



*Ekim 2024*

# VETERİNER HEKİMLİK

ALANINDA ULUSLARARASI ÇALIŞMA VE DEĞERLENDİRMELER

EDİTÖR

DOÇ. DR. KEZBAN ŞAHNA

SERÜVEN  
YAYINEVİ

**Genel Yayın Yönetmeni / Editor in Chief • C. Cansın Selin Temana**

**Kapak & İç Tasarım / Cover & Interior Design • Serüven Yayınevi**

**Birinci Basım / First Edition • © Ekim 2024**

**ISBN • 978-625-6172-27-2**

**© copyright**

Bu kitabın yayın hakkı Serüven Yayınevi'ne aittir.

Kaynak gösterilmeden alıntı yapılamaz, izin almadan hiçbir yolla çoğaltılamaz.

The right to publish this book belongs to Serüven Publishing. Citation can not be shown without the source, reproduced in any way without permission.

**Serüven Yayınevi / Serüven Publishing**

**Türkiye Adres / Turkey Address:** Kızılay Mah. Fevzi Çakmak 1. Sokak

Ümit Apt No: 22/A Çankaya/ANKARA

**Telefon / Phone:** 05437675765

**web:** www.seruenyayinevi.com

**e-mail:** seruenyayinevi@gmail.com

**Baskı & Cilt / Printing & Volume**

Sertifika / Certificate No: 47083

VETERİNER  
HEKİMLİK ALANINDA  
ULUSLARARASI ÇALIŞMA  
VE DEĞERLENDİRMELER

Ekim 2024

Editör

DOÇ. DR. KEZBAN ŞAHNA



## İÇİNDEKİLER

### Bölüm 1

POSTBİYOTİKLERİN GIDA KORUMA ÜZERİNE ROLÜ: STABİLİTE VE GÜVENLİK ETKİLERİ

*Ayşegül DEMİRCİOĞLU*..... 1

### Bölüm 2

YENİLEBİLİR FİMLERDE VE KAPLAMALARDA NANOTEKNOLOJİ UYGULAMALARI: NANOMATERYALLER

*Halit MAZLUM* ..... 9

### Bölüm 3

EMBRYO TRANSFERİNE GENEL BAKIŞ

*Deniz Doğan* ..... 25

*Uğur Uçan*..... 25

### Bölüm 4

REPEAT BREEDER İNEKLERİN TEDAVİSİNDE HORMON KULLANIMI

*Kudret Yenilmez*..... 47

### Bölüm 5

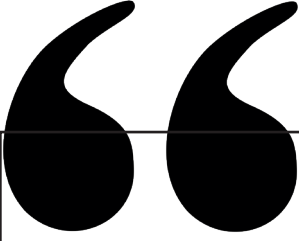
KANATLILARDA DEKONTAMİNASYON YÖNTEMLERİ\*

*Aybike Reyhan DENİZ* ..... 57

*Pelin DEMİR*..... 57

*Ali ARSLAN* ..... 57





## *Bölüm 1*

### **POSTBİYOTİKLERİN GIDA KORUMA ÜZERİNE ROLÜ: STABİLİTE VE GÜVENLİK ETKİLERİ**

*Ayşegül DEMİRCİOĞLU<sup>1</sup>*

---

<sup>1</sup> Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
ORCID: 0000-0002-5121-2631  
aysegulertekinn@hotmail.com

Gıdalarda oluşabilecek her türlü fiziksel, kimyasal, biyolojik riskin yok edilmesi için gerekli olan bütün önlemler gıda güvenliği olarak belirtilmiştir. Gıda güvenliği bir gıdanın tüm aşamalarında (üretim, işleme, muhafaza ve dağıtım) esnasında bahsedilen risklerin eliminasyonunu içerir. Gıda otoritelerince bu proseslerin önemini vurgulamak için “Çiftlikten çatala gıda güvenliği” şeklinde tanımlamalar yapılarak güvenli gıdanın önemi dile getirilmektedir (FAO, 2003; Artık ve ark., 2013).

Güvenli gıdaların elde edilmesi ve tüketiciye ulaşıncaya kadar raf ömrünün uzatılması için gıdalara dışardan koruyucu maddeler eklenmektedir. Gıdalara eklenen koruyucuların sentetik olması tüketicilerin öncelikle sağlık açısından bu gıdaları tercih etmemesine sebebiyet vermekte olup, tüketicileri daha çok doğal, az işlem görmüş ve daha az koruyucu madde içeren gıdalara yönlendirmektedir. Bu nedenle doğal koruyucu olan propolis, bitkisel ekstraktlar ve esansiyel yağlar gibi gıda katkı maddeleri olarak ön plana çıkmaktadır. Aynı zamanda gıda koruyuculuğunda geleneksel bir yöntem olan fermentasyon işlemi görmüş ürünler tüketiciler tarafından daha sık tercih edilmektedir. Fermentasyon yönteminin en vazgeçilmez ürünü ise laktik asit bakterileridir (İlhak ve Güran, 2014; Pobiega ve ark, 2019).

Bakteriler ilk keşfedildiği yıllarda hastalık yapan etkenler olarak düşünülmüştür. Fakat sonraki yıllarda bakterilerin sadece hastalık etkini olmadığı aksine bazı hastalıkların tedavisinde ve korunmasında da görev aldığı ortaya konmuştur. Bu keşif ilk olarak 1907 yılında Rus bilim adamı tarafından Bulgar köylülerin daha uzun ve sağlıklı yaşamlarına dikkat çekilmesiyle ortaya çıkmıştır. Köylülerin yaşam tarzı incelendiğinde ise yoğurdu fazla tükettikleri görülmüş ve yoğurt mikrobiyolojik açıdan incelenerek yapısında çok sayıda canlı bakteri varlığı saptanmıştır. Bu bakteriler *Lactobacillus bulgaricus* olarak adlandırılmıştır (Yağcı, 2005; Barros ve ark, 2020; Cuevas-González ve ark, 2020). Devam eden çalışmalar neticesinde canlı sağlığı için faydalı olan bu bakteriler üzerine yoğunlaşmış ve ilk kez 1953 yılında probiyotik kavramı ortaya çıkmıştır. Probiyotikler “sağlıklı yaşam için temel aktif maddeler” olarak tanımlanmıştır. 2001 yılında ise FAO ve WHO’ya göre probiyotik terimi, yeterli miktarda alındığında konakçı üzerinde faydalı etkiler gösteren bakteriler olarak tanımlanmıştır.

Laktik asit bakterileri, gram pozitif, sporsuz, çubuk veya kok şeklinde olan ve düşük pH larda yaşayabilen, besin olarak karbon ve azot kaynaklarından yüksek oranda faydalanan bakterilerdir. Bu bakteriler çoğunlukla sebze, meyve, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri başta olmak üzere birçok yerde bulunmaktadır (Utami ve ark, 2020). Özellikle sindirim sisteminde kolonize olması ve patojen bakterilerle rekabet oluşturarak bağırsak mikrobiyotasını dengede tutmasından dolayı bazı suşları probiyotik amaçla direk veya gıdaların içerisine eklenerek fonksiyonel gıda olarak kullanılmaktadır.



Fermantasyonda ana rol oynayan laktik asit bakterilerinin gelişimi için gerekli ortam, çevre şartlarıyla yakın ilişkili olduğundan etkinliğinin sürdürülmesi ve bir standart oluşturulması açısından zorluklar içermektedir. Bu nedenle gıda endüstrisi bu olumsuzlukları ortadan kaldırmanın arayışına girmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla mikroorganizmaların canlı olmasa dahi canlıya fayda sağladığının ortaya konulmasıyla birlikte postbiyotik kavramı ortaya çıkmıştır (Pimentel ve ark, 2023). Kelime kökeni olarak olarak post ve biyotik terimlerinin birleşmesiyle oluşan bu kavram, canlılık sonrası etki ya da yaşam sonrası etki manalarını akla getirmektedir (Salminen ve ark, 2021). Postbiyotik, probiyotiklerin biyolojik etkiye sahip ve simbiyotik bakterilerin konakçılarıyla etkileşimiyle bağlantılı olan salgı bileşenleri ve metabolitleri olarak tanımlanmaktadır (Teame ve ark, 2020). Bu metabolitler probiyotik aktivitede fonksiyonel ve terapötik olarak işlev görmektedir. Yapısında, inaktive mikrobiyal hücreler, hücre fraksiyonları ve metabolitleri, organik asitler, bakteriyosinler, enzimler gibi makro ve mikro molekülleri bulundurur. Laktik asit bakterileri ve bunların antimikrobiyal ajanları, düşük molekül ağırlıklı (hidrojen peroksit, CO<sub>2</sub>, di-asetilin) ve yüksek molekül ağırlıklı (bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri) olarak sınıflandırılmaktadır. Yüksek molekül ağırlıklı sınıf 'postbiyotikler' olarak adlandırılmaktadır (Moradi ve ark, 2019). Postbiyotik kullanımının immun sistemi güçlendirdiği, sinyal yolları üzerine etki ederek antioksidan, antiinflamatuvar, antiobezite etkilerinin bulunduğu ayrıca gıdaların raf ömrünü uzattığı ve gıda kaynaklı patojenleri azalttığı yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Aguilar-Toalá ve ark, 2018; İncili ve ark, 2021; Pimentel ve ark, 2023).

ISAPP (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics- Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Birliği) bir metabolitin postbiyotik olarak tanımlanması için bazı kriterler ve tanımlamalar belirtmiştir.

Bunlardan bazıları;

- Sağlık yararına kanıtlanmış faydaları olan inaktive edilmiş, hücre bileşeni içeren veya içermeyen metabolitler
- Aşılar ve saflaştırılmış metabolitler postbiyotik sınıfına dahil edilmez
- Bir metabolitin postbiyotik olarak kabul görebilmesi için yararlı etkileri, hedef konakta doğrulanması gerekmektedir
- Bir metabolitin postbiyotik olabilmesi için muhakkak inaktive edilmiş bir probiyotikten elde edilmesi gerekmez gibi standartlar belirlemiştir.

Postbiyotik kavramının ortaya çıkması ve etkilerinin araştırılması probiyotiklerin bazı noktalarda zayıf kalması neticesinde olmuştur. Probiyotikler canlı organizmaya alındıktan sonra çoğalmasının öngörülemez olması böylece doz standardizasyonun sağlanamaması, gıdalara eklendiğinde depolama

ve raf ömrü açısından çevre şartlarından etkilenmesi, bakteriler arası direncin gelişmesinde aktarıcı rol oynaması ve özellikle antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında etkisinin yitirilmesi probiyotiklerin zayıf yönleri olarak bilinmektedir (Żółkiewicz ve ark, 2020). Bu nedenle öncelerde enkapsilasyon yöntemleri denenerek probiyotikleri avantajlı hale getirilmeye çalışılmış fakat yöntemin etkinliğinin sınırlılıklarından dolayı istenilen fayda gözlenememiştir (Rokka ve Rantamaki, 2010).

Probiyotiklerin bahse konu olan zayıf yönleri postbiyotik kullanımını öne çıkarmıştır, fakat yeni ortaya çıkan bu kavram üzerine daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Postbiyotiklerin stabilite özelliğinin temeli cansız mikroorganizması olmasındandır. Bu da endüstriyel anlamda daha kararlı ve güvenilir kabul edilmesine ve tüketicilere daha güvenli gelmesiyle tercih sebebi olmaktadır. Fonksiyonel ve fermente gıdalarda gıda işleme, depolama ve raf ömrü aşamalarında canlı mikroorganizmaların stabilitelelerinin korunması, ısı ve oksijene bağlı olarak değişkenlik göstermesinden dolayı teknolojik bir zorluk olarak karşımıza çıkmaktadır. Fakat canlılık söz konusu olmayan postbiyotiklerde soğuk zincir sağlandığı takdirde bu dezavantajlar ortadan kalkmaktadır. Ayrıca raf ömrü açısından canlı mikroorganizmaların su aktiviteleri, sıcaklık, pH, paket materyali ve ölen ya da aşırı çoğalan bakteriler gıdaların tekstüründe de farklılıklara yol açmaktadır. Sayılan tüm bu nedenlerden dolayı gıdalarda probiyotikler yerine postbiyotiklerin kullanılması stabilite açısından son derece önem arz etmektedir (Salminen ve ark, 2021; Vinderola ve ark, 2022).

Postbiyotik üretimi, çoğunlukla *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Pediococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Leuconostoc spp.* ve *Streptococcus spp.* suşlarından üretilmektedir (İncili vd., 2022). *Pediococcus spp.*, de *Lactobacillaceae* ailesinin üyelerinden biri olup sosis, yoğurt ve peynir üretiminde probiyotik olarak kullanılmaktadır. *Pediococcus acidilactici* suşu gıda endüstrisinde, hayvancılıkta ve tıbbi ortamlarda yaygın kullanım alanına sahiptir. Özellikle üretmiş olduğu bakteriyosinler sayesinde, konakta patojenik mikroorganizmaların büyümesini engellediği ve konağın sağlığını düzenlemek için sinyal düzenleyici peptitler olarak hareket ettiği bildirilmektedir (Chelliah vd., 2020).

Et ve et ürünleri insanların sağlıklı beslenmesinde vazgeçilmez protein kaynaklarındandır. Üretimden tüketime kadar en önemli risk kontaminasyon riskidir. Bunların önüne geçebilmek ve paketlenme aşamasındaki riskleri en aza indirerek gıdanın raf ömrünü uzatmak için dekontaminasyon kaynakları ile kontaminasyonu elimine etmek oldukça önemlidir. Genel özelliklerde bahsedildiği üzere bu dekontamine ajanların mümkün olduğunca doğal kaynaklardan olması tüketici tercihi yönünden de önemlidir. Bu noktada biyokoruyucu olarak bakteriyosinler tercih edilmektedir. Ancak et ve et ürünlerinde meydana gelen kontaminasyonlar genellikle gram negatif bakterilerden kay-

naklandığından bakteriyosinlerin bu noktada yetersiz kalması, et ve et ürünleri bünyesinde bulunan protein ve lipidlerle etkileşime girmesi ve bakteriyosinlerin saflaştırılmasının maliyetli olması sonucunda gıda fiyatlarının artması bakteriyosin kullanımını sınırlandırmaktadır (Hugo ve Hugo,2015; Hartman ve ark, 2011). Bu bağlamda et ve et ürünlerinde bakteriyosin yerine alternatif olarak postbiyotiklerin kullanımı araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmalarda laktik asit bakterileri kullanılarak elde edilen postbiyotiklerin patojenik mikroorganizmaları inhibe ettiği ve gıda raf ömrünü uzattığı belirlenmiştir (Moradi ve ark, 2020; Des Field ve ark, 2018). İncili ve ark. (2020), *Pediococcus acidilactici*, *Latilactobacillus sakei*, *Staphylococcus xylosus* bakterilerinden elde edilen postbiyotiklerin tavuk butları üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, postbiyotikler ve doğal koruyucularla kombinasyonlarının gıda kaynaklı patojenleri azalttığı ve gıda raf ömrünü uzattığını bildirmiştir. Süt ve süt ürünleri üzerine yapılan çalışmalarda da postbiyotiklerin gıda kontaminasyonlarını azaltarak raf ömrünü uzattığı ve halk sağlığı açısından fonksiyonel gıda olarak kullanılabilirliğini göstermektedir (Fernández ve ark, 2023).

Postbiyotiklerin kanatlılarda kullanımı neticesinde besi performansı üzerine de olumlu sonuçlar gösterdiği bildirilmektedir (Chang ve ark., 2022; Danladi ve ark., 2022). Etki mekanizması olarak, büyüme performansını arttırdığı, alınan besinlerin sindirilebilirliklerinin artırıldığı, bağırsak morfolojisi ve bağırsak hücreleri üzerine fenotipik değişimler gösterdiği, bağırsıklığı arttırarak daha dayanıklı olmasını sağlaması ve rasyona postbiyotik ilavesi yapılan hayvanların kesim sonrası et kalitelerinde artış gösterdiği bildirilmektedir (Chang ve ark., 2022).

Rasyona antibiyotik katılarak beslenmesi yapılan kanatlılar ile postbiyotik ilavesi yapılarak beslenen kanatlıların karşılaştırılması yapıldığında postbiyotik grubunun daha olumlu sonuçlar gösterdiği belirlenmiştir (Chang ve ark., 2022; Danladi ve ark., 2022). Bu duruma bağırsaktaki patojenik bakterilerin azaltılmasından sorumlu olan postbiyotiklerin bakteriyostatik ve bakterisidal özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Dolayısıyla postbiyotikler büyüme performansının artırılması açısından antibiyotik büyüme faktörleri gibi işlev görebilmektedirler. Postbiyotiklerle yapılan birçok çalışma, *L. plantarum*'dan üretilen postbiyotiklerin antibakteriyel özelliklerini ortaya koymuştur (Choe ve ark., 2013; Thanh ve ark., 2010; Zheng ve ark., 2020).

Sonuç olarak gıdalarda postbiyotiklerin kullanımı yapısında canlı mikroorganizma olmamasından dolayı stabilite sağlaması, güvenilirlik düzeyinin yüksek olması ve doz standardizasyonunun kontrollü bir şekilde sağlanması açısından son yıllarda popülerlik kazanmıştır. Ayrıca halk sağlığı açısından da belirtilen herhangi bir yan etkisinin bulunmaması tüketicilerin bunları tek başına ya da fonksiyonel gıda olarak tüketmeye yönelmesinde etkili olacağı düşünülmektedir.

## Kaynaklar

- Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends in Food Science and Technology*, 75, 105-114.
- Artık N, Poyrazoğlu ES, Konar N, 2013. Her Yönüyle Gıda Kitabı, Türk Gıda Mevzuatı ve Gıda Denetimi Bölümü. 10. Bölüm, sayfa:313-324. Sıdaş Medya Ltd.Şti., İzmir
- Barros, C. P., Guimaraes, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M.C., Silva, M. C., Silva, R., Ferreira, B. M., Sant'Ana, A. S., Freitas, M. Q., Cruz, A. G., (2020). Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products, *Current Opinion in Food Science* 2020, 32:1–8.
- Chang, H. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Lim, E. T. C. (2022). Lactiplantibacillus plantarum postbiotics: alternative of antibiotic growth promoter to ameliorate gut health in broiler chickens. *Frontiers in veterinary science*, 9, 883324.
- Chelliah, R., Saravanakumar, K., Daliri, E. B. M., Kim, J. H., Lee, J. K., Jo, H. Y., ... & Oh, D. H. (2020). Unveiling the potentials of bacteriocin (Pediocin L50) from *Pediococcus acidilactici* with antagonist spectrum in a *Caenorhabditis elegans* model. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 555-572.
- Choe, D. W., Foo, H. L., Loh, T. C., Hair-Bejo, M., & Awis, Q. S. (2013). Inhibitory property of metabolite combinations produced from *Lactobacillus plantarum* strains. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 36(1).
- Cuevas-González, P. F., Liceaga, A. M., & Aguilar-Toalá, J. E. (2020). Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food research international*, 136, 109502.
- Danladi, Y., Loh, T. C., Foo, H. L., Akit, H., Md Tamrin, N. A., & Naeem Azizi, M. (2022). Effects of postbiotics and paraprobiotics as replacements for antibiotics on growth performance, carcass characteristics, small intestine histomorphology, immune status and hepatic growth gene expression in broiler chickens. *Animals*, 12(7), 917.
- FAO, 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Assuring Food Safety and Quality. p.76. Rome <http://www.fao.org> (Erişim Tarihi: 16.04.2019)
- Fernández, C., Romero, T., Badiola, I., Díaz-Cano, J., Sanzol, G., & Loor, J. J. (2023). Postbiotic yeast fermentation product supplementation to lactating goats increases the efficiency of milk production by enhancing fiber digestibility and ruminal propionate, and reduces energy losses in methane. *Journal of animal science*, 101, skac370.
- Field, D., Ross, R. P., & Hill, C. (2018). Developing bacteriocins of lactic acid bacteria into next generation biopreservatives. *Current Opinion in Food Science*, 20, 1-6.

- Hartmann, H. A., Wilke, T., & Erdmann, R. (2011). Efficacy of bacteriocin-containing cell-free culture supernatants from lactic acid bacteria to control *Listeria monocytogenes* in food. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 192-199.
- Hugo, C. J., & Hugo, A. (2015). Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 12-23.
- İlhak, O.İ., & Guran, H.S. (2014). Combined antimicrobial effect of thymol and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium in fish patty. *Journal of Food Safety*, 34(3), 211-217. <https://doi.org/10.1111/jfs.12115>.
- İncili, G. K., Karatepe, P., Akgöl, M., Kaya, B., Kanmaz, H., Hayaloğlu, A. A. (2021). "Characterization of *Pediococcus acidilactici* postbiotic and impact of postbiotic-fortified chitosan coating on the microbial and chemical quality of chicken breast fillets". *International Journal of Biological Macromolecules*, 184, 429-437.
- Moradi, M., Mardani, K., Tajik, H., (2019). Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT - Food Science and Technology* 111 (2019) 457-464.
- Pimentel, T. C., Cruz, A. G., Pereira, E., Almeida da Costa, W. K., da Silva Rocha, R., Targino de Souza, G. T., ... & G., Magnani, M. (2023). Postbiotics: An overview of concepts, inactivation technologies, health effects, and driver trends. *Trends in Food Science and Technology*, 138, 199-214.
- Pobiega, K., Kraśniewska, K., Gniewosz, M. (2019). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 83, 53-62. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.11.007>.
- Rokka, S., & Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231, 1-12.
- Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*. 18(9), 649-667. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>.
- Teame, T., Wang, A., Xie, M., Zhang, Z., Yang, Y., Ding, Q., ... & Zhou, Z. (2020). "Paraprobiotics and postbiotics of probiotic lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: a review". *Frontiers in Nutrition*, 7, 570344.
- Thanh, N. T., Chwen, L. T., Foo, H. L., Hair-Bejo, M., & Kasim, A. B. (2010). Inhibitory activity of metabolites produced by strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from Malaysian fermented food. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 5(1), 37.
- Utami, T., Kusuma, E. N., Satiti, R., Rahayu, E. S., & Cahyanto, M. N. (2019). Hydrolyses of meat and soybean proteins using crude bromelain to produce halal

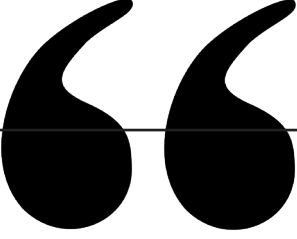
peptone as a complex nitrogen source for the growth of lactic acid bacteria. *International Food Research Journal*, 26(1).

Vinderola, G., Sanders, M. E., & Salminen, S. (2022). The Concept of Postbiotics. *Foods*, 11(8), 1077. <https://doi.org/10.3390/foods11081077>.

Yağcı, R. V. (2005). Probiyotik ve Prebiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji*, 9(4): 223-225.

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., ... & Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782-2858.

Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M., & Feleszko, W. (2020). Postbiotics-A Step Beyond Pre- and Probiotics. *Nutrients*, 12(8), 2189. <https://doi.org/10.3390/nu12082189>.



## *Bölüm 2*

### **YENİLEBİLİR FİLMLERDE VE KAPLAMALARDA NANOTEKNOLOJİ UYGULAMALARI: NANOMATERYALLER**

*Halit MAZLUM<sup>1</sup>*

---

<sup>1</sup> Veterinerlik Bölümü, Gümüşhane Üniversitesi, Kelkit Aydın Doğan Meslek Yüksekokulu, Gümüşhane, Türkiye.  
<https://orcid.org/0000-0001-6711-8503>, [hmazlum@gumushane.edu.tr](mailto:hmazlum@gumushane.edu.tr)

## 1. Giriş

Gıda ambalajları, üretim zincirinin tüm aşamalarında ürünlerin kalitesini korumak ve raf ömürlerini uzatmak için çok önemlidir (Kumar ve ark., 2022). Plastikler, dayanıklılık, uyarlanabilirlik ve maliyet uygunluğu nedeniyle son 50 yıldır ambalaj endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, plastikler doğada parçalanmadıkları için kullanımları yaygınlaştıkça önemli çevresel sorunlara neden olmuştur (Nanda ve ark., 2024). Plastik ambalaj materyallerinin düşük su buharı geçirgenliği, sağlık ve çevre üzerine olumsuz etkileri yenilebilir filmleri ve kaplamaları önemli bir alternatif haline getirmiştir (Senturk Parreidt ve ark., 2018; Shah ve ark. 2021).

