



Türk Doğa ve Fen Dergisi Turkish Journal of Nature and Science

<http://www.bingol.edu.tr/dergiler/turk-doga-ve-fen-dergisi.aspx>



Kerevit (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) filetolarındaki vitamin E, C ve lipid peroksidasyon seviyesi üzerine farklı muhafaza sıcaklığı ve sürelerinin etkisi

Özden BARIM-ÖZ¹, Sibel KÖPRÜCÜ^{*1}, Hülya ŞAHİN¹

Özet

Bu araştırmada, farklı sıcaklık dereceleri ve sürelerinin kerevit (*A. leptodactylus*) filetolarındaki vitamin E, vitamin C ve lipid peroksidasyon seviyesi (malondialdehit-MDA) üzerine olan etkisi araştırıldı. Bunun için kerevit filetoları +4 °C, -12 °C ve -18 °C’lerde muhafaza edildi. Çalışmada abdomen filetolarındaki analizler, +4 °C’de 0., 1., 3., 6., 9. ve 12. günlerde, -12 °C ve -18 °C’lerde ise 0, 2., 4., 6., 8., 10., 12. ve 17. haftalarda yapıldı. Analizlerin yapımında yüksek performanslı sıvı kromatografisi kullanıldı. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri sonucunda; vitamin E ve C miktarındaki azalmanın ve MDA miktarındaki yükselmenin +4 °C, -12 °C ve -18 °C’de süreye bağlı olarak artarak meydana geldiği (her biri için $p < 0,001$) belirlendi. Ayrıca çalışmada meydana gelen bu değişimin -18 °C ve -12 °C’ göre +4 °C’de, -18 °C’ ye göre ise -12 °C’de daha fazla olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Astacus leptodactylus*, HPLC, depolama, vitamin, MDA

Effects of different storage temperature and time on vitamin E, C and lipid peroxidation levels of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*, ESCH., 1823) filets

Abstract

In this investigation, it was aimed to determine the effects of various storage temperatures and periods on vitamin E, C and lipid peroxidation (malondialdehit-MDA) levels of filets of *A. leptodactylus*. For this purpose, freshwater crayfish samples (*A. leptodactylus*) were stored at +4 °C, -12 °C and -18 °C. In this study, the analysis in abdomen filets were made in 0, 1, 3, 6, 9, 12 days at +4 °C and 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 17 weeks at -12 °C and -18 °C. High performance liquid chromatography was used in the construction of the analyses. In a result of the statistical analysis of the obtained parameters was determined that it occurred depending on the time that the levels of vitamin E, C decreased and the level of MDA increased ($p < 0,001$ for each one). Moreover, It was found that this changes in the study were more higher at + 4 °C according to -18 °C and -12 °C and at -12 °C according to -18 °C.

Keywords: *Astacus leptodactylus*, HPLC, storage, vitamin, MDA

1. Giriş

A. leptodactylus (kerevit) Decapoda takımına ait Crustacea (kabuklular) sınıfında yer alan ve birçok habitatta yaşama yeteneğine sahip omurgasız canlıdır. Özellikle Kuzey Amerika’nın güney eyaletlerinde, Avrupa ve Avusturalya’da yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemizde doğal olarak bulunan bu kerevitin birçok ülkede sevilerek tüketilmesi nedeniyle ekonomik değeri her geçen gün yükselmektedir [1-3].

Kerevit eti vitamin E ve C bakımından zengin gıdalar arasında yer almaktadır [4]. İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan vitamin E’nin eksikliğinde anemi, enfeksiyon, bazı kanser türleri, alzheimer gibi hastalıklar

¹Firat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Fırat, Türkiye

*Sorumlu yazar E-posta: skoprucu@firat.edu.tr

tespit edilirken, vitamin C eksikliğinde eklemelerde şişme, dişlerde morarma, oküler kanamalar, tükürük ve gözyaşı bezlerinin kuruması gibi belirtiler görülmüştür [5,6]. Vitamin E ve C’nin bilinen en önemli fonksiyonlarından biri de antioksidant veya serbest radikal giderici olmasıdır. Özellikle, biyolojik sistemlerde hücre membranlarındaki fosfolipidler içerisinde oluşan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu önlemektedirler. Bu vitaminler antioksidan vitamin olduklarından dolayı fagositik hücre membranlarının korunmasında büyük öneme sahiptirler. Oksidasyon sırasında oluşan süperoksit, diğer radikaller ve peroksitler membran enzimleri tarafından kısmen katalize edilir ve serbest hidroksil radikalleri oluşur. Bu serbest radikaller daha sonra peroksidasyon ile mitokondrial, mikrozomal ve hücre membranlarındaki doymamış yağ

