
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

ASPARTAMIN TATLI SU MİDYESİ (*Unio delicatus*) ÜZERİNE TOKSİK ETKİSİ

İrem ERDOĞAN AYVALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OCAK 2026

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İrem ERDOĞAN AYVALI

12.01.2026

ASPARTAMIN TATLI SU MİDYESİ (*Unio delicatus*) ÜZERİNE TOKSİK ETKİSİ

(Yüksek Lisans Tezi)

İrem ERDOĞAN AYVALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2026

ÖZET

Aspartam, dünyada gıda ve içecek endüstrisinde yaygın olarak kullanılan düşük kalorili yapay tatlandırıcılardan biridir ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından potansiyel kanserojen madde olarak sınıflandırılmıştır. Bu çalışma, gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan yapay tatlandırıcı aspartamın model organizma olan tatlı su midyesi *Unio delicatus* üzerindeki toksik etkisini araştırmayı hedeflemiştir. Midyeler 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerine 7 ve 21 gün süreyle maruz bırakılmıştır. Deney sonucunda tatlı su midyelerinin toplam hemosit sayısı; solungaç ve sindirim bezi ile hemolenf sıvısında toplam antioksidan durumu (TAS), toplam oksidan durum (TOS), 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ve protein karbonil düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca solungaç ve sindirim bezi dokularında sodyum-potasyum adenozin trifosfataz (Na^+/K^+-ATPaz) aktiviteleri incelenmiştir. Aspartam etkisinde her iki deney süresinde dokularda TAS düzeyinde azalış, TOS düzeyinde artış kaydedilmiştir ($p<0,05$). 8-OHdG düzeyi 0,49 g/L aspartam etkisinde solungaç dokusunda 7 ve 21. günde; hemolenfte 21. günde kontrol grubuna göre önemli şekilde artmıştır ($p<0,05$). Protein karbonil düzeyi her iki dokuda da kontrole göre artış göstermiştir. Her iki sürede de 0,49 g/L aspartam etkisindeki artışlar önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Dokularda Na^+/K^+ATPaz aktivitesi aspartam etkisinde kontrol grubuna göre azalmıştır. Bu azalış solungaç dokusunda 0,49 g/L aspartam derişiminde 7 günlük sürede; sindirim dokusunda tüm aspartam derişimlerinde her iki sürede anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu çalışma, aspartamın *U. delicatus*'un biyokimyasal parametrelerini etkileyerek toksisiteye neden olduğunu göstermiştir ve sucul ekosistemler üzerindeki olası risklerine dikkat çekmektedir.

Bilim Kodu	:	20302
Anahtar Kelimeler	:	*Unio delicatus*, aspartam, hemosit, toksisite, oksidatif stres
Sayfa Adedi	:	63
Danışman	:	Doç. Dr. Gülbin FERİDUN

TOXIC EFFECTS OF ASPARTAME ON FRESHWATER MUSSEL (*Unio delicatus*)

(M. Sc. Thesis)

İrem ERDOĞAN AYVALI

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2026

ABSTRACT

Aspartame is one of the low-calorie artificial sweeteners widely used in the food and beverage industry worldwide and is classified as a potential carcinogen by the World Health Organization. This study aimed to investigate the toxic effect of aspartame, an artificial sweetener widely used in the food sector, on the freshwater mussel *Unio delicatus*, a model organism. Mussels were exposed to aspartame concentrations of 0,49 µg/L; 0,49 mg/L and 0,49 g/L for 7 and 21 days. The experimental results determined the total hemocyte count of freshwater mussels; total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), and protein carbonyl levels in gill, digestive gland, and hemolymph fluid. Additionally, sodium-potassium adenosine triphosphatase (Na^+/K^+-ATPase) activities were examined in gill and digestive gland tissues. In both experimental periods, a decrease in TAS levels and an increase in TOS levels were observed in the tissues under the influence of aspartame ($p<0,05$). The 8-OHdG level increased significantly in gill tissue on days 7 and 21, and in hemolymph on day 21, under the influence of 0,49 g/L aspartame compared to the control group ($p<0,05$). Protein carbonyl levels increased in both tissues compared to the control. Increases under the influence of 0,49 g/L aspartame were found to be significant in both time periods ($p<0,05$). Na^+/K^+ATPase activity in tissues decreased under the influence of aspartame compared to the control group. This decrease was significant in gill tissue at an aspartame concentration of 0,49 g/L over 7 days; and in digestive tissue at all aspartame concentrations in both time periods ($p<0,05$). This study highlights that aspartame causes toxicity by affecting the biochemical changes of *U. delicatus* and draws attention to its potential risks to aquatic ecosystems.

Science Code	:	20302
Key Words	:	*Unio delicatus,* aspartame, hemocyte, toxicity, oxidative stress
Page Number	:	63
Supervisor	:	Assoc. Prof. Dr. Gülbin FERİDUN

TEŞEKKÜR

"Şuna inanmak lazımdır ki, dünya üzerinde gördüğümüz her şey kadının eseridir" sözüyle özgür hissettiğim, güç bulduğum ve bağımsız olduğum için Mustafa Kemal ATATÜRK'e tüm varlığımla sonsuz müteşekkirim.

Uğruna emek verdiğim bu meşakkatli yolda bilgi birikimiyle, sabrıyla bana her konuda destek olan çok kıymetli Doç. Dr. Gülbin FERİDUN'a ne kadar teşekkür etsem azdır. Benim için sadece bir danışman olmadı ayrıca merhametli yüreğiyle beni her daim motive etti. Yollarımız iyi ki kesişti. Engin bilgisiyle ve yüce gönlüyle laboratuvar çalışmalarımıza rehberlik eden çok değerli Prof. Dr. Aysel Çağlan GÜNAL hocama çok teşekkür ederim.

Analizlerimiz boyunca bize etmiş olduğu yardımdan ve kendisinden destek istediğimiz hiçbir konuyu karşılıksız, sorduğumuz hiçbir soruyu yanıtsız bırakmamasından ötürü Dr. Öğr. Üyesi Göktuğ GÜL hocama teşekkürler. Laboratuvar çalışmalarımızın her aşamasında bulunup göstermiş olduğu özverili çabadan dolayı Lailim SALAMATKYZY'e teşekkür eder, yolunun açık olmasını dilerim.

Attığım her adımı destekleyen, bana güvenen, beni onurlandıran ve gerek tecrübesiyle gerek bilgisiyle yoluma her zaman ışık olan çok sevdiğim canım eşim Muharrem AYVALI'ya katkılarından ve sabrından dolayı teşekkür ederim. En değerli hazinem canım oğlum Kıvanç AYVALI'ya sabrından, göstermiş olduğu çabadan ve laboratuvar çalışmalarında yardımcı olup midyeleri beslemesinden dolayı çok teşekkür ederim. Gücüme güç katan, beni cesaretlendiren, varlığına her gün şükrettiğim yüreği kocaman oğlum iyi ki var. Her başarımın temelini inşa eden, şükrettiğim noktada olmama vesile olan, dürüst, merhametli, onurlu ve başarılı bir evlat yetiştirmeyi görev bilen kıymetli annem Nurhan ERDOĞAN'a ve kıymetli babam Hicabi ERDOĞAN'a verdikleri emekten dolayı; bana olan sevgilerini her zaman hissettiren canım ablam Tuğba DİRİ'ye ve canım kardeşim Hürrem EVLİ'ye bana kattıkları her güzellikten dolayı sonsuz teşekkürler. Laboratuvar çalışmalarım esnasında ihtiyacım olan zamanı oluşturmamdaki anlayış ve destekleri için departman müdürüm Esma Özgür OKAN'a çok teşekkür ederim.

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: FYL-2024-9461) birimi tarafından desteklenen maddi imkânlardan dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ ix

ŞEKİLLERİN LİSTESİ xi

RESİMLERİN LİSTESİ xiii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiv

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 5

2.1. Aspartam 5

2.1.1. Aspartamın kimyasal yapısı ve özellikleri 5

2.2. Tatlı Su Midyeleri 7

2.2.1. Midye morfolojisi ve anatomisi 8

2.3. Literatür Özetleri 9

3. MATERYAL VE YÖNTEM 19

3.1. Midye Örneklerinin Toplanması ve Deney Ortamı 19

3.2. Deney Yöntemi 20

3.3. Biyokimyasal Analizler 22

3.3.1. Doku homojenatlarının hazırlanması 22

3.3.2. İnorganik fosfat tayini 24

3.3.3. Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin belirlenmesi 25

3.3.4. Protein yöntemi 26

3.3.5. Toplam antioksidan seviyesi (TAS) 27

Sayfa

3.3.6. Toplam oksidan seviyesi (TOS) 27
3.3.7. 8-OHdG yöntemi 27
3.3.8. Protein karbonil yöntemi 28
3.3.9. İstatistik analizi 28
4. BULGULAR 29
4.1. Toplam Hemosit Sayısı (THS) 29
4.2. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS) 30
4.3. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS) 33
4.4. 8-OHdG 37
4.5. Protein Karbonil 40
4.6. Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi 43
5. TARTIŞMA 47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 53
KAYNAKLAR 55
ÖZGEÇMİŞ 63

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Aspartamın kimyasal özellikleri 7

Çizelge 3.1. Deney ortamına ait suyun fizikokimyasal parametreleri 20

Çizelge 3.2. Tatlı su midyelerine ait ortalama ölçümler 22

Çizelge 3.3. Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerleri 25

Çizelge 3.4. Protein miktarını belirlemede kullanılan çözeltiler 26

Çizelge 4.1. Aspartamın farklı derişimlerine maruz bırakılan *U. delicatus* bireylerinin toplam hemosit sayıları(hücrex10^3)/mL 29