Yenilebilir ambalaj sistemlerinin, gıda üretiminin sürdürülebilirliğinde ve muhafazasında önemli bir rol oynaması beklenmektedir. İnsan sağlığı ve çevre için risk oluşturmayan yenilebilir filmler ve kaplamalar, gıdaların kalitesini, güvenliğini ve fonksiyonel özelliğini geliştirmesi nedeniyle son yıllarda kullanım alanı bulmuştur (Mohamed ve ark., 2020; Suhag ve ark., 2020; Wibowo ve ark., 2024). Yenilebilir filmler ve kaplamalar, bir gıdanın yüzey özelliklerini değiştirmek için hazırlanan matrisler olarak tanımlanmaktadır. Filmler ve kaplamalar terimleri birbirinin yerine kullanılsa da, filmler genel olarak önceden oluşturulan serbest materyallerdir, kaplamalar ise doğrudan gıda ürünü üzerinde oluşturulmakta ve gıdaya yapışmaktadır (Ustunol, 2009; Hassan ve ark., 2018). Yenilebilir sistemler bariyer oluşturarak gıdayı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik risklerden korumaktadır (Eser ve Doğruer, 2022). Belirli ölçüde su ve gaz ( $O_2$  ve  $CO_2$ ) geçirgenlikleri gıdanın kütle transferini ve gaz alışverişini azaltarak raf ömrünü uzatmaktadır (Şahansoy, 2023). Ayrıca bu sistemlere çeşitli katkı maddelerinin (örn., antimikrobiyaller, antioksidanlar, aroma bileşikleri, uçucu yağlar) ilave edilebilmesi gıda üretiminde önemli avantajlar sağlamaktadır (Singh ve ark., 2018; Ocak ve Demircan, 2020).

Yenilebilir filmler ve kaplamalar genellikle doğal kaynaklı biyopolimerlerden (örn., polisakkarit, protein, lipid) üretilmektedir. Bunun yanı sıra sentetik biyo-bazlı (örn., polilaktasit) ve mikroorganizma kaynaklı (örn., polihidroksialkanoat) biyopolimerler de kullanılmaktadır (Suhag ve ark., 2020; Lisitsyn ve ark., 2021; Kumar ve ark., 2022). Polisakkarit bazlı yenilebilir kaplamalar mükemmel gaz bariyer özellikleri vardır ancak su buharı koruması açısından zayıftır. Lipit bazlı yenilebilir kaplamalar, gıda ürünlerini su buharı iletimi için koruyabilir ancak düşük mukavemete sahiptir. Protein bazlı kaplamalar iyi gaz bariyer özelliklerine sahip olmasına rağmen neme karşı zayıf ve kırılğan özellik göstermektedir (Wibowo ve ark., 2024). Bu nedenle kompozit film veya kaplama olarak isimlendirilen materyallerde, üstün özelliklerinden faydalanmak için hidrofilik polisakkaritler ve proteinler ile hidrofobik lipitler birlikte kullanılmaktadır (Dhumal ve Sarkar, 2018).



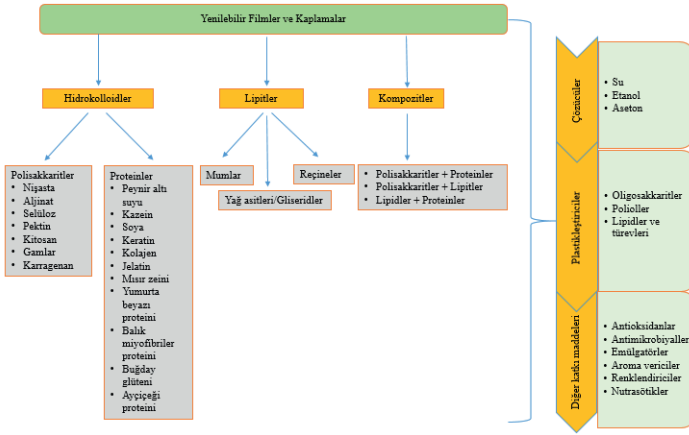
Son yıllarda yenilebilir ambalaj sistemlerinin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde nanoteknolojinin kullanımı ilgi çeken yenilikçi bir uygulamadır. Bu teknolojiyle üretilen nanomateryaller; nanokompozitler, nanokapsüller, nanoemülsiyonlar, nanofiberler ve nanolaminatlar şeklinde sıralanmaktadır. Nanokompozitler bu alanda en yaygın kullanılan nanomateryallerdir (Mkandawire ve Aryee, 2018; Şen ve Güner, 2023). Nanopartiküller kullanılarak güçlendirilmiş polimerlere nanokompozitler denir. Nanoteknolojiyle üretilen kompozitler geleneksel kompozitlere göre daha küçük boyutlarda ( $\leq 100$  nm) materyallerdir. Nanopartiküllerin, yenilebilir film ve kaplamalarda kullanımı gıda endüstrisi açısından önemli avantajlar sunmaktadır. Polimer nanokompozitler saf polimerlerle karşılaştırıldığında, daha iyi görünüme, daha fazla mukavemete, daha iyi termal özelliklere, düşük erime noktasına ve neme karşı uygun dirence sahiptir (Zambrano-Zaragoza ve ark., 2020; Mleki ve ark., 2024). Bu çalışmada yenilebilir ambalaj sistemleri hakkında genel bilgiler sunulmuş ve bu alandaki nanoteknoloji uygulamaları değerlendirilmiştir.

## 2. Yenilebilir Filmler ve Kaplamalar

Yenilebilir filmler ve kaplamalar ürünlerin raf ömrünü uzatmanın yanı sıra yeni duyuşal özellikler sunan biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerden yapılmış ambalaj sistemleridir (Al Mahmud ve ark., 2024). Yenilebilir filmler ve kaplamalar hidrokolloidler, lipitler ve kompozitler şeklinde sınıflandırılmaktadır (Kapetanakou ve ark., 2014). Her malzemenin kendine özgü güçlü ve zayıf yönleri bulunmaktadır. Hidrokolloidler polisakaritler ve proteinlerin birleşiminden oluşan polimerlerdir. Hidrokolloidler hidrofildir ve çözücü suyla karıştırıldıklarında jel benzeri bir yapı oluşturabilirler. Bu filmler ve kaplamalar şeffaftir. Hidrokolloid filmler ve kaplamalar iyi bir oksijen bariyerine sahiptir ancak hidrofilik yapıları nedeniyle zayıf bir su buharı bariyerine sahiptirler (Kumar ve ark., 2022). Lipit bazlı polimerler ise iyi su bariyeri özellikleri gösterir ancak düşük mekanik sağlamlığa sahiptirler (Hassan ve ark., 2018). Kompozitler hidrokolloidler ve lipit bileşenlerini yapısında bulduran materyallerdir. Böylece, farklı malzemelerin güçlü yanlarını sinerjik olarak birleştirmek için popüler bir alternatif haline gelmiştir (Wibowo ve ark., 2024). Yenilebilir film ve kaplama üretiminde bu ana materyallerin yanı sıra çözücü, plastikleştirici, emülsüfiyer, antioksidan ve antimikrobiyal maddelerde kullanılabilir (Tural ve ark., 2017).

Filmler ve kaplamalar, biyopolimerin belirli bir çözücüde çözülmesi, dağıtılması ve emülsüfiye edilmesiyle elde edilir. Gıda filmleri ve kaplamaları için biyolojik olarak parçalanabilirlik gerekliliklerine göre, çözücü olarak su, etanol ve organik asitler kullanılır (Lisitsyn ve ark., 2021). Biyopolimer ve uygulama tipinin (kaplama veya film) seçimi büyük ölçüde istenen işlevine ve uygulanan gıdaya bağlıdır (Kapetanakou ve ark., 2014). Yenilebilir filmlerin ve kaplamaların üretiminde kullanılan materyallerin sınıflandırılması şekil

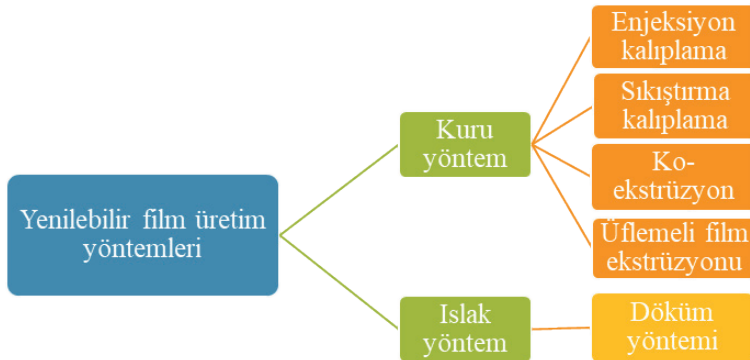
1’de gösterilmiştir (Kapetanakou ve ark., 2014; Salgado ve ark., 2015; Tural ve ark., 2017).



Şekil 1. Yenilebilir film ve kaplama üretiminde kullanılan materyallerin sınıflandırılması

## 2.1. Üretim Yöntemleri

Yenilebilir filmler, genellikle ıslak ve kuru yöntemler olmak üzere iki şekilde uygulanır (Cerqueira,ve ark., 2017). Islak yöntem, esas olarak düşük maliyetli olan döküm yöntemiyle uygulanır. Bu işlem çözündürme, döküm çözeltisini kalıba dökme ve çözeltinin kurutulması aşamalarını kapsamaktadır (Kumar ve ark., 2022). Kuru yöntemde, ısıl işlemle düşük çözünürlüğe sahip bileşimden bir film oluşturulur. Kuru yöntem; enjeksiyon kalıplama, sıkıştırma kalıplama, ko-ekstrüzyon ve üfleli film ekstrüzyonunu içermektedir (Şekil 2).(Jimenez ve ark., 2012; Salgado ve ark., 2015; Lisitsyn ve ark., 2021).



Şekil 2. Yenilebilir film üretim yöntemleri

Yenilebilir kaplamalar; daldırma, püskürtme, fırçalama, akışkan yatak ve tavalama şeklinde sıralanabilecek farklı yöntemlerle hazırlanabilmektedir (Şekil 3)(Lisitsyn ve ark., 2021). Daldırma yöntemi en çok meyve ve sebzeler için kullanılmaktadır. Gıdanın kaplama çözeltisine tamamen daldırılmasıyla uygulanır. Son adımda ise solvent kaplamadan buharlaşarak ürünün yüzeyinde ince bir kaplama bırakır (Eser ve Doğruer, 2022; Wu ve ark., 2024). Püskürtme yönteminde, sıvı çözelti gıda ürününe püskürtülür ve çözelti küçük damlacıklara dönüşür. Böylece damlacıkların yüzey alanı artarak ürünün daha fazla alanını kaplar. Bu yöntemde sıvıyı damlacıklara dönüştürmek için yüksek hızlı hava veya yüksek basınç kullanılmaktadır (Senturk Parreidt ve ark., 2018; Suhag ve ark., 2020). Fırçalama yönteminde, özellikle meyvelerin yüzeyine steril bir fırça ile yüksek viskoziteli bir kaplama uygulanmaktadır (Dhillon ve ark., 2024). Akışkan yatak yöntemi, küçük çaplı ve düşük yoğunluklu kuru parçacıkları kaplamak için kullanılan bir teknolojidir. Akışkanlaştırma ile damlacıklar parçacık yüzeyine yayılır ve son olarak çözücü buharlaşarak filmi oluşturur. Böylece, kaplama çözeltisi akışkan yataktaki parçacıkların yüzeyini belirli bir süre sonra tamamen kaplar (Wu ve ark., 2024). Tavalama yöntemiyle kaplama işlemi için büyük bir tavaya benzer döner kap kullanılır. Kaplama haznesinin içine bir püskürtme tabancası yerleştirilir ve tava belirli bir hızda sürekli olarak döndürülür. Gıda, kaplama yapıldıktan sonra kurutma döngüsüne taşınır. Bu teknik, yuvarlak veya oval şekilli gıdalar için daha uygundur (Priya ve ark., 2023).



Şekil 2. Yenilebilir kaplama üretim yöntemleri

### 3. Yenilebilir Filmlerde ve Kaplamalarda Nanoteknoloji

Yenilikçi bir çalışma alanı olan nanoteknoloji, gıda ambalajlama sektörüne önemli kazanımlar sunmaktadır. Nanoteknolojinin ambalaj sistemlerine katkıları; bariyer niteliklerini (nem, hava ve ışık geçişini sınırlama) iyileştirme, mukavemeti artırma, antioksidan-antimikrobiyal özellikler kazandırma ve akıllı ambalaj özellikleri sunma şeklinde sıralanabilir (Espitia ve Otoni, 2018; Bizymis ve Tzia, 2022; Al Mahmud ve ark., 2024; Prakash ve ark., 2024). Yenilebilir filmlerde nanoteknoloji uygulamaları, filmlere nanomateryalin ince bir film oluşturacak şekilde ilave edilerek nano boyutta (<100 nm) üretilmesini kapsamaktadır (Onyeaka ve ark., 2022; Şen ve Güner, 2023). Bu teknoloji, nanopartiküllerin özel niteliklerini biyomalzemelerin sürdürülebilirliği ve biyouyumluluğu ile birleştirerek hem kullanışlı hem de ekolojik olarak güvenli ambalajlama çözümleri sunmaktadır (Onyeaka ve ark., 2022). Nanomateryaller çok yüksek bir yüzey-hacim oranına sahiptir. Bu nedenle, bu malzemeler makroskaladaki malzemelere kıyasla daha reaktiftir ve daha gelişmiş fizikokimyasal özellikler gösterir (Kumar ve ark., 2022). Gıda ambalajlama sektöründe, ticari olarak yaklaşık 500 nano bazlı ambalaj ürününün kullanıldığı ve önümüzdeki on yıl içinde tüm gıda ambalajlarının %25'inin üretiminde nanoteknolojinin kullanılacağı bildirilmektedir (Prakash ve ark., 2024).

#### 3.1. Nanomateryal Üretim Yöntemleri ve Yenilebilir Ambalaj Sistemlerinde Kullanımı

Yenilebilir filmler ve kaplamalarda öne çıkan nanoteknoloji uygulamaları arasında; nanoemülsiyonlar, nanokapsüller, nanolaminatlar, nanofiberler ve polimer nanokompozitler yer almaktadır (Mkandawire ve Aryee, 2018; Şen ve Güner, 2023). Nanoemülsiyonlar, çeşitli gıda ürünlerindeki yenilebilir kaplamaların fizikokimyasal özelliklerini artırmaya yardımcı olan yağ-su veya su-yağ emülsiyonlarıdır (Tripathi ve ark., 2021). Yenilebilir ambalaj sistemlerinde nanoemülsiyon iki farklı yöntemle hazırlanabilir. Birinci yöntemde nanoemülsiyon tek adımda gerçekleştirilir. Bu uygulama tüm bileşenlerin bir çözeltiye karıştırılmasını ve ardından nanometrik boyutlu damlacıklar oluşturmak için homojenleştirilmesini içerir. İkinci yöntem ise, bileşenlerin sulu çözeltisinin hazırlandığı ve daha sonra biyopolimer çözeltisi ile karıştırıldığı iki aşamayı içerir (Dasgupta ve ark., 2019). Meyve ve sebzelerin yenilebilir kaplamalarında kullanılan nanoemülsiyonların hazırlanmasında uçucu yağlar en yaygın kullanılan biyoaktif bileşendir (Tripathi ve ark., 2021).

Tablo 1. Bazı gıda ürünlerinde biyopolimer nanokompozit film ve kaplama uygulamaları

Materyaller (Matris/Nanomateryal)	Ürün Çeşidi	Etkileri	Kaynaklar
Poli(bütilen süksinat)/ ZnO kaplama	Kesilmiş elma	Kaplama materyaline %4 ZnO ilavesi taze kesilmiş elmaların raf ömrünü uzatmıştır.	Naknaen, (2014)
Kitosan/TiO <sub>2</sub> film	Domates	TiO <sub>2</sub> domatesin olgunlaşmasını ve kalitesini geciktirmiştir.	Kaewklin ve ark., (2018)
ε-polilizin/Kitosan nanofiber film	Tavuk eti	Nanomateryal filmi <i>Salmonella typhimurium</i> ve <i>S. enteritidis</i> 'i inhibe etmiştir. Etin rengini ve lezzetini korumuştur.	Lin ve ark., (2018)
Poli(ε-kaprolakton)/ MgO ve SiO <sub>2</sub> film	Balık ve Balık ürünleri	Hem zeolit hem de SiO <sub>2</sub> içeren filmler yüksek histamin bağlama kapasitesi göstermiştir. Her iki nanomateryalde <i>Staphylococcus aureus</i> 'a karşı antibakteriyel etki göstermiştir.	Alp-Erbay ve ark., (2019)
Kitosan-guar gum-Roselle calyx extract/ZnO film	Peynir	%3 RE-ZnO içeren film, Ras peynirinin yüzeylerini maya, küf ve bakteri oluşumundan 3 ay boyunca korumuştur. Filmin mekanik, bariyer, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini iyileştirmiştir.	El-Sayed ve ark., (2020)
Karagenan/CuS film	Sığır eti	Filmin mekanik özelliklerini geliştirmiştir. <i>Escherichia coli</i> ve <i>S. aureus</i> 'a karşı önemli antibakteriyel aktivite göstermiştir.	Li ve ark., (2020)
Zein- poli(etilen oksit)/ Hekzanal kaplama	Şeftali	Kaplama bütünlüğü oda sıcaklığında 20 gün boyunca değişmeden kalmıştır. Şeftalilerin raf ömrü 4 gün uzamıştır.	Ranjan ve ark., (2020)
Kitosan-patates proteini-keten tohumu yağı/ZnO filmi	Çiğ et	Filmin şeffaflığını ve dayanıklılığını etkili bir şekilde artırmıştır ve mükemmel nem bariyeri özellikleri göstermiştir. Çiğ etin 4 °C'de 7 günlük 7 günlük depolabması sırasında pH ve toplam bakteri sayısının artış oranını azaltmıştır.	Wang ve ark., (2020)
Kitosan/TiO <sub>2</sub> kaplama	Mango	Bozulabilirlik indeksini %14,49 oranında azaltmış ve raf ömrünü uzatmıştır.	Xing ve ark., (2020)
Kitosan-peynir altı suyu proteini/ TiO <sub>2</sub> nanopartikülleri-Zataria multiflora esansiyel yağ kaplama	Peynir	Esansiyel yağ peynir lezzetini olumsuz etkilemiştir. Öte yandan, kompozit kullanımı <i>Listeria monocytogenes</i> popülasyonunu azaltmıştır.	Gohargani ve ark., (2021)

Aljinat/TiO <sub>2</sub> nanopartikülleri-kimyona esansiyel yağ filmi	Sığır eti	Film, lipid oksidasyonunda ve mikrobiyal yükte azalmaya neden olmuştur. Sığır ark., etinin raf ömrünü 4 günden 16 güne uzatmıştır.	Sayadi ve ark., (2022)
Kitosan/montmorillonit-kitosan film	Muz	Su ve gaz bariyer özelliklerini iyileştirmiş, ürün sertliğini ve rengini korumuştur. Solunumu ve etilen üretimini yavaşlatarak depolama süresini uzatmıştır.	Wantat ve ark., (2022)
Kitosan/montmorillonit kaplama	Armut	Film, elastikiyeti ve mukavemeti artırmıştır. Armutların depolama ömrünü iyileştirme potansiyeli göstermiştir.	Reis ve ark., (2023)
Pullulan-manyok nişastası/Litsea cubeba esansiyel yağ nanopartikül filmi	Sığır eti	Film elastikiyeti arttırmış ve bariyer özelliklerini iyileştirmiştir. <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7'yi inhibe etmiştir. Antioksidan etkiyi artırmıştır.	Adame ve ark., (2024)
Zein-pektin/kitosan nanopartikülleri-kekik esansiyel yağ kaplama	Sosis	%3 nanomateryal kaplaması sosisin raf ömrünü 9 güne kadar uzatmıştır ve ürün lezzetini iyileştirmiştir.	Fan ve ark., (2024)
Jelatin/ZnO nanopartikülleri-Rosmarinus officinalis, Punica granatum ve Origanum marjoram extractları kaplama	Peynir ve et	%2 kaplama, depolama sırasında peynir ve etteki <i>L. monocytogenes</i> sayısını azaltmıştır. Ayrıca pH değişimlerini azaltıp ve duyu özellikleri iyileştirerek raf ömrünü uzatmıştır.	Korany ve ark., (2024)

Nanokapsül yöntemi araştırmacıların yoğun ilgisini çeken diğer bir nanoteknoloji uygulamasıdır. Bu teknikte, nanoemülsiyon kullanarak biyoaktif bileşikler yenilebilir filmlere veya kaplamalara hapseden nanokapsüller kullanılır (Mkandawire ve Aryee, 2018). Nanokapsüller, nanoskalada işlevsel bileşikler çekirdekte hapseden biyopolimerik bir membrandan yapılmış kapsül sistemleridir. Nanokapsüller iyonik jelleşme, nanoçöktürme ve koaservasyon teknikleriyle üretilebilir. Nanokapsüller, pozitif yüklü (kitosan) ve negatif yüklü (aljinat, tripolifosfat veya karragen) polimerler kullanılarak iyonik jelleşme ile kolayca hazırlanabilmektedir (Koirala ve ark., 2023). Günümüzde etin güvenliğini artırmak için antimikrobiyal kapsüllenmiş nanopartiküllerin kaplama sistemlerinde kullanımında önemli ilerlemeler sağlanmıştır (Mkandawire ve Aryee, 2018).

Nanolaminatlar, nano ölçekli ince filmler olup, katman-katman (LBL) tekniği ile bir gıda substratı üzerinde üretilen materyallerdir (Kuswandi ve Moradi, 2019). Fiziksel veya kimyasal olarak birbirine bağlanmış bir ürün üzerinde oluşan iki veya daha fazla katman içerirler. Lipitler, proteinler ve polisakkaritler, yıkama ve daldırma işlemiyle nanolaminatların oluşumunda kullanılan bileşiklerdir. Nanolaminatlar et, fırınlanmış ürünler, meyveler ve

sebzelere uygulanabilmektedir (Prakash ve ark., 2024). Nanofiberler, yüksek tutma kapasiteleri ve aktif maddelerin geniş yüzey alanları nedeniyle aktif ambalajlamada daha sık kullanılmaktadır. Nanofiberleri, güçlü ve birçok gelişmiş uygulama için uygun hale getiren yüksek yüzey-hacim oranları ve gözenekli yapılarıdır (Joshi ve ark., 2024). Nanofiber üretimi için en etkili yöntem elektrospinning tekniğidir. Bu teknikte, yüksek voltajlı bir elektrik alanı uygulayarak şırınga pompasıyla dışarı atılan polimer çözeltilerinden nanofiberler üretilir (Wang ve ark., 2021; Min ve ark., 2022). Bu yöntemin yanı sıra çözelti üfleme spinleme ve santrifüjlü spinleme teknikleri de kullanılabilir (Joshi ve ark., 2024).