asitlerini okside eder. Sonuç olarak, hücre membranlarının yapısını ve metabolizmasını bozan peroksit ve hidroperoksitler (H_2O_2) oluşur. Buna karşın antioksidan vitaminlerin fenol halkası üzerindeki hidroksil grubu, bir proton vermek suretiyle peroksit ve H_2O_2 'yi doyurur ve böylece peroksit radikallerinin aktivitesini azaltır ve biyolojik otooksidasyon için başlatıcı olan bu reaksiyon bahsedilen indirgenme ile hemen inhibe edilir ve lipid peroksit (LPO) oluşumu engellenmiş olur [6-9].

Kerevitler pazara sunulduktan sonra ya taze olarak hemen işlenmekte ya da buzdolabı ve derin dondurucularda belli bir süre saklandıktan sonra tüketilmektedir. Soğuk depolanma esnasında; sıcaklığa, kullanılan koruyucu maddeye, süreye ve paketleme tekniğine bağlı olarak besin kalitesinde azalma veya oksitlenmeyle oluşan bozulmalar meydana gelebilmektedir [10-14]. Bu nedenle insanlar için bu kadar önemli olan vitamin E ve C'nin, tüketilen kerevit filetolarında zamana bağlı olarak oluşacak kayıp miktarlarının bilinmesi sağlıklı beslenme açısından oldukça önemlidir.

Bu araştırmada, *Astacus leptodactylus* filetosundaki vitamin E, C ve lipid peroksidasyon (MDA) seviyesi üzerine farklı muhafaza sıcaklığı ve sürelerinin etkisi araştırıldı. Böylece sağlık için önemli olan bu maddelerin farklı muhafaza sıcaklığı ve sürelerinde, aktivitesini kaybetmeden ne kadar süre kalabileceği belirlendi.

2. Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan erkek kerevitler (*Astacus leptodactylus* Esch. 1823) Keban Baraj Gölü Ağın Bölgesi'nden pinter ağları ile yakalandı. Arazi ve laboratuvar çalışması 01 Temmuz -30 Kasım tarihleri arasında yapıldı.

Bu çalışmada 30-35 g ağırlığında olan kerevitler kullanıldı. Kerevitler avlandıktan 4 saat sonra denemelere alındı. Abdomen kısmındaki kaslar çıkarıldı. Bu dokuların hemen vitamin E, C ve MDA miktarları analiz edilerek başlangıç değeri yani 0. gün ve 0. hafta olarak kaydedildi. Analizler için yeterli kerevit eti miktarları tespit edilerek vakum paketleme yapıldı. Bu paketler muhafaza sıcaklıklarına (+4 °C, -12 °C ve -18 °C) göre ortamlara yerleştirildi [15,16]. Bu çalışmada filetolar (abdomen eti) +4 °C'de 0, 1, 3, 6, 9 ve 12. günlerde, -12 °C ve -18 °C'de ise 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 ve 17. haftalarda analiz edildi.

2.1. Vitamin E Düzeyinin Analizi

Bu analiz için dokular (200-1000 mg) tartılarak ayrıldı. Kas örnekleri 2 mL sülfirik asit ile cam-cam homejenizatöründe homejenize edildi. Bu örnekler tüplere bırakılarak üzerine 2 mL etanol ilave edildi. Her bir örnek 5 dk vorteks ile karıştırıldıktan sonra üzerine 0,3 ml hekzan bırakıldı. Tüpler 2500 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen örneklerde oluşan fazlar ayrılarak farklı tüplere aktarıldı. Üst kısımdaki fazın alındığı tüplere 200 µL hekzan tekrar ilave edilerek 2500 rpm'de 5 dk tekrar santrifüj edildi. Tüplerdeki hekzan azot ile buharlaştırıldı. Tüplerden alınan örnekler HPLC şişelerine yerleştirildi [17,18]. HPLC'de okunan örnekler mg kg⁻¹ olarak değerlendirildi. HPLC'de fazın akış hızı 1.0 mL min⁻¹, Kromatogramlar 296 nm ve enjeksiyon hacmi 50 µL idi. Techsphere ODS-2 paketli sütun (5 mm parçacık, 250x4.6 ID) kullanıldı.