Çizelge 4.2. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusu TAS düzeyleri 31

Çizelge 4.3. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusu TAS düzeyleri 32

Çizelge 4.4. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında TAS düzeyleri (nmol/L) 33

Çizelge 4.5. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda TOS düzeyleri 34

Çizelge 4.6. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda TOS düzeyleri 35

Çizelge 4.7. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında TOS düzeyleri 36

Çizelge 4.8. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda 8-OHdG düzeyleri 38

Çizelge 4.9. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda 8-OHdG düzeyleri 39

Çizelge 4.10. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında 8-OHdG düzeyleri 40

Çizelge 4.11. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda protein karbonil düzeyleri 41

Çizelge 4.12. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda protein karbonil düzeyleri 42

Çizelge 4.13. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında protein karbonil düzeyleri 43

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 4.14. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri..... 44

Çizelge 4.15. *U. delicatus*'ta aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri..... 45

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Aspartamın kimyasal yapısı 7

Şekil 2.2. Midyenin anatomisi 9

Şekil 3.1. İnorganik fosfat miktarı 25

Şekil 3.2. Protein miktarı 27

Şekil 4.1. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un toplam hemosit sayıları 30

Şekil 4.2. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un solungaç dokusu TAS düzeyleri 31

Şekil 4.3. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un sindirim dokusu TAS düzeyleri 32

Şekil 4.4. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un hemolenf sıvısında TAS düzeyleri 33

Şekil 4.5. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un solungaç dokusunda TOS düzeyleri 34

Şekil 4.6. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un sindirim dokusunda TOS düzeyleri 35

Şekil 4.7. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un hemolenf sıvısında TOS düzeyleri 37

Şekil 4.8. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un solungaç dokusunda 8-OHdG düzeyleri 38

Şekil 4.9. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un sindirim dokusunda 8-OHdG düzeyleri 39

Şekil 4.10. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un hemolenf sıvısında 8-OHdG düzeyleri (ng/ml) 40

Şekil 4.11. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un solungaç dokusunda protein karbonil düzeyleri 41

Şekil 4.12. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un sindirim dokusunda protein karbonil düzeyleri 42

Şekil 4.13. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un hemolenf sıvısında protein karbonil düzeyleri 43

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.14. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un solungaç dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri 44

Şekil 4.15. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus*'un sindirim dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri 45

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 2.1. Tatlı su midyesinin yapısı 9

Resim 3.1. Akvaryum suyunun ölçümü 19

Resim 3.2. Deney ortamı 20

Resim 3.3. Midye ölçümü 21

Resim 3.4. Hemolenf sıvısının alınması 21

Resim 3.5. Diseksiyon işlemi 22

Resim 3.6. Homojenizasyon işlemi 23

Resim 3.7. Santrifüjleme işlemi 24

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
^{0}C	Santigrat
C	Karbon
dk	Dakika
dl	Desilitre
g	Gram
K^+	Potasyum
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Na^+	Sodyum
nm	Nanometre
O	Oksijen
pH	Hidrojenin gücü
ppm	Milyonda bir
µm	Mikrometre

Kısaltmalar	Açıklamalar
8- OHdG	8-hidroksi-2-deoksiguanozin
AChE	Asetilkolinesteraz
ATPaz	Adenozin Trifosfataz
BChE	Butirilkolinesteraz
cAMP/PKA	Siklik adenozin monofosfat/protein kinaz A
CAT	Katalaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit

Kısaltmalar	Açıklamalar
DNPH	2,4 Dinitrofenilhidrazin
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FAO	Food and Agriculture Organization / Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GCL	Glutamat-sistein ligaz
GSH	Glutatyon
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
INS	International Numbering System / Uluslararası Numaralama Sistemi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
S100B	Kalsiyum bağlayıcı protein B
SOD	Süperoksit dismutaz
TAS	Toplam Antioksidan Seviyesi
TOS	Toplam Oksidan Seviyesi
WHO	World Health Organization / Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Sanayileşmenin ve dünya nüfusunun artması ile birlikte işlenmiş gıdalara talep günden güne artmaktadır. Gıdaların raf ömrü, lezzet, yapı ve görünümünün korunup iyileştirilmesi için gıda katkı maddelerine ihtiyaç duyulmaktadır (Çelik Atalay, Sağdıçoğlu ve Celep, 2024). Gıda katkı maddeleri tek başına tüketilmeyen ancak besleyici değer taşıyabilen bileşenlerdir. Üretim, işleme, hazırlama, ambalajlama, taşıma ve depolama süreçlerinde gıdaların tat, koku, görünüş, yapı gibi özelliklerini korumak, geliştirmek veya istenmeyen değişiklikleri önlemek amacıyla kullanılırlar. Tatlandırıcılar, antioksidanlar, koruyucular, stabilizatörler, emülgatörler ve renklendiriciler en yaygın katkı maddesi gruplarını oluşturmaktadır (Boğa ve Binokay, 2020).

Gıda güvenliği tarihi, insanlığın ilk hayvanları evcilleştirdiği dönemlere kadar uzanmaktadır. Milattan önceki yıllarda etlerin tuzlanması, peynirin balmumu ile sıvanması, sütün dar boğazlı kaplarda güvenle saklanması, etin; sucuk, pastırma ve kavurma yapılarak saklanması, tuz, odun tütsüsü ve özellikle baharatın lezzet verici olarak kullanılması keşfedilmiştir (Boğa ve Binokay, 2020).

Tatlandırıcılar; şeker yerine kullanılan, bazıları doğal olarak bulunan bazıları ise yapay olarak üretilen katkı maddelerdir (Kızılaslan, 2017). Sukroz, mısır tatlandırıcılar, yüksek fruktozlu mısır şurubu ve polihidrik alkoller doğal tatlandırıcılardır (Özbek ve Yentür, 1993). Yapay tatlandırıcılar bugün piyasada satılan gıdalar, içecekler, hijyen ürünleri ve ilaçlar gibi birçok ürünlerde kullanılmaktadır (Mutlu ve Kürklü, 2018). Sakkarin, siklamat, dulcin, asesülfam-K ve aspartam yaygın olarak kullanılan yapay tatlandırıcı örnekleridir (Özbek ve Yentür, 1993).

İnsanların tatlı gıdalara olan eğilimi doğuştan olmaktadır. Yapılan çalışmalar, yeni doğanların tatlı tada sahip besinleri tercih ettiklerini kanıtlamıştır. Bu nedenle insanoğlu yemeklerine her zaman tatlı maddeleri katmıştır. İlk bilinen tatlandırıcı olarak bal, eski Yunan ve Çin kültürlerinde yaygın biçimde kullanılmıştır. Daha sonra balın yerini, başlangıçta şeker kamışından elde edilen sıradan şeker olan sakkaroz almıştır. Dünya savaşları sırasında şeker pancarı sakkarozun ana kaynağı olmuştur. İlk yapay tatlandırıcı 1879 yılında Remsen ve Fahlberg tarafından sentezlenen sakkarindir (Weihrauch ve Diehl, 2004).

Aspartam (E951), düşük kalorili gıdalarda sıkça tercih edilen başlıca yapay tatlandırıcılardandır (Mourad ve Noor, 2011). Günümüzde 5000'in üzerinde yiyecek ve içecekte kullanılan aspartam, özellikle diyabetik bireyler tarafından tercih edilmekte ve kilo verme diyetlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Dünya genelinde yaklaşık 200 milyon kişinin düzenli olarak aspartam tükettiği bildirilmektedir (Iyyaswamy ve Rathinasamy, 2012). FDA tarafından önerilen dozun üzerinde tüketilen aspartamın güvenliği tartışma konusu olmaktadır (Bhoumik ve diğerleri, 2023).

Vücut tarafından yeterince absorbe edilemeyen yapay tatlandırıcılar, yüksek tüketim durumunda kolayca atık sulara karışabilmektedir. Arıtma işlemlerinde aspartam gibi bazı tatlandırıcılar nispeten hızlı bir şekilde parçalanırken sukraloz ve asesülfam-K gibi diğerleri direnç gösterir ve su ekosistemlerinde yüksek kalıcılığa neden olmaktadır. Bu bileşiklerin su ekosistemlerindeki varlığı, buralarda yaşayan organizmalar için risk oluşturabilmektedir (Fernandez ve diğerleri, 2025).

Midyeler denizlerde ve tatlısularda yaygın olarak bulunmaktadırlar ve kirleticileri uzun süre vücutlarında biriktirmeleri nedeni ile sucul kirleticilerin belirlenmesinde kullanılan indikatör organizmalardır. (Sencar ve Kuyucu, 2020). Beslenme şekilleri ve yerleşik yaşam tarzları nedeniyle besin zinciri açısından çok önemli olan midyeler, suyu filtre ederek kirleticileri yüksek miktarda bünyelerine alır ve bu maddelerin besin zinciri yoluyla taşınmasına aracılık ederler. Midyelerin solungaç ve hepatopankreas gibi organlarında biyobelirteç analizler yapılabilmekte ve bu şekilde kirliliklerin etkileri belirlenebilmektedir (Canlı, 2022).

Organizmalar, çok düşük düzeylerdeki reaktif oksijen türlerini (ROS) dengelemek amacıyla çeşitli düzenleyici sistemlere sahiptir (Srivastava, Jangid, Srivastava, Rawat, 2018; Prabhakar ve diğerleri, 2012). Ancak hücrelerde ROS üretiminin artması ve bu reaktif moleküllerin biyolojik sistem tarafından yeterince detoksifiye edilememesi durumunda oksidatif stres ortaya çıkmaktadır (Pizzino ve diğerleri, 2017).

