 320, 137.
- Gratacap, R. L., Wargelius, A., Edvardsen, R. B., & Houston, R. D. (2019). Potential of genome editing to improve aquaculture breeding and production. *Trends in Genetics*, 35(9), 672-684.
- Gray, S., Semiat, R., Duke, M., Rahardianto, A., & Cohen, Y. (2011). Reference module in earth systems and environmental sciences. *Seawater Use and Desalination Technology*, 73-109.
- Guo, Q., Liu, K., Deng, W., Zhong, B., Yang, W., & Chun, J. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of Gannan navel orange (*Citrus sinensis* Osbeck cv. Newhall) peel essential oils. *Food science & nutrition*, 6(6), 1431-1437.
- Gültepe, N. (2018). How the use of orange (*Citrus sinensis*) peel essential oil affected the growth performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, 75(1), 16-20.
- Gümüş, B., & GÜMÜŞ, E. (2019). Gıdalarda deniz kaynaklı makroalg özütü kullanımı ve lipid oksidasyonunu önlemede antioksidan etkisi. *Akademik Gıda*, 17(3), 389-400.
- Hamre, K., Kolås, K., & Sandnes, K. (2010). Protection of fish feed, made directly from marine raw materials, with natural antioxidants. *Food Chemistry*, 119(1), 270-278.
- Han, Y. Z., Ren, T. J., Jiang, Z. Q., Jiang, B. Q., Gao, J., Koshio, S., & 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.
- Hermund, D. B. (2018). Antioxidant properties of seaweed-derived substances. In *Bioactive seaweeds for food applications*, 201-221.
- Hernández, A., García, B. G., Jordán, M. J., & Hernández, M. D. (2014). Natural antioxidants in extruded fish feed: Protection at different storage temperatures. *Animal Feed Science and Technology*, 195, 112-119.
- Hossen, M. N., Das, M., Sumi, K. R., & Hasan, M. T. (2011). Effect of storage time on fish feed stored at room temperature and low temperature. *Progressive Agriculture*, 22(1-2), 115-122.

- Hoşsu, B., Korkut, A.Y., & Kop, A. (2012). *Balık Besleme Ve Yem Teknolojisi I: Balık Besleme Fizyolojisi ve Biyokimyası*, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 50, İzmir.
- Ibrahim, M., Ahmad, F., Yaqub, B., Ramzan, A., Imran, A., Afzaal, M., & Ahmed, S. (2020). Current trends of antimicrobials used in food animals and aquaculture. In *Antibiotics and antimicrobial resistance genes in the environment*, 39-69.
- Kasbo, M. K. (2012). Antioxidants stabilizing fish oils: effect of antioxidant, storage temperature and type of fish oil. Master's Thesis, *Norwegian University of Life Science and Technology Department of Chemistry, Biotechnology and Food Science*. Norway.
- Kasnak, C., & Palamutoğlu, R. (2015). Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(5), 226-234.
- Kesbiç, O. S. (2019). Effects of juniper berry oil on growth performance and blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture research*, 50(1), 342-349.
- Kesbiç, O. S., Acar, Ü., Yilmaz, S., & Aydın, Ö. D. (2020). Effects of bergamot (*Citrus bergamia*) peel oil-supplemented diets on growth performance, haematology and serum biochemical parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish physiology and biochemistry*, 46(1), 103-110.
- Khan, M. M., Iqbal, M., Hanif, M. A., Mahmood, M. S., Naqvi, S. A., Shahid, M., & Jaskani, M. J. (2012). Antioxidant and antipathogenic activities of citrus peel oils. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(6), 972-979.
- Kılıç, A. (2008). Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10(13), 37-45.
- Kirbaslar, F. G., & Kirbaslar, S. I. (2003). Composition of cold-pressed bitter orange peel oil from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 15(1), 6-9.
- Kirbaşlar, F. G., Tavman, A., Dülger, B., & Türker, G. (2009). Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. *Pakistan Journal of Botany*, 41(6), 3207-3212.
- Kong, W., Huang, S., Yang, Z., Shi, F., Feng, Y., & Khatoon, Z. (2020). Fish feed quality is a key factor in impacting aquaculture water environment: evidence from incubator Experiments. *Scientific reports*, 10(1), 1-15.
- Kop, A. F., & Korkut, A. Y. (2002). Balık Yemlerinde Kalite Kontrol. *Su Ürünleri Dergisi*, 19(1).
- Kop, A., Gamsız, K., Korkut, A. Y., & Saygı, H. (2019). The effects of different storage temperatures and durations on peroxide values of fish feed ingredients. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 7(sp3), 43-49.