2.2. Vitamin C ve MDA Düzeylerinin Analizi

Vitamin C ve malondialdehit analizleri için kas dokusundan 1000-1500 mg arasında tartılarak ayrıldı. Bu dokular perklorik asit ve saf su ile cam-cam

homejenizatöründe homejenize edildi. Her bir örnek 20 dk vorteks ile karıştırıldıktan sonra 2500 rpm'de 45 dk santrifüj edildi. Elde edilen örneklerden 500 µL alınarak HPLC şişelerine yerleştirildi [19]. HPLC'de okunan örnekler mg kg⁻¹ olarak hesaplandı. HPLC mobil 30 mM KH_2PO_4 - metanol (82.5+ 17.5, v/v %, pH 3.6) içerdi. Fazın akış hızı 1.2 mL min⁻¹, Kromatogramlar 250 nm ve 20 µL enjeksiyon hacmindeydi. Wakosil II 5C18 RS 5µm (150 x 4.6 mm SS, SGE, AUS) kolonu oda sıcaklığında kullanıldı.

İncelenen parametrelere ait değerlerin karşılaştırılmasında 'SPSS 21,0' paket programı kullanılarak One Way Anova-Duncan ve T-Testi uygulandı.

3. Bulgular

Bu çalışma sonucunda A. leptodactylus filetolarındaki vitamin E, C ve MDA seviyesinin zamana ve farklı muhafaza sıcaklığına bağlı olarak değiştiği tespit edildi.

Elde edilen verilere göre +4°C'de muhafaza edilen kerevit filetolarındaki vitamin E miktarının 0. güne oranla 1. günde %8,11, 3. günde %29,66, 6. günde %59,412, 9. günde %71,85 ve 12. günde %84,47 oranında, vitamin C miktarının ise 0. güne oranla 1. günde %3,69, 3. günde %35,53, 6. günde %51,39, 9. günde %80,21 ve 12. günde %90,50 oranında azaldığı kaydedildi. Ayrıca bu muhafaza sıcaklığındaki MDA seviyesinin 0. güne oranla 1. günde %13,04, 3. günde %68,11, 6. günde %389,44, 9. günde %763,76 ve 12. günde %1004,34 oranında azaldığı da belirlendi (Tablo 1).

Tablo 1. A. leptodactylus filetolarının +4 °C'de farklı muhafaza sürelerinde depolanması sonucunda vitamin E, C ve lipid peroksidasyon (MDA) miktarlarındaki değişim.

FMS	Vitamin E	Vitamin C	MDA
0.G	11,248±1,558 ^a	77,034±4,326 ^a	0,483±0,137 ^c
1.G	10,335±1,413 ^a	74,190±4,510 ^a	0,499±0,164 ^c
3.G	7,911±0,927 ^b	49,663±2,407 ^b	0,812±0,247 ^d
6.G	4,565±1,058 ^c	37,439±5,154 ^c	2,364±0,319 ^c
9.G	3,166±0,650 ^d	15,243±2,736 ^d	4,172±0,361 ^b
12.G	1,746±0,372 ^e	7,315±1,592 ^e	5,334±0,089 ^a
P	***	***	***

FMS: Filetoların muhafaza süresi, G: Gün, a, b, c, d, e: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir (One-Way Anova-Duncan testi), ***: p<0,001

Kerevit etinin -12°C ve -18°C de 17 hafta süresince depolanması sonucunda vitamin E ve C düzeyinde azalmalar tespit edildi. Bu azalma -12°C ve -18°C'de vitamin E miktarlarında sırasıyla 0. güne oranla 2. haftada %16,18 ve %5,76, 4. haftada %31,16 ve %16,90, 6. haftada %38,83 ve %26,10, 8. haftada %67,72 ve %56,26, 10. haftada %74,85 ve %64,26, 12. haftada %85,80 ve %73,95 ve 17. haftada %94,39 ve %85,39 oranında, vitamin C miktarında ise 0. güne oranla 2. haftada %18,70 ve %16,84, 4. haftada %31,09 ve %17,19, 6. haftada %58,29 ve %51,60, 8. haftada %73,20 ve %57,72, 10. haftada %80,71 ve %66,17, 12. haftada %86,58 ve %73,63 ve 17. haftada %95,47 ve %89,54 oranında olduğu saptandı. MDA düzeyinin zamana bağlı olarak yükseldiği -12°C ve -18°C'de sırasıyla, 0. güne oranla 2. haftada %28,77 ve %6,21, 4. haftada %89,23 ve %27,95, 6. haftada %292,54 ve %120,49, 8. haftada %388,81 ve %99,60, 10. haftada %653,83 ve %420,08, 12. haftada %856,72 ve %632,29 ve 17. haftada %1022,98 ve %772,25 oranında olduğu belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. *A. leptodactylus* filetolarının -12°C ve -18°C'de farklı sürelerinde depolanması sonucunda vitamin E, C ve lipid peroksidasyon (MDA) miktarlarındaki değişim.