Antioksidan sistemdeki dengesizlik hücrelerde oksidasyona sebep olarak hücre hasarına yol açabilmektedir (Benavides, Fernandez-Lodeiro, Coelho, Lodeiro, Diniz, 2016). Reaktif oksijen türleri; proteinlerin denatürasyonuna, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna ve enzim aktivitesi inhibisyonuna neden olmaktadır (Butterfield ve diğerleri, 1998).

Bir organizmada reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı savunma sağlayan tüm potansiyel antioksidan bileşenlerin toplamı, toplam antioksidan kapasitesi (TAS) olarak tanımlanır (Taylor ve Maher, 2016). Toplam oksidan seviyesi (TOS) ve toplam antioksidan seviyesi (TAS), vücuttaki genel oksidatif stresi değerlendirmek için kullanılan oksidatif stres parametreleridir (Wu ve diğerleri, 2017).

Oksidatif stres; karbonhidrat, lipid, protein ve DNA yapısında hasara yol açan prooksidan ve antioksidan dengesinde prooksidanlar lehine olan bozukluktur (Halliwell ve Gutteridge, 2007). Serbest radikallerin reaktif oksijen türlerine oksidan denmektedir. Antioksidanlar kendi elektronlarını serbest radikallere vererek hücre hasarını önlemektedir. Toplam antioksidan durumu (TAS), organizmadaki tüm antioksidanların toplam etkisini göstermektedir (Aytekin, 2022).

Geniş yüzey alanına sahip solungaçlar dış ortamla doğrudan temas halinde olduklarından dolayı toksik maddelerden çok fazla etkilenmektedir. Akuatik organizmalarda osmoregülasyon, azotlu atık atılımı, asit baz dengesi ve solunum solungaçlar yolu ile olmaktadır (Kumar, Prasad, Srisvatav, Tripathi, Srivastav, 2010). Sindirim dokusu, omurgasız canlılarda metabolik ve fizyolojik süreçlerin yürütülmesinde görev alan bir yapıdır ve işlevsel olarak omurgalıların karaciğerine, pankreasına ve ince bağırsağına karşılık gelir. Solungaç ve sindirim dokusu metabolik açıdan oldukça aktif organlar olduğundan, çevresel kirleticileri dokularında biriktirme eğilimindedir (Görgün, 2022).

Adenozin trifosfatazlar (ATPazlar), zara bağlı enzimlerdir ve hücresel membranlar boyunca iyonların transportundan dolayı hücresel hacmi, osmotik basıncı, membran permeabilitesini düzenlenmektedir. ATPazlar, organik kirleticilerin toksisitesine duyarlı olduklarından suda yaşayan organizmalardaki kirlilik stresinin değerlendirilmesinde yararlı biyokimyasal belirteçler olarak kullanılırlar (Li, dong, Han, Du, Li, 2011). Sucul canlılarda kirleticilerle doğrudan etkileşimde bulunan enzim, Na^+/K^+-ATPaz'dır. Bu enzim, hücrenin iyonik homeostazının korunmasından sorumlu anahtar bir transmembran enzimdir. Tatlı su organizmalarında, Na^+/K^+-ATPaz enzimi, solungaç epitel hücrelerinde bulunur ve aktif olarak iyon düzenlenmesinde rol oynar. Bu enzimin inhibisyonu, aktif Na^+ ve K^+ iyonlarının taşınmasının bloke edildiğini gösterir (Watson ve Beamish, 1980; Dang, Balm, Flik, Bonga, Lock, 2000).

Çift kabuklular için hemolenf, hemosit adı verilen kan hücreleri ve hücresiz hemolenf adı verilen plazmadan oluşan renksiz bir sıvıdır. Çift kabukluların kan hacmi oldukça büyük olduğu için hücresel karakterizasyonu 1 mL hemolenf örneği kullanılarak yapılabilir. Hemolenf; su, inorganik (kalsiyum, magnezyum ve sodyum) ve organik bileşiklerden (karbonhidratlar, proteinler, lipitler ve enzimler) oluşur. Bu nedenle, oksijen de dahil olmak üzere midyenin yaşamı için gerekli olan maddelerin taşınmasından sorumludur (Impellitteri, Curpăn, Plăvan, Faggio, 2022). Toplam hemosit sayımı, çevresel kirleticilerin etkilerini incelemede iyi bir biyoindikatördür (Katalay, Ayhan, Günal, 2019).

ROS ile proteinlerin reaksiyonu sonucu protein oksidasyonu oluşmaktadır. ROS proteinlerin amino asit yan zincirlerinde karbonil parçasının (-C=O) oluşmasına neden olmaktadır. Protein karbonil düzeylerinin, peptitlerin ana zincirlerinin ve lizin, prolin, arjinin ve treoninin gibi aminoasitlerin yan zincirlerinin oksitlenmesi sonucu oluştuğu belirtilmektedir (Kavuşan ve Serdaroğlu, 2021). Karbonil türevlerinin oluşumu geri dönüşümsüz bir olaydır ve enzimlerde konformasyonel değişikliklere neden olmaktadır (Almroth, Sturve, Berglund, Forlın, 2005). Protein karbonil grubu içeriği protein oksidasyonunun belirgin bir indikatörüdür.

DNA'nın oksidatif hasarı için bir biyobelirteç olan 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG), yaygın olarak incelenen oksitlenmiş metabolitlerden biridir. DNA zincirindeki guanin bazının, reaktif oksijen türlerinden biri olan hidroksil radikali (-OH) tarafından oksidatif hasara uğraması sonucu 8-OHdG oluşur (Graille ve diğerleri, 2020). 8-OHdG, oksidatif stres kaynaklı DNA ve protein hasarının spesifik biyobelirtecidir ve su ürünleri yetiştiriciliğinde ilaç toksisitesinin değerlendirilmesinde de kullanılabilmektedir (Zhang ve diğerleri, 2022). Bu çalışmada, yapay tatlandırıcı olan aspartamın *U. delicatus*'un toplam hemosit sayısı; solungaç ve sindirim bezi dokuları ile hemolenf sıvısında TAS, TOS, 8-OHdG ve protein karbonil düzeyleri ve dokulardaki Na^+/K^+-ATPaz aktivitelerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Aspartam

Aspartam, 1965 yılında kimyager James Schlatter tarafından sentezlenmiş olup günümüzde 5000'in üzerinde gıda ürününde yaygın olarak kullanılmaktadır (Nabors ve Gelardi, 1986). Aspartam; sakızlar, naneli nefes açıcılar, gazlı içecekler, içecek tozları, puding ve jöle gibi toz karışımlar, aromalı sütler, pastacılık ürünleri, kahvaltılık hububatlar ve tahıllar, kurutulmuş ürünler, şekerlemeler, dondurulmuş tatlılar, sütlü tatlılar, reçel, yoğurt, tablet tipi tatlandırıcılar, vitaminler ve pastiller gibi birçok ürün içerisinde kullanılmaktadır (Çelik, 2014). Güvenliği; FAO/WHO Ortak Uzman Komitesi (JECFA), Codex Alimentarius Komisyonu, Avrupa Birliği Gıda Bilimsel Komitesi, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve dünya çapında 100'ü aşkın düzenleyici kurum tarafından değerlendirilerek onaylanmıştır (Nabors ve Gelardi, 1986).

Diyabetik bireylerde aspartam kullanımının giderek arttığı, kilo kontrolü amacıyla uygulanan diyetlerde yaygın biçimde tercih edildiği ve dünya genelinde yaklaşık 200 milyon kişinin düzenli olarak aspartam tükettiği bildirilmektedir (Iyyaswamy ve Rathinasamy, 2012).

2.1.1. Aspartamın kimyasal yapısı ve özellikleri

Aspartam, kimyasal olarak L-aspartil-L-fenilalanin metil esterinden oluşan bir dipeptid tatlandırıcıdır (Yılmaz, 2007). Yapısal bileşiminin yaklaşık %50'si fenilalanin, %40'ı aspartik asit ve %10'u metanol türevlerinden meydana gelir. Sukroza göre yaklaşık 200 kat daha yüksek tatlılık yoğunluğuna sahip olan aspartam, beyaz renkli, kokusuz, kristal formda bulunan ve düşük molekül ağırlığı nedeniyle yüksek tatlandırma kapasitesi sergileyen sentetik bir bileşiktir (Çelik, 2014).

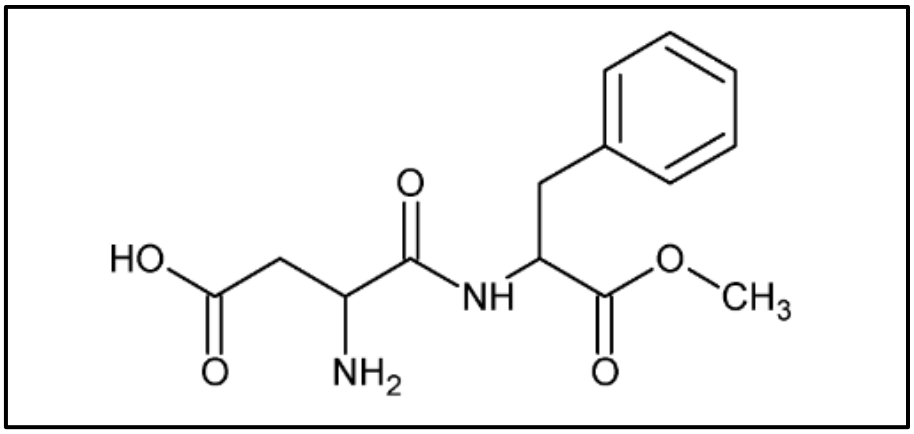
Saflaştırılmış katı formdaki aspartam, 30–80 °C sıcaklık aralığında depolanabilmekte ve düşük nem koşullarında yüksek stabilite göstermektedir. Oda sıcaklığında sulu çözeltisinin yarı ömrü yaklaşık 300 gün olup, özellikle diyet gazlı içeceklerde yaygın olarak görülen 4,3 pH değerinde maksimum stabilite sergiler. Aspartam, yüksek asidik ya da alkali koşullarda hidrolize uğrayarak metanol açığa çıkarır ve ekstrem pH değerlerinde peptit bağlarının

hidrolizi gerçekleşir ve serbest amino asitler oluşur. Oral alım sonrası aspartam; esterazlar ve peptidazlar gibi gastrointestinal enzimler tarafından aspartik asit, fenilalanin ve metanol olmak üzere temel bileşenlerine ayrıştırılır. Açığa çıkan metanol ise metabolik süreçlerde formaldehit ve ardından formik aside okside olur (Shaher, Mihailescu, Amuzescu, 2023). Güçlü tatlandırıcı özelliğinin yanı sıra aromayı güçlendirme kapasitesine sahiptir. Ayrıca algılanan tat duyumunun ağızda daha uzun süre devam etmesini sağlayarak lezzet profilini belirgin şekilde artırır. (Duxburg, 1988).