- Korkut, A. Y., Kop, A., & Demir, P. (2007). Balık Yemlerinde Kullanılan Balık Yağı ve Özellikleri. *Su Ürünleri Dergisi*, 24(1), 195-199.
- Korkut, A. Y., Kop, A., & Demir, P. (2007). Balık Yemlerinde Kullanılan Balık Yağı ve Özellikleri. *Su Ürünleri Dergisi*, 24(1), 195-199.
- Ladaniya, M. S. (2008). Commercial fresh citrus cultivars and producing countries. *Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation*. Academic Press, San Diego, 13-65.
- Laufenberg, G., Kunz, B., & Nystroem, M. (2003). Transformation of vegetable waste into value added products: (A) the upgrading concept; (B) practical implementations. *Bioresource technology*, 87(2), 167-198.
- Liu, H. W., Tong, J. M., & Zhou, D. W. (2011). Utilization of Chinese herbal feed additives in animal production. *Agricultural Sciences in China*, 10(8), 1262-1272.
- Lopes, J. M., de Freitas Souza, C., Saccol, E. M. H., Pavanato, M. A., Antoniazzi, A., Rovani, M. T., & Baldisserotto, B. (2019). Citrus x aurantium essential oil as feed additive improved growth performance, survival, metabolic, and oxidative parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture Nutrition*, 25(2), 310-318.
- Lopes, J. M., Marques, N. C., dos Santos, M. D. D. M. C., Souza, C. F., Baldissera, M. D., Carvalho, R. C., & Baldisserotto, B. (2020). Dietary limon Citrus× latifolia fruit peel essential oil improves antioxidant capacity of tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles. *Aquaculture Research*.
- Mahato, N., Sharma, K., Sinha, M., & Cho, M. H. (2018). Citrus waste derived nutra-/pharmaceuticals for health benefits: Current trends and future perspectives. *Journal of Functional Foods*, 40, 307-316.
- Martins, G. D. S. O., Zago, H. B., Costa, A. V., de Araujo Junior, L. M., & de Carvalho, J. R. (2017). Caracterização química e toxicidade de óleos essenciais cítricos sobre *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Revista Caatinga*, 30(3), 811-817.
- Merel, S., Regueiro, J., Berntssen, M. H., Hannisdal, R., Ørnsrud, R., & Negreira, N. (2019). Identification of ethoxyquin and its transformation products in salmon after controlled dietary exposure via fish feed. *Food chemistry*, 289, 259-268.
- Meriç, İ., & Demir, N. (2011). Balıklarda Lipidler ve Lipid Oksidasyonu. *Ziraat Mühendisliği*, (356), 52-57.
- Misharina, T. A., & Samusenko, A. L. (2008). Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 44(4), 438-442.
- Mol, S. (2008). Balık Yağı Tüketimi Ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Journal of Fisheries Sciences*. com, 2(4), 601-607.