FMS	Sıcaklık (°C)	VE	PE	VC	PC	MDA	PMDA
0.H	-	11,248±1,558 ^a	-	77,034±4,326 ^a	-	0,483±0,137 ^g	-
	-	11,248±1,558 ^x		77,034±4,326 ^x		0,483±0,137 ^m	
2.H	-12 °C	9,382±0,910 ^b	*	62,622±3,352 ^b	-	0,622±0,099 ^g	*
	-18 °C	10,600±1,462 ^x		64,056±2,410 ^y		0,513±0,072 ^m	
4.H	-12 °C	7,743±1,045 ^c	-	53,080±2,628 ^c	***	0,914±0,090 ^f	**
	-18 °C	9,346±1,930 ^y		63,790±1,132 ^y		0,618±0,049 ^f	
6.H	-12 °C	6,880±0,816 ^c	**	32,130±1,997 ^d	***	1,896±0,122 ^e	***
	-18 °C	8,312±1,364 ^z		37,282±2,23 ^z		1,064±0,194 ^p	
8.H	-12 °C	3,630±0,478 ^d	***	20,638±3,755 ^e	***	2,361±0,113 ^d	**
	-18 °C	4,919±0,327 ^t		32,565±2,830 ^t		1,924±0,096 ^t	
10.H	-12 °C	2,828±0,267 ^d	***	14,853±2,125 ^f	***	3,614±0,327 ^c	**
	-18 °C	4,020±0,635 ^t		26,058±2,018 ^p		2,512±0,402 ^z	
12.H	-12 °C	1,597±0,235 ^e	**	10,333±1,043 ^g	***	4,621±0,548 ^b	**
	-18 °C	2,930±0,972 ^p		20,308±2,647 ^r		3,537±0,627 ^y	
17.H	-12 °C	0,631±0,011 ^f	***	3,488±0,213 ^h	***	5,424±0,374 ^a	***
	-18 °C	1,643±0,022 ^r		8,053±1,491 ^m		4,213±0,319 ^s	
P ₁₂		***		***		***	
P ₁₈		***		***		***	

FMS: Filetoların muhafaza süresi, H: Hafta.

P₁₂: -12 °C'de muhafaza edilen filetoların vitamin E, C ve MDA düzeylerinin karşılaştırılmasında kullanılan a, b, c, d, e, f, g, h harfleri haftalara göre istatistiksel farklılığı göstermektedir. P₁₈: -18 °C'de muhafaza edilen filetoların vitamin E, C ve MDA düzeylerinin karşılaştırılmasında kullanılan x, y, z, t, p, r, m harfleri haftalara göre istatistiksel farklılığı göstermektedir (One-Way Anova-Duncan testi).

PE, PC, PMDA: Aynı haftalara ait -12 ve 18 °C'de muhafaza edilen filetoların vitamin E, C ve MDA düzeylerinin karşılaştırılmasını göstermektedir. İkili karşılaştırma olduğundan dolayı harflendirme yapılmadı (Independent Samples-T Testi), *: p<0,05, **: p<0,01, ***: p<0,001.