Aspartik asit, uyarıcı bir amino asit olan aspartamın bir metabolitidir ve normalde beyinde yüksek seviyelerde bulunur. Bu seviyeler, beyni plazma aspartatındaki büyük dalgalanmalardan koruyan kan-beyin bariyeri tarafından kontrol edilir (Iyyaswamy ve Rathinasamy, 2012).

Fenilalanin, beyinde monoamin üretimi için gerekli olan bir amino asittir ve protein içeren hemen hemen tüm gıdalarda bulunur (Ashok, Sheeladevi, Wankhar, 2015). Kandaki yüksek fenilalanin seviyesi nedeniyle aspartam tüketimi beyin hasarına neden olabilir. Aspartam tüketiminden sonra beyinde bazı amino asitler artar. Metabolitler arasında aspartamın sindirimi sırasında açığa çıkan metanol sistemik toksisiteye neden olan bir toksik maddedir. Yüksek dozda aspartam ve bireysel metabolitler insanlarda ve diğer hayvanlarda test edilmiştir. Metanolün sadece metabolitlerinin değil aynı zamanda kendisinin de beyin için toksik olduğu rapor edilmiştir. Metanolün birincil metabolik ürünü formaldehite ve daha sonra formata dönüşen doğrudan oksidasyondur. Metanolün insanlardaki toksik etkileri, metabolit formatının birikmesinden kaynaklanmaktadır ve format seviyeleriyle ilişkilidir. Format sıçanlarda maymunlara göre iki kat daha hızlı metabolize edilir. Kemirgenler, yüksek karaciğer folat içeriği nedeniyle metanol zehirlenmesi sırasında metabolik asidoz geliştirmez ve insanlarda da benzer sonuçlar yaratır (Ashok ve diğerleri, 2015).

Aspartamın kimyasal yapısı Şekil 2.1 ‘de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Aspartamın kimyasal yapısı (Magnuson ve diğerleri, 2007)

Aspartamın kimyasal özellikleri Çizelge 2.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 2.1. Aspartamın kimyasal özellikleri (Çelik, 2014)

Kimyasal ad	N-L-α-aspartil-L-fenilalanin 1 metil- ester
Kimyasal formülü	$C_{14}H_{18}N_2O_5$
Molekül ağırlığı	294,31
INS No	951
İzoelektrik nokta	pH 5.2
Erime Noktası	246-247 °C

Aspartam, kuru ortamlarda yüksek stabilite göstermesine karşın, sulu çözeltilerde uzun süreli ısıl işlemler sırasında bozunmaya uğramaktadır. Sudaki çözünürlüğü pH ve sıcaklığa bağlı olup, pH düştükçe çözünürlüğü artmakta ve maksimum seviyeye pH 2,2'de ulaşmaktadır. Bu özelliği nedeniyle, düşük pH koşullarında stabil bir tatlandırıcı olarak özellikle kola ve benzeri alkolsüz içeceklerde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Aspartam; suda ve alkolde düşük oranda çözünürken, katı ve sıvı yağlarda çözünmemektedir. Ağız yoluyla alındığında ise hızla metabolize edilerek içerdiği amino asitlerden aspartat ve fenilalanin ile birlikte metanole dönüşmektedir (Türe, 2020).

2.2. Tatlı Su Midyeleri

Tatlı su midyeleri, suda askıda bulunan katı organik ve inorganik maddeleri süzerek ortamdan uzaklaştırdığı için sucul ekosistem için son derece önemli rol oynarlar. Göllerdeki kalsiyum döngüsünün devamından ve biyotürbasyondan (biyolojik karıştırma) sorumlu

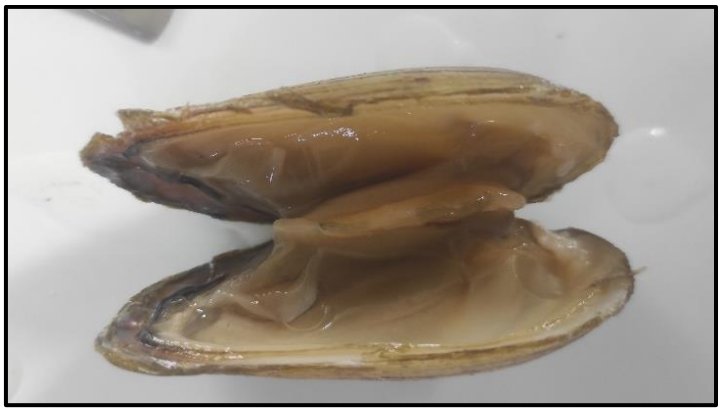
oldukları gibi su kütlesinde aşağıdan yukarıya oluşabilecek potansiyel fitoplankton patlamalarını da kontrol ederler. Yetişkin midyeler uygun koşullar altında uzun süre yaşamlarını sürdürebilirler ve yaşamları boyunca boyları 25 cm uzunluğuna ulaşabilir (Ay, Korkmaz ve Ak, 2014).

Midyeler, çözünmüş oksijen seviyeleri dahil çevresel faktörlere karşı duyarlı oldukları için çevresel değişikliklerin önceden tespiti için iyi bir indikatördür (Şereflişan, 2024).

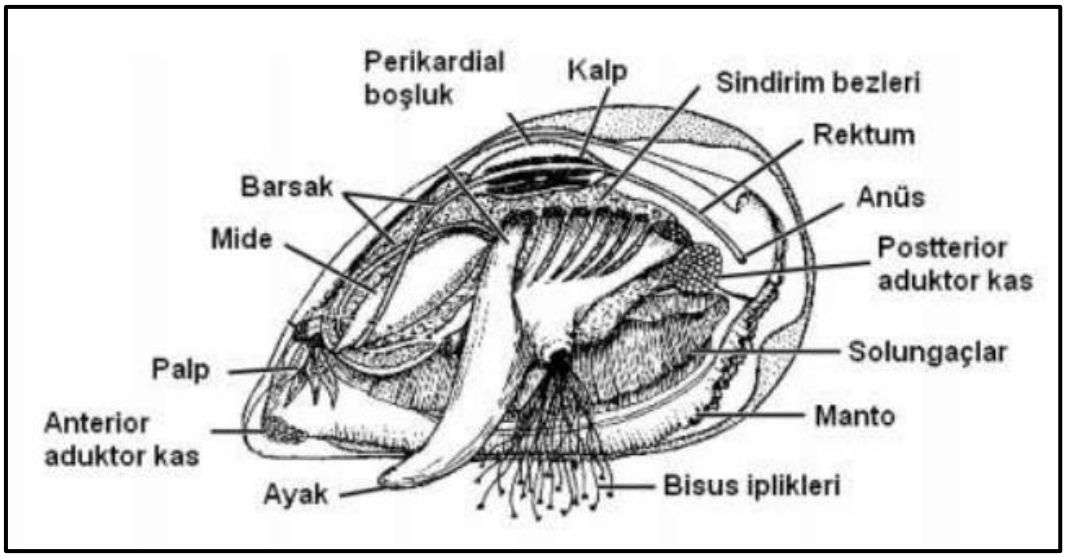
Sudaki kirleticiler, suda bulunan plankton türleri ve diğer tüketici organizmalar aracılığıyla midye ve balıklara geçer ve midyeler kirleticileri biriktirirler. Su ürünleri insanlar için önemli protein kaynağı olduğundan sucul ortamlardaki kirleticilerin birikim düzeylerinin araştırılması hem midyeler için hem de insanlar için önem teşkil etmektedir. Sucul canlıların solungaçları ortamla doğrudan temas ettikleri için kirleticiler solungaçlardan absorbe olmaktadır (Akkuş, 2016).

2.2.1. Midye morfolojisi ve anatomisi

Hayvanlar aleminin yumuşakçalar şubesine ve çift kabuklu sınıfına ait bir türdür. Her iki kabuk benzer boyutlardadır ve iskelet görevi görmektedir. Kabukların ana bileşeni kalsiyum karbonattır. Kabukların ligament yardımıyla birbirine bağlandığı yere umbo denir (Kurtay, 2020). Midyeler manto denilen bir zar ile kaplıdır. Manto boşluğunun her iki yanında düşey konumda asılı olarak bir çift ktenidium bulunmaktadır. Ktenidiumlar, solungaç flamentlerinden oluşur ve eksen boyunca iki sıra halinde dizilidir. Bunların üzerindeki sillerle birbirlerine bağlanmışlardır. Ayrıca manto epiteli de solunumda rol oynamaktadır. Ağız boşluğunda çene ve tükrük bezi yoktur. Mide torba şeklindedir. Anterior kasların hemen altında ve mide etrafında koyu kahve renkli hepatopankreas yer almaktadır (Akkuş, 2016).