Nanokompozitler, yenilebilir film üretiminde en sık kullanılan nanomateriyallerdendir (Şen ve Güner, 2023). Polimer nanokompozit yenilebilir filmler ve kaplamalar, biyopolimerlere metal nanopartiküllerin ilavesiyle oluşan kompozit materyallerdir (Bratovic, 2021). Nanopartikül terimi, karbon malzemeler, metaller, metal oksitler ve nanotabakalar başta olmak üzere çok çeşitli malzemeleri ifade eder. Bu malzemeler fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri nedeniyle nanokompozitlerde (<100 nm boyutlu) tercih edilir (Jafarzadeh ve ark., 2021). Bitki, hayvan ve mikrobiyal kaynaklardan elde edilen biyopolimerler, plastik ambalajlara kıyasla bazı temel fiziko-kimyasal ve mekanik özelliklerden yoksundur. Biyopolimerin nanomateriyallerle güçlendirilmesi bu eksiklikleri giderir ve nanokompozitlere antimikrobiyal veya antioksidan özellikler kazandırır (Basumatary ve ark., 2022). Son yıllarda araştırmacılar biyopolimer nanokompozit film ve kaplama üretimi üzerine yoğunlaşmıştır. İlgili literatürde yer alan biyopolimer nanokompozit film ve kaplama çalışmaları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Biyopolimer film oluşumunda kullanılan nanomateriyaller kaynağına göre temel olarak üç sınıfa ayrılır. Bunlar; nano-kil (örn., montmorillonit, sodyum bentonit), organik (örn., kitosan) ve inorganik (örn., gümüş, selenyum, çinko oksit) nanomateriyallerdir (Das ve ark., 2022). Bu maddeler, yenilebilir sistemlerde farklı fonksiyonel özelliklere sahiptir. Oksijen gidericiler (örn., ZnO), bozulmayı önlemek ve C vitamininin tutulması için pişmiş et ürünleri, peynir, unlu mamuller, meyve, sebze ve kuruyemiş ambalajlamada kullanılır. Etilen emiciler (örn., Zeolit, Ag, TiO<sub>2</sub>, ZnO) meyve ve sebzelerde olgunlaşmayı azaltarak raf ömrünü uzatır. Antioksidan salıncıklar (örn., Ag, ZnO, CuO, Grafen) gıdaların oksidatif kararlılığını artırmak için taze yağlı balık, et, tohum, kuruyemiş ve kızarmış ürünlerin ambalajında kullanılır. Antimikrobiyal aktiviteli nanopartiküller (örn., Ag, TiO<sub>2</sub>, ZnO, Cu, Grafen) mikrobiyal büyümeyi önlemek için taze et, balık, sebze, meyve, süt ürünleri, tahıl ürünleri ve hazır yemek ambalajlarında kullanılır (Perera ve ark., 2022). Biyopolimer nanokompozit filmler çoğunlukla solüsyon döküm, katman-katman (LBL), ekstrüzyon ve kaplama/püskürtme teknikleriyle üretilir. Solüsyon döküm yöntemleri, kitosan bazlı nanokompozit filmlerin ha-

zırlanmasında kolaylığı nedeniyle en yaygın tekniktir (Kumar ve ark., 2020). Katman-katman (LBL) tekniği, zıt yüklü polielektrolitlerin veya nanomalzemelerin çeşitli etkileşimler yoluyla emilerek yüklü ince film katmanlarının üretildiği çok yönlü bir teknolojidir (Wang ve ark., 2022). Ekstrüzyon yöntemleri genellikle geleneksel plastik ambalaj filmlerinin üretiminde kullanılır. Ekstrüzyon, daha hızlı işleme süresi ve daha düşük enerji tüketimi nedeniyle genellikle solüsyon döküm yöntemlerine tercih edilir (Kumar ve ark., 2020). Kaplamalar, gıda malzemelerinin nanokompozit çözeltilere yayılması, püskürtülmesi, daldırılması veya batırılmasıyla uygulanmaktadır (Basumatory ve ark., 2022).

#### 4. Sonuç

Gıda ambalajında nanoteknolojinin kullanımı ilgi çeken ve değeri günden güne artan bir konudur. Nanoteknolojiyle üretilen biyonomateryaller biyolojik olarak parçalanabilir olduğu için çevre açısından güvenilir kabul edilir. Bu materyaller plastik ambalaj malzemelerine önemli bir alternatif oluşturmaktadır. Yenilebilir ambalaj sistemlerine mukavemeti arttırma, bariyer özelliklerini geliştirme, antimikrobiyal ve antioksidan özellik kazandırma fırsatları sunmaktadır. Bu özellikleri gıdanın kalitesini ve raf ömrünü arttırmada oldukça önemlidir. Nanomateryallerin yenilebilir ambalajlama sistemlerinde arzu edilen bu etkilerini gösterebilmeleri gıdaya uygun tekniğin seçimiyle ilişkilidir. Bununla birlikte yeni bir sistem olan nano bazlı ambalaj materyalleri plastik ambalaj malzemelerine göre pahalıdır. Bu malzemelerin üretim sistemleri üzerine araştırmalar arttırılmalı ve sınırlı olan endüstriyel uygulama kapasitesi geliştirilmelidir. Diğer yandan yenilebilir ambalaj sistemlerinde yeni bir uygulama olan nanomateryal kullanımının gıda güvenliği ve insan sağlığı üzerine olası zararlı/toksik etkilerinin araştırıldığı çalışmaların arttırılması gerekmektedir. Nihai olarak, ülkelerin ilgili mevzuatında nano bazlı kaplama sistemleri hakkında yeterli yasal düzenlemeler yapılmalıdır.



## Kaynaklar

- Adame, M. Y., Wang, Y., Shi, C., Aziz, T., Al-Asmari, F., Sameeh, M. Y., Cui, H. & Lin, L. (2024). Fortification of pullulan/cassava starch-based edible films incorporated with LC-EO nanoparticles and the application for beef meat preservation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 135629.
- Al Mahmud, M. Z., Mobarak, M. H., & Hossain, N. (2024). Emerging trends in biomaterials for sustainable food packaging: A comprehensive review. *Heliyon*, 10(1).
- Alp-Erbay, E., Figueroa-Lopez, K. J., Lagaron, J. M., Çağlak, E., & Torres-Giner, S. (2019). The impact of electrospun films of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) filled with nanostructured zeolite and silica microparticles on in vitro histamine formation by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Paratyphi* A. *Food Packaging and Shelf Life*, 22, 100414.
- Basumatary, I. B., Mukherjee, A., Katiyar, V., & Kumar, S. (2022). Biopolymer-based nanocomposite films and coatings: Recent advances in shelf-life improvement of fruits and vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(7), 1912-1935.
- Bizymis, A. P., & Tzia, C. (2022). Edible films and coatings: Properties for the selection of the components, evolution through composites and nanomaterials, and safety issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(31), 8777-8792.
- Bratovic, A. (2021). Physical-Chemical, Mechanical and Antimicrobial Properties of Bio-Nanocomposite Films and Edible Coatings. *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*, 8(5), 151-161.
- Cerqueira, M. A. P. R., Pereira, R. N. C., da Silva Ramos, O. L., Teixeira, J. A. C., & Vicente, A. A. (Eds.). (2017). Edible food packaging: materials and processing technologies.
- Das, D., Panesar, P. S., Saini, C. S., & Kennedy, J. F. (2022). Improvement in properties of edible film through non-thermal treatments and nanocomposite materials: A review. *Food Packaging and Shelf Life*, 32, 100843.
- Dasgupta, N., Ranjan, S., & Gandhi, M. (2019). Nanoemulsions in food: Market demand. *Environmental Chemistry Letters*, 17, 1003-1009.
- Dhillon, N., Saxena, D. & Jabroot, K.J. (2024). Application of different coatings in Ber fruit: A review. *International Journal of Research in Agronomy*, 7(4): 568-572.
- Dhumal, C. V., & Sarkar, P. (2018). Composite edible films and coatings from food-grade biopolymers. *Journal of food science and technology*, 55, 4369-4383.
- El-Sayed, Samah M., El-Sayed, Hoda S., Ibrahim, Osama A., & Youssef, Ahmed M. (2020). Jul. Rational design of chitosan/guar gum/zinc oxide bionanocomposites based on Roselle calyx extract for Ras cheese coating. *Carbohydrate Polymers*, 239, 116234.
- Eser, Y. & Doğruer, Y. (2022). Gıdalarıda yenilebilir filmler ve kaplamalar. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*, 28:18-29.

- Espitia, P. J., & Otoni, C. G. (2018). Nanotechnology and edible films for food packaging applications. *Bio-based Materials for Food Packaging: Green and Sustainable Advanced Packaging Materials*, 125-145.
- Gohargani, M., Lashkari, H., & Shirazinejad, A. (2021). The effect of chitosan-whey protein based edible coating containing bionanocomposite material and Zataria multiflora essential oil on UF-Feta type cheese shelf life. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(5), 729-745.
- Hassan, B., Chatha, S. A. S., Hussain, A. I., Zia, K. M., & Akhtar, N. (2018). Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. *International journal of biological macromolecules*, 109, 1095-1107.
- Jafarzadeh, S., Nafchi, A. M., Salehabadi, A., Oladzad-Abbasabadi, N., & Jafari, S. M. (2021). Application of bio-nanocomposite films and edible coatings for extending the shelf life of fresh fruits and vegetables. *Advances in Colloid and Interface Science*, 291, 102405.
- Jimenez, A., Fabra, M. J., Talens, P., & Chiralt, A. (2012). Edible and biodegradable starch films: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2058-2076.
- Joshi, M., Aayush, K., Sharma, K., Bose, I., Khan, A. A., Atanassova, M., Yang, T., Murariu, O.C., Saharma, S., & Caruso, G. (2024). Fiber and nanofiber based edible packaging for enhancing the shelf life of food: A review. *Food Bioscience*, 103970.
- Kaewklin, P., Siripatrawan, U., Suwanagul, A., & Lee, Y. S. (2018). Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. *International journal of biological macromolecules*, 112, 523-529.
- Kapetanakou, A. E., Manios, S. G., & Skandamis, P. N. (2014). Application of edible films and coatings on food. *Novel food preservation and microbial assessment techniques*, 52, 237-273.
- Koirala, P., Nirmal, N. P., Woraprayote, W., Visessanguan, W., Bhandari, Y., Karim, N. U. Khaizura, M.A.R.N., & Saricaoğlu, F. T. (2023). Nano-engineered edible films and coatings for seafood products. *Food Packaging and Shelf Life*, 38, 101135.
- Korany, A. M., Abdel-Atty, N. S., Zeinhom, M. M., & Hassan, A. H. (2024). Application of gelatin-based zinc oxide nanoparticles bionanocomposite coatings to control *Listeria monocytogenes* in Talaga cheese and camel meat during refrigerated storage. *Food Microbiology*, 122, 104559.
- Kumar, L., Ramakanth, D., Akhila, K., & Gaikwad, K. K. (2022). Edible films and coatings for food packaging applications: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 1-26.
- Kumar, S., Mukherjee, A., & Dutta, J. (2020). Chitosan based nanocomposite films and coatings: Emerging antimicrobial food packaging alternatives. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 196-209.

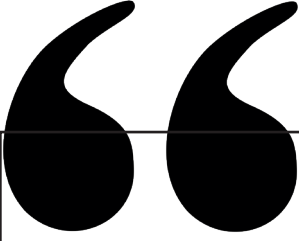
- Kuswandi, B., & Moradi, M. (2019). Improvement of food packaging based on functional nanomaterial. *Nanotechnology: applications in energy, drug and food*, 309-344.
- Li, F., Liu, Y., Cao, Y., Zhang, Y., Zhe, T., Guo, Z., Sun, X., Wang, Q., & Wang, L. (2020). Copper sulfide nanoparticle-carrageenan films for packaging application. *Food Hydrocolloids*, 109, 106094.
- Lin, L., Xue, L., Durairasan, S., & Haiying, C. (2018). Preparation of  $\epsilon$ -polylysine/chitosan nanofibers for food packaging against Salmonella on chicken. *Food packaging and shelf life*, 17, 134-141.
- Lisitsyn, A., Semenova, A., Nasonova, V., Polishchuk, E., Revutskaya, N., Kozyrev, I., & Kotenkova, E. (2021). Approaches in animal proteins and natural polysaccharides application for food packaging: Edible film production and quality estimation. *Polymers*, 13(10), 1592.
- Min, T., Zhou, L., Sun, X., Du, H., Zhu, Z., & Wen, Y. (2022). Electrospun functional polymeric nanofibers for active food packaging: A review. *Food Chemistry*, 391, 133239.
- Mkandawire, M., & Aryee, A. N. (2018). Resurfacing and modernization of edible packaging material technology. *Current Opinion in Food Science*, 19, 104-112.
- Mleki, N., KanKiya, M., Hoshangi, F., & Mojarad, L. S. (2024). Using Nanotechnology in Food Packaging. *Applied Sciences Research Periodicals*, 2(1), 43-53.
- Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., & El-Sakhawy, M. A. M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate polymers*, 238, 116178.
- Naknaen, P. (2014). Utilization possibilities of antimicrobial biodegradable packaging produced by poly (butylene succinate) modified with zinc oxide nanoparticles in fresh-cut apple slices. *International Food Research Journal*, 21(6).
- Nanda, A., Pandey, P., Rajinikanth, P. S., & Singh, N. (2024). Revolution of nanotechnology in food packaging: Harnessing electrospun zein nanofibers for improved preservation-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129416.
- Ocak, Ö. Ö., & Demircan, B. (2020). Lezzet bileşenleri ve biyoaktif maddelerin yenilebilir film ve kaplamalar ile gıda sistemlerinde taşınması ve işlevselliğe etkileri. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 26(7), 1245-1256.
- Onyeaka, H., Passaretti, P., Miri, T., & Al-Sharify, Z. T. (2022). The safety of nanomaterials in food production and packaging. *Current Research in Food Science*, 5, 763-774.
- Perera, K. Y., Jaiswal, S., & Jaiswal, A. K. (2022). A review on nanomaterials and nano-hybrids based bio-nanocomposites for food packaging. *Food Chemistry*, 376, 131912.
- Prakash, S., Kumari, M., & Chauhan, A. K. (2024). The intervention of nanotechnology in food packaging: a review. *Journal of Materials Science*, 59(7), 2585-2601.

- Priya, K., Thirunavookarasu, N., & Chidanand, D. V. (2023). Recent advances in edible coating of food products and its legislations: A review. *Journal of Agriculture and Food Research*, 12, 100623.
- Ranjan, S., Chandrasekaran, R., Paliyath, G., Lim, L. T., & Subramanian, J. (2020). Effect of hexanal loaded electrospun fiber in fruit packaging to enhance the post harvest quality of peach. *Food Packaging and Shelf Life*, 23, 100447.
- Reis, C. A., Júnior, M. G., Moreira, F. K. V., Marconcini, J. M., & Vaz, L. E. V. D. S. B. (2023). Synthesis and characterization of chitosan/montmorillonite nanocomposites for application as edible coating. *Food Science and Technology International*, 29(1), 25-39.
- Salgado, P. R., Ortiz, C. M., Musso, Y. S., Di Giorgio, L., & Mauri, A. N. (2015). Edible films and coatings containing bioactives. *Current Opinion in Food Science*, 5, 86-92.
- Sayadi, M., Mojaddar Langroodi, A., Amiri, S., & Radi, M. (2022). Effect of nano-composite alginate-based film incorporated with cumin essential oil and TiO<sub>2</sub> nanoparticles on chemical, microbial, and sensory properties of fresh meat/beef. *Food Science & Nutrition*, 10(5), 1401-1413.
- Senturk Parreidt, T., Müller, K., & Schmid, M. (2018). Alginate-based edible films and coatings for food packaging applications. *Foods*, 7(10), 170.
- Shah, M., Rajhans, S., Pandya, H. A., & Mankad, A. U. (2021). Bioplastic for future: A review then and now. *World journal of advanced research and reviews*, 9(2), 056-067.
- Singh, S., Gaikwad, K. K., & Lee, Y. S. (2018). Antimicrobial and antioxidant properties of polyvinyl alcohol bio composite films containing seaweed extracted cellulose nano-crystal and basil leaves extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 1879-1887.
- Suhag, R., Kumar, N., Petkoska, A. T., & Upadhyay, A. (2020). Film formation and deposition methods of edible coating on food products: A review. *Food Research International*, 136, 109582.
- Şahansoy, H. (2023). *Taze yumurtanın depolama stabilitesinin artırılmasında şellak ve şellak-nanopartikül kaplama uygulamalarının etkisi* (Master's thesis, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi).
- Şen, K., & Güner, K.G. (2023). Nanoteknolojinin Yenilebilir Filmlere Uygulanması. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 11(1), 411-425.
- Tripathi, A. D., Sharma, R., Agarwal, A., & Haleem, D. R. (2021). Nanoemulsions based edible coatings with potential food applications. *International Journal of Biobased Plastics*, 3(1), 112-125.
- Tural, S., Sarıcaoğlu, F. T., & Turhan, S. (2017). Yenilebilir film ve kaplamalar: Üretimleri, uygulama yöntemleri, fonksiyonları ve kashi gıdalarda kullanımları. *Akademik Gıda*, 15(1), 84-94.
- Ustunol, Z. (2009). Edible films and coatings for meat and poultry. *Edible films and*

*coatings for food applications*, 245-268.

- Wang, C., Chang, T., Dong, S., Zhang, D., Ma, C., Chen, S., & Li, H. (2020). Biopolymer films based on chitosan/potato protein/linseed oil/ZnO NPs to maintain the storage quality of raw meat. *Food chemistry*, 332, 127375.
- Wang, C., Park, M. J., Yu, H., Matsuyama, H., Drioli, E., & Shon, H. K. (2022). Recent advances of nanocomposite membranes using layer-by-layer assembly. *Journal of Membrane Science*, 661, 120926.
- Wang, X. X., Yu, G. F., Zhang, J., Yu, M., Ramakrishna, S., & Long, Y. Z. (2021). Conductive polymer ultrafine fibers via electrospinning: Preparation, physical properties and applications. *Progress in Materials Science*, 115, Article 100704.
- Wantat, A., Seraypheap, K., & Rojsitthisak, P. (2022). Effect of chitosan coatings supplemented with chitosan montmorillonite nanocomposites on postharvest quality of 'Hom Thong' banana fruit. *Food Chemistry*, 374, 131731.
- Wibowo, C., Salsabila, S., Muna, A., Rusliman, D., & Wasisto, H. S. (2024). Advanced biopolymer-based edible coating technologies for food preservation and packaging. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(1), 1-31.
- Wu, Y., Wu, H., & Hu, L. (2024). Recent advances of proteins, polysaccharides and lipids-based edible films/coatings for food packaging applications: a review. *Food Biophysics*, 19(1), 29-45.
- Xing, Y., Yang, H., Guo, X., Bi, X., Liu, X., Xu, Q., Wang, Q., Li, W., Li, X., Shui, Y., Chen, C., & Zheng, Y. I. (2020). Effect of chitosan/Nano-TiO<sub>2</sub> composite coatings on the postharvest quality and physicochemical characteristics of mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 263, 109135.
- Zambrano-Zaragoza, M. L., Quintanar-Guerrero, D., Del Real, A., González-Reza, R. M., Cornejo-Villegas, M. A., & Gutiérrez-Cortez, E. (2020). Effect of nano-edible coating based on beeswax solid lipid nanoparticles on strawberry's preservation. *Coatings*, 10(3), 253.





## *Bölüm 3*

### **EMBRYO TRANSFERİNE GENEL BAKIŞ**

*Deniz Doğan<sup>1</sup>*

*Uğur Uçan<sup>2</sup>*

---

1 Öğrenci, Doktora, Deniz Doğan, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

2 Dr. Öğretim Üyesi, Uğur Uçan, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

## 1.Giriş

Embriyo (fertilize olmuş yumurta hücresi) transferi, dişı bir hayvanın (donör) üreme organına implante olmadan önce embriyoların toplanması ve gelişimlerini tamamlamaları için başka bir dişı hayvana (taşıyıcı) transfer edilmesi olarak açıklanabilir (25). Dönor ve taşıyıcılar arasındaki temel fark, genetik üstünlüktür. Embriyo transferi uygulaması, ticari üretimin arttırılmasına yardım etmenin yanında, yetiştirilen hayvanların genetik potansiyelini hızla güçlendirmemize de olanak sağlamaktadır (44).

Embriyo transferi ile birlikte gelişen yeni üreme teknolojileri arasında, cinsiyeti belirlenmiş sperm kullanımı, östrus kontrolü, çoklu ovulasyon embriyo transferi (multiple ovulation embryo transfer / MOET) ve klonlama gibi yöntemler de bulunmaktadır (30). Söz konusu uygulamalar, embriyo transferini hayvan yetiştiricileri için daha çekici hale getirmiştir. Ancak, bu teknikler ekonomik olarak uygulanabilirliği kanıtlanmamış olup, daha fazla geliştirilmesi gerekmektedir (36).

## 2.Tarihçe

Memeli bir canlıya uygulanan ilk başarılı embriyo transferi, Walter Heape tarafından 1890 yılında gerçekleştirilmiştir (64). Heape'in, gerçekleştirdiği deneyde, bir Angora tavşanından elde edilen iki adet embriyo, operasyondan üç saat önce doğal yolla çiftleşmiş bir Belçika tavşanı dişisine transfer edilmiştir. Gebeliğin sonunda, doğan altı yavrudan dördü Belçika tavşanlarına ait karakteristik özelliklere sahiplerken, kalan iki yavru su götürmez bir şekilde Angora tavşanlarına ait fiziksel özellikler taşımaktadırlar (34).

Embriyoları uzun süre düşük sıcaklıklarda korumak için yapılan çabalar, İkinci Dünya Savaşının sonunda başlamıştır. 1950'lerde fare ve sıçan ovaryumlarındaki yumurta hücrelerinin dondurulması ve çözülmesi başarıyla gerçekleştirilmiş ve 1960'a gelindiğinde dondurma ve çözme işlemlerinden geçen yumurtalar kullanılarak üretilen ilk fareler doğmuştur (43).

Uluslararası Embriyo Transferi Derneđi'nin (International Embryo Technology Society / IETS) kurulumu, dünya genelinden araştırmacıları, akademisyenleri ve veteriner hekimleri temsil eden seksen iki kurucu üyenin katkılarıyla, 1974 yılında gerçekleşmiştir. Dernek kuruluşundan bu yana embriyo transferi ve ilişkili teknolojiler alanında bilimsel ve düzenleyici değişim ve tartışma için başlıca forum haline gelmiştir (64). Türkiye'de başarıyla tamamlanan ilk embriyo transfer uygulaması ise 1985 yılında İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Emekli Öğretim Üyesi Prof. Dr. İrfan Kamuran İleri tarafından gerçekleştirilmiştir (26).



## 2.1. Büyükbaş Hayvanlar

Sığırlar üstünde gerçekleştirilen ilk embriyo transferi, 1949 yılında, Raymond E. Umbaugh ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (24). Çalışma sonucunda dört sığır gebe bırakılmış ancak gebelik tamamlanamadan deneklerin tamamında abort gerçekleşmiştir. Embriyo transferi kullanılarak oluşturulan ilk buzağının doğumu ise 1951 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde, Cornell Üniversitesi'nde, Willet ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (50).

Uygulamanın büyük baş hayvancılık sektöründe kullanılması ve yaygınlaşması ise 1970'li yılların başlarında gerçekleşmiştir. Kimi kaynaklar, sektörün gelişmesini sağlayan itici gücün Avrupa'da yetiştirilen çok yönlü (hem et hem de süt verimi bakımından güçlü) ırkların, Kuzey Amerika, Avustralya ve Yeni Zelanda gibi ülkelerde popülerite kazanması olduğunu iddia etmektedir (24). Diğer kaynaklar ise embriyo transferinin yaygınlaşmasındaki asıl sebebi, Amerika'dan Kanada'ya ithal edilen yerli sığır ırklarının uluslararası sağlık ve ticaret kısıtlamaları nedeniyle çok değerli ve nispeten nadir hale gelmesi, olarak görmektedir. Bu durum üreticilerin, ellerindeki kıymetli hayvanların sayısını hızla çoğaltmalarını sağlayacak bir yöntem arayışına girmelerine yol açmıştır (64). Sebebi fark etmeksizin, sığır embriyolarının uluslararası ticaretinin güvenle kurulabilmesi için genetik anomalilerin yaygınlaşması riskinin en aza indirilmesi gerekli olmuştur. Canlı hayvanlar ve sperm örneklerinin ticareti üstüne düzenlemeler ve kanunlar mevcut olmasına rağmen, dondurulmuş embriyoları da ticaret hacmine dâhil edebilmek için bu kanunların uygun şekilde değiştirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla IETS, embriyoların tanımlanması için standartlar oluşturmuş, üretilen embriyoların kayıtlarının sıkı bir şekilde tutulmasını sağlamış ve uygun sağlık sertifikası standartlarına göre işlenmelerini gerekli kılmıştır (30).

## 2.2. Kediler

Kediler üstünde yapılan ilk başarılı embriyo transferi 1978 yılında gerçekleştirilmiştir (43). Schriver ve Kraemer, çiftleşmeden altı gün sonra, dokuz dişiden toplamda kırk yedi embriyo elde etmiş ve bu embriyoların, dokuz ayrı taşıyıcıya naklini gerçekleştirerek, taşıyıcıların dördünde gebelik elde etmişlerdir (8). Gebeliklerden iki tanesi doğal doğum ile sonuçlanmış, üç erkek ve bir dişi yavru doğmuştur. Üçüncü gebelikte bir erkek yavru ölü doğmuş, dördüncü gebelik ise gözlemlenememiş bir düşük veya fetal rezorpsiyonla sonuçlanmıştır (11). Embriyo transferi kullanılarak klonlanan ilk kedi ise 2002 yılında, Texas A&M Üniversitesinde gerçekleştirilen bir çalışma sonucunda dünyaya gelmiş ve "Copy cat" (İngilizcede "kopyacı" anlamına gelen "copy-cat" terimi kullanılarak yapılan bir kelime oyunu) lakabını almıştır (23).

### 2.3.Köpekler

Köpekler üstünde yapılan embriyo transferleri ve klonlama çalışmaları, kolluk kuvvetlerince kullanılan, bomba ya da uyuşturucu madde arama köpekleri gibi elit köpek cinsleri üretmek ve nesli tehlikede olan cinsleri koruma altına almak gibi amaçları temel edinmişlerdir (33).