4. Tartışma

Kerevit filetolarında başlangıç vitamin E miktarı 11,248±1,558 µg g-1 iken vitamin C miktarı 77,034±4,326 µg g-1 olarak belirlendi. *A. leptodactylus* türü kerevitin kas dokusunun analizini yapan Harlıoğlu ve Köprücü [20] vitamin E değerini 16,14 µg g-1, vitamin C değerini 38,03 µg g-1 olarak tespit etmişlerdir. Aynı kerevit türü üzerine çalışma yapan Barım ve Karatepe [4] ise vitamin E değerini 6,76 µg g-1, vitamin C değerini 94,89 µg g-1 olarak saptamıştır. Arslan ve ark. [15] tarafından aynı bölgede yapılan çalışmada *O. mykiss* (711,3 µg 100g-1), *C. carpio* (787,4 µg 100g-1) ve *C. trutta* (656,4 µg 100g-1) türlerinde de vitamin E değeri tespit edilmiştir. Farklı bölgelerde farklı türler üzerine yapılan çalışlarda da vitamin E ve C değerleri belirlenmiştir. Örneğin vitamin E değeri belirlenen bazı türler *O. mykiss* (5 µg g-1), *T. thynnus* (6 µg g-1) (21), *I. punctatus* (24,2 µg g-1) ve *C. harengus* (11 µg g-1) (22) iken, vitamin C değeri belirlenenler *I. punctatus* (8,5 µg g-1), *O. mykiss* (18,5 µg g-1), *P. clarkii* (10 µg g-1) ve *C. virginica* (31 µg g-1)'dir [23]. Veriler arasındaki farklılık, hem tür, mevsim farklılığı ve canlıların yaşadığı ortamın besin kalitesinden hem de kullanılan ekstraksiyon yöntemi ve deney koşullarının farklılığından kaynaklanabilir.

Yapılan çalışmalarda farklı muhafaza sıcaklığı ve sürelerinin *A. leptodactylus* türü kerevit filetolarında oluşturduğu değişimleri karşılaştırmak için çalışmalara

rastlanılmamıştır. Bu konuda su canlıları üzerine yapılan çalışmaların çoğunluğu oksidasyonu önleyici maddelerin etkinliği ile ilgilidir [10,11,13,14]. Çalışmada kullanılan kerevitlerin avlandığı gölde yaşayan *O. mykiss*, *C. carpio* ve *C. trutta* türlerinin et kalitesi (vitamin E) üzerine farklı muhafaza sıcaklığının (-12°C, -18°C) etkilerinin araştırıldığı çalışmada; vitamin E'nin sürekli olarak azaldığı ve en fazla kaybın 0-2. haftalar arasında, en az kaybın ise 12-17. haftalar arasında olduğu gözlenmiştir [15]. Bizim çalışmamızda da kerevit filetolarındaki vitamin E ve C miktarının ilerleyen zamana bağlı olarak azaldığı, ancak azalmanın istatistiksel açıdan haftalara paralel olarak yayılım gösterdiği tespit edildi.

Bu çalışmada depolama sıcaklığı ve süresine bağlı olarak vitamin E ve C miktarlarında azalma, lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeyinde ise artma tespit edilmiştir. Bizim çalışmamıza paralel olarak Munasinghe ve ark. [24] tarafından yapılan çalışmada da *S. Quinqueradiata*'ların kas dokularındaki protein miktarının başlangıca göre 10. gün sonunda azaldığı, lipid peroksidasyon miktarının istatistiksel açıdan önemli derecede arttığı belirlenmiştir. Vitamin E, hücre zarının hidrofobik iç kısmına gömülü olan fitil zinciri ile reaktif ve polar OH-grubunu taşıyan kromanol halkasının membran yüzeyinde veya yakınında bulunmaktadır [8,25]. Bu nedenle lipoperoksil radikal temizleme etkinliklerine sahip güçlü bir antioksidandır. Zayıf oksidan lipid hidroperoksit (ROOH*) ve radikal vitamin E, LPO tarafından üretilen

peroksit kökleri (ROO*), lipofilik özellik nedeniyle membranda vitamin E ile reaksiyon başlattığında üretilebilir. Radikal vitamin E, ROO* ile tepkimeye girdiğinde aktif olmayan ürünler üretir. Bu arada, vitamin E, çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) ile ROO* ya bir hidrojen atomu bağışında bulunur. Lipit peroksil radikaller PUFA'ya göre α -TOH ile yaklaşık 105 kat daha hızlı tepki verirler [7-9]. Buettner [26] α -TOH'un bir molekülünün yaklaşık 1000 molekül PUFA'yı oksidasyona karşı koruyabileceğini tespit etmiştir. Bu bulgu in vivo çalışmalarda da doğrulanmıştır [27,28]. Birçok çalışmada, yüksek doymamış LPO düzeylerinde vitamin E gereksinimi arttığı tespit edilmiştir [8,25,28].