Resim 2.1. Tatlı su midyesinin yapısı



Şekil 2.2. Midyenin anatomisi (Ergüden, 2012)

2.3. Literatür Özetleri

Sante-Lhoutellier ve ark. (2008)' nın etlerde yapmış oldukları bir çalışmada, pişirme esnasında özellikle myofibriller proteinlerin oksidasyona karşı hassas olduklarını ve 100 ºC' de 5 dakika pişirmenin protein karbonil düzeyini 2 kat arttırdığını ve 270 ºC'de 1 dakikalık ısıl işlemin 100 ºC'de 45 dakikalık ısıl işlem sonrası bulunan karbonil düzeyiyle aynı olduğunu bildirmişlerdir.

Al Suhaibani (2010) albino erkek farelerinin üzerinde yaptığı bir çalışmada fareleri farklı dozlarda (3,5; 35; 350 mg/kg vücut ağırlığı) aspartama maruz bırakmıştır. Aspartam uygulamasının tüm konsantrasyonlarda doz bağımlı olarak kromozomal anormalliklere yol açtığı ancak kardeş kromatid değişimlerini indüklemediği ve bununla birlikte aspartamın

mitotik indeks üzerinde herhangi bir azaltıcı etki oluşturmadığı rapor edilmiştir. Araştırma bulguları, düşük konsantrasyonlardaki aspartamın anlamlı düzeyde genotoksik bir etki oluşturmadığını ortaya koymuştur.

Soffritti ve ark. (2010) erkek ve dişi İsviçre fareleri (*Mus musculus*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada aspartamın kanserojen etkilerini değerlendirmişlerdir. 62-122 erkek ve dişi İsviçre farelerinden altı grup oluşturup doğum öncesi dönemden başlayıp ölüme kadar fareleri 0, 2.000, 8.000, 16.000, 32.000 ppm dozlarında aspartamla beslemişlerdir. Hayvanların tümü öldükten sonra mikroskobik olarak incelenmiştir. Erkek farelerin karaciğer hücrelerinde hepatoselüler karsinomlarda doza bağlı olarak anlamlı artışlar gözlemlenmiş; özellikle 16.000 ppm ve 32.000 ppm dozlarında belirgin düzeyde yükseliş tespit edilmiştir. Benzer şekilde akciğerlerde de alveolar/bronşiyoler karsinomlarda doza bağlı artışlar rapor edilmiştir. Buna karşılık dişi farelerde herhangi bir kanserojen etkiye rastlanmamıştır.

Abhilash ve ark. (2011) 18 yetişkin Wistar sıçanı (*Rattus norvegicus*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada sıçanları farklı dozlarda aspartama maruz bırakmışlardır. Birinci gruba 500 mg / kg, ikinci gruba 1000 mg/kg vücut ağırlığında suda çözülmüş aspartam dozu verilmiş ve üçüncü grup olan kontrollere su verilmiştir. 180 gün boyunca ağırlıkça 1000 mg/kg doz aspartam alan sıçanlar, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, alkalin fosfataz ve γ-glutamil transferaz aktivitelerinde önemli bir artış göstermiştir. İndirgenmiş glutatyon konsantrasyonu ve glutatyon peroksidaz ile glutatyon redüktaz aktivitesi de 1000 mg/kg doz aspartam alan sıçanların karaciğerinde önemli ölçüde azalmıştır. Glutatyon her iki deney grubunda da anlamlı olarak azalmıştır. Uzun süreli aspartam tüketiminin, esas olarak glutatyona bağımlı sistem yoluyla hepatosellüler hasara ve karaciğer antioksidan durumunda değişikliklere yol açtığının sonucuna varılabileceğini tespit etmişlerdir.

Kim ve ark. (2011) hiperlipidemi varlığında yapay tatlandırıcıların fizyolojik etkisini belirlemek için zebra balıklarına (*Danio rerio*) yüksek kolesterollü bir diyetle (HCD) birlikte aspartam veya sakkarin vererek bir çalışma yürütmüşlerdir. Aspartam ve HCD tüketen zebra balıklarının %30'unun, 12 gün sonra yüzme kusurları göstererek öldüğünü gözlemlemişlerdir. Aspartam grubunun hayatta kalma oranını %65, kontrol ve sakkarin gruplarının hayatta kalma oranını ise %100 olarak belirlemişlerdir. HCD altında, sakkarinle beslenen grupların serum kolesterol seviyesinde en yüksek artışı gösterdiğini (599 mg/dl); aspartamla beslenen grubun ise serum glikozunda (125 mg/dl'ye kadar) önemli bir artış

olduğunu tespit etmişlerdir. Histolojik analizle, aspartam ve HCD gruplarının beyin ve karaciğer kesitlerinde daha fazla inflamatuar hücre infiltrasyonu gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Sonuç olarak, hiperlipidemi varlığında, aspartamla beslenen zebra balıklarında beyin iltihabında artışla birlikte akut yüzme kusurlarının görüldüğünü; sakkarinle beslenen zebra balıklarında ise kolesterol ester transfer proteini aktivitesinin yükselmesiyle birlikte artmış aterojenik serum lipid profili görüldüğünü vurgulamışlardır.

Mourad ve ark. (2011) aspartam tüketiminin sıçanların serebral korteksinde oksidatif strese neden olup olmadığını araştırmak için sıçanlara 2, 4 ve 6 hafta boyunca günlük oral 40 mg/kg aspartam uygulamışlardır. Lipit peroksidasyon düzeyleri incelendiğinde 2 hafta sonra bu düzeyin azaldığını 4 hafta sonra ise anlamlı bir artış olduğunu belirlemişlerdir. Glutatyon redükte düzeylerinin 4 ve 6 hafta sonra azaldığını tespit etmişlerdir. Süperoksit dismutaz aktivitesinde 4 ve 6 haftalık aspartam uygulaması sonrası önemli artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Glutatyon-S-transferaz aktivitesinin aspartam uygulamasından 2 ve 6 hafta sonra önemli düzeyde arttığını tespit etmişlerdir. Kısa süreli aspartam alımında oksidan etkisinin olmadığını ancak 4 ve 6 haftalık aspartam alımında sıçanların serebral korteksinde oksidatif stresi indüklediğini gözlemlemişlerdir.

Mourad (2011) erkek albino sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada 2, 4 ve 6 hafta boyunca günlük oral 40 mg/kg aspartam uygulamasının sıçanların karaciğer ve böbreğinde oksidatif strese neden olup olmadığını araştırmıştır. Lipit peroksidasyonu, indirgenmiş glutatyon düzeylerinin yanı sıra süperoksit dismutaz, glutatyon-S-transferaz ve katalaz enzimlerinin aktivitelerini belirlemiştir. Aspartam uygulamasından 4 ve 6 hafta sonra karaciğer dokusunda lipit peroksidasyonu düzeylerinde anlamlı bir artışın elde edildiğini, 2 hafta sonra lipit peroksidasyon düzeyinde anlamlı bir azalma ve ardından 6 hafta sonunda böbrek dokusunda önemli bir artış olduğunu gözlemlemiştir. Süperoksit dismutaz aktivitesinin 2 ve 4 haftalık aspartam maruziyeti sonrası karaciğer ve böbrek dokularında önemli ölçüde azaldığını tespit etmiştir. Aspartam uygulamasından 2 ve 4 hafta sonra karaciğer dokusunda katalaz aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını gözlemlemiştir. Glutatyon-S-transferaz içeriği ile ilgili olarak 2, 4 ve 6 haftalardan sonra karaciğer dokusunda önemli bir azalma olduğunu ve buna 4 ve 6 haftalık aspartam uygulamasından sonra glutatyon-S-transferaz aktivitesinde önemli bir artış olduğunu görmüştür. Sonuç olarak bu çalışma ile aspartamın erkek albino sıçanlarının karaciğer ve böbreklerinde oksidatif strese neden olabileceğini tespit etmiştir.

Gan ve ark. (2013) aspartamın su ortamında varlığı ile ilgili yaptıkları bir çalışmada tüm yüzey sularında 0,21 mg/L'ye kadar bir konsantrasyonda bulunduğunu ancak yeraltı sularında ve musluk sularında bulunmadığını tespit etmişlerdir. Bazı yüzey sularındaki aspartamın konsantrasyonlarının, atık su arıtma tesisi giriş sularındakilerle aynı düzeyde olduğunu, çıkış sularında bu düzeyin bulunmadığını gözlemlemişlerdir. Bu duruma göre, yüzey sularına arıtılmamış deşarjların olabileceğini yorumlamışlardır.

Ashok ve ark. (2014) Wistar erkek albino sıçanlar (*Rattus norvegicus*) üzerinde yaptıkları çalışmada aspartamın anksiyete, lokomotor aktivite ve duygusal davranışlar üzerinde etkisini araştırmışlardır. Kontrol, metotreksat ve aspartam+metotreksat şeklinde 3 farklı grup oluşturmuşlardır. 90 gün boyunca sıçanlara ağızdan 75 mg/kg doz uygulamışlardır. Metotreksat grubu kontrolle kıyaslandığında lokomotor aktivitede ve duygusal davranışlarda fark olmadığını tespit etmişlerdir. Aspartam+Metotreksat grubunda hareketsizlik artışı, dışkılama artışı ve arka ayak üstüne kalkma davranışlarını gözlemlemişlerdir. Anksiyete gözlemlendiğinde metotreksat grubunun kontrolle arasında fark olmadığını ancak aspartam+metotreksat grubunda kafa uzatma davranışında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Aspartamın metanol metabolizması bozulduğunda beyinde davranışsal değişikliğe yol açtığını, uzun süreli aspartam kullanımının özellikle hassas bireylerde anksiyeteyi arttırabildiğini ve hareketliliği azalttığını yorumlamışlardır. Bu davranışsal değişikliğin sebebinin aspartamın parçalanmasıyla ortaya çıkan metanolden kaynaklı olabileceğini vurgulamışlardır.