Köpekler üstünde, kayıt altına alınmış ilk başarılı embriyo transferi Kinney ve ekibi tarafından 1979 yılında gerçekleştirilmiştir (43). Ne yazık ki, devam eden yıllarda evcil köpeklerin üreme biyolojileri üstündeki bilgi birikimi şaşırtıcı derecede sınırlı kalmıştır. Dolayısıyla evcil köpekler üstünde uygulanabilecek yardımcı üreme teknolojilerini (Assisted Reproductive Technology /ART) geliştirmek, araştırmacılar için zorlayıcı bir süreç olmuştur (31).

Köpekler üstünde embriyo transferi ile birlikte uygulanan ilk klonlama, 2005 yılının Ağustos ayında, Koreli bir araştırma ekibi tarafından gerçekleştirilmiş ve çalışmada, erişkin bir Afgan Tazısından elde edilen somatik hücre çekirdekleri, genetik materyalleri çıkartılmış ovum hücrelerine yerleştirilerek iki köpek klonlanmıştır. Üretilen embriyoların in-vivo olgunlaştırıldıklarını belirtmek gerekmektedir (23).

### 3.İn-vivo ve İn-vitro Embriyo Üretimi

Transfer uygulamasında kullanılacak embriyoların temini, süperovulasyon uygulamasını takiben, verici dişinin uterusundan toplanarak (in vivo), veya laboratuvar koşullarında üretilerek (in vitro) sağlanabilmektedir (70).

İn vivo embriyo transferi uygulamasının aşamaları, aşağıdaki şekilde sıralanabilmektedir (13);

1. Donör ve taşıyıcı hayvanların seçimi
2. Taşıyıcı ve donör hayvanlarda östrus senkronizasyonu
3. Donör hayvanda süperovulasyon protokolü uygulanması ve kızgınlık gösterenlerin tohumlanarak ovule olmuş oositlerin fertilizasyonunun sağlanması
4. Tohumlamadan sonraki 7. günde uterus yıkaması yapılarak, embriyoların toplanması
5. Elde edilen embriyolardan transfer edilebilir kalitede olanların, taşıyıcı hayvanların uterusuna nakli

İn vivo ve in vitro yöntemlerle üretilen embriyolar arasında, farklı işlemlere maruz kalmaları sebebiyle, birkaç temel fark bulunmaktadır. Öncelikle, morfoloji ve gebelik oranları açısından in vivo yöntemin in vitro yöntemine göre daha avantajlı olduğu bilinmektedir. Ayrıca kimi kaynaklar, in vitro yöntem ile üretilen her bir embriyonun maliyetinin, in vivo yöntem ile üretilenlerden 1,5 kat fazla olduğunu savunurken (40), kimi kaynaklar ise in

vitro üretilen embriyoların yaklaşık iki kat daha pahalı olduğu görüşündedirler (Hesaplamalarda fertilizasyon için harcanan spermanın fiyatı göz önünde bulundurulmamıştır) (4). İn vitro embriyo transferi yönteminde ise, in vivo yöntemden farklı olarak donör canlıdan alınan materyal embriyo değil, henüz fertilize olmamış oositler halinde toplanmaktadır.

Takip eden adımlar da şu şekilde sıralanabilir (73);

1. Elde edilen oositlerin maturasyonu
2. Mature edilmiş oositlerin dondurulmuş-çözülmüş ya da taze sperm kullanılarak fertilize edilmesi
3. Üretilen embriyoların, taşıyıcı canlıya nakledilmeye hazır hale gelene kadar kültür ortamına yerleştirilmesi ve gelecek kullanımlar için dondurulmaları.

İn vitro embriyo üretim yönteminde, oositlerin genç hayvanlardan (cerrahi veya cerrahi olmayan yöntemlerle) ve gebeliğin ilk 3 ayında olan hayvanlardan bile toplanabiliyor olması, in vivo üretim yöntemiyle kıyaslandığında büyük bir avantajdır. Ayrıca in vitro fertilizasyon için bir toplama işleminden elde edilen oositler, farklı erkeklerden elde edilen sperm örnekleri ile fertilize edilebilir. Bu da genetik kazancı maksimize eder ve akrabalı üremenin minimize edilmesini sağlamaktadır (4).

### **3.1. Donör Hayvanın Seçilmesi**

Oluşturulması planlanan bir embriyo transfer programında, donör seçiminde iki genel kıstas bulunmaktadır; Bunlar, genetik üstünlük, yani programın genetik hedeflerine katkı sağlayan hayvanlarla birlikte ilerlemesi ve kullanılabilir embriyoların fazla sayıda üretilme imkânı olarak sıralanabilir (24). Günümüzde donörler, dahil oldukları pazarın talepleri, endüstri sıralamasındaki yerleri ya da hayvan sahibinin sadece belirli bir hayvandan daha fazla yavru üretme isteği doğrultusunda seçilebilirler. Elbette yaş, puberta, laktasyon, doğum sırası, çevre ve endokrin faktörler gibi birkaç örnek de ek kriterler arasında sayılabilir (59).

Genetik faktörleri saymazsak, donör hayvanın süperovulasyona vereceği yanıtı en çok etkileyen faktör muhtemelen beslenme olacaktır (16). Vücut kondisyon skoru (VKS), donörlerin beslenme durumunu değerlendirmek için güvenilir bir yöntemdir (22). VKS sistemi, 1'den 5'e kadar olan bir ölçeği kullanmaktadır. Burada 1 kaşektik durumu temsil ederken 5 obeziteyi temsil etmektedir (61). Donör hayvanların beslenme düzeyinin pozitif halde olduğundan ve bakım gereksinimlerini karşılayan bir diyetle beslendiklerinden emin olmak önemlidir (16). Ancak, kilosu fazla olan donör dişilerin daha az canlı embriyo üretme eğiliminde olduğu ve bu tip dişilerin uygulamanın sonrasında ovaryum kisti geliştirme olasılığının daha yüksek olduğu bilin-

mektedir. Dolayısıyla donör ne çok zayıf ne de çok şişman olmamalıdır (6). Elde edilecek embriyo sayısı açısından da normal östrus siklusuna ve yüksek fertilitite geçmişine sahip, çok yaşlı olmayan hayvanların seçilmesi de büyük önem taşımaktadır (26).

### 3.2. Donör Hayvanın Seçiminde Spesifik İstisnalar

Bazı durumlarda donör canlı seçilirken dikkat edilmesi gereken tek kriter, söz konusu hayvanın nadirliği olabilmektedir ve embriyo transferi eldeki nadir canlıların sayısını arttırmak için kullanılır (24). Yıllar içinde, nesli tükenmekte olan türleri üretme amacıyla embriyo teknolojilerinin kullanımına başvurulmuştur. Tanımları gereği, nesli tükenmekte olan türler nadirdir. Bu nedenle çoğunlukla vahşi türlerin embriyoları, genellikle evcil türler olmak üzere, yaygın olarak bulunabilen ve genetik olarak birbirlerine yakın bir başka türe transfer edilerek, nadir türe ait canlıların sayıları arttırılmaya çalışılmıştır. Yıllar içinde türler arası embriyo transferinde nadiren ve genellikle tekrarlanabilir olmayan başarı raporları kaydedilmiştir (35).

Bu tip hayvanlarla çalışırken, çiftlik hayvanlarından farklı olarak, donörün seçiminde söz konusu canlıyı türün diğer bireylerinden ayıran ve öne çıkaran (çiftlik hayvanları için et ve süt verimi gibi) özelliklere dikkat etmemek daha doğru olacaktır. Amaç, elde az bulunan canlı topluluğunun, genetik çeşitliliği manipüle etmeden, sayılarını arttırmaktır. Dolayısıyla donörler rastgele seçilmelidir (24).

### 3.3. Taşıyıcı Hayvanların Seçilmesi

Yüksek kaliteli taşıyıcıların seçimi ve tanımlanması kolay bir süreç değildir. Birçok kişi düveleri bu amaçla kullanmayı tercih ederken, yüksek doğurganlık geçmişine sahip hayvanları kullanmayı seçenler de vardır (22). Düvelerin taşıyıcı olarak kullanılması, sağmal olmamaları sebebiyle sahip oldukları pozitif enerji dengesi ve yüksek fertilitite oranı ile avantaj yaratırken, transfer esnasında düvelerde serviksin geçilmesi daha sıkıntılıdır. Ayrıca, güç doğumla karşılaşma olasılığı düvelerde daha yüksektir (6).

Taşıyıcı canlının seçiminde en önemli unsur, gebe kalma açısından herhangi bir probleminin bulunmaması ve sağlıklı bir doğuma kadar gebeliği devam ettirebilecek vücut yapısı ve kondisyonuna sahip olmalarıdır (26). Bu amaçla sürü içinden uygun donörleri ayırmaya çalışırken hayvanların suni tohumlama programındaki başarılarına bakılabilir. Suni tohumlama programını başarılı geçiren bir hayvanın embriyo transfer uygulaması sırasında da başarı göstereceği öngörülebilmektedir (24).

Taşıyıcı olacak hayvanların üreme sistemi, gebelik veya rahim anomalileri açısından rektal palpasyon veya transrektal ultrasonografi yoluyla detaylı bir şekilde incelenmelidir. Bu inceleme sırasında, rahimde sıvı veya fötal kalıntılar, metritis veya endometritis belirtileri gibi durumlar kontrol edilmeli

ve ovaryumlar normal foliküler veya luteal yapılar açısından değerlendirilmelidir (22).

### 3.4.Foliküler Dalga Senkronizasyonu ve Süperovulasyon

Foliküler dalga senkronizasyonu, mevcut dominant folikülün, hormonal (GnRH, LH ve östradiol) ya da fiziksel (ultrason rehberliğinde folikül ablasyonu ya da elektrokoterizasyon) uygulamalar sonucu, diğer foliküller üzerindeki baskılayıcı etkisinin ortadan kaldırılması ve belirli bir zamanda yeni foliküler dalga oluşumunun ortaya çıkışının senkronizasyonunu temel almaktadır (69). Dominant folikülün tahribatı, salgıladığı steroid ve nonsteroid maddeler aracılığıyla diğer foliküllerin gelişimini ve yeni foliküler dalga oluşumunu engellemesi nedeniyle gereklidir (18). Başarılı bir gebelik elde etme yolunda, donör ve alıcının senkronizasyonlarının birbiriyle ilişkisi önem arz etmektedir. Alıcı ve donörlerin östrus dönemlerinin çakıştığı veya alıcının donörden 12 saat önce kızgınlık gösterdiği durumlarda daha yüksek gebelik oranları gözlemlenmiştir (22).

Sığırlar üstünde gerçekleştirilen embriyo transferi uygulamalarının ilk zamanlarında, korpus luteumun doğal regresyonuyla (yaklaşık olarak siklusun 16. günü) uyumlu olarak eCG ile süperovulasyon uygulamaları yapılmıştır (65). Geleneksel protokoller, siklusun ortasında süperovulasyonu başlatmak için, deneysel bilgilere dayanmaktadır ve süperovulasyon tedavilerin östrus'tan 8-12 gün sonra başlaması durumunda daha büyük bir yanıtın oluşacağı bilinmektedir (20). Geleneksel süperovulasyon protokollerinin iki dezavantajı vardır: birincisi, sürekli östrus tespiti yapacak deneyimli personel ihtiyacı ve ikincisi, tüm donörlerin aynı zaman diliminde östrusta olmalarının zorunluluğudur (17).

Süperovulasyon ve senkronizasyon uygulamalarının başarısını etkileyen faktörlerden biri, bireyler arasında farklılık gösteren, gonadotropin'e karşı oluşan yanıtın değişkenliğidir (19). Hesaba katılması gereken başka bir faktör ise donör dışının sıcak stresi gibi çevresel koşullardan etkilenmesi ve süperovülasyonun sonucunun farklılaşmasıdır (60). Ovaryumların boyutunun da süperovülasyon yanıtında rol oynayabildiği bilinmektedir. Transrektal ultrason taramaları, transvajinal ultrason eşliğinde yapılan ovum aspirasyonları ve mezbahada gerçekleştirilen aspirasyonlar sırasında, nispeten büyük hacme sahip olan ovaryumların genellikle daha fazla sayıda folikül içerdiği gözlemlenmiştir (6).

### 3.5.Süperovulasyon Uygulamalarında Spesifik İstisnalar

Bazı araştırmacılar, kısrakların ovaryumlarının anatomik yapısı nedeniyle süperovülasyonun atlarda gerçekleştirilemeyeceğini iddia etmektedirler (14). At embriyo transfer programlarının düşük verimliliği ve yüksek maliyetinin en önemli nedeni, bir donörün tamamladığı her siklus döngüsü başına,

birden fazla embriyo üretememe durumudur (56). Bu durumun başlıca sebebi, kısırakların superovulasyon amacıyla kullanılan ticari gonadotropinlere karşı gösterdikleri düşük tepkidir (7). Kısıraklarda çoklu ovulasyonları indüklemek için kullanılan geleneksel tedavi, equine pituitary extract (EPE) uygulanmasıdır (56). Ancak superovulasyon başarılı olsa bile, süperovüle olan kısıraklardan elde edilen embriyo miktarının, tek ovulasyon geçiren kısıraklara göre daha düşük olduğu ve süperovülasyon geçiren kısıraklardan elde edilen embriyoların fertilitite şansının daha düşük olduğu rapor edilmiştir (14).

### **3.6. Donör Hayvanların Tohumlanması**

Süperovulasyon uygulamasını takiben, donör ineklerin östrusları yakından takip edilir. Normalde süperovulasyon uygulanmayan ineklere oranla süperovulasyon uygulanan inekler östrus davranışlarını açık biçimde sergileyebilirler (26). Bu nedenle, çeşitli östrus tespit araçlarının kullanımında yarar vardır. Donörlerin yaklaşık olarak %10'u hiç östrus göstermemektedirler ve bu donörler tohumlanmamalıdır. Süperovulasyon uygulaması sonucunda birden fazla follikül, değişen zaman dilimlerinde ovule olmaktadır. Dolayısıyla tohumlamaların normale göre daha sıklıkla ve daha yoğun sperm sayısı ile yapılması yerinde bir karar olacaktır (24).

### **4. Embriyo ve Oosit Toplama Yöntemleri**

Süperovulasyon uygulamalarında, östrusun tespit edildiği gün 0. gün kabul edilmektedir. Sığır embriyoları 6. günden önce yumurta kanalının gerisinde bulunurlar ve bu nedenle cerrahi olmayan bir yöntem ile toplanamazlar. 8,5. günde ise zona pellucida'nın yapısal bütünlüğü bozulduğu için embriyo dondurulmaya uygun olmayacak kadar olgunlaşmış durumdadır. Dolayısıyla embriyo toplama işlemi, genellikle östrustan sonraki 7. günde denir ve dondurulmaya uygun bir gelişim aşaması sağlamaktadır (41). Ultraviyole ışınları embriyoları olumsuz etkileyeceği için uygulamanın yapılacağı laboratuvar doğrudan güneş ışığından arındırılmalıdır. Pencereleer bir film tabakası ile kaplanmalıdır (71).

#### **4.1. Flushing**

Embriyo eldesi için saha koşullarında tekrarlanabilir bir teknik gereklidir. Kullanılan aparatlar basit, sterilize edilmesi kolay, travmaya sebep olmayan ve tercihen ucuz olmalıdır (49). Cerrahi prosedüre kıyasla, cerrahi olmayan flushing işlemi, elde ettiğimiz embriyo oranlarını önemli ölçüde kolaylaştırmaktadır (5). Cerrahi olmayan embriyo elde etme yönteminin ilk adımı, korpus luteum sayısını tahmin etmek için rektal palpasyon yoluyla ovaryumları hissetmektir, böylece süperovulasyona karşı zayıf yanıtları olan donörleri diğerlerinden önce yıkamak ya da bu hayvanları tamamen işlem dışında bırakmak gibi lojistik planlar yapılabilir (24). Korpus luteum sayısı hakkında daha kesin veri elde etmek için, donörlerin ovaryumları ultrason

kullanılarak da incelenebilir (55).

Embriyolar 7. günde, genellikle süperovule edilmiş donörlerin uterus kornularının üst üçte birine denk gelen ön bölgede bulunmaktadır. Bu nedenle flushing işlemi, kullanılan medyum sıvısını embriyoların en sık bulunduğu bu bölgeye yönlendirmeyi temel edinen bir yöntemdir (41). Uterusun cerrahi olmayan yöntemle yıkanması amacıyla 2 veya 3 yollu foley kateterleri kullanılmaktadır (26). Eğer donör büyük, derin gövdeli bir hayvan ise (uterus vücut boşluğuna düşük bir şekilde uzanır ve ağırdır), toplama işlemi sırasında vücudunun ön yarısı yukarı kaldırılabilirse tüm işlem daha kolay ilerleyecektir (41).

Serviks ve vajinanın travmatize edilmeden, nazikçe serum fizyolojik ile temizlenmesi, bakteriyel kontaminasyonu bir ölçüde azaltmaktadır. Servikal mukus uzaklaştırılmaz ise embriyonun transfer kateterinin ucuna yapışması gibi riskler ortaya çıkabilmektedir (54). Kateterin yerleştirilmesinin nazikçe yapılması önemlidir. Sert bir cihazla uzun süreli manipülasyon, endometriyumun kolayca zarar görmesine neden olabilir (49). Foley kateteri ile serviks geçildikten sonra, hangi kornu yıkanacak ise o yönde ilerletilen kateterin ucundaki balon hava ile şişirilerek, kateter kornunun servikse yakın bölümünde sabitlenir, ve uterus üç ya da dört defa yıkama solüsyonu (serum ilave edilmiş PBS, laktatlı ringer vs) ile yıkanır (5). Yıkama esnasında, kornunun tümü ile solüsyonla dolmaması büyük önem taşır. Böylece ovidukta yakın bölgede bulunabilecek embriyoların oviduktan geriye çıkışları önlenmiş olur. Aynı işlemler diğer taraf için de uygulanır ve yıkama işlemi tamamlanır (26).

Flushing işleminin yapıldığı ortamın serin (10-25°C) olması embriyo sağlığı açısından daha tercih edilir sonuçlar vermektedir. Ortam sıcaklığının fazla olması, metabolizmalarını arttırdığı için embriyoların ömürleri kısaltmakta ve verimleri azalmaktadır (41).

#### **4.2.Laparotomi**

Laparotomi ile embriyo eldesi, donör hayvanın anestezi altına alınması ve sonrasında karın boşluğunun açılarak uterus ve ovaryumların vücut dışına çıkarılması temeline dayanır. Uterusun kornuları bir klips ile sıkıştırılır ve ovidukt boyunca verilen yıkama medyumunun geri toplanması ile arzu edilen embriyo ya da ovumlar elde edilir (28).

Laparotomi yöntemi bizlere, donörün sahip olduğu corpus luteum sayısını kesin olarak anlama ve üreme organlarının genel bütünlüğünü kontrol etme fırsatı sunmaktadır (38). Ancak vücut dışına çıkarılan üreme sisteminin manipülasyonundan dolayı oluşabilecek adezyonlar gibi dezavantajları da bulunmaktadır. Bu adezyonlar, tekrarlanan operasyonlarda elde edeceğimiz embriyoların sayısının zamanla azalmasına sebep olmaktadır (66). Adezyon

oluşumunun önüne geçmek için iki operasyon arasına uzun bekleme periyotları konulması gerekmektedir (67). Üreme sisteminde bulunan adezyonlar, ayrıca spermanın taşınmasını engelleyebilmekte ve dölleme oranında azalmaya neden olabilmektedir (38).

### 4.3. Mezbaha Materyalleri

Kesimhanelerden temin edilen ovaryumlardan toplanan ovum hücreleri, in vitro fertilizasyon koşullarının araştırılması için ucuz ve büyük miktarlarda kaynak sağlamaktadır (42). Mezbahadan laboratuvara olan taşıma süresi ve ortam sıcaklığı, folikül boyutu, ovumun gelişim aşaması, ovumun çapı, ortamın bileşimi, hormonların varlığı (genellikle FSH ve LH), ve serumun bileşimi gibi değişken faktörler in vitro olgunlaşma sürecini etkileyebilmektedir (15). Ovaryumların, kesimi takip eden ilk yarım saat içinde, fosfat buffer saline (PBS) içinde ve 30-32 C° sıcaklıkta laboratuvara intikal ettirilmesi gerekmektedir (27).

Mezbahalardan toplanan materyaller, çalışanları hormon uygulamaları ve donörlerin bakımı gibi zahmetli prosedürlerden kurtarıyor olsa da, materyali temin ettiğimiz dışının genetik geçmişini bilmememiz, elde edeceğimiz embriyonun genetik hastalıklar için kontrol edilemeyeceği anlamına gelmektedir (42). Bu olumsuzlukların üstesinden gelinmesi amacıyla canlı hayvanlardan oosit toplanması söz konusu olmuş ve bunun ilk uygulamaları laparoskop ve laparotomi yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir (58).

### 4.4. Ovum Pick-Up (OPU)

Ovum pick-up ile in vitro embriyo üretimi, donör hayvanlardan daha kısa sürede, hormon kullanmadan ve doğurganlık üzerinde olumsuz etkiler olmadan daha fazla transfer edilebilir embriyo elde etmemizi sağlama potansiyeline sahiptir (68).

İşlemden önce, rektum boşaltılarak perineal bölgenin temizlik ve dezenfeksiyonu sağlanmalı, ardından epidural anestezi uygulanması gerekmektedir. Ayrıca ovaryumu gözlemek, folikülleri tespit etmek, oosit aspirasyonunu gerçekleştirmek ve oositleri toplayıp işlem bitene dek korumak amacıyla; ultrason cihazı, konveks prob, bu probun ve aspirasyon iğnesinin yerleştirildiği özel prob ataçmanı, vakum pompası ve su banyosu düzeneğinden oluşan bir sisteme de gerek duyulmaktadır (58).

İşlem sırasında operatör, probu mümkün olduğunca vajinanın içine yerleştirerek başını serviksın dış kısmının ya sol ya da sağ tarafına konumlandırır. Aynı taraftaki yumurtalık, probun başına karşı gelecek şekilde rektumdan manipüle edilir. Prob, ultrason monitöründe delinmesi ve aspire edilmesi gereken folikülü kesen bir delme hattında olacak şekilde konumlandırılır. Bir folikül delme hattında sabit bir şekilde tutulduğunda, iğne yerleştirilir. İğne geri çekilene kadar sürekli emme uygulanır, ardından iğne PBS ve heparin ile



yıkanır. Çapı 2 mm'den büyük olan tüm görünen foliküller delinerek aspire edilmiş olmalıdır (68). Eğer delinmiş olan folikülün yanında ikinci bir folikül görülürse, probun yönü hafifçe değiştirilerek delme hattı yeni folikülü kesecek şekilde ayarlanabilir. Böylece folikülün aspirasyonu, iğne yumurtalık dokusundan geriye çekilmeden gerçekleştirilebilir (48). Söz konusu OPU olduğu zaman, fazladan enjeksiyonlara ve hormon uygulamaları sebebiyle ortaya çıkabilen sorunlara rastlamayız. Ancak OPU uygulamasının hayvanın fizyolojisini bozmadığının bir garantisi de yoktur, çünkü inek normalde olduğu gibi hormonal döngüsünü tamamlayamayacak, korpus luteum oluşturamayacak ve yüksek düzeyde östrojen üretmeyecektir (4).

#### 4.5.Laparoscopic Ovum Pick-Up (LOPU)

Laparoskopi, karın boşluğunun gazla şişirilmesini ve ardından karın duvarına yerleştirilen bir portal aracılığıyla, teleskop (laparoskop) kullanılarak karın boşluğunun içeriğinin incelenmesini sağlayan bir tekniktir. Prosedür, teleskop yerleştirildikten sonra, yan yana konumlanan portallar aracılığıyla, karın boşluğunda biyopsi forsepsleri, tanısal veya cerrahi prosedürler gerçekleştirmek için çeşitli cerrahi aletler kullanılmasına olanak sağlar (12).

Laparoskopi, küçük rumiantlarda, özellikle koyunlarda, oosit ve embriyo toplaması için uzun süredir etkili bir şekilde kullanılan bir yöntemdir. Koyunların yanı sıra, büyük çiftlik hayvanlarında, sığır ve mandalarda da LOPU kullanılmıştır (3). Laparotomi ve flushing yöntemlerinden farklı olarak laparoskopi yönteminde donör hayvanın, üreme organlarına daha kolay erişim sağlama amacıyla, operasyon öncesinde aç bırakılması gerekmektedir (37). Donör hayvana, işlemden 24 saat önce yem ve 12 sat önce su verilmesi kesilmelidir (47).