Vitamin C veya L-askorbik asit çoğu fizyolojik koşullar altında deprotonize halindedir. Hücre dışı sıvılardaki en güçlü suda çözünür antioksidan olduğu düşünülmektedir. C vitamininin O₂, hipoklorit, HO*, perokzil kökü ve H₂O₂'yi verimli bir şekilde temizlediği belirlenmiştir. Özellikle bu vitamin, peroksil radikalleri LPO'yu başlatmadan önce sulu fazda tutarak biyomembranları peroksitatif hasara karşı koruyabilir [29,30]. Aynı zamanda C vitamini, tokoferol, zincir kırıcı antioksidan aktivitesini artırarak membranları peroksidasyondan korumak için de hareket edebilir. İn vitro çalışmalarda, askorbik asit tokoferoksil radikalini azaltıp tokoferolün radikal temizleyici etkinliğini geri kazandırdığı da bulunmuştur. Zarları oluşturan tokoferoksil radikal, askorbik asit ile tepkimeye girerek tokoferol ve askorbil radikali ürettiğini düşünülmektedir. Böylece vitamin C tokoferolü yenileyerek membran içinde radikal temizleme potansiyelini korumakta ve oksidatif sorunun sulu faza aktarılmasını sağlamaktadır [27,30,31]. Peroksidasyon ürünlerinin et kalitesi üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarda da özellikle enzimatik olmayan antioksidan maddelerin gerekliliği ve önemi de vurgulanmıştır [10-14]. Bu nedenlerden dolayı, çalışmamızda haftalara bağlı olarak MDA miktarındaki artma, vitamin E ve C miktarlarındaki azalmalar lipidlerin denatüre olması sonucunda artan radikal üretimini engellemek için antioksidan olarak vitamin E ve C'nin tek başlarına veya elektron alışı verişini yaparak kullanılması ihtimali ile bağdaştırılabilir.

Yapılan çalışma sonunda; vakum paketleme ile korunan kerevit filetolarının farklı muhafaza sıcaklıklarında süreye bağlı olarak vitamin E ve C değerinin düştüğü, MDA değerinin yükseldiği tespit edilmiştir. Bu nedenle; bu tür paketleme ile kerevit filetosu tüketen insanların tüketim sürelerini bu çalışmanın sonuçlarına göre düzenlemelerinin faydalı olacağı kanaatindeyiz. Ayrıca, vakum paketleme esnasında kerevit filetolarının daha uzun süre besin değerini koruması, peroksidasyondan etkilenme oranının azaltılması için doğal antioksidan maddelerle desteklenerek korunması yönünde çalışmalara ağırlık verilmesi gerekmektedir.

Kaynaklar

- [1] Kumlu, M., Karides, istakoz ve midye yetiştiriciliği. Çukurova Üniv. Su Ürün. Fak. Yayınları No:6, 2001.
- [2] Mazlum, Y. ve Yılmaz, E., Kerevitlerin biyolojisi ve yetiştiriciliği. Mustafa Kemal Üniv. Yayınları No:34, 2002.
- [3] Diler, Ö., Tatlısu istakozu üretimi. Nobel Yayınevi, No: 530, 2013.
- [4] Barım, O. ve Karatepe, M., The effects of pollution on the vitamins A, E, C, beta-carotene contents and oxidative stress of the freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus*. *Ecotox. Env. Saf.*, 73, 138-142. 2010.
- [5] Tappel, A.L., Vitamin E. In: *The Vitamins*, (Combs, G.F., eds), Academic Press, , 189-223, 1998.
- [6] Aksoy M., Beslenme biyokimyası. Hatiboğlu Yayınları No:126, 2000.