Prokic ve ark. (2015) Wistar albino sıçanlarında (*R. norvegicus*) aspartamın hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki kronik etkileri ve kırmızı kan hücrelerinde oksidatif/anoksidatif durum üzerinde etkilerini araştırmışlardır. Sıçanlara 6 hafta boyunca içme suyunda 40 mg/kg aspartam verilmiştir. Aspartam verilen sıçanların vücut kütlesinin önemli ölçüde azaldığını gözlemlemişlerdir. Aspartamın, glikoz, kolesterol, LDL-kolesterol konsantrasyonlarında ve alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz ve laktat dehidrojenaz aktivitelerinde bir artışa, serumdaki HDL-kolesterol seviyelerinde azalışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. Aspartam alımından sonra beyaz kan hücrelerinin sayısında önemli bir düşüş gözlemlemişlerdir. Aspartamın oksidatif stresi indüklediği ve bunun da kırmızı kan hücrelerinde nitrik oksit ve lipit peroksidaz konsantrasyonlarını arttırdığının sonucuna varmışlardır. Aspartamın kronik etkisinin lipit metabolizmasında ve

oksidatif stres belirteçlerinde değişikliklerle birlikte, hiperglisemi, hiperkolesterolemi ve buna bağlı hastalıkların gelişmesine yol açabileceği vurgulanmıştır.

Vence ve ark. (2017) yürüttükleri çalışmada sazan balığının (*Cyprinus carpio*) kan, beyin, solungaç, karaciğer ve kas dokularında sukralozun potansiyel toksikolojik etkilerini oksidatif stres biyobelirteçleri aracılığıyla değerlendirmişlerdir. Sazanları, farklı sürelerde (12, 24, 48, 72 ve 96 saat) ve konsantrasyonlarda (0,05 ve 155 μg L^{-1}) sukraloza maruz bırakmışlarıdır. Çalışmada değerlendirilen biyobelirteçler; lipid peroksidasyonu, hidroperoksit içeriği, protein karbonil içeriği ile süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleridir. Sukraloz düzeyini, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometri (HPLC-MS/MS) yöntemiyle belirlemişlerdir. Sonuçlara göre özellikle solungaç, beyin ve kas dokularında lipid peroksidasyonu, hidroperoksit içeriği ve protein karbonil içeriği değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı artışlar ($p<0,05$) olduğunu; ayrıca solungaç ve kas dokusunda antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişiklikler meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Bu bulgularla, kullanılan biyobelirteçlerin sukralozun sudaki türler üzerindeki çevresel etkilerinin değerlendirilmesinde yararlı olabileceğini yorumlamışlardır.

Gaur ve ark. (2018) zebra balığı (*Danio rerio*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada gıda koruyucusu olan sodyum benzoatın, zebra balığı larvalarında gelişimsel kusurlara, oksidatif strese ve anksiyete benzeri davranışlara neden olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışma ile sodyum benzoatın artan dozlarının omurgalılar üzerinde zararlı etkilerinin olabileceğini yorumlamışlardır.

Mutlu ve ark. (2018) *Drosophila melanogaster* üzerinde yaptıkları bir çalışmada bazı yapay tatlandırıcıların mtDNA hasarı ve kopya sayısı üzerine etkilerini saptamışlardır. Deney gruplarında mısır ununa şeker yerine 72 mg/100 ml aspartam; 12,5 mg/100 ml Na sakarin + 125 mg/100 ml Na siklamat, 50 mg/100 ml Na sakarin, 16 mg/100 ml sükraloz, 80 mg/ml Asesülfam potasyum eklemişlerdir. Yetişkin dişi ve erkek sinekleri deney ortamına yerleştirmişler ve üremelerini sağlamışlardır. Döllenmiş yumurta bırakıldıktan yaklaşık 3-4 gün sonra şişede üçüncü dönem larvaların belirdiğini gözlemlemişlerdir. Üçüncü dönem larvaların DNA izolasyonunu yapmışlardır. Bu deneyin sonucuna göre aspartamın istatistiksel olarak anlamlı mtDNA hasarı yarattığını tespit etmişlerdir.

Shirmardani ve ark. (2018) *Cyprinus carpio* üzerinde yaptığı bir çalışmada aspartamın sazanların beyin dokusundaki iki nörotoksisite biyobelirtecinin (glial fibriler asidik protein-GFAP ve miyelin bazik protein-MBP) gen ekspresyonu üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. Balıkları 3 gün boyunca dört farklı konsatrasyonda aspartama maruz bırakmışlar ve son olarak 75,18 g/L aspartamı LC_{50} olarak seçmişlerdir. Aspartamın sinir dokusu üzerindeki doğrudan etkisini belirlemek için balık beyninden RNA çıkarmışlardır. Gerçek zamanlı PCR sonuçlarına göre MBP ve GFAP genlerinin tanımlanmasında sırasıyla 2,44 ve 4,2 kat artış görmüşlerdir. Beyindeki bu iki proteinin yükselmesinin çeşitli sinir hücrelerinin özellikle nöroglian'nın hasar görmesinin yanı sıra miyelin kılıfının tahrip olduğunun göstergesi olduğunu tespit etmişlerdir.

Weerasooriyagedara (2018) aspartamın *D. rerio* bireylerinin embriyonik gelişimi üzerindeki toksisitesini araştırmıştır. Zebra balığı insan biyolojisi ile belirli benzerliklere sahip olduğu için farklı kimyasalları araştırmak için yaygın kullanılan bir biyolojik model olduğunu belirtmiştir. Zebra balığı yumurtaları 100, 250, 300, 500, 1000, 2000, 5000, 10000, 15000 ve 20000 mg/L aspartam derişimlerine 4 gün süre ile maruz bırakılmıştır ve aspartam konsantrasyonlarının artmasıyla zebra balığı embriyosunda farklı gözlenebilir deformitelerin oluştuğunu vurgulamıştır. 100, 200 ve 300 mg/L gibi düşük aspartam konsantrasyonlarında zebra balığı embriyonik gelişiminde gözlenebilir anormal oluşumun gerçekleşmediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte 10.000, 15.000 ve 20.000mg/l gibi yüksek konsantrasyonlarda, gelişmekte olan embriyolarda büyüme geriliği, koryon küçülmesi, yolk kesesi ödemi, pigmentasyon eksikliği, kuyruk deformiteleri ve skolyoz gibi belirgin olumsuz değişiklikler gözlemlenmiştir. Araştırıcılar zebra balığı embriyosunun, aspartam gibi gıda katkı maddelerini araştırmak için kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Katalay ve ark. (2019) Akdeniz midyelerinin (*Mytilus galloprovincialis*) üzerinde yaptıkları bir çalışmada subletal çinko pritiyon (ZnPT)'un toplam hemosit sayıları üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. Midyeler 48 ve 96 saat süre ile 20 ve 40 μg/L subletal çinko pritiyonaya maruz bırakılmıştır. Çinko pritiyona maruz kalan midyelerde toplam hemosit sayılarının kontrol grubuna göre artış gösterdiğini ve bu maddenin düşük konsantrasyonlarının bile midyeleri olumsuz etkilediğini belirlemişlerdir.

Yoloğlu (2019) midye üzerinde yaptığı çalışmada bir çeşit fungusit olan penkonazole maruz kalan midyenin solungaçlarında Na^+/K^+-ATPaz, Mg^{2+}-ATPaz, Ca^{2+}-ATPaz ve toplam-

ATPaz aktiviteleri üzerindeki toksik etkisini LC-MS/MS analizi sonuçlarına göre değerlendirmiştir. 96 saatlik maruziyetten sonra en yüksek penkonazol konsantrasyonunun Mg^{2+}-ATPaz hariç diğer ATPaz aktivitelerinin önemli düzeyde inhibisyonuna neden olduğu sonucuna varmıştır.

Sencar ve ark. (2020) 60 adet erkek sıçanları, 8 hafta süresince farklı dozlarda aspartam ve asesülfam potasyum etkisine maruz bırakmışlardır. 1. gruptaki hayvanları kontrol grubu olarak değerlendirmişlerdir. 2. gruptaki hayvanlara 200 mg/kg/gün aspartam; 3.gruptaki hayvanlara 300 mg/kg/gün aspartam; 4. gruptaki hayvanlara 300 mg/kg/gün asesülfam K; 5. gruptaki hayvanlara 600 mg/kg/gün asesülfam K ve son gruba da 300 mg/kg/gün aspartam+300 mg/kg/gün asesülfam K 8 hafta süreyle verilmiştir. Testis dokularını ışık ve elektron mikroskobuyla incelemişler ve dokuların dejenerasyona uğradığını belirlemişlerdir.

Ifemeje ve ark. (2020) *R. norvegicus* bireylerini 30 gün süresince sodyum nitrit, sodyum sülfit, sodyum benzoat ve aspartam konsantrasyonlarına maruz bırakmışlardır. Deney sonunda kan dokularında Alanin aminotransferaz (ALT) enziminin sodyum nitrit ve sodyum sülfit uygulamalarında anlamlı derecede arttığını; alkalen fosfataz (ALP) enziminin ise sodyum sülfit uygulamasıyla anlamlı düzeyde arttığını belirlemişlerdir. Katalaz enziminin sodyum benzoat ve sodyum sülfit uygulamalarıyla arttığını ve bunun oksidatif stres göstergesi olduğunu ifade etmişlerdir. 20 mg/kg dozda gıda katkı maddesi uygulamasında toksisite sıralamasının en yüksekten en düşüğe doğru sodyum nitrit, sodyum benzoat, sodyum sülfit ve aspartam olduğunu gözlemlemişlerdir. Gıda katkı maddelerinin oksidatif strese neden olabileceğini ve karaciğer belirteç enzimlerinde değişikliklere yol açabileceğini bildirmişlerdir.