İğne, karın duvarından geçtikten sonra karbondioksit üfleme cihazına bağlanır. Daha sonra teleskobu içinde barındıran bir kanül ünitesi karın duvarından geçirilir. Işık kablosu teleskoba ve ışık kılavuz kablosu, ışık kaynağına bağlanır. Teleskop karın boşluğunda olduğunda, organların dikkatli bir şekilde incelenmesi yapılır (12). İnceleme bitiminde her bir ovaryum, olası yapışıklıkların önlenmesi için, 37°C'de heparinize edilmiş tuzlu su solüsyonuyla (25 IU/mL) nazıkçe yıkanabilir (42).

Laparoskopi, laparotomiye kıyasla daha az invaziv bir işlemdir ve laparoskopide adezyon oluşma ihtimali düşüktür. Dolayısıyla donör olmasına karar verilen, yüksek genetik özelliklere sahip hayvanlar tekrar tekrar opere edilebilir. Ancak laparoskopi ile embriyo temin edebilmek için gerekli olan ekipmanlar nispeten pahalıdır ve eğitimli personel ihtiyacı daha yüksektir (38). Ayrıca belirtmek gerekir ki laparoskopi ve laparotomi yöntemlerini kıyaslama amacıyla yapılan çalışmalarda, laparoskopik yöntemin, laparotomiye kıyasla daha yüksek bir gebelik oranı sağladığı görülmüştür (67).

## 5.Oosit maturasyonu

İn vitro olgunlaştırma (IVM), küçük antral foliküllerin içinden olgunlaşmamış oositlerin çıkarılmasını ve laboratuvar ortamında bu oositlerin kültür edilmesini içeren, yardımcı bir üreme teknolojisidir (72). Olgun oositin kalitesi, ileri fertilizasyon ve implantasyon başarısını doğrudan etkileyerek, kaliteli embriyo oluşumuna temel oluşturmaktadır (9).

Oosit olgunlaşması için çapı 1-6 mm olan folliküllerden oositler, aspirasyon sonrası mikroskopta tanımlanmaları yapılarak gruplandırılır. Gruplandırma şu şekilde yapılır;

- A. Kompakt kumulus ve corona mevcut oositler,
- B. Ekspant edilmemiş kumulus ve corona mevcut oositler,
- C. Kumulus ve corona hücrelerinden arınmış oositler

İn vitro olgunlaşma için iki kez HERBES, bir kez de BMOC 3 medyumlarında oositler yıkandıktan sonra, oositlerin 5-10 tanesi 37-39 °C , % 5 CO<sub>2</sub> ve % 95 hava ile dengelenmiş parafin ile kaplı kültürlerde inkubasyona bırakılır (27). Oositlerin olgunlaşma ortamı ve kullanılan protein takviyelerinin seçimi, sonrasında gerçekleştirilecek IVF ve in vitro gelişimde önemli bir rol oynar. Üretilen olgunlaşma ortamları genellikle, protein takviyeleri olarak sığır foliküler sıvısı (BFF), östrus keçi serumu (EGS), östrus koyun serumu (ESS), östrus inek serumu (ECS), fetal sığır serumu (FBS) ve sığır serum albümini (BSA) içermektedir (29). Maturasyonun genellikle 24-27. saatler arasında tamamlandığı ve 33. saatten sonra artmadığı gözlenmiştir (27).

İn vitro mature edilen oositlerin, in vivo olgunlaşan oositlere kıyasla gelişimsel kapasitelerinin daha zayıf olduğu bilinen bir gerçektir. Bu durum, in vitro embriyo üretimiyle nispeten düşük oranda yumurta elde etmemize sebep olmaktadır ve in vitro embriyo üretimi uygulamasının karşılaştığı ana kısıtlamalardan birisi de budur (42). İn vitro olgunlaştırmanın her zaman başarılı olmamasının genel nedeni, bu sürecin, pH, sıcaklık değişimleri, oksijen gerilimi, ortamın bileşimi veya kültür tipi gibi çevresel faktörlere son derece duyarlı olmasıdır (1).

## 6.Oositlerin Fertilizasyonu

IVF uygulamasının fertilizasyon aşamasının geleneksel yöntemi, oositlerin sperma ile bir petri kabında inkübe edilmesi ve sperm hücrelerinin oositi “doğal” olarak döllemesidir. Sonradan uygulanmaya başlayan bir başka yöntem ise intrasitoplazmatik sperm enjeksiyonu (Intracytoplasmic Sperm Injection / ICSI) dur. Bu yöntemde dölleme, keskin bir cam mikropipetle tek bir sperm hücresinin bir yumurta hücreğine yerleştirilmesini/enjekte edilmesini içermektedir (74).

## 7.Embriyo Kültürü

Fertilizasyon sonrası memeli embriyolarının in vitro kültür dönemi, erken embriyonun planlı bölünmelerini gerçekleştirebileceği ve nihayetinde bir blastosist haline gelebileceği uygun bir ortam gerektirmektedir (10). Embriyo kültür koşulları geniş bir şekilde değişiklik gösterebilir. Özellikle, kültür ortamının ve gaz atmosferinin bileşimi herhangi bir memeli türü için sabit değildir (39). Yine de yapılan çalışmalar sonucunda pek çok farklı antioksidanın embriyo kültür medyumlarında ve dondurulan embriyoların yeniden çözdürülmesi aşamasında faydalı etkilerine rastlanmıştır (2). İmplantasyon öncesi embriyolar, dengelenmiş tuz çözeltileri ve karbonhidrat karışımları gibi basit kültürlerden, (TCM)-199 içeren kültür ortamları gibi çok karmaşık bileşenlere kadar değişen ortamlarda gelişebilmektedirler. Bu ortamlara serum ve/veya somatik hücrelerden oluşan bir destek tabakası da eklenebilmektedir (10).

### 8. Embriyoların Değerlendirilmesi

Embriyolar, şekil, sitoplazma rengi, hücrelerin sayısı ve yoğunluğu, perivitellin alan, dejeneratif hücrelerin sayısı, sitoplazmik veziküllerin sıklığı ve boyutu ve yaşa göre gelişim aşamaları gibi bir dizi fiziksel özelliğe uyumlarına göre değerlendirilmektedirler (32). Embriyolar, IETS el kitabında, gelişim aşamalarına (1 ila 9 arası) ve kalitelerine (1 ila 4 arası) dayalı bir numara kodlama sistemi ile sınıflandırılmaktadırlar (21).

Gelişim aşamalarına göre sınıflandırma aşağıdaki şekildedir (71);

- I. Fertilize Olmamış Oosit
- II. 2-12 Hücreli Aşama
- III. Erken Morula
- IV. Kompakt Morula
- V. Erken Blastosist
- VI. Blastosist
- VII. Expanded Blastosist
- VIII. Hatched Blastosist
- IX. Expanded Hatched Blastosist

Kalitelerine göre sınıflandırma ise dört kademedede değerlendirilmektedir.

Kod 1, embriyolar boyut, renk ve yoğunluk bakımından muntazam olan blastomerleri ile küresel ve simetrik bir kütleyle sahiptir. Bu embriyo beklenen gelişim evresi ile uyumludur. Hücreler arası düzensizlikler nispeten az, canlı hücre kütlesi ve hücre materyalin en az % 85'i bozulmamış olmalıdır (21).

Kod 2, embriyolar embriyonik kütlelerin genel şekli ve görünümünde,

bireysel hücrelerin yoğunluğu, rengi ve boyutlarında orta düzeyde düzensizliklere sahiptir. Embriyonik kütlelerin en az % 50'si bozulmamış ve canlı hücrelerden oluşmaktadır. Bu embriyolar genellikle transfer edilebilir olarak sınıflandırılırsalar da dondurulabilir değildirler (70).

Kod 3, embriyolar embriyonik kütlelerin genel şekli ve görünümünde, bireysel hücrelerin yoğunluğu, rengi ve boyutlarında önemli düzeyde düzensizliklere sahiptir. Embriyonik kütlelerin en az % 25'si bozulmamış ve canlı hücreler oluşturmaktadır. Bu embriyolar dondurma/çözdürme prosedürlerinde sağlam kalamazlar (71).

Kod 4, embriyolar canlı değildirler. Bunlar kullanılabilir değildir ve elden çıkarılmalıdır (21).

### **9.Yardımcı Üreme Teknolojileri**

Yardımcı üreme teknolojilerinin (Assisted Reproductive Technologies / ART) uygulanabilirliğinin yıllar içinde artması, hem araştırmacılar hem de hayvan yetiştiricileri arasında büyük bir ilgi uyandırmıştır. Embriyoyu ikiye bölme (splitting) ve embriyo cinsiyet tayini gibi teknikler, çiftlik hayvanlarının üreme yönetim sistemlerinde yaygın olarak kullanılabilir hale gelmiştir (62).

#### **9.1.Embriyo Splitting**

İki-hücreli aşama ve hatched blastosit aşamaları arasında bulunan embriyolara splitting uygulaması yapılabilmektedir. Elde edilen embriyoları bölmek için iki ana sebep vardır. İlk olarak, ikiz canlı elde etmek, sürdürülecek araştırmalar için oldukça kullanışlı materyeller elde etmemizi sağlamaktadır. İkinci neden ise üretkenliğin arttırılmasıdır (24). Geçmişte, in vitro embriyo splitting yöntemi kullanılarak, keçi, at, koyun, inek ve domuz gibi çiftlik hayvanlarında ikiz gebelikler elde edilmiştir (51).

Embriyo splitting amacıyla kullanılacak iki farklı yöntem bulunmaktadır. Bunlar, biyopsi ve biseksiyon'dur. Bu güne kadar, iki teknik arasında, gebelik ve doğum oranlarını etkileyen bariz bir farka rastlanmamıştır (53). Biyopsi işleminde, donör embriyonun zona pellucida'sında bir delik açmak için, hücre Tyrode solüsyonu ile işlenir yahut lazer kullanılarak zona pellucida delinir. Daha sonra, blastomerler delikten bir aspirasyon pipeti ile dışarı çıkarılır. Bu serbest blastomerler boş bir zona pellucida içine transfer edilir (52). Biseksiyon işlemi ise bütün bir embriyoyu, mekanik olarak iki eşit parçaya ayırmak için kullanılır. Bu prosedür iki aşamadan oluşur: embriyonun immobilize edilmesi ve ikiye bölünmesi. İmmobilizasyon, zona pellucida'ya vakum uygulanarak veya embriyonun bir yüzeye yapıştırılmasıyla yapılabilir. Biseksiyon genellikle kırık bir jilet bıçağı parçası veya ince cam iğne ile yapılmaktadır (24). Kesilen parçalar, blastosistler, trophoctoderm ve iç hücre külesini eşit şekilde içermelidir. Oluşan tek yumurta ikizi embriyolar, daha fazla

büyüme ve gelişmeleri için kültür ortamına yerleştirilebilirler (53). Biseksiyon veya biyopsi yapılmış taze embriyolar ile elde edilen gebelik oranları (%50 ila %60) ve işlem görmemiş embriyolar ile elde edilen gebelik oranları arasında bariz bir fark kayda geçmemiştir (%55 ila %61) (63).

## 9.2.Embriyolarda Cinsiyet Tayini

Elde edilecek yavrunun cinsiyetini kontrol etmek, hayvancılık endüstrisi için on yıllardır devam etmekte olan bir hayaldir (45). Teorik olarak, sığırdaki cinsiyet kontrolü için ideal yöntem, X ve Y kromozomlarını taşıyan spermelerin ayrılmasıdır. Ancak ne yazık ki, bugüne kadar memelilerde sperme zarar vermeden cinsiyet ayırımını başaran net bir örnek bulunmamaktadır (24). Dolayısıyla embriyo cinsiyetlendirme tekniklerinde dikkate alınması gereken kriterler, doğru bir şekilde cinsiyetlendirilebilen embriyoların yüzdesi ve cinsiyetlendirme prosedürünün embriyo canlılığı üzerindeki etkisidir (46). Sadece Kod 1 (mükemmel veya iyi) ile derecelendirilmiş veya bazı durumlarda Kod 2 (orta) dereceli embriyolara cinsiyet ayırma işlemi uygulanabilmektedir (57).

Memelilerde embriyo cinsiyetinin belirlenmesi için birçok yöntem bildirilmiştir. Bunlar arasında karyotip ile cinsiyet kromozomlarının belirlenmesi, erkek spesifik antijenlerin immünolojik tespiti ve erkek-spesifik Y kromozomal DNA dizilerinin tespiti için DNA hibridizasyonu gibi yaklaşımlar bulunmaktadır. Ancak, cinsiyetin belirlenmesi için en pratik ve doğru yöntem olarak görünen yöntem, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)'dur (63). 1980'lerin ortalarında sığır Y kromozomuna özgü DNA parçalarının ayırt edilmesi ve sonrasında PCR ile DNA amplifikasyon tekniklerinin geliştirilmesi, embriyoların cinsiyetlendirilmesi işleminin önünü açmıştır (57). Bu prosedür, biyopsi ile alınan hücrelerden kopyalanmış DNA kullanarak, erkeklik kromozomunun varlığını veya yokluğunu belirleyip embriyonun cinsiyetini ayırt eder (59).

## 10.Sonuç

Embriyo transferi, kendisine pek çok konuda kullanım alanı bulabilmektedir. Bunlar aşağıdaki gibi sıralanabilir;

- Ticari talebin olduğu pazarlara hizmet sunarak kar elde etmek.
- Bir hipotezi test etmek için en iyi yaklaşımın embriyo transferi olarak kabul edildiği araştırmalarda kullanmak.
- Yok olma tehlikesi altındaki ırkların genetik materyalini emniyete almak.
- Yeni genetik kaynaklar sağlamak için embriyo ithal etmek ve ardından yeni ırkın hayvanlarının sayısını hızla arttırmak.

Ancak bütün avantajlarına rağmen, embriyo transferi sığır­ların üretilmesinde nadiren tercih edilen bir yöntemdir. Gelişmiş ülkelerde bile embriyo transferinin kullanımı, doğan her 500 buzağıya karşılık olarak 1 buzağı oranına ulaşmaktadır. Elbette gelecekte cinsiyet belirleme ve klonlama gibi, yeni teknolojiler daha ucuz hale geldikçe ve yaygınlařtıķa bu durum değişebilir. Dolayısıyla embriyo transferi, günümüzde tek başına üretici için karlı olmayan bir işlem olarak görünse de gelecekte işlemin kolaylaştırılması ve ucuzlaması, kullanım oranını büyük ölçüde arttıracaktır. Bu amaç doğrultusunda, embriyo transfer işleminin, üstünde çalışılması ve geliştirilmesi gerektiği de aşıkrdır.

## KAYNAKÇA

1. A. Fernández-Montoro., D. Angel-Velez., C. Benedetti., N. Azari-Dolatabad., O.B. Pascottini., A.V. Soom., K.C. Pavani., (2023). Alternative Culture Systems for Bovine Oocyte In Vitro Maturation: Liquid Marbles and Differentially Shaped 96-Well Plates. *Animals*, 13, 1635. <https://doi.org/10.3390/ani13101635>
2. A.E. Öztürk., M.N. Bucak., (2019). Embriyo transfer manipulasyonlarında antioksidan kullanımı. Akyol N, editör. Çiftlik Hayvanlarında Embriyo Transferi Uygulamaları. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2019. p.26-33.
3. A.J. de O. Sousa., H.J. Gurgel., P.S.A. Coelho., C.R.G. Silva., L.H.V. Araújo., H.S. do Nascimento., I. do S.R. Rodrigues., L.C. Pantoja., T. da S. Cardoso., M.D. Silva., A.C.C. Torres., P.P.M. Teixeira., M. dos S. Miranda., (2022). Surgical description of laparoscopic ovum pick-up in buffalo calves. *Animals* 2023, 13, 102. doi:10.3390/ani13010102
4. A.M. van Wagtenonk-de Leeuw. (2006) Ovum Pick Up and In Vitro Production in the bovine after use in several generations: A 2005 status. *Theriogenology* 65, 914–925. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.09.007
5. A.S. Castro Neto., B.V. Sanches., M. Binelli., M.M. Seneda., S.H. Perri., J.F. Garcia., (2005). Improvement in embryo recovery using double uterine flushing. *Theriogenology* 63, 1249–1255. doi:10.1016/j.theriogenology.2004.03.022
6. B. Stroud., J.F. Hasler., (2006). Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. *Theriogenology* 65, 65–76. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.10.007
7. C.A. Rosas., R.H. Alberio., J.L. Baraiiao., A. Agiiero., M.G. Chaves., (1997). Evaluation of two treatments in superovulation of mares. *Theriogenology*. 49, 1257-1264 (1998)
8. C.E. Pope., (2000). Embryo Technology In Conservation Efforts For Endangered Felids. *Theriogenology* 53: 163-174.
9. D. Akoğulları., H.S. Vatansever., (2022). Oosit Matürasyonuna Yeni Bir Bakış: N6-metiladenosin metilasyonu. *CBU-SBED*, 9(1): 164-168. doi:10.34087/cbusbed.962188
10. D. Rizos., M. Clemente., P. Bermejo-Alvarez., J. de La Fuente., P. Lonergan., A. Gutierrez-Ada n., (2008). Consequences of in vitro culture conditions on embryo development and quality. *Reprod Dom Anim* 43 (Suppl. 4), 44–50. doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01230.x
11. D.C. Kraemer., B.L. Flow., M.D. Schriver., G.M. Kinney., J.W. Pennycook., (1979) Embryo Transfer In The Nonhuman Primate, Feline And Canine. *Theriogenology*. January 1979 Vol.11 No.1.
12. E. Monnet., D.C. Twedt., (2003) Laparoscopy. *Vet Clin Small Anim* 33 (2003) 1147–1163. doi:10.1016/S0195-5616(03)00058-5
13. E. Say (2018). *Embriyo transfer uygulamaları ile repeat breeder ineklerde gebe-*

- lik oranlarının araştırılması*. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
14. E.L. Squires., P.M. McCue., (2007). Superovulation in mares. *Animal Reproduction Science*. 99, 1–8. doi:10.1016/j.anireprosci.2006.04.054
  15. F. Dias. SD., P. de Andrade L., Rolo. J, Gaspar. C., Gomes-Ruivo. P., Machado. RS., Ferreira. SS., Palmeira-de-Oliveira. R1., Martinez-de-Oliveira. J., P.-de-Oliveira A., (2022). Study of the viability of oocytes collected from bovine ovaries obtained in a slaughterhouse under punctured at different times. *International Journal of Zoology and Animal Biology*. Volume 5 Issue 6, doi:10.23880/izab-16000423
  16. G. C. Lamb., (2011). Embryo Transfer: Managing Donors And Recipients. *Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle* August 31 – September 1.
  17. G.A. Bó., D.C. Guerrero., A. Tribulo., H. Tribulo., R. Tribulo., D. Rogan., R.J. Mapletoft (2010). New approaches to superovulation in the cow. *Reproduction, Fertility and Development*, 22, 106–112.
  18. G.A. Bo., G.P. Adams., R.A. Pierson., R.J. Mapletoft., (1995). Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43:31-40.
  19. G.A. Bo., P.S. Baruselli., D. Moreno., L. Cutaia., M. Caccia., R. Tribulo., H. Tribulo., R.J. Mapletoft., (2002). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57:53-72.
  20. G.A. Bo., P.S. Baruselli., P.M. Chesta., C.M. Martins., (2006). The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology* 65. 89–101. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.10.008
  21. G.A. Bó., R.J. Mapletoft., (2013). Evaluation and classification of bovine embryos. *Anim. Reprod.*, v.10, n.3, p.344-348, Jul./Sept. 2013.
  22. G.C. Lamb., V.R.G. Mercadante., (2015). Selection and Management of the Embryo Recipient Herd for Embryo Transfer. *Bovine Reproduction*, First Edition, 723-732.
  23. G.C. Luvoni., S. Chigioni., M. Beccaglia., (2006). Embryo Production in Dogs: from In Vitro Fertilization to Cloning. *Reprod Dom Anim* 41, 286–290; doi: 10.1111/j.1439-0531.2006.00704.x
  24. G.E. Seidel., S.M. Seidel., (2005). *Training Manual For Embryo Transfer In Cattle*. Rome: Food And Agriculture Organization Of The United Nations.
  25. H. Kanagawa., I. Shimohira., N. Saaitoh., *Manual Of Bovine Embryo Transfer: Backround of Embryo Transfer*. (1995 March). Japan Livestock Technology Association.
  26. H. Sağırkaya., (2009). Sığırlarda Embriyo Transfer Uygulaması ve Türkiye Açısından Önemi. *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.* 28, 2: 11-19.
  27. H. Sungur., N. Yurdaydın., (1991). Çiftlik hayvanlarında oosit maturasyonu ve in-vitro fertilizasyon. *Lalahan Hay. Arş. Ens. Der.* 31 (3-4) 27-33.

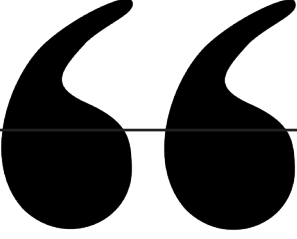


28. H.H. Herrmann., W. Holtz., (1981). Culture of pig embryos collected in situ or after slaughter. *Animal Reproduction Science*, 4, 143-147.
29. H.K.Shabankareh., K. Sarsaifi., T. Mehrannia., (2010) In vitro maturation of ovine oocytes using different maturation media: effect of human menopausal serum. *J Assist Reprod Genet* (2011) 28:531–537 doi:10.1007/s10815-010-9523-3
30. I. Gordon., (2004). *Reproductive Technologies in Farm Animals*. UK: CABI Publishing.
31. J. B. Nagashima., A. J. Travis., N. Songsasen., (2015). The Domestic Dog Embryo: In Vitro Fertilization, Culture, and Transfer. *Comparative Embryo Culture: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*, vol. 2006. doi:10.1007/978-1-4939-9566-0\_18
32. J. Barfield., (2015). Evaluation of in vitro-produced bovine embryos. Ceta/Acte & Aeta Joint Convention – Niagara Falls, Ontario Session: Ivp Vs Ivd Embryo Evaluation.
33. J. Choi., J.H. Lee., H.J. Oh., M.J. Kim., G.A. Kim., E.J. Park., Y.K. Jo., S.I. Lee., D.G. Hong., B.C. Lee., (2013) Behavioral Analysis of Cloned Puppies Derived from an Elite Drug-Detection Dog. *Behav Genet*, 44: 68–76. doi: 10.1007/s10519-013-9620-z
34. J. D. Biggers., (1991). Walter Heape, FRS: a pioneer in reproductive biology. Centenary of his embryo transfer experiments. *J. Reprod. Fert.* 93, 173-186.
35. J. Saragusty., P. Ajmone-Marsan., S. Sampino., J.A. Modlinski., (2020). Reproductive biotechnology and critically endangered species: Merging in vitro gametogenesis with inner cell mass transfer. *Theriogenology*, 155, 176-184. doi:10.1016/j.theriogenology.2020.06.009
36. J. Scherzer., RA. Fayrer-Hosken., L. Ray., DJ. Hurley., GL. Heusner., (2008) Advancements in Large Animal Embryo Transfer and Related Biotechnologies. *Reprod Dom Anim* 43, 371–376. doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00921.x
37. J.D.R. Santos., R. Ungerfeld., M.F.A. Balara., J.M.G. Souza-Fabjan., I.O. Cosentino., V.L. Brair., C.V. de Souza., P.H.N. Pinto., A.L.C. Bade., J.F. da Fonseca., F.Z. Brandao., (2020). Transcervical vs. laparotomy embryo collection in ewes: The effectiveness and welfare implications of each technique. *Theriogenology*, 153, 112-121. doi:10.1016/j.theriogenology.2020.05.004
38. J.F. Fonseca., J.M.G. Souza-Fabjan., M.E.F. Oliveira., C.R. Leite., P.M.P. Nascimento-Penido., F.Z. Brandão., K.C. Lehloenya., (2016). Nonsurgical embryo recovery and transfer in sheep and goats. *Theriogenology xxx* (2016) 1–8. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.04.025
39. J.G. Thompson., M. Mitchell., K.L. Kind., (2007). Embryo culture and long-term consequences. *Reproduction, Fertility and Development* 19, 43–52.
40. J.H.F. Pontes., I. Nonato-Junior., B.V. Sanches., J.C. Ereno-Junior., S. Uvo., T.R.R. Barreiros., J.A. Oliveira., J.F. Hasler., M.M. Seneda., (2009). Compari-

- son of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. *Theriogenology* 71, 690–697. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.09.031
41. J.L. Curtis., (2015). *Cattle Embryo Transfer Procedure*. United States of America: Agtech, Inc.
  42. J.M.G. Souza-Fabjan., Y. Locatelli., N. Duffard., E. Corbin., Jean-Luc Touzé., C. Perreau., J.F. Beckers., V.J.F. Freitas., P. Mermillod., (2014). In vitro embryo production in goats: Slaughterhouse and laparoscopic ovum pick up–derived oocytes have different kinetics and requirements regarding maturation media. *Theriogenology* 81, 1021–1031. doi:10.1016/j.theriogenology.2014.01.023
  43. K. J. Betteridge., (1981) An historical look at embryo transfer. *J. of Reprod. Fert.* 62, 1-13
  44. K. Vijayalakshmy., J. Manimegalai., R. Verma., V. Chaudhiry., (2018). Embryo transfer technology in animals. *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 6(5): 2215-2218
  45. K.R. Bondioli., (1992). Embryo sexing: A review of current techniques and their potential for commercial application in livestock production. *J. Anim. Sci.* 70(Suppl. 2):19-29.
  46. K.V. Lakshmy J. Manimegalai., U. Lambe., (2018). Different methods of embryo sexing: A review. *The Pharma Innovation Journal* 7(10): 170-172.
  47. M. Bruno-Galarraga., M. Cueto., A. Gibbons., F. Pereyra-Bonnet., M. Subiabre., A. González-Bulnes., (2015). Preselection of high and low ovulatory responders in sheep multiple ovulation and embryo transfer programs. *Theriogenology* 84, 784-790. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.05.011
  48. M. C. Pieterse., K.A. Kappen., Th. A.M. Kruip., M.A.M. Taverne., (1988) Aspiration of bovine oocytes during transvaginal ultrasound scanning of the ovaries. *Theriogenology*, Vol. 30 No. 4, 751-762.
  49. M. Drost., A. Brand., M.H. Aarts., (November 1976) A device for nonsurgical recovery of bovine embryos. *Theriogenology*, Vol. 6 No. 5, 503-507. doi: 10.1016/0093-691X(76)90117-5
  50. M. Mikkola., J. F. Hasler., J. Taponen., (2020). Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 32, 104–124 doi:10.1071/RD19279
  51. M. Omıdı., M.A. Khalılı., A. Agha-Rahımı., S.A. Nottola., F. Anbarı., A. Faramarzi., M.G. Palmerını., (2021). Efficacy of the in vitro splitting of human preimplantation embryos from ART programs. *Turkish Journal of Medical Sciences* 51: 68-75 doi:10.3906/sag-1710-194
  52. M. Omıdı., M.A. Khalılı., I. Halvaei., F. Montazeri., S.M. Kalantar., (2019). Quality of blastocysts created by embryo splitting: A time-lapse monitoring and chromosomal aneuploidy study. *Cell J*, Vol 22, No 3, October-December (Autumn) 2020.