- Montgomery, R. (2004). Development of biobased products. *Bioresource Technology*, 91(1), 1-29.
- Moufida, S., & Marzouk, B. (2003). Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry*, 62(8), 1283-1289.
- Nates, S. F. (Ed.) (2015). *Aquafeed formulation*. <https://www.elsevier.com/books/aquafeed-formulation/nates/978-0-12-800873-7> Erişim Tarihi: 07/20/2021
- NRC, (2011). National Research Council. *Nutrient Requirements of Fish and Shrimp*, <https://www.nap.edu/catalog/13039/nutrient-requirements-of-fish-and-shrimp>, Erişim Tarihi: 08/11/2021
- Nuray, C. A. N. Bitkisel yağların muhafazasında oksidatif stabilitenin önemi ve oksidatif stabilitenin belirlenmesinde kullanılan analiz yöntemleri. *Anadolu Bil Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 14(54), 107-124.
- OJEU, (2003). (EC) Avrupa Parlamentosu No 1831/2003 ve hayvan beslenmesinde kullanılan katkı maddeleri üzerinde 22 Eylül 2003 tarihli Konsey. Avrupa Birliği Resmi Gazetesi, L268 / 36.
- O'Keefe, T., & Campabadal, C. A. (2015). Storage and handling of feeds for fish and shrimp. In *Feed and Feeding Practices in Aquaculture*, 299-313.
- Orhan, F. (2008). Balık Yağı İçeren Yumurta Tavuğu Rasyonlarına Bitkisel Ekstrakt Katkısının Yumurta Sarısı Lipit Oksidasyonu ve Yumurta Verim Parametreleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, *Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Bursa.
- Osman, A. (2019). *Citrus Oils*, https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-12473-1_26 Erişim Tarihi: 10/11/2021
- Özçelik, B., & Evranuz, Ö. (1998). Yağlı Tohumlarda Lipid Oksidasyonu: Etkili Faktörler Ve Ölçüm Yöntemleri. *Gıda*, 23(3).
- Öztan, T. (2006). Mor Havuç, Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu Ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini Ve Fenolik Madde Profiline Belirlenmesi. Doktora Tezi, *İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Bursa.
- Park, Y. W., & Bell, L. N. (2004). Determination of moisture and ash contents of foods. *Food Science And Technology-New York-Marcel Dekker*, 138(1), 55.
- Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial crops and products*, 76, 174-187.
- Payan, A. (2007) Üzüm Meyvesi ve Çekirdeğinden Antioksidan Eldesi, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Konya.

- Peter, K. V., & Shylaja, M. R. (2012). *Introduction to herbs and spices: definitions, trade and applications*. In *Handbook of herbs and spices*, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780857090393500013>
Erişim Tarihi: 06/08/2021
- Phong, T. N., Thang, V. T., & Hoai, N. T. (2021). What motivates farmers to accept good aquaculture practices in development policy? Results from choice experiment surveys with small-scale shrimp farmers in Vietnam. *Economic Analysis and Policy*, 72, 454-469.
- Pino, J., Sánchez, M., Sanchez, R., & Roncal, E. (1992). Chemical composition of orange oil concentrates. *Food/Nahrung*, 36(6), 539-542.
- Radan, M., Parcina, A., & Burcul, F. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil obtained from bitter orange peel (*Citrus aurantium* L.) using two methods. *Croatica Chemica Acta*, 91(1), 125-129.
- Rafiq, S., Kaul, R., Sofi, S. A., Bashir, N., Nazir, F., & Nayik, G. A. (2018). Citrus peel as a source of functional ingredient: A review. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(4), 351-358.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61.
- Robb, D. H., Crampton, V. O., Robb, D. H. F., & Crampton, V. O. (2013). On-farm feeding and feed management: perspectives from the fish feed industry. *On-Farm, Feeding and Feed Management in Aquaculture*, 489-518.
- Rowshan, V., & Najafian, S. (2015). Changes of peel essential oil composition of *Citrus aurantium* L. during fruit maturation in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(4), 1006-1012.
- Ruberto, G., Baratta, M. T., Sari, M., & Kaâbeche, M. (2002). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(4), 251-254.
- Ruiz, B., & Flotats, X. (2014). Citrus essential oils and their influence on the anaerobic digestion process: an overview. *Waste management*, 34(11), 2063-2079.
- Salami, S. A., Guinguina, A., Agboola, J. O., Omede, A. A., Agbonlahor, E. M., & Tayyab, U. (2016). In vivo and postmortem effects of feed antioxidants in livestock: a review of the implications on authorization of antioxidant feed additives. *Animal*, 10(8), 1375-1390.
- Salem, M., & Abdel-Ghany, H. M. (2018). Effects of dietary orange peel on growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquaculture Studies*, 18(2), 127-134.
- Samaraweera, A.M., Vidanarachchi, J.K., Kurukulasuriya, M.S. (2012). Industrial Applications of Macroalgae. In: *Handbook of Marine Macroalgae*.