Li ve ark. (2021) aspartamın potansiyel nörolojik etkisini tam olarak tanımlamak için yetişkin zebra balığı ile çalışma yapmışlardır. Zebra balığı, 2 ay boyunca 1, 10 ve 100 mg/L dozlarında aspartama maruz kalmanın neden olduğu nörofizyolojik değişikliği değerlendirmek için kullanılmıştır. Açık/karanlık tercih testleri (LDP), yeni tank dalış testleri, yeni nesne tanıma testleri, sosyal etkileşim testleri ve renk tercih testleri dahil olmak üzere standartlaştırılmış nörodavranışsal fenotipleme analizlerinden oluşan bir grup gerçekleştirmişlerdir. Örneğin, LDP testinde sakkarinin, karanlık kısmındaki zebra balığının yüzme süresini 111 ± 10,8'den (kontrol grubu) 72,2 ± 11,4'e (100 mg/L gruplar) önemli ölçüde azalttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca davranışsal sonucu doğrulamak için toplam

nörotransmitterlerin değişiminde rol oynayan beyin kimyasını LC−MS/MS ile belirlemişlerdir. Genel olarak mevcut araştırmaya göre, ADI aralığındaki aspartamın zebra balığının toplam davranış profillerini değiştirdiğini ve beyindeki nörotransmitterlerin homeostazisini bozduğunu ortaya çıkarmışlardır. Bu çalışmayla, yapay tatlandırıcı moleküllerinin fenotipik olarak sinirsel aktivitesini veya toksisitesini belirlemek için yetişkin zebra balığı kullanmanın standartlaştırılmış prosedürünü ortaya koyan deneysel yaklaşım oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Davranışsal parmak izi ile karakterize edilen Zebra balığı davranışsal fenotipleme yöntemleri, fenotipik değişikliği beyindeki nörotransmitterlerdeki değişikliklere bağlayabileceğini, böylece yapay tatlandırıcıların neden olduğu fenotipik değişikliklerin moleküler mekanizmasının daha fazla araştırılması için öngörücü bir referans sağlayabileceğini bildirmişlerdir.

Murali ve ark. (2022) yapay tatlandırıcı çeşitlerinden asesülfam potasyum ve sakkarinin dışkıdaki bakteri kompozisyonunu ve dışkı ile plazma metabolomunu nasıl etkilediğini incelemek amacıyla hem erkek hem de dişi Wistar sıçanlarını 28 gün boyunca bu iki yapay tatlandırıcıya maruz bırakmışlardır. Sakkarinin plazma metabolomunda amino asitler, lipidler, enerji metabolizması ve safra asitlerinde anlamlı değişiklere neden olmadığını tespit etmişlerdir. Asesülfam potasyumun erkek sıçanlarda glisin konjuge birincil ve ikincil safra asitlerinde dişilere kıyasla daha büyük değişikliklere neden olduğunu tespit etmişlerdir. Hem erkek hem de dişilerde sakkarinin, asesülfam potasyuma kıyasla daha belirgin plazma metabolom değişiklikleri oluşturduğunu görmüşlerdir. Plazmadaki konjuge safra asitlerinde gözlenen değişikliklerin genellikle mikrobiyota değişimleriyle ilişkilendirilse de mikrobiyotada benzer büyüklükte değişimlerin gözlenmemesi, bunun toksisite değil adaptif mikrobiyal veya konak yanıtı olabileceğini yorumlamışlardır.

Bhoumik ve ark. (2023) yaptıkları bir çalışmada erkek Wistar sıçanlarında yüksek dozlarda aspartam uygulamasının redoks ve inflamatuar biyobelirteçler üzerindeki toksik etkilerini araştırmışlardır. İki gruba ayrılan sıçanlardan birincisine oral yoldan 30 gün boyunca normal salin (% 0,9), ikinci gruba ise 100 mg/kg vücut ağırlığı dozunda aspartam vermişlerdir. Aspartam uygulanan sıçanların malondialdehit, protein karbonil ve ileri oksidasyon protein ürünleri düzeylerinde önemli ölçüde artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Her iki gruptaki antioksidan savunmaları değerlendirildiğinde, aspartam uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla plazma ferrik indirgeme yeteneği, süperoksit dismutaz ve katalaz düzeylerinde önemli bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Proinflamatuar belirteçler Tümör Nekroz

Faktörü -α (TNF-α), İnterlökin-6 (IL-6) ve C-reaktif protein (CRP) de tedavi edilen grupta anlamlı ($p<0,05$) bir artış gözlemlemişlerdir. 100 mg/kg vücut ağırlığı aspartam alımının eritrositlerde oksidatif strese neden olduğunu ve bunun da bireylerde obeziteyi, kardiyovasküler hastalığı ve kanseri tetikleyebileceğini yorumlamışlardır. Aspartamın kontrolsüz kullanımının ciddi toksik etkilere neden olabileceğini ve FDA tarafından önerilen seviyelerde kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır.

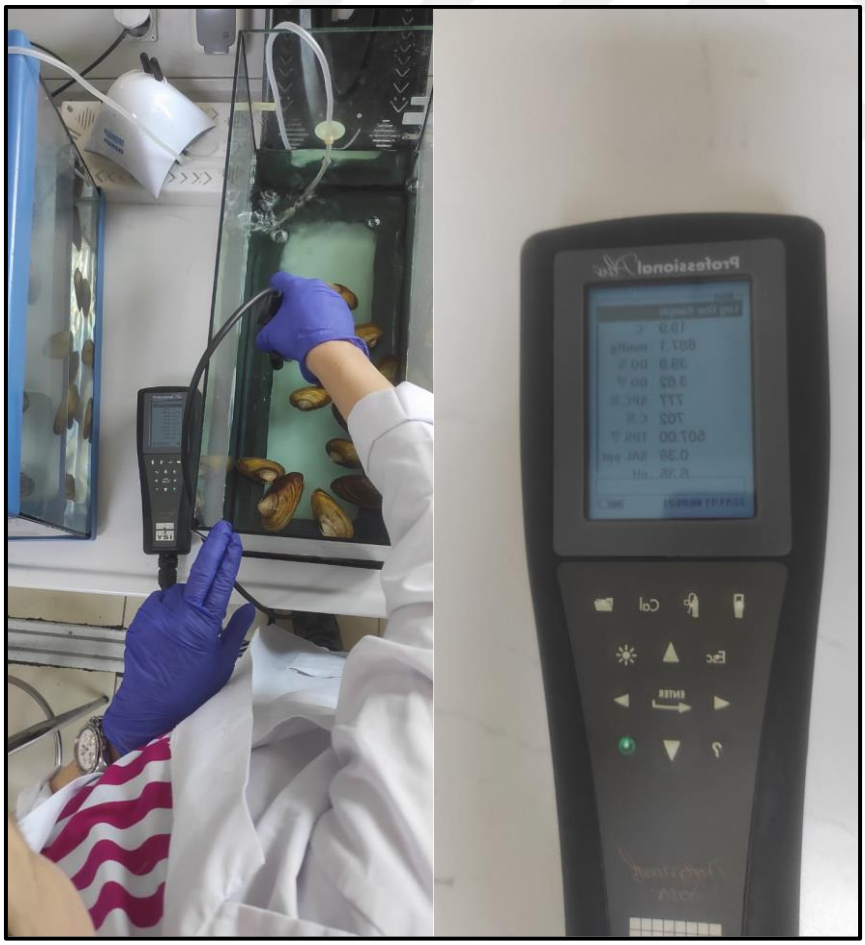
U-pathi ve ark. (2024) Sprague Dawley sıçanlarında yapmış oldukları bir deneyde oral aspartam tüketiminin sıçan beynindeki serebral korteks yaralanması üzerindeki etkisini araştırmışlardır ve oksidatif stres, inflamasyon, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptoz yollarına özel bir odaklanma ile çeşitli altta yatan moleküler mekanizmaların potansiyel rolünü daha da değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada dişi Sprague Dawley sıçanlar (7 haftalık; 120-140 g ağırlığında) kullanmışladır. Sıçanları kontrol grubu, düşük dozlu (30 mg/kg vücut ağırlığı) aspartam ve yüksek dozlu (60 mg/kg vücut ağırlığı) aspartam olacak şekilde 3 gruba ayırmışlardır. 8 hafta sonra sıçanların beyinlerini çıkararak analiz etmişlerdir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında düşük ve yüksek doz aspartam uygulamasının, 8-OHdG seviyelerini arttırdığını belirlemişlerdir.

Lawal ve ark. (2025) yaptıkları bir çalışmada aspartamın nörotoksik etkilerini araştırmış ve Wistar sıçanlarında Tetrapleura tetraptera etanol özütünün (TT) nöroprotektif potansiyelini değerlendirmişlerdir. Otuz erkek sıçanı altı gruba ayırmışlardır (n=5) ve bazılarına 14 gün boyunca oral aspartam, bazı gruplara ise 14 gün boyunca oral TT (200 ve 400 mg/kg) uygulamışlardır. Aspartamın; dopamin seviyelerini düşürdüğünü, AChE ve BChE aktivitelerini ise önemli ölçüde ($p<0,001$) arttırdığını tespit etmişlerdir. Aspartamın ayrıca antioksidan seviyelerini (GSH, GCL) düşürdüğünü, S100B seviyesini yükselttiğini ve cAMP/PKA sinyallemesini aktive ettiğini gözlemlemişlerdir.