53. M. Rahbaran., E. Razeghian., M.S. Maashi., A.T. Jalil., G. Widjaja., L. Thangavelu., M.Y. Kuznetsova., P. Nasirmoghadas., F. Heidari., F. Marofi., M. Jarahian., (2021). Cloning and embryo splitting in mammals: Brief history, methods, and achievements. *Hindawi*, Volume 2021, Article ID 2347506, 11 pages <https://doi.org/10.1155/2021/2347506>
54. M. Sakıncı., C.M. Ercan., (2013). Embryo transfer tekniğinde kanıta dayalı yaklaşım. *Selçuk Tıp Derg* 2013;29(3): 144-149.
55. M. Salizhenko., O. Valchuk., V. Kovpak., S. Derkach., Y. Masalovych., (2022). Embryo flushing in cows under various superovulation schemes. *Ukrainian Journal Of Veterinary Sciences*, Volume 13, No. 2. P. 46-52. doi: 10.31548/ujvs.13(2).2022.46-52
56. M.A. Alvarenga., (2008). Superovulation in mares: Limitations and perspectives. *Pferdeheilkunde* 24, 1 (Januar/Februar) 88-91.
57. M.Thibier., M.Nibart., (1995). The sexing of bovine embryos in the field. *Theriogenology* 43:71-60.
58. N. Akyol., S.H. Kızıl., T. Karaşahin., M. Satılmış., Y. Hashiyada., (2008). Sığırlarda ovum pick-up (OPU) tekniği kullanılarak in vitro embriyo üretimi. *Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.* 48 (1) 1-11.
59. P.E. Phillips., M.M. Jahnke., (2016). Embryo Transfer (Techniques, Donors, and Recipients). *Vet Clin Food Anim.* doi:10.1016/j.cvfa.2016.01.008
60. P.J. Hansen., M. Drost., R.M. Rivera., F.F. Paula-Lopes., Y.M. Al-Katanani., C.E. Krininger III., C.C. Chase, Jr., (2001) Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology*, 55, 91-103. doi: 10.1016/S0093-691X(00)00448-9
61. R. Koçyiğit., (2017). Süt sığırlarında Vücut Kondisyon Skorunun (VKS) belirlenmesi ve sırt yağ kalınlığının ölçülmesinde ultrason kullanımı. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 48 (2): 139-144.
62. R.A. Godke., M. Sansinena., C.R. Youngs., (2014) Assisted reproductive technologies and embryo culture methods for farm animals. *Transgenic Animal Technology*, 581-638. doi:10.1016/B978-0-12-410490-7.00022-0
63. R.F.F. Lopes., F. Forell., A.T.D. Oliveira., J.L. Rodrigues., (2001). Splitting and biopsy for bovine embryo sexing under field conditions. *Theriogenology* 56: 1363-1392.
64. R.J. Mapletoft., (2013). History and perspectives on bovine embryo transfer. *Anim. Reprod.*, v.10, n.3, p.168-173, Jul./Sept. 2013.
65. R.J. Mapletoft., G.A. Bo., (2012). The evolution of improved and simplified superovulation protocols in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 24, 278-283 doi:10.1071/RD11919
66. S. Torrès., C. Sevellec., (1987). Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. *Reprod. Nutr. Develop.*, 27 (4) 859-863.
67. S.T. Shin., S.K. Jang., H.S. Yang., O.K. Lee., Y.H. Shim., W.I. Choi., D.S. Lee.,

- G.S. Lee., J.K. Cho., Y.W. Lee., (2008). (Laparoscopy vs. laparotomy for embryo transfer to produce transgenic goats (*Capra hircus*). *J. Vet. Sci.* (2008), 9(1), 103-107.
68. Th.A.M. Kruij., R. Boni., Y.A. Wurth., M.W.M. Roelofsen., M.C. Pieterse., (1994). Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology* 42:675-684.
69. U. Kara., T. Bekyürek., (2019). İneklerde süperovulasyon uygulamalarında son gelişmeler. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg* 2019; 16(3): 224-232. doi:10.32707/erci-vet.648580
70. U. Kara., (2018). *Östrus senkronizasyonu ve süperovulasyon öncesi gonadotropin uygulamasını takiben kısa süreli ekzojen progesteron verilen ve süperovulasyon uygulanan donörler ile klasik süperovulasyon metodu uygulanan donörlerin elde edilen embriyo sayısı ve kalitesi yönünden karşılaştırılması*. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum Ve Jinekoloji Anabilim Dalı. Kayseri.
71. U. Kara., T. Bekyürek., (2019). Sığır embriyolarının gelişim evreleri ve kalite değerlendirilmesi. *Uluslararası Dođu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2(1): 113-129.
72. Vu N-A. Ho., T.M. Ho., L.N. Vuonga., J. García-Velasco., An update on the current indications for in vitro maturation. *Curr Opin Obstet Gynecol* (2024), 36:000–000 doi:10.1097/GCO.0000000000000942
73. Y. Cognie., G. Baril., N. Poulin., P. Mermillod., (2003). Current status of embryo technologies in sheep and goat. *Theriogenology* 59, 171-188.
74. Z. Zhang., (2019) *Robotic Manipulation and Selection of Single Sperm for In Vitro Fertilization*. USA: ProQuest LLC.



## *Bölüm 4*

### **REPEAT BREEDER İNEKLERİN TEDAVİSİNDE HORMON KULLANIMI**

*Kudret Yenilmez<sup>1</sup>*

---

<sup>1</sup> Dr. Öğr. Üyesi Kudret Yenilmez  
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

## 1. GİRİŞ

Son yıllarda dünya çapında ineklerde süt verimi artarken üreme performansı çarpıcı bir şekilde düşerek fertilitite oranları azalmıştır. Süt ineklerinde azalan fertilitenin en önemli sebeplerinden biride hiç kuşkusuz Repeat Breeder(Döl tutmayan-çeviren) hayvanlardır. Genital organlarında veya kızgınlık döngüsünde saptanabilir anormallikler olmaksızın en az üç veya daha fazla tohumlandığı halde gebe kalamayan inekler Repeat Breeder olarak tanımlanır (Gustafsson ve Emanuelson 2002). Repeat Breeder, sütçü ineklerde infertiliteye sebep olan önemli bir reproduktif problem ve ekonomik kayıp kaynağıdır (Gustafson ve Emanuelson 2002, Yusuf et al. 2010).

RB hayvanlardaki infertilitenin sebebi sadece anne kaynaklı değil, boğaya bağlı(üreme organlarındaki anatomik kusurlar, düşük dondurulmuş-çözünmüş sperma kalitesi, düşük libido veya topallık nedeniyle üreme zorlukları, infertil boğalar) veya yönetim hatalarına(kızgınlık tespitindeki hatalar, spermanın saklanması, çözdürülmesi ve uygulanmasındaki hatalar) bağlı olabilmektedir(Pérez-Marín, C. C., & Quintela, L. A. (2023). Repeat Breeder'ın sebepleri arasında subklinik endometritis(Salasel et al.2010), beslenme eksiklikleri(Talukdar et al.2016), anormal sıcaklıklar(Cummins et al., 2012 ve Sood et al., 2015), yanlış suni tohumlama yönetimi(Walsh et al., 2011) ve endokrin fonksiyon bozuklukları( Sood et al., 2015 ve Kafi et al. 2017) gibi bir çok faktör rapor edilmiştir. Ayrıca bu nedenler RB sendromunun görülme sıklığına katkıda bulunan yaş, doğum sayısı, vücut kondüsyonu, süt verimi, çevresel koşullar, doğum öncesi ve doğum sonrası dengesizlikler gibi faktörlerden etkilenir(Pérez-Marín, C. C., & Quintela, L. A. (2023).

RB ineklerde mevcut olan infertilitenin ortadan kaldırılarak bu hayvanların tekrar kullanılması ve işletme zararının azaltılması ancak etkin tedavi prosedürlerinin uygulanması ile mümkün olabilir. RB ineklerin tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçlar hormonlardır, bu nedenle bu incelemede RB'nin tedavisinde kullanılan hormonlar ele alınmıştır.

## 2. Repeat Breeder İneklerin Tedavisinde kullanılan Hormonlar

### 2-A- Gonadotropin Releasing Hormon(GnRH)

GnRH, hipotalamusun median eminensinden salgılanan ve hipofiz ön lobunun salgılarını kontrol eden nöropeptid yapıda bir hormondur. GnRH esas olarak hipofizden gonadotropin sentez ve salınımını düzenleyerek üreme süreçlerini etkiler. Bunu da sterodigenezis ve gametogenezisi modüle ederek gerçekleştirir(Scihneider et al. 2006). GnRH portal damarlar vasıtası ile hipofiz ön lobundaki gonadotrop hücrelere iletilir, bu hücrelerdeki özel reseptörlerine bağlanarak FSH ve LH sentez ve salınımını tetikler(D'Occhio et al. 2000).

Repeat Breeder ineklerde tohumlama ile birlikte uygulanan GnRH'nin gebelik oranlarını arttırdığı, dışarıdan verilen GnRH'nin progesteron konsant-

rasyonunu arttırarak embriyonal yaşamı desteklediği bildirilmektedir(Dodamani et al. 2010; Ergene 2012; Parabaharan et al. 2009). Çeşitli araştırmacılar, RB ineklerde GnRH kullanımı ile %50 ile % 87 arasında değişen gebelik oranları bildirirken, kontrol grubunda %33 ile %48 arasında değişen gebelik oranları bildirmektedirler( Behl et al., 2007; Dodamani et al., 2010; Kharchce ve Srivastava, 2007; Pandey et al. 2016). Ayrıca RB ineklerde tohumlama ile birlikte kullanılan GnRH'nın dozunun yükseltilerek daha fazla gebelik oranı elde edildiğinde bildirilmektedir(Kharce-Srivastava, 2007).

RB ineklerin tedavisinde GnRH suni tohumlama ile birlikte kullanılabilceği gibi tohumlamadan sonraki 5-7. günler arasında erken luteal dönemde kullanılarak gebelik oranları arttırılabilmektedir, bu dönemde uygulanan GnRH'nın ek korpus luteum oluşturma şansını arttırdığı bununda embriyonun hayatta kalmasını kolaylaştırdığı bildirilmiştir(López-Gatiús, F ve García-Isperto, 2020).

RB ineklerin tedavisinde GnRH kullanım protokollerinden bir diğeri de tohumlamadan sonraki 7- 14. günler arasında yapılan uygulamadır. Borş ve ark.(2023) 100 µg GnRH agonisti depherelini tek doz olarak tohumlamadan sonraki 7-14. günler arasında uygulayarak gebelik oranlarını arttırdıklarını, bu uygulamanın RB ineklerde ikinci bir CL potansiyelini arttırmak suretiyle embriyonun hayatta kalmasını desteklediğini bildirmişlerdir.

## **2-B- Progesteron(P4) Kullanımı**

Progesteron öncelikle corpus luteum ve plasenta tarafından salgılanan steroid yapıda bir hormondur. Progesteron, gebeliğin oluşması ve sürdürülmesi için kritik öneme sahiptir. Geviş getiren hayvanlarda erken gebelik boyunca konseptus büyümesi ve farklılaşmasındaki değişiklikleri uyarmak ve aracılık etmek için gerekli olan endometriyal sekresyonların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar(Lonergan et al. 2016; Wiltbank et al. 2014). Ayrıca luteolizi ve PGF2α salınımını baskılayarak gebeliğin devamını sağlayan interferon tau (IFN-t) salınımını uyarır(Morris and Diskin 2008; Ghanem and Nishibori 2015). Bu nedenle yetersiz progesteron salınımı embriyo gelişimini olumsuz etkileyerek embriyonik kayıplara sebep olur(Mann and Lamming 1999). RB ineklerde erken embriyonik ölümleri önlemek ve luteal faz yetersizliğini ortadan kaldırmak için progesteron uygulaması önerilmektedir(Thummel ve ark. 1992). RB ineklerde tohumlamadan sonraki diöstrus döneminde dışarıdan progesteron desteğinin gebelik oranlarını arttırdığı bildirilmektedir(Ferguson et al. 2012; Ghasamzadeh et al. 2010). Villarroel et al.(2004), Shams-Esfanabadi ve Shirazi(2006), Ergene(2012) RB ineklerde tohumlamadan sonraki 5 ila 19. Günler arasında 7 gün süre ile Progesterone-releasing intravaginal devices(PRID) ve controlled internal drug release(CIDR) formunda progesteron kullanımının gebelik oranlarını arttırdığını, Ghasamzadeh ve ark.(2010) ise diöstrusun 5 ve 9. Günleri arasında 4 gün süre ile CIDR kullanımının uzun

süre kullanıma göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yenilmez ve Şenün-ver(2003) tohumlamadan sonraki 4 ve 5. günlerde kas içi enjeksiyon , Ferguson ve ark.(2012) ise tohumlamadan sonraki 3-5. günler arasında subkutan enjeksiyon şeklinde P4 kullanımını etkili olarak bildirmektedirler. Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü üzere RB ineklerde P4 kullanım süreleri, kullanım yolları ve formülasyonları farklı olmakla birlikte sonuçları benzerdir ve gebelik oranlarını olumlu olarak etkilemektedir.

## 2-C- Human Chorionic Gonadotropin(hCG)

İnsan koryonik gonadotropini (hCG), gebelikte plasental trofoblast hücreleri tarafından salgılanan bir glikoproteindir(Fan ve ark. 2017). İnsan koryonik gonadotropini (hCG), “gebelik hormonu” olarak da bilinir, insan üremesinde önemli bir role sahiptir, plasantasyon ve erken embriyo gelişimi yoluyla gebeliğin kurulması ve sürdürülmesinde önemli bir rol oynar(Theofanakis ve ark. 2017). İnsan koryonik gonadotropini (hCG), sığırlarda korpus luteumun (CL) ömrünü uzatan ve progesteron sentezini arttıran, östrus döngüsü boyunca yumurtlamayı indükleyen, erken luteal fazda uygulandığında aksesuar korpus luteum oluşumunu destekleyen ve üç dalgalı baskın foliküler döngülerin sıklığını artırarak foliküler dalga dinamiklerini değiştiren güçlü bir luteinize edici hormon (LH) benzeri etkiye sahiptir. hCG, hipofiz bezinden bağımsız olarak yumurtalık hücrelerine etki ettiğinden ve etkisi endojen LH salınımı ile üretilenden daha uzun sürdüğünden, subfertil ineklerde gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) yerine hCG kullanılabilir (De Rensis ve ark. 2010).

RB ineklerde hCG kullanımı üç farklı şekilde uygulanabilir. İlk uygulama şekli tohumlama ile birlikte kullanılmasıdır. Bu uygulamada en başarılı sonuçların 1500 IU hCG IM kullanılarak elde edilmiştir(Mathew ve ark. 2016). İkinci uygulama şekli, erken luteal fazın 4 ve 7. günleri arasında uygulanmasıdır. Bu uygulama ile hCG'nin ilk dalga dominant folikülün yumurtlamasını ve aksesuar CL oluşumunu indüklediği, Aksesuar CLda, progesteron konsantrasyonunu arttırdığı, artan progesteron konsantrasyonunun gebelik tanınması döneminde östrojenik ortamı azalttığı ve embriyonun hayatta kalması üzerinde olumlu etki oluşturduğu bildirilmektedir (De Rensis ve ark., 2010; Khoramian ve ark., 2011; Mehni ve ark. 2012; Pandey ve ark. 2016). RB ineklerde hCG'nin üçüncü uygulama şekli luteal fazın ortasında tohumlamadan sonraki 7 ve 10. günleri arasında kullanılmasıdır. Bu kullanımıyla da progesteron konsantrasyonlarının ve gebelik oranlarının arttığı tespit edilmiştir(Gvozdic ve ark. 2013).

İnsan koryonik gonadotropininin, sıcaklık stresinden kaynaklanan embriyonik ölümlerin önlenmesinde de etkili olduğu ve tedaviye yanıtın GnRH tedavisine kıyasla daha başarılı olduğu belirtilmektedir. Bu tedavinin tohumlamadan sonraki ilk 5 günde uygulanması önerilmekte olup sıcaklık stresine maruz kalmış hayvanlardaki embriyonik ölümlerin çoğu 5. günden önce gerçekleşmektedir (De Rensis 2010).



## 2- D- Hormon Kombinasyonları

### 2-D-1- GnRH ile P4 Kombinasyonu

RB ineklerde tohumlama anında GnRH ile luteal dönemin başında P4 ün birlikte kullanımı ile bunların ayrı ayrı kullanımlarına göre daha yüksek gebelik oranı elde edildiği bildirilmiştir (Yenilmez ve Şenünver 2003). Amiridis ve ark. (2009), GnRH, P4 ve Meloksikamın üçlü kombinasyonu ile bunların tek kullanımlarına göre daha yüksek gebelik oranı elde etmişlerdir.

### 2-D-2- hCG ile P4 Kombinasyonu

Kendall ve ark.(2009) RB ineklerde hCG'nin CIDR ve PRID şeklindeki progesteron preparatları ile birlikte kullanılabileceğini bildirmektedir. Alkan ve Erdem(2020) RB inekler üzerinde yaptıkları çalışmalarında tohumlamadan sonraki 4-9. Günler arasında PRID ile tohumlamadan sonraki 7. Günde hCG uygulamasının gebelik oranını önemli ölçüde arttırmaya da hormonal tedavi uygulanan grupta gebelik sayısının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

## 2-E- Bovine Somatotropin

Sığır somatotropini (bST), tüm sığırlarda hipofiz bezi tarafından üretilen doğal olarak oluşan bir proteindir. Doğal formlarından birkaç amino asitle farklı olan rekombinant sığır somatotropinleri (rbST), süt ineklerinde süt üretimini artırmak için rekombinant DNA teknikleri kullanılarak sentezlenmiş ve üretilmiştir. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), kullanımının güvenli ve etkili olduğunu belirledikten sonra rbST ürününü 1993 yılında onayladı (Soliman ve El-Barody 2014). rbST RB ineklerde 500 mg dozunda subkutan yolla östrus esnasında ve tohumlamadan sonraki 10. günde iki kez uygulandığında gebelik oranlarını arttırdığı bunu progesteron konsantrasyonlarını arttırarak gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Morales Roura ve ark.2001).

## 2-F- Oksitosin

Hipofiz arka lobundan salgılanan oksitosin hormonu, dişi üreme kanalında uterus ve ovidukt konsantrasyonlarını etkileyip sperm taşınmasını iyileştirerek fertilizasyona katkı sağladığı ve böylece gebe kalma oranını arttırdığı bildirilmiştir (King ve ark. 2004). Yıldız(2005) süt ineklerinde tohumlama ile birlikte 50 IU oksitosin uygulamasının gebe kalma oranını arttırdığını bildirmektedir. RB ineklerde tohumlamadan sonra oksitosin uygulaması yapılan çalışmalarda da gebelik oranlarının arttığı kaydedilmiştir (Mahto ve ark. 2008). RB ineklere tohumlamadan sonraki ilk beş saat içinde 4 ml oksitosinin kas içi uygulandığı bu çalışmada, tohumlamadan sonra ki 4 ve 5. saatlerde yapılan oksitosin uygulaması ile en yüksek gebelik oranlarının elde edildiği bildirilmiştir (Mahto ve ark. 2008).

## 2-G- İnsulin

İnsülin ve IGF-1 seviyelerindeki artışın, sığırlarda glikoz bulunabilirliği ve hormon üretimi yoluyla foliküler büyüme ve luteal fonksiyonun düzenlenmesi üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Ponsart ve ark., 2014). Selvaraju ve ark.(2002) ve Jayaganthan ve ark. (2024) RB ineklerde yaptıkları çalışmalarında östrüstan önce siklusun 8, 9 ve 10. günlerinde üç kez 0.2 IU/kg-0,25 IU/kg insulin subkutan enjeksiyonunun folikül çaplarını arttırmak, oosit kalitesini iyileştirmek, erken embriyonik gelişimi olumlu etkilemek suretiyle faydalı olduğunu ve gebelik oranlarını arttırdığını bildirmişlerdir.