Biotechnology and Applied Phycology, Kim, S.K., Wiley-Blackwell (Eds.), Publishing Ltd. (pp. 500-521). Oxford, United Kingdom.

- Satari, B., & Karimi, K. (2018). Citrus processing wastes: Environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization. *Resources, Conservation and Recycling*, 129, 153-167.
- Shabana, M. S., Karthika, M., & Ramasubramanian, V. (2019). Effect of dietary Citrus sinensis peel extract on growth performance, digestive enzyme activity, muscle biochemical composition, and metabolic enzyme status of the freshwater fish, Catla catla. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 80(1), 1-9.
- Shahidi, F. (2015). In *Handbook of antioxidants for food preservation*. <https://www.elsevier.com/books/handbook-of-antioxidants-for-food-preservation/shahidi/978-1-78242-089-7> Erişim Tarihi: 08/10/2021
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical society reviews*, 39(11), 4067-4079.
- Shan, Y. (2016). *Comprehensive utilization of citrus by-products*. <https://www.elsevier.com/books/comprehensive-utilization-of-citrus-by-products/shan/978-0-12-809785-4> Erişim Tarihi: 08/10/2021
- Smelcerovic, A., Djordjevic, A., Lazarevic, J., & Stojanovic, G. (2013). Recent advances in analysis of essential oils. *Current Analytical Chemistry*, 9(1), 61-70.
- Solomon, S. G., Oloyede Tihamiyu, L., Tosin Okomoda, V., & Adaga, K. (2016). Effects of storage conditions on quality characteristics of commercial aquafeeds and growth of African catfish *Clarias gariepinus*. *Croatian Journal of Fisheries*, 74(1), 30-37.
- Song, H., Zhang, Q., Zhang, Z., Wang, J. (2010). In vitro antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Bryopsis plumosa*. *Carbohydrate Polymers* 80(4), 1057-1061.
- Soydan, M. G., & Erdoğan, F. (2019). Effects of various antioxidants on oxidative stability of anchovy oil. 36(4), 367-372
- Soydan, M.G. (2019). Ticari Balık Yağlarına Antioksidan İlavesinin Depolama Şartlarında Balık Yağı Kalitesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Muğla
- Suttili, F. J., Gatlin III, D. M., Heinzmann, B. M., & Baldisserotto, B. (2018). Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. *Reviews in Aquaculture*, 10(3), 716-726.
- Şamlı, H. E., & Onarbay, O. N. (2011). Farklı Depolama Şartlarının Bazı Protein Kaynaklı Yem Hammaddelerinin Özellikleri Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(3), 40-45.)

- Tao, N. G., Liu, Y. J., & Zhang, M. L. (2009). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck). *International journal of food science & technology*, 44(7), 1281-1285
- TEPGE, (2021). Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. Turunçgiller Ürün Raporu. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Menu/37/Urun-Raporlari>, Erişim Tarihi: 11/11/2021
- Tisserand, R., & Young, R. (2013). *Essential oil safety-e-book: A guide for health care professionals*. <https://www.elsevier.com/books/essential-oil-safety/tisserand/978-0-443-06241-4>, Erişim Tarihi: 08/09/2021
- Turchini, G. M., Ng, W. K., & Tocher, D. R. (2010). *Fish oil replacement and alternative lipid sources in aquaculture feeds*. <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781439808634/fish-oil-replacement-alternative-lipid-sources-aquaculture-feeds-giovanni-turchini-wing-keong-ng-douglas-redford-tocher> Erişim Tarihi: 11/11/2021
- TÜİK, (2020). Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri, Ankara. <https://www.tuik.gov.tr/> Erişim Tarihi: 09/12/2021
- URL-1. Aqua (Fish) Feed Production, Production Technologies And Feed Additives, <https://feedplanetmagazine.com/blog/aqua-fish-feed-production-production-technologies-and-feed-additives-963> Erişim Tarihi: 13/11/2021
- URL-2. Global Feed Survey, <https://www.alltech.com/2021-global-feed-survey> Erişim Tarihi: 13/11/2021
- URL-3. 2017-2027 Küresel Su Ürünleri Yem Pazarı Raporu <https://www.expertmarketresearch.com/reports/aquaculture-feed-market>, Erişim Tarihi:14/11/2021
- URL-4. Safety Still Not Sufficiently Proven <https://www.eurofishmagazine.com/sections/aquaculture/item/131-safety-still-not-sufficiently-proven>, Erişim Tarihi: 09/11/ 2021
- URL-5. Durmaz. Y. Alabalık Yemleri ve Beslenme, <https://vetkontrol.tarimorman.gov.tr/samsun/Belgeler/Makaleler/ALABALIK%20YEMLER%C4%B0%20VE%20BESLENME.pdf>, Erişim Tarihi:10/11/2021
- URL-6. McClements. J. Kül ve Mineral Analizi, <https://people.umass.edu/~mcclemen/581Ash&Minerals.html> Erişim Tarihi: 25/01/2022
- USDA, (2019). United States Department Of Agriculture. <https://www.usda.gov/>, Erişim Tarihi: 22/11/2021
- USDA, (2021). United States Department Of Agriculture. <https://www.usda.gov/>, Erişim Tarihi: 27/11/2021