- [7] Winston, G.W., Giulio, R.T.D., Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms, *Aqua. Toxc. A*, 19, 137-161, 1991.
- [8] Hamre K., Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aqua. Nutr.*, 17, 98-115, 2011.
- [9] Ayala, A., Munoz, M.F., Argüelles, S., Lipid Peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-Hydroxy-0-Nonenal. Hindawi Publishing Corporation *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 360438, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438>, 2014.
- [10] Gatlinn III, D.M., Bai, S.C., Erickson, M.N., Effects of dietary vitamin E and synthetic antioxidants on composition and storage quality of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 106, 323-332, 1992.
- [11] Pirini, M., Gatta, P.P., Test, S., Trigari, G., Monetti, P.G., Effect of refrigerated storage on muscle lipid quality of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed on diets containing different levels of vitamin E. *Food Chem.*, 68:289-293, 2000.
- [12] Taşkaya, L., Çaklı, Ş., Çelik, U., A study on the quality changes of cultured gilthead seabream (*Sparus aurata* L., 1758) and eabass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) under the market conditions. *E.U. J. of Fish. and Aqua. Sci.*, 20: 313-320, 2003.
- [13] Dwyer, S.P.O., Beirne, D.O., Eidhin, D.N., Kennedy, B.T.O., Effects of sodium caseinate concentration and storage conditions on the oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chem.*, 138:1145-1152, 2013.
- [14] Timm-Heinrich, M., Eymard, S., Baron, C.P., Nielsen, H.H., Jacobsen, C., Oxidative changes during ice storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed different ratios of marine and vegetable feed ingredients. *Food Chem.*, 136: 1220-1230, 2013.
- [15] Arslan, A., Nazıroğlu, M., Gönülalan, Z., Sarıgöl, C., Aksakal, M., Effects of various storage temperature and storage time on vitamin E levels of fish muscle. *Tr. J. of Vet. and Animal Sci.*, 21:211-214, 1997.
- [16] Yanar, M., Çelik, M., Yanar, Y., Kumlu, M., Carotenoid pigments stabilization in the filet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during frozen storage. *Tr. J. of Biology*, 22:61-65, 1998.
- [17] Miller, K.W., Lorr, N.A., Yang, C.S., Simultaneous determination of plasma retinol α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid chromatography. *Anal. Biochem.*, 138: 340-345, 1984.
- [18] Cerhata D, Bauerova A, Ginter E. Determination of ascorbic acid in blood serum using high performance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric (colorimetric) determination. *Caska-Slov-Farm.*, 43: 166-168, 1994.
- [19] Karatepe, M., Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV. *LC-GC North America*, 22(4); 362-365, 2004.
- [20] Harlioğlu, M.M., Köprücü, K., An investigations on the vitamin A2, C, E and β -carotene of freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, Fırat Üniv., Fen ve Müh. Bil. Dergisi, 12 (2), 277-281, 2000.
- [21] National Research Council., Nutrient requirement of coldwater fishes. National Academy Press, third printing, Washington D.C., No:16, 1990.
- [22] Granroth, B., Mustranta, A., Bostrom, H., Vitamin E in baltic herring and sprat and the effect of storage

- after freezing on vitamin E in baltic herring. *Fisnk-Palstidkrift*, 11:473-474, 1977.
- [23] Nettleton, A.J., Exler, J., Nutrients in wild and farmed and shellfish. *J. of Food Sci.*, 57(2), 257-260, 1992.
- [24] Munasinghe, D.M.S., Ohkubo, T., Sakai, T., The lipid peroxidation induced changes of protein in refrigerated yellowtail minced meat. *Fish. Sci.*, 71:462-464, 2005.
- [25] Yıldırımkaya, M., *Özet biyokimya*, Nobel Yayınları ISBN: 975-567-024-6, 2003.
- [26] Buettner, G.R., The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate, *Arch. Biochem. Biophys.*, 300, 535-543, 1993.
- [27] Sies, H., Stahl, W., Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants 1-3, *Am. J. Clin. Nutr.*, 62, 1315-1321, 1995.
- [28] Ahsan, H., Ahad, A., Iqbal, J. and Siddiqui, W.A., Pharmacological potential of tocotrienols: a review, *Nutrition & Metabolism*, 11, 1-52. 2014.
- [29] Szent-Györgyi, A., Vitamin C. In: *The Vitamins*, (Combs, G.F., eds), Academic Press, 245-310, 1998.
- [30] Benzie, F.F., Evolution of antioxidant defence mechanisms, *Eur. J. Nutr.*, 39, 53-61, 2000.
- [31] Pisoschi, A.M., Po, A., The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review, *Europ. J. of Med. Chem.*, 97, 55-74, 2015.
- [32] Seifried, H.E., Anderson, D.E., Fisher, E.I. Milner, J.A.A., Review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species, *J. of Nutr. Biochem.*, 18, 567-579, 2007.