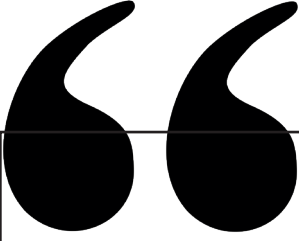
## KAYNAKLAR

- Alkan, H., & Erdem, H. (2021). Effect of progesterone, human chorionic gonadotropin and progesterone+ human chorionic gonadotropin treatment on conception rates in repeat breeder cows. *Acta Veterinaria Brno*, 89(4), 307-315.
- Amiridis, G. S., Tsiligianni, T. H., Dovolou, E., Rekkas, C., Vouzaras, D., & Menegatos, I. (2009). Combined administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. *Theriogenology*, 72(4), 542-548.
- Båge, R., Gustafsson, H., Larsson, B., Forsberg, M., & Rodriguez-Martinez, H. (2002). Repeat breeding in dairy heifers: follicular dynamics and estrous cycle characteristics in relation to sexual hormone patterns. *Theriogenology*, 57(9), 2257-2269.
- Behl, K. S., Gandotra, V. K., Nanda, A. S., & Mavi, P. S. (2007). Efficacy of GnRH in inducing ovulation and improving conception in cattle.
- Borç, S. I., Borç, A., & Abdoon, A. S. S. (2023). Economics of treatment with GnRH agonist 7–14 days after artificial insemination in repeat breeder lactating dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 58(7), 929-934.
- Cummins, S. B., Lonergan, P., Evans, A. C. O., & Butler, S. T. (2012). Genetic merit for fertility traits in Holstein cows: II. Ovarian follicular and corpus luteum dynamics, reproductive hormones, and estrus behavior. *Journal of dairy science*, 95(7), 3698-3710.
- De Rensis, F., López-Gatius, F., García-Ispuerto, I., & Techakumpu, M. (2010). Clinical use of human chorionic gonadotropin in dairy cows: an update. *Theriogenology*, 73(8), 1001-1008.
- D'Occhio, M. J., Fordyce, G., Whyte, T. R., Aspden, W. J., & Trigg, T. E. (2000). Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. *Animal Reproduction Science*, 60, 433-442.
- Dodamani, M. S., Mohteshamuddin, K., Awati, S. D., Tandle, M. K., & Honnappagol, S. S. (2010). Evaluation of Pre and Post Artificial Insemination effect of GnRH Hormone on conception of repeat breeder Deoni Cows. *Veterinary World*, 3(5), 209.
- Ergene, O. (2012). Progesterone concentrations and pregnancy rates of repeat breeder cows following postinsemination PRID and GnRH treatments. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(3), 283-288.
- Fan, J., Wang, M., Wang, C., & Cao, Y. (2017). Advances in human chorionic gonadotropin detection technologies: a review. *Bioanalysis*, 9(19), 1509-1529.
- Ferguson, C. E., Kesler, D. J., & Godke, R. A. (2012). Improving pregnancy rates in problem breeder cattle by administration of 15 mg of progesterone on days 3–5 post-mating. *Journal of Applied Animal Research*, 40(3), 173-178.
- Ghanem, M. E., & Nishibori, M. (2015). Effects of season on plasma progesterone

- profiles in repeat breeding cows. *Veterinárni medicína*, 60(5).
- Ghasemzadeh, N. H., Kohsari, H., & Tajik, P. (2010). The effect of two different periods of CIDR supplementation on the second service conception rate of repeat breeder dairy cows.
- Gustafsson, H., & Emanuelson, U. (2002). Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43, 1-11.
- Gvozdić, D., Barna, T., Milovanović, A., Stančić, B., Božić, A., Jovanović, I., ... & Šuluburić, A. (2013). Human chorionic gonadotrophin (hCG) in the repeat-breeding dairy cows reproduction.
- Jayaganthan, P., Satheshkumar, S., Krishnakumar, K., Murugavel, S., & Jagadeesan, K. (2024). Insulin pretreatment during mid-cycle and programmed breeding on conception of repeat breeding crossbred cows. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 45(1), 44-47.
- Kafi, M., Azari, M., Chashnigir, O., Gharibzadeh, S., Aghabozorgi, Z., Asaadi, A., & Divar, M. R. (2017). Inherent inferior quality of follicular fluid in repeat breeder heifers as evidenced by low rates of in vitro production of bovine embryos. *Theriogenology*, 102, 29-34.
- Katagiri, S., & Moriyoshi, M. (2013). Alteration of the endometrial EGF profile as a potential mechanism connecting the alterations in the ovarian steroid hormone profile to embryonic loss in repeat breeders and high-producing cows. *Journal of Reproduction and Development*, 59(5), 415-420.
- Kendall, N. R., Flint, A. P. F., & Mann, G. E. (2009). Incidence and treatment of inadequate postovulatory progesterone concentrations in repeat breeder cows. *The veterinary journal*, 181(2), 158-162.
- Kharche, S. D., & Srivastava, S. K. (2007). Dose dependent effect of GnRH analogue on pregnancy rate of repeat breeder crossbred cows. *Animal Reproduction Science*, 99(1-2), 196-201.
- Khoramian, B., Farzaneh, N., Garoussi, M. T., & Mohri, M. (2011). Comparison of the effects of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin or progesterone on pregnancy per artificial insemination in repeat-breeder dairy cows. *Research in veterinary science*, 90(2), 312-315.
- King, M. E., McKelvey, W. A. C., Dingwall, W. S., Matthews, K. P., Gebbie, F. E., Mylne, M. J. A., ... & Robinson, J. J. (2004). Lambing rates and litter sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen/thawed semen with or without oxytocin administration. *Theriogenology*, 62(7), 1236-1244.
- Lonergan, P., Forde, N., & Spencer, T. (2016). Role of progesterone in embryo development in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 28(2), 66-74.
- López-Gatius, F., & Garcia-Ispuerto, I. (2020). Treatment with an elevated dose of the GnRH analogue dephereline in the early luteal phase improves pregnancy rates in repeat-breeder dairy cows. *Theriogenology*, 155, 12-16.
- Mahto, D., Singh, B., Adil, A., & Verma, R. K. (2008). Effect of oxytocin and Cofecu on

- post insemination conception rate in repeat breeder cattle on subsequent time interval. *Veterinary World*, 1(9), 268.
- Mann, G. E., & Lamming, G. E. (1999). The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 34.
- Mathew, R. M., Ghosh, K. A., Metilda, J., & Bibin, B. (2016). hCG for enhancing the conception rate in prolonged estrus repeat breeding cattle. *Indian Vet J*, 93(12), 22-24.
- Mehni, S. B., Shabankareh, H. K., Kazemi-Bonchenari, M., & Eghbali, M. (2012). The comparison of treating Holstein dairy cows with progesterone, CIDR and GnRH after insemination on serum progesterone and pregnancy rates. *Reproduction in Domestic Animals*, 47(1), 131-134.
- Morales-Roura, J. S., Zarco, L., Hernández-Cerón, J., & Rodríguez, G. (2001). Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenology*, 55(9), 1831-1841.
- Morris, D., & Diskin, M. (2008). Effect of progesterone on embryo survival. *Animal*, 2(8), 1112-1119.
- Pandey, N. K. J., Gupta, H. P., Prasad, S., & Sheetal, S. K. (2016). Plasma progesterone profile and conception rate following exogenous supplementation of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin, and progesterone releasing intra-vaginal device in repeat-breeder crossbred cows. *Veterinary world*, 9(6), 559.
- Prabaharan, V., Kulasekar, K., Devanathan, T., & Palanisamy, A. (2009). Effect of GnRH injection at different stages of estrus cycle on fertility in repeat breeding cows.
- Pérez-Marín, C. C., & Quintela, L. A. (2023). Current insights in the repeat breeder cow syndrome. *Animals*, 13(13), 2187.
- Ponsart, C., Gamarra, G., Lacaze, S., & Ponter, A. A. (2018). Nutritional status of donor cows: insulin related strategies to enhance embryo development. *Animal Reproduction (AR)*, 11(3), 195-198.
- Salasel, B., Mokhtari, A., & Taktaz, T. (2010). Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*, 74(7), 1271-1278.
- Schneider, F., Tomek, W., & Gründker, C. (2006). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: a review. *Theriogenology*, 66(4), 691-709.
- Selvaraju, S., Agarwal, S. K., Karche, S. D., Srivastava, S. K., Majumdar, A. C., & Shanker, U. (2002). Fertility responses and hormonal profiles in repeat breeding cows treated with insulin. *Animal Reproduction Science*, 73(3-4), 141-149.
- Shams-Esfanabadi, N., & Shirazi, A. (2006). Effects of supplementation of repeat-breeder dairy cows with CIDR from 5-19 post-insemination on pregnancy rate. *Pakistan J. Biol. Sci*, 9(11), 2173-2176.
- Soliman, E. B., & El-Barody, M. A. A. (2014). Physiological responses of dairy animals

- to recombinant bovine somatotropin: A review. *Journal of Cell and Animal Biology*, 8(1), 1-14.
- Sood, P., Zachut, M., Dube, H., & Moallem, U. (2015). Behavioral and hormonal pattern of repeat breeder cows around estrus. *Reproduction*, 149(6), 545-554.
- Talukdar, D. J., Talukdar, P., & Ahmed, K. (2016). Minerals and its impact on fertility of livestock: A review. *Agricultural Reviews*, 37(4), 333-337.
- Theofanakis, C., Drakakis, P., Besharat, A., & Loutradis, D. (2017). Human chorionic gonadotropin: the pregnancy hormone and more. *International journal of molecular sciences*, 18(5), 1059.
- Thuemmel, A. E., Gwazdauskas, F. C., Whittier, W. D., & McGilliard, M. L. (1992). Effect of progesterone supplementation in repeat-breeder cattle on conception and plasma progesterone. *Journal of endocrinological investigation*, 15(5), 393-396.
- Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, A. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal reproduction science*, 123(3-4), 127-138.
- Wiltbank, M. C., Souza, A. H., Carvalho, P. D., Cunha, A. P., Giordano, J. O., Fricke, P. M., ... & Diskin, M. G. (2014). Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, 8(s1), 70-81.
- Villarroel, A., Martino, A., BonDurant, R. H., Dèletang, F., & Sischo, W. M. (2004). Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*, 61(7-8), 1513-1520.
- Yenilmez, K., & Şenünver A. (2003). Repeat Breeder ineklerde tohumlamadan sonra GnRH ve progesteron uygulamalarının gebe kalma üzerine etkisi. İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Yıldız A. (2005): Effect of oxytocin on conception rate in cows. *Journal of Firat University Health Science*, 19, 75-78.
- Yusuf, M., Nakao, T., Ranasinghe, R. B. K., Gautam, G., Long, S. T., Yoshida, C., ... & Hayashi, A. (2010). Reproductive performance of repeat breeders in dairy herds. *Theriogenology*, 73(9), 1220-1229.
- Singh, M., Sharma, A., & Kumar, P. (2017). Repeat breeding and its treatment in dairy cattle of Himachal Pradesh (India)-a review. *The Indian Journal of Animal Reproduction*, 38(2), 1-5.



## *Bölüm 5*

### **KANATLILARDA DEKONTAMİNASYON YÖNTEMLERİ\***

*Aybike Reyyan DENİZ<sup>1</sup>*

*Pelin DEMİR<sup>2</sup>*

*Ali ARSLAN<sup>3</sup>*

\* \*Bu kitap bölümü Aybike Reyyan DENİZ'in seminerinden derlenmiştir.

1 Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye, ORCID ID: 0009-0006-0275-0034

2 Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye, ORCID ID: 0000-0002-0824-1672

3 Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü, Elazığ, Türkiye, ORCID ID: 0000-0002-3011-5592

## 1. GİRİŞ

Sağlığı geliştirmek, korumak ve yaşam kalitesini yükseltmek için vücudumuzun ihtiyaç duyduğu besin öğelerini yeterli ölçüde almak beslenme olarak adlandırılmaktadır (Ergezer, 2005, s.1). Dengeli beslenmenin temel bir parçası olan hayvansal gıdalar içinde yer alan kanatlı etidir. Beslenmedeki yerinin yanı sıra diğer etlere göre daha ekonomik olması nedeniyle büyük bir önem ve dikkat çekmiştir. Et, dengeli ve sağlıklı beslenmenin temeli olan en önemli besin maddelerinden birisidir. İnsanın vücudu için gerekli olan yağ, vitamin, protein ve minerali yüksek miktarda içerir (Öztürk,2018). Ülkemizde tavuk eti üretimi ve tüketiminde son dönemlerde önemli oranda artış gözlemlenmiştir. Tavuk etleri sığır etlerine kıyasla daha yüksek protein içermektedir. Buna ek olarak yağ ve enerji içerikleri daha düşük olduğundan özellikle belli bir yaşın üzerinde olan insanlar için daha sağlıklıdır (Kolsarıcı vd., 1993, ss.137-155). Tavuk eti (beyaz et) besin öğeleri bakımından daha düşük enerji sağlaması, iyi kalitede bir protein kaynağı olması, daha az doymuş yağ asidi ve yağ içermesi ile sağlıklı beslenmede önemli bir yere sahiptir. (Arslan, 2013, ss. 88-91)

**Tablo 1.** Tavuk etinin besinsel değeri (Kimyasal, 2002)

Besinsel değer	100 g
Su	74,30 g
Enerji	109,0 kcal
Protein	22,20 g
Total lipid	1,6 g
Ca	11,0 mg
Fe	0,89 mg
Mg	25,0 mg
P	223,0 mg
K	252,0 mg
Na	51,0 mg
Zn	0,66 mg
Niacin	10,2 mg
Folate	4,0 mcg
Vitamin A	8,0 mcg
Vitamin K	2,4 mcg
Kolestrol	57,0 mg

Tavuk eti gıda bakımından iyi özelliklere sahip olsa da kolaylıkla bozulan ve insan sağlığına karşı ciddi riskler bulunduran gıda maddeleri içindedir (Ergezer & Gökçe, 2003, ss. 33-37).



Genel olarak kanatlı etleri yüksek oranda birçok farklı besin maddesi içermektedir. Kanatlı eti yüksek su aktivitesi ve pH değerine sahiptir, bu nedenle bakteriyel etkenlere karşı hassas hale gelmektedir (Cantalejo vd., 2016, ss. 400-407).

Genelde sağlıklı bir hayvanın kası sterildir (Kayaardı, & Tosun, 2004, ss.12-16). Hijyenik kurallara uyulmaması sonucu tavuk eti pek çok çeşit ve sayıda olan mikroorganizma ile kontamine olabilir. Bu kontaminasyon sonucu kısa zaman içerisinde eti tüketilemez hale getirir. Sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara yol açabilmektedir (Ergezer & Gökçe, 2003, ss. 33-37).

Bu nedenle işletmelerde teknolojik ve hijyenik kalitenin yükseltilmesi için yapılan çalışmaların amacı sağlık sorunu oluşturmeyen, kontaminasyonu tamamen engellemek veya minimize etme ile uzun raf ömürlü ürünler üretmektir (Aydın vd., 1998, ss.83-92). Alınan bütün hijyenik önlemlere rağmen canlı hayvandan ve üretimin aşamalarından kaynaklanan bir kontaminasyon olabilmektedir. Kaçınılmaz olan bu kontaminasyonların kontrol altında tutulması hatta tamamen yok edilmesi için birçok dekontaminasyon yöntemi geliştirilmiştir. Bu sayede önlenemeyen kontaminasyonlar ilk olarak başlangıç kısmında etkisiz hale getirilerek ürünün güvenliği sağlanmaktadır (Ergezer & Gökçe, 2003, ss. 33-37).

### **1.1. AMACI**

Tavuk etine karşı yüksek miktardaki tüketim talebi, tavuk eti sektöründe biyogüvenlik ve gıda güvenlik açısından alınması gereken önlemlerin önemini arttırmıştır. Kanatlı eti ve ürünlerinin hijyenik açıdan kalitesinin iyi olması gerekmektedir. Patojen ve bozulma yapıcı mikroorganizmaların üründe olmaması tüketici, tedarikçi ve halk sağlığı bakımından oldukça önemlidir (Uğur vd., 2001).

Tavuk etinin insan sağlığı açısından risk teşkil etmemesi amacıyla çiftlikten sofraya kadar farklı dekontaminasyon yöntemi uygulanmaktadır.

Bu seminerde kanatlı etine uygulanan dekontaminasyon yöntemlerinden bahsedilmiş ve kullanılan yöntemlerin işleyişi, etkileri ve sonuçları incelenmiştir.

## **2. DEKONTAMİNASYON**

### **2.1. Tanımı**

Dekontaminasyon; farklı biyolojik, fiziksel ve kimyasal temelli uygulamaları ve araçları kullanarak gıdada mevcut olan mikroorganizmaların uzaklaştırılması veya inhibe edilmesidir (Özbay & Sarıçoban, 2014, ss. 92-99).

## 2.2. Dekontaminasyon Yöntemleri

Güvenli gıda sözcüğünde, her yönüyle üstün özelliklere sahip olan kimyasal ve mikrobiyolojik kimyasal açıdan herhangi bir risk taşımayan ve doğru bileşimde, ambalajda, renkte, tatta ve görünüşte olan gıdalar anlaşılmaktadır. Buna göre bu belirtilen özelliklerin sağlanması için ham maddeden başlayarak kaliteli ve hijyenik bir düzen içinde çalışılma zorunluluğu vardır (Bolder, 1997, ss. 221-227). Fakat alınan hijyenik tedbirler tek başına güvenli ürünleri üretmek için yeterli olmamaktadır. Üretim alanlarına mikroorganizmalar taşınmakta ve bunlar kros kontaminasyona neden olmaktadır. Araştırmacılar tüm patojenlerin yok edilmesi için üretim çalışmaları yürütmekte ve çalışmaların sonucu elde edilen hayvanlara patojenlerden arındırılmış (specified pathogen free /SPF ) tanımlanması yapmaktadırlar (Bolder, 1997, ss. 221-227). Bu tanımlamaya göre hayvanlarda bulunabilecek tüm patojenlerin elimine edilmesi esas alınmaktadır. Fakat bu yöntem çok pahalıdır ve elimizdeki imkânlar ile günümüzde uygulanması pek muhtemel değildir. Bu sebeple ki işletmeler etkin bir bakteriyel dekontaminasyon için uygun olan bir strateji belirlemelidir. Karkaslardaki bakteriler vücut boşluğunda, kanatların altında, deri kıvrımlarında ve tüy foliküllerinin dip kısımlarında lokalize oldukları için antibakteriyel maddelerle yeterince temas sağlanamaz bu yüzden yapılan dekontaminasyon işlemlerinden arzulanan başarı sağlanamayabilir.

Kanatlı etlerinde mikrobiyal kontaminasyonları önlemek için bazı dekontaminasyon yöntemleri uygulanmaktadır. Bunlar;

- Kloaka ve özefagustan gelecek içerikleri engellemek için kloaka ve boyun bağlanmalıdır.

- Kesim öncesi kanatlı içme suyunun asidifikasyonu Salmonella kontaminasyonunda önemli bir rol oynar ve kesimden önce 24 saat asitlendirilmiş suyun içirilmesi ile Salmonellalarda etkili bir şekilde azalma gözlenmiştir. Bu amaçla kesimine 3 gün kalan hayvanların içme sularına belli dozlarda organik asitler veya asidifiye sodyum klorit ilave edilmesinin yararlı olduğu bilinmektedir.

- Her taşımadan sonra araçlar ve kafesler etkili bir şekilde temizlenip dezenfekte edilip hemen kurtulmalıdır.

- Tüy ıslatma suyuna ilave edilen antimikrobiyal kimyasal maddeler
- Karkaslara uygulanan çeşitli antimikrobiyal kimyasal maddeler
- Tüy yolmadan sonraki birkaç aşamada uygulanan antimikrobiyal maddeler
- Karkasların yüksek ısı işlemine tabi tutulması

- Karkaslara elektriksel sitümülayonun uygulanması

- Karkasların ışınlamaya tabi tutulması gibi yöntemlerle dekontaminasyon sağlanabilmektedir (Arslan, 2013).

Uygun strateji belirlenirken kullanılacak dekontaminasyon yönteminin veya maddesinin aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekir.

- Kullanılacak yöntem etin görünüşünde, kokusunda, tadında ve besleyici değeri gibi özelliklerinde değışikliğe neden olmamalıdır,

- Kalıntıları çevreye zarar teşkil etmemeli,

- Yasal düzenlemelere uygun olmalıdır,

- Uygulanması ucuz ve kolay olmalıdır,

- Patojenleri ve saprofit mikroorganizmaları inaktive ederek ürünün raf ömrünü uzatmalı,

- Modifiye atmosferde ambalajlamaya uygun olmalıdır.

Bu bilgiler ışığında dekontaminasyon yöntemleri kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki gruba ayrılabilir. (Hinton & Corry, 1999, ss. 285-295).

### 1. Kimyasal Yöntemler:

- Organik asitler (sitrik asit, asetik asit, süksinik asit, laktik asit, sorbik asit vb),

- Klor (hipoklorit, ClO<sub>2</sub> vb.),

- İnorganik fosfatlar (TSP, polifosfatlar vb.) ,

- Organik koruyucular (benzoatlar, propiyonatlar vb.),

- Bakteriosinler (nisin, magainin),

- Oksidanlar (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ozon vb.) .

### 2. Fiziksel Yöntemler :

- Su (durulama, spreyleme, buhar),

- Yüksek basınç,

- İrradasyon,

- Ultrasonik enerji,

- UV ışığı,

- Elektriksel stimülayon.

#### 2.2.1. Kimyasal Yöntemler

- Kanatlı etlerinin dekontaminasyonunda kimyasal yöntemler etkin

şekilde kullanılabilir. Ancak bu yöntemlerin kullanılması esnasında dikkate alınması gereken bazı faktörler vardır ve bunları şöyle sıralayabiliriz:

- Etin kimyasal kompozisyonu ve özellikleri. Örneğin; pH' ısı, protein ve su içeriği.
- Güvenlik sınırları: Gıda katkısı olarak kabul ediliyor mu veya Generally Recognized as Safe (GRAS) listesinde yer alıyor mu? Acceptable Daily Intake (ADI) değeri var mı?
- Dekontamine edilen üründe kalıntı miktarı,
- Ürünün organoleptik kalitesi üzerine etkileri (koku, tat, görünüş, lezzet vb.) ,
- Besleyici değeri var mı?
- Toksik bileşenleri oluşturabilme riski,
- Su tutma özellikleri,
- Etki spektrumu (Patojen ve saprofit mikroorganizmalar üzerine etkisi),
- Personelin sağlığı üzerine etkileri (aşırı duyarlılık ve alerji),
- Çevre sağlığı üzerine etkisi,
- Etkisinin kısa zamanda kontrol altına alınabilmesi,
- Uygulanan konsantrasyon ve metot. “ Gıda katkısı “ mı yoksa “ proses yardımcısı “ mı? (Smulders, & Greer, 1998, ss. 149-169)

### **2.2.1.1. Organik Asitlerle Dekontaminasyon**

Süksinik asit, sitrik asit, laktik asit, sorbik asit ve asetik asit gibi organik asitlerle yapılan dekontaminasyonda yıkama ve spreyleme yöntemlerle kanatlı ve kırmızı etin üzerine doğrudan uygulanmaktadır. Organik asitlerde günlük alım dozu kotası olmamakla birlikte güvenlidir (Mani-López vd., 2012, ss. 713-721). Organik asit uygulamaları hijyen programlarının vazgeçilmez unsurlarıdır ve karkas yüzeylerine doğrudan uygulanabilirler. Mikrobiyal kalitenin korunmasında önemli bir faktör olmaktadır (Bolder, 1997, ss. 221-227). Çeşitli organik asitler çözelti ve spreyleme uygulaması şeklinde dekontaminasyon amacıyla kullanılmaktadır. Araştırmalar organik asitlerin Gram negatif saprofit bakteriler üzerine bakteriyostatik ve bakterisidal etkide bulunduğu belirtilmiştir (Ergezer, 2005, s.1).

#### **1. Asitlerin antimikrobiyal etkileri**

a) Aside bağlı etkiler;

\*pH (asidin konsantrasyonu),

\* Asidin intraselüler olarak dağılımı (pH'ya bağımlılık),

\* Spesifik anyon etkisi, hedef hücreye asidin penetre olma kabiliyetinin belirlenmesi,

\*Asit karışımları (farklı asitlerin kombine edilerek şekilde kullanılma ihtimali),

b) Dokuya bağlı etkiler;

\* Et yüzeyinin doğal yapısı,

\* Tamponlanma kapasitesi (yağsız olan et, yağlı olan ete oranla daha yüksek tamponlanma kapasitesine sahiptir.),

c) Antimikrobiyal etki,

d) Kesim teknolojisine bağlı etkiler,

\*Başlangıçta olan mikroorganizmanın yükü,

\*Kontamine etin doğal yapısı (organik madde içeriği).

e) Dekontaminasyonda uygulanan tekniğe bağlı etkiler

\*Asidin uygulanma zamanı,

\*Uygulanma metodu (sprey, daldırma)

\*Asit spreyelerinin sıcaklığı,

\*Spreyleme basıncı ve açısı.

## **2) Duyusal etkiler**

a) Renk;

\*Gri-kahverengi deri görünümü,

\* Yağsız etin renginin ağarması,

b) Lezzet/ koku;

\*Genellikle sirkemsi tat (asetik asit)

c) Su tutma kapasitesi;

\*Daldırma metodu için kullanılan asitler su tutma kapasitesini azaltır (Smulders, 1995, ss. 253-282).

### **2.2.1.2. Klorla Dekontaminasyon**

Ucuz ve geniş spektruma sahip olan klor ve klorlu bileşikler tavuk kesimhane ve işletmelerinde sıklıkla kullanılmaktadır.

Serbest klor miktarı arttıkça klor ve klorlu bileşiklerin etkileri de artmaktadır. Ayrıca düşük pH koşullarında daha çok etki göstermekte ve

sıcaklığın artmasıyla aktivitelerinde bir artış ortaya çıkmaktadır. Buna rağmen yüksek sıcaklıklardaki sularda çözünürlükleri azalmaktadır. Klorlu bileşikler organik maddeler ile kompleks oluşturarak etkinlikleri azalabilir ve oluşan bu komplekslerin kanserojenik olduğu belirtilmektedir bu yüzden temizlik işlemi yapılmış yüzeylerde kullanılması tavsiye edilmektedir. Yüksek oranlarda kullanıldığı zaman solunum yollarında ve insan derisinde tahrişe neden olmaktadır. Ayrıca korozif etkileri bulunduğu için paslanmaz çelik ve diğer metal ürünler üzerinde kullanılmamalıdır.