- Velázquez-Núñez, M. J., Avila-Sosa, R., Palou, E., & López-Malo, A. (2013). Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*, 31(1), 1-4.
- Venugopal, V. (2009). *Marine products for healthcare. Functional and bioactive nutraceutical compounds from the ocean*. <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781420052640/marine-products-healthcare-vazhiyil-venugopal>, Erişim Tarihi: 16/10/2021
- Vicente, I. S., Fleuri, L. F., Carvalho, P. L., Guimarães, M. G., Naliato, R. F., Müller, H. D. C., & Barros, M. M. (2019). Orange peel fragment improves antioxidant capacity and haematological profile of Nile tilapia subjected to heat/dissolved oxygen-induced stress. *Aquaculture Research*, 50(1), 80-92.
- Viuda-Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet. *Flavour and Fragrance journal*, 25(1), 13-
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food control*, 19(12), 1130-1138.
- Yang, C., Chowdhury, M. A., Huo, Y., & Gong, J. (2015). Phytochemical compounds as alternatives to in-feed antibiotics: potentials and challenges in application. *Pathogens*, 4(1), 137-156.
- Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., & Fu, Y. J. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*, 108(3), 1019-1022.
- Yang, C., Chen, H., Chen, H., Zhong, B., Luo, X., & Chun, J. (2017). Antioxidant and anticancer activities of essential oil from Gannan navel orange peel. *Molecules*, 22(8), 1391.
- Yang, S. A., Jeon, S. K., Lee, E. J., Shim, C. H., & Lee, I. S. (2010). Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Product Research*, 24(2), 140-151
- Yang, S.P., Liu, H.L., Wang, C.G., Yang, P., Sun, C.B. & Chan. S.M. (2014). Effect of oxidized fish oil on growth performance and oxidative stress of *Litopenaeus vannamei*, *Aquaculture nutrition*, 21(1), 121-127.
- Yıldırım, Ö., & Çantaş, İ. B. (2020). Deniz Levreği ve Çipura Yemlerinde Totoks Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi Üzerine Bir Araştırma.
- Yıldırım, Ö., & Çantaş, İ. B. (2020). Deniz Levreği ve Çipura Yemlerinde Totoks Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi Üzerine Bir Araştırma. *Anadolu, Çevre ve Hayvancılık Dergisi*, 5(2), 264-269
- Yılmaz, E. (2002). Turunçgil meyvelerinin insan sağlığına etkileri. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 13, 47-52.

- Yitbarek, M. B., & Tamir, B. (2014). Silage additives. *Open Journal of Applied Sciences*, 2014.
- Zema, D. A., Calabrò, P. S., Folino, A., Tamburino, V., Zappia, G., & Zimbone, S. M. (2018). Valorisation of citrus processing waste: A review. *Waste management*, 80, 252-273.