Kanatlı eti işleme endüstrisinde hipokloroz asit formundaki klor etkin bir dekontaminasyon maddesi olarak kullanılmaktadır. Kullanılan klorun uygulama zamanı, konsantrasyonu, ortamın pH'sı ve sıcaklık dekontaminasyonda etkili olmaktadır. Soğutma suyuna uygulanan klorlanma işleminde eğer maruz kalma süresi yeterli miktarda uzun tutulursa mikrobiyal yükü azaltır ve soğukta depolanmış olan karkasların raf ömrünü 1 ile 3 gün uzatabilmektedir (Tosun, 2015, s. 24(6)).

Klor yerine klordioksit kullanıldığında ise avantajları şu şekildedir;

- Daha düşük oranlarda kullanılabilir olması
- Organik maddelerle reaksiyona girmez bu yüzden etkinliği uzun süre devam eder
- Artan pH 'da etkinliği azalmaz
- Düşük oranlarda kullanıldığında ekipmanlar üzerinde korozif etkisi bulunmaz
- Toksik etkisi yoktur.
- Fakat klordioksit ile uzun süre muamele edilen broilerde deri renginde hafif açılma olduğu bildirilmiştir (Arslan, 2013).

### 2.2.1.3 Bakteriosinler

Bakteriyosinler sıklıkla laktik asit bakterileri tarafından üretilen antimikrobiyal peptitlerdir (Dinçer vd., 2010, ss. 1-8). Nisin, natamisin, pediyosin ve e-polizin gibi bakteriyosinler, farklı spektrumlarda olan mikroorganizmaları inhibe edebilmektedirler.

Bazı mikrobiyal metabolikler diğer mikroorganizmalara karşı antagonist etkiye sahip olabilirler. Laktobasiller bakteriyosin olarak bilinen spesifik bir antimikrobiyal üretirler.

Nisin: bir bakteriyosin olan nisin *Lactococcus lactis* tarafından üretilmektedir ve Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir. Nisin gıdalar için genellikle güvenli olarak kabul edilen bir koruyucu Dünya Sağlık Örgütü tarafından onaylanmıştır. Doğal bir gıda koruyucu maddesi olan nişin kullanıldığı dozlarda toksik olmaması, yüksek verimliliği ve insan sağlığına

yönelik herhangi bir etkisinin bulunmaması nedeniyle antimikrobiyal madde olarak kullanılmaktadır (Arslan, 2013).

**Natamisin:** Pimarisin olarakta bilinen ve *Streptomyces natalensis* tarafından sentezlenir. Natamisin hücre zarında steroller ile özellikle ergosterol ile birleşerek hücre permeabilitesini bozarlar ve hücreden katyon sızıntısı neden olup hücre içindeki pH'yı hızlıca düşürürler. Natamisin gıda maddelerinde görülen tüm maya ve küflere karşı oldukça etkilidir (Arslan, 2013).

**Lizozim:** Bakteri hücre duvarında bulunan mureini parçalayan enzimlere lizozom enzimleri adı verilir. Gözyaşında, sütte ve yumurta beyazında bulunan bir enzim olup protein yapıdadır. Ticari olarak yumurta beyazı kullanılarak ya da bakterisinden elde edilmektedir. Bakterilerin hücre duvarında bulunan glikoprotein yapısına etki göstererek hücre zarının yapısal bütünlüğünü bozar. Gram pozitif bakterilere karşı daha fazla etkilidir (Arslan, 2013).

**Pediyosin:** *Pediococcus* türleri tarafından sentezlenmektedir. Kanatlı etlerinde *L. monocytogenes*'i inhibe etmek amacıyla kullanılabilir (Arslan, 2013).

**e- polilizin:** bir polipeptit olan bu madde esansiyel amino asit olan L-lysinden *Streptomyces albulus* kullanılarak fermantasyon sonucu elde edilen doğal bir koruyucudur. Küfler, mayalar ve Gram pozitif özellikle Gram negatif bakterilere karşı inhibasyon etkisi kanıtlanmıştır. Gıda, yem, kozmetik ve ilaç endüstrisinde kullanılan doğal bir koruyucudur. Ürünün lezzet ve aromasını bozmaz düşük dozlarda etkili olduğu için ekonomiktir doğal koruyucu olduğu için sentetik katkı maddelerine göre tüketiciler tarafından daha çok tercih edilmektedirler (Arslan, 2013).

#### 2.2.1.4 Hidrojen Peroksit ve Ozon

Hidrojen peroksit bakteristatik ve bakterisidal etkiye sahip dekontaminant bir maddedir. Oluşturduğu radikaller ile proteini, yağları ve nükleik asiti tahrip ederler. Hidrojen peroksit, tavuk eti dekontaminasyonunda kullanılabilir. Ancak etlerde geçici olarak ağarmaya ve hacim artışına neden olduğu ve suyu köpürttüğü için kullanımı sınırlı olmaktadır. Hidrojen peroksit kan ve deride aktive göstererek O<sub>2</sub> gazı üretmekte ve oksidasyonu hızlandırarak renk kararmasına neden olabilmektedir (Lillard & Thomson, 1983, ss. 125-126.).

**Ozon:** Ozon kararsız, iyonize radyasyon ya da elektrik yükünü geçiren, çözünebilir, iyonlaşma özelliği gösteren, ticari olarak oksijen veya havadan üretilen mavi bir gazdır (Cliver, 2007). Ozonun gıda endüstrisinde dezenfektan olarak kullanılmasının amacı ise ozonlu suyla karkasların mikrobiyel yükünü azaltmaktır. Ozon ile kanatlı ürünlerinde raf ömrü uzadığı tespit edilmiştir. Ayrıca renk ve tat değişimi görülmemektedir. Buna ek olarak işçi güvenliği

riski, yüzeylerde aşınmaya neden olması, ve özel ekipmanlar gerektirmesi gibi bazı dezavantajları da vardır (Mulder & Schlundt, 1999). Depoların dezenfeksiyonunda kullanılır (Bostan & Özgen, 1995, ss. 452-461).

## **2.2.2. Fiziksel Yöntemler**

### **2.2.2.1. Durulama**

Kullanma suları ile dekontaminasyon; karkasların durulanması spreyleneceği, daldırılması ve buhar uygulaması şeklinde gerçekleştirilebilir. Karkasların saf suyla durulanması ile bakteri yükünde sadece belirli oranlarda azalma kaydedilmiştir. Yine daldırma usulü soğutma yöntemiyle broiler karkaslarının kontaminasyonu azaltılmıştır. Karkasların spreyle muamelesi esnasında uygulanan basınç ve sıcaklığa bağlı olarak belirli düzeylerde bakteriyel redüksiyon sağlanmıştır. Fakat püskürtücü başlıkların gerekli kontrolleri yapılmaz ise bu seferde spreyle bir kontaminasyon kaynağı olabilir (Bolder, 1997, ss. 221-227).

Sıcak su bakteriler üzerinde öldürücü etki oluşturmasının yanı sıra sıcaklığın etkisiyle eriyen yağlar sayesinde bakteriler dokudan ayrılıp atılmaktadır. Bu sıcaklık dereceleri iyi ayarlanmalıdır. Yüksek sıcaklık değerleri üründe kısmen pişmeye, karkasta kahverengileşme ve büzümeye neden olabilmektedir (Bostan & Özgen Arun, 1995, ss. 452-461).

Buhar etkin bir ısı transferini sağlamakta ve kalıntı bırakmamaktadır. Tüv folikülleri ve göğüs boşluğuna oldukça iyi etki etmektedir. Ancak 100°C civarında uygulanan buharın proteinleri denatüre etmemesi için uygulama süresi oldukça kısa tutulmalıdır (James vd., 2000, ss. 111-117).

### **2.2.2.2. Yüksek Hidrostatik Basınç**

Yüksek basınç uygulaması mikroflora üzerinde redüksiyon etkisi olan ürünlerin tat, koku ve besleyici değerinde herhangi bir değişikliğe yol açmayan bir uygulamadır (Yuste vd., 2002, ss. 451-455).

### **2.2.2.3. İyonize Radyasyon**

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'ne göre; gıda ışınlama işlemi, gıdalarda bozulmaya sebep olan mikroorganizmalar ve biyokimyasal olayların miktar ve faaliyetlerinin engellenmesi, azaltılması, yok edilmesi, gıdaların raf ömürlerinin uzatılması, olgunlaşma süresinin kontrolü ya da ilerleyen işlemlerdeki istenen değişiklikleri sağlamak amaçlarından biri veya birkaçı için belirlenmiş olan ışınlama dozunda, uygun teknolojik ve hijyenik koşullarda yapılır (TC Resmî Gazete, 2019). Bu uygulama özellikle katı gıdaların aroma ve tatlarında önemli değişikliklere neden olmadan koruyucu bir etki sağlamaktadır. Bu yöntem çiğ gıdalar ve dondurulmuş gıdalarda da aynı koruyuculuğu göstermektedir (Lacroix & Ouattara, 2000, ss. 719-724). Işınlama gıda üzerinde ciddi ısı artışı oluşturmadığı için termal olmayan işlem olarak bilinmektedir (Wood & Bruhn, 2000, s.246).



Işınlamanın en büyük tahribatı kromozomlar üzerinde olmaktadır. Bu uygulamaya tabi tutulan gıdalarda bulunan bakterinin kromozomlarının geri dönüşümsüz olarak zarar görmesi sağlanmaktadır (Urbain, 1986, ss. 276-287).

#### **2.2.2.4. Elektriksel Stimülasyon**

Isı uygulamadan yapılan işlemler, sıklıkla kullanılan ısısal işlemlerin tamamlayıcı ya da onların yerini alabilecek teknoloji olarak günümüzde önemli hale gelmiştir.

Termal ve nontermal işlemler karşılaştırıldığı zaman, nontermal işlemler bozulma yapan mikroorganizma ve enzimleri inaktive etmesi ile birlikte enerji ve düşük ısı kullanımı, besin öğeleri ile beraber lezzet ve tat muhafazasında avantajlıdır (Vega-Mercado vd., 1997, ss. 151-157). Elektriksel stimülasyonun işleyişi yeni kesilmiş hayvan karkaslarından elektrik akımının geçirilmesidir. Elektrik akımı kaslarda postmortem glikozisi hızlandırır ve kaslarda soğuk kasılmaların önüne geçilerek lezzet, tekstür ve renk gibi kalite parametreleri oluşmaktadır. Buna ek olarak elektriksel stimülasyon etlerde bulunan mikroorganizmaların sayısında azalma ve doğru saklama koşullarında raf ömrünü de uzattığı belirtilmektedir (Kahraman vd., 2006, ss. 23-30).

#### **2.2.2.5. Ultrasonik Enerji**

Bu yöntem ile daha çok bıçak, masat ve benzeri metal ekipman sterilize edilmektedir. Ancak karkasların dekontaminasyonu amacıyla da kullanımı söz konusudur. Ultrasonik enerji, ses dalgalarına benzeyen titreşimlerdir. Bu titreşimler, uygulanan bölge üzerinde sıcaklık ve yüksek basınç oluşturur. Bu duruma bağlı olarak hücresel yapılar zarara uğrar. Uygulanan işlemlerden kaynaklı olarak ürünün kalitesi üzerinde değişiklikler ortaya çıkar. Bu işlem temel olarak kontamine olmamış kanatlı karkasının, haşlama suyuyla bulaşma riskine karşın suyun dekontaminasyonu için daha uygundur.

Buna ek olarak kelepçe, bıçak gibi metal ekipmanları temizlemek içinde kullanılabilir (Mulder & Schlundt, 1999). Bu yöntemin uygulanabilmesi için karkasların mutlaka suyun içerisinde olması gerekmektedir. Yağlı dokularda etkinlik azalmaktadır ve bu yöntem daha çok haşlama sularına uygulanabilir (Bolder, 1997, ss. 221-227).

#### **2.2.2.6. UV Işığı**

Mikroorganizmalar genellikle 200-280 nm arasındaki Ultra Viole (UV) ışınına karşı duyarlıdırlar. UV ışınları düşük penetrasyon yeteneğine sahiptir ve bu yüzden balık, et ve ekmek benzeri gıdaların yüzeylerinde, gıda işleme ve hazırlama yerlerindeki ortam duvarların, havasının ve ekipmanlarının dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır.

Mikroorganizmaların UV ışınına maruz kalması ile, ortamda oluşan enerji DNA da bulunan nükleotid bazları tarafından absorbe edilir ve

bazılar diğer dimer formların her biri ile reaksiyona girerek DNA sarmalının yapısının bozulmasına sebep olurlar. DNA'nın yapısının bozulması ile mikrobiyal ölüm gerçekleşir ve dekontaminat etki sağlanmış olur (Ray, 2004). Bu yöntem depolama ve işleme alanlarında havada bulunan bakterileri de kontrol altına alabilmektedir. Kesilen hayvanın derisi düzgün değildir ve tüy folikülleri ölü alanlar oluşturur. Bu yüzden UV ışınları et yüzeyinde genelde etkili olamamaktadır (Bolder, 1997, ss. 221-227). Bu yöntem daha çok işletme sularının dekontaminasyonu, et depoları ve kesim salonlarındaki bakteriyel yükü azaltmak amacıyla kullanılır. (Bolder, 1997, ss. 221-227).

### 2.2.3. Doğal Antimikrobiyal Maddeler ve Dekontaminasyonda Kullanılma Olanakları

Gıdaları kimyasal, mikrobiyolojik ve fiziksel bulaşılardan ve oluşarlardan korumak amacıyla birçok teknoloji ve teknik kullanılmıştır. Bu teknik ve teknolojilerin içerisinde yeni uygulamalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yeni uygulamalar ile tüketicinin besleyici, doğal, kolay ulaşılabilen, lezzetli ve güvenilir gıdalara erişim talebinden kaynaklanmaktadır (Devlieghere vd., 2004, ss. 273-285).

Bazı gıdaların mikroorganizmalara karşı olan dayanıklılığı, yapılarında doğal olarak bulunan maddelere bağlıdır. Antimikrobiyal aktiviteye sahip baharatlardan bazıları aşağıda sıralanmıştır;

**Tablo 2.** *Antibakteriyel etkiye sahip baharatlar ve etken maddeleri (Cleveland vd., 2001)*

Bitki	Etken
Hardal	Allyl İsothiocyanate
Kekik	Thymol ve Carvacrol
Tarçın	Cinnamic Aldehyde ve Eugenol
Sarımsak	Alicin
Adaçayı	Eugenol ve Thymol
Karanfil	Eugenol

Kimyasal koruyucular ile işlenmiş birçok gıdanın tüketilmesi, tüketici kaygısını oluşturmuştur. Tüketicin doğal ürünler için talebinde artış meydana gelmiştir. Doğal şekillerde üretilmiş olan antimikrobiyal ürünlere büyük ilgi olmaktadır (Cleveland vd., 2001, ss. 1-20). Gıda üretim sektörü içerisinde ürünler işleme öncesi ve sonrasında gıdadan kaynaklanan patojen mikroorganizmaların kontrolü için kimyasal ve fiziksel yöntemlerle

yapılmaktadır. Gıdalarda ve yem maddelerinde mikrobiyal kontaminasyonun önüne geçmek için kullanılan kimyasal yöntemler geleneksel olarak organik asitleri içerir. Fakat belirli kimyasal antimikrobiallerin sürekli olarak kullanılması mikrobiyal direncin gelişmesine sebep olmaktadır (Ricke vd., 2005, ss. 667-675).

### 2.2.3.1. Bitki Kaynaklı Antimikrobiyal Maddeler

Bitkinin yapısında olan metabolitlerin en önemli görevlerinden birisi de yapılarında bitkileri mikroorganizmalara, haşerelere ve otçul hayvanların zararlı etkilerine karşı korumaktır. Terpenoidler bitkinin kokusunu, kinonlar ve tanninler pigmentlerini, bazı bileşenler ise tadını verirler. Bu sebeple çoğu baharat ve otlar insanlar için yemeklerde birer tat verici olarak kullanılırlar (Cowan, 1999, ss. 564-582). Tat ve aroma kazandırmak için gıdalara eklenen bazı bitkiler, farklı etkilere sahiptirler. Örneğin; hardal, sarımsak, karanfil, kekik gibi baharatlar, gıdalara tat vermek için kullanılmalarına ek olarak antimikrobiyal aktivite göstermekte ve gıdayı korumaya yardımcı olmaktadır (Beuchat, & Golden, 1989). Bitki kaynaklı antimikrobiyal madde ile yapılan bir çalışma sonucu elde edilen başarılı sonuçlar gözlemlenmiştir. Araştırmada, raf ömrünü uzatma denemelerinde kullanılan bir bitki olan karanfilden elde edilen sonuçlar şöyledir; Karanfil bitkisine ait ekstraktların denemelerde kullanılan tüm mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki sağladığı görüldü. Karanfil hidrodistilatı ise bütün test mikroorganizmalarına karşı önemli bir antimikrobiyal etki yarattı. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda da karanfil bitkisinin, tüm bakteriler üzerinde etkili olduğu belirlendi (Aksoy, 2010).

## 3. SONUÇ

Kanatlı etikimyasal ve fiziksel özellikleri sebebiyle mikrobiyolojik olarak bozulmalara karşı en duyarlı besindir. Bu yüzden kanatlılar, kesimhaneye taşınmadan, tüketim aşamasına kadar her basamakta titizlikle işlemeye ve minimum kontaminasyon için her türden koruyucu önlem alınmalıdır. Günümüzde modern kanatlı kesimhanelerine ve işletmelerde uygulanan iyi hijyen ve sanitasyon uygulamalarına rağmen tavuk etinden kaynaklanan enfeksiyonlar ve toksikasyonlar günümüzde devam etmekte olan en önemli halk sağlığı problemlerinin başında gelmektedir. Alınan bütün hijyenik yöntemlere rağmen gerek canlı hayvan gerekse üretim aşamasından kaynaklı kontaminasyon olmakta ve bu nedenle gerekli koruyucu önlemlerin alınması gerekmektedir. Tavuk eti ve işlenmekte olan ürünlerinin dekontaminasyonu konusunda birçok farklı uygulamalar bulunmaktadır. Bu nedenle farklı dekontaminasyon yöntemleri kullanılarak ürün güvenliği sağlanmaktadır. Kanatlı etinin dekontaminasyonunda kimyasal ve biyolojik maddelerle birlikte fiziksel yöntemler veya bunlar kombine edilerek kullanılabilir.

## KAYNAKLAR

- Aksoy, A. (2010). Bazı bitki ekstraktlarının kanatlı etlerinin raf ömrü üzerine etkisinin araştırılması. Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ana bilim Dalı Doktora tezi, Kars, Türkiye.
- Arslan, A. (2013). Et muayenesi ve et ürünleri teknolojisi. Medipres.
- Arslan, P. (2013). Tavuk etinin sağlıklı beslenme için önemi. Piliç Eti Sektör Raporu Kitabı, 88-91.
- Beuchat, L. R., & Golden, D. A. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods.
- Bolder, N. M. (1997). Decontamination of meat and poultry carcasses. Trends in food science & technology, 8(7), 221-227.
- Bostan, K., & Özgen, Ö. (1995). Kanatlı kesimhanelerinde karkasların mikrobiyolojik kalitesini iyileştirmek için kullanılan yöntemler. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 21(2), 452-461.
- Cantalejo, M. J., Zouaghi, F., & Pérez-Arnedo, I. (2016). Combined effects of ozone and freeze-drying on the shelf-life of Broiler chicken meat. LWT-Food Science and Technology, 68, 400-407.
- Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., & Chikindas, M. L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. International journal of food microbiology, 71(1), 1-20.
- Cliver, D. O. (2007). Microbial decontamination, food safety and antimicrobial interventions. ErişimAdresi: <http://www.vetmed.ucdavis.edu/PHR/phr250/2,7>.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews, 12(4), 564-582.
- Devlieghere, F., Vermeiren, L., & Debevere, J. (2004). New preservation technologies: possibilities and limitations. International dairy journal, 14(4), 273-285.
- Dinçer, E., Kıvanç, M., & Karaca, H. (2010). Biyokoruyucu olarak laktik asit bakterileri. Gıda, 35(1), 1-8.
- Ergezer, H. (2005). Değişik yöntemlerle marine edilmiş kanatlı etlerinin kimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyuşal özellikleri (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü),1.
- Ergezer, H., & Gökçe, R. (2003). Tavuk Etlerinde Mikrobiyal Dekontaminasyon Yöntemleri. Akademik Gıda, 1(5), 33-37.
- Hinton, M. H., & Corry, J. E. L. (1999). The decontamination of carcass meat. Poultry meat science, 25, 285-295.
- James, C., Göksoy, E. O., Corry, J. E. L., & James, S. J. (2000). Surface pasteurisation of poultry meat using steam at atmospheric pressure. Journal of Food Engineering, 45(2), 111-117.
- Kahraman, T., Nazlı, B., & Ergün, Ö. (2006). Elektrik stimülasyonunun et kalitesi uze-

rine etkileri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 32(2), 23-30.

- Kayaardı, S., & Tosun, H. (2004). Karkaslarda Mikrobiyal Dekontaminasyon. *Akademik Gıda*, 2(6), 12-16.
- Kimyasal, A. Ö. Y. A. S. (2002). Bileşimi (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye).
- Kolsarıcı, N., Turhan, K., Çakmakçı, L., & Elibol, O. (1993). Kanatlı Et Ürünleri Üretim Teknolojileri. *YUTAV Uluslararası Tavukçuluk Kongresi*, 93, 137-155.
- Lacroix, M., & Ouattara, B. (2000). Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products—a review. *Food research international*, 33(9), 719-724.
- Lillard, H. S., & Thomson, J. E. (1983). Efficacy of hydrogen peroxide as a bactericide in poultry chiller water. *Journal of Food Science*, 48(1), 125-126.
- Mani-López, E., García, H. S., & López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products. *Food Research International*, 45(2), 713-721.
- Mulder, R. W. A. W., & Schlundt, J. (1999). Safety of poultry meat: from farm to table.
- Özbay, S., & Sarıçoban, C. (2014). Et ve ürünlerinde dekontaminasyon yöntemleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(3), 92-99.
- Öztürk, B. (2018). Koruk suyu ve kurutulmuş koruk posası ile hazırlanan marinasyon sıvılarının ete bulaştırılan *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157: H7 ve *Listeria monocytogenes* üzerine inaktivasyon etkisi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Ray, B. (2004). *Fundamental food microbiology*.
- Ricke, S. C., Kunderinger, M. M., Miller, D. R., & Keeton, J. T. (2005). Alternatives to antibiotics: chemical and physical antimicrobial interventions and foodborne pathogen response. *Poultry Science*, 84(4), 667-675.
- Smulders, F. J. M. (1995). Preservation by microbial decontamination; the surface treatment of meats by organic acids. In *New methods of food preservation* (pp. 253-282). Boston, MA: Springer US.
- Smulders, F. J. M., & Greer, G. G. (1998). Integrating microbial decontamination with organic acids in HACCP programmes for muscle foods: prospects and controversies. *International Journal of Food Microbiology*, 44(3), 149-169.
- Tebliğ, P. D. K. F. (2019). TC Resmî Gazete (Sayı: 30907). Erişim Adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2019/10/20191003-5.htm>.
- Tosun, H. (2015). Bazı kimyasal bileşiklerle kanatlı karkasının mikrobiyal dekontaminasyonu. *Gıda*, 24(6).
- Uğur, M., Nazlı, B., & Bostan, K. (2001). *Gıda hijyeni. Teknik Yayınları*, İstanbul.
- Urbain, W. M. (1986). Government regulation of irradiated foods. *Food irradiation*. Academic Press, Inc., Orlando, FL, 276-287.

- Vega-Mercado, H., Martin-Belloso, O., Qin, B. L., Chang, F. J., Góngora-Nieto, M. M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Swanson, B. G. (1997). Non-thermal food preservation: pulsed electric fields. *Trends in food science & technology*, 8(5), 151-157.
- Wood, O. B., & Bruhn, C. M. (2000). Position of the American Dietetic Association: food irradiation. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 100(2), 246..
- Yuste, J., Pla, R., Capellas, M., & Mor-Mur, M. (2002). Application of high-pressure processing and nisin to mechanically recovered poultry meat for microbial decontamination. *Food Control*, 13(6-7), 451-455.