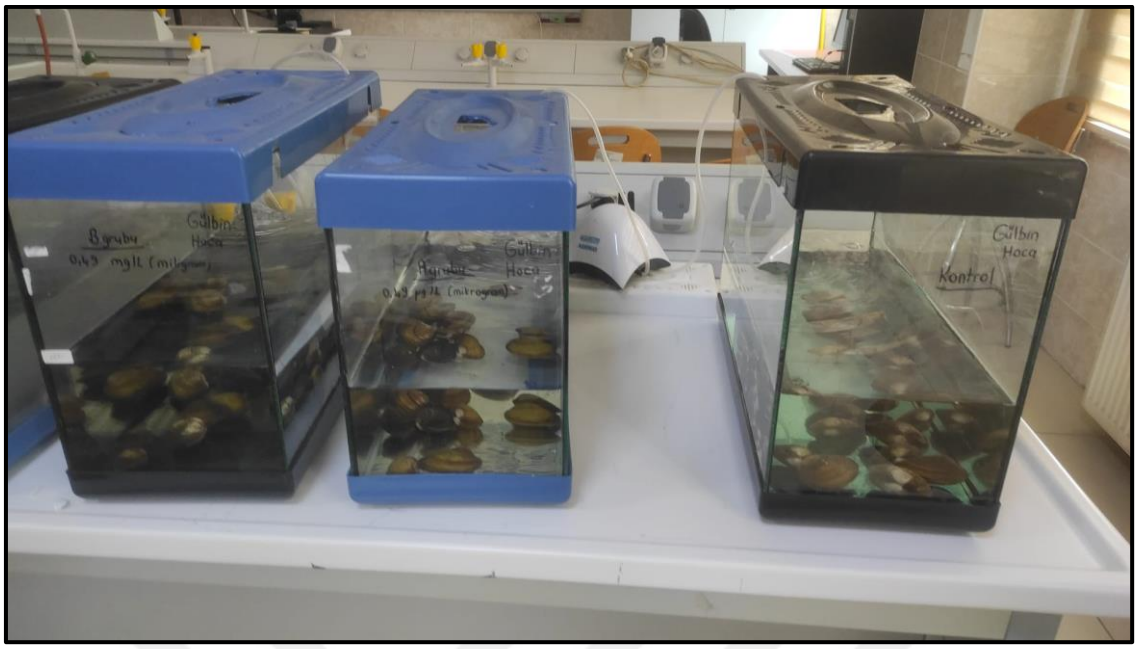
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Midye Örneklerinin Toplanması ve Deney Ortamı

Bu çalışma için kullanılan midyeler Hatay ilinin Gölbaşı ilçesindeki yetiştirme çiftliklerinden temin edilen bir tatlı su türü olan *Unio delicatus*'tur. Midyeler serin ve nemli koşullarda laboratuvara ulaştırılmıştır. Deney için toplamda 56 adet midye kullanılmıştır. 48 saat dinlendirilerek kloru giderilen 10 litre şebeke suyu bulunan akvaryuma konularak ortama aklimize edilmiştir. Havalandırma cihazları ile akvaryumlar sürekli havalandırılmıştır. Suyun sıcaklık değerleri, pH, iletkenlik ve çözünmüş oksijen değerleri sık sık kontrol edilmiştir. Akvaryumun su sıcaklığı, termostatlı ısıtıcı ve termometre kullanılarak 19,61±0,38°C'ye sabitlenmiştir. Çözünmüş oksijen değeri YSI Professional Çoklu Problu Oksijenmetre ile 3,30±0,27 mg/L olarak ölçülmüştür (Resim 3.1). Deney ortamına ait resim aşağıda gösterilmiştir (Resim 3.2).



Resim 3.1. Akvaryum suyunun ölçümü



Resim 3.2. Deney ortamı

Deney ortamına ait düzenli olarak kontrol edilen bilgiler aşağıdaki çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Deney ortamına ait suyun fizikokimyasal parametreleri

Sıcaklık (°C)	19,61±0,38
Basınç (mmHg)	687,69±0,52
DO (%)	36,13±3,28
DO (mg/L)	3,30±0,27
SPC (µS/cm)	577,93±328,28
C (µS/cm)	519,85±296,65
pH	6,81±0,37

3.2. Deney Yöntemi

Deney yöntemimizde yapay tatlandırıcı olan aspartam için 3 farklı doz (0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L) suda çözündürülmüştür. Bu dozlar, aspartamın atık sulardaki konsantrasyonları ile ilgili yapılan çalışmalara göre belirlenmiştir (Wu ve diğerleri, 2024). Ayrıca herhangi bir maddenin olmadığı kontrol grubu oluşturulmuştur. Belirlenen aspartam dozlarına tatlı su midyeleri 7 ve 21 gün süre ile maruz bırakılmıştır. Deney süresince midyelerde mortalite olup olmadığı kapak açılımı olayları incelenerek kontrol edilmiştir.

Deney süresi bitiminde aspartam ekli her bir akvaryumdan ve kontrol grubundan 7 adet midye alınmıştır. Midyelerin ağırlıkları 0,0001gr/0,1 mg hassasiyete sahip Precisa xb 220 a model hassas terazi ile uzunluk, yükseklik ve kalınlıkları da kumpas aleti ile ölçülmüştür (Resim 3.3). Bu ölçümlerin sonuçları Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Midye kabuklarının umbo kısmından 2,5 ml'lik enjektörle hemolenf sıvısı alınmıştır. Alınan hemolenf sıvısı, 1:1oranında % 4'lük formalin ile sabitlenmiş, ışık mikroskobunda thoma labı kullanılarak 3 tekrarlı sayılmıştır. Bu sıvı mikroskopta incelenerek hemositometre ile hemolenf sıvısındaki hemosit hücreleri sayılmıştır (Resim 3.4) (Yavuzcan ve Benli, 2004).

Hemolenf sıvısı alınan tatlı su midyeleri disekte edilmiştir. Biyokimyasal analizler için solungaç ve sindirim dokuları alınmış, alınan dokular hızla sıvı azot içerisine konularak sabitlenmiş ve deney gününe kadar -80 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir (Resim 3.5).



Resim 3.3. Midye ölçümü



Resim 3.4. Hemolenf sıvısının alınması



Resim 3.5. Diseksiyon işlemi

Çizelge 3.2. Tatlı su midyelerine ait ortalama ölçümler

Ağırlık (g)	37,82±13,85
Uzunluk (cm)	5,64±0,91
Kalınlık (cm)	2,89±0,64
Yükseklik (cm)	1,82±0,61

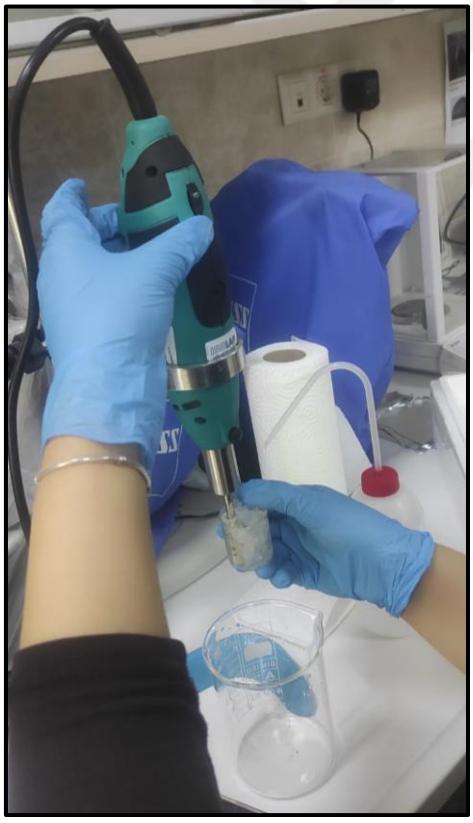
3.3. Biyokimyasal Analizler

3.3.1. Doku homojenatlarının hazırlanması

Na^+/K^+-ATPaz enzim aktiviteleri ile protein miktarlarının belirlenmesi için dokular (30µL) 1/10 oranında; pH 7.8'de 250 mM sükroz, 20mM Trizma – Baz, 1mM EDTA içeren tampon çözelti ile 9000 rpm'de 3 dk süreyle buz üstünde homojenize edilmiştir (Resim 3.6).

Homojenize edilen dokular eppendorf tüplerine aktarıldıktan sonra 13.000 g'de +4 ^{o}C'de 20 dk soğutmalı eppendorf santrifüj cihazı ile santrifüj edilerek süpernatantlar ayrılmıştır (Resim 3.7). Süpernatantlarda Na^{+}/K^{+}-ATPaz enzim aktivitesi ile protein miktarı tayin edilmiştir.

Toplam antioksidan seviyesi (TAS), toplam oksidan seviyesi (TOS), 8-OHdG ve protein karbonil analizleri için dokular 0,1 g eppendorf tüplerine alınmıştır. Üzerine 0,9 ml 140 mmol KCl tamponu (Otto Scientific Cat. No. OttoC1983) ve zirkonyum bilyalar konulup tüpün kapağı kapatılmıştır. Tüpler Allsheng marka homojenizatör cihazına konularak 3200 devirde 30 saniye çalıştırılmıştır. 45 saniye beklenmiştir ve 30 saniye aynı devirde çalıştırılmıştır. Homojenizatörden alınan tüp Hettich marka soğutmalı santrifüj cihazında +4^{o}C'de 7000 rpm ile 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte oluşan berrak sıvı supernatant serum olarak çalışılmıştır.



Resim 3.6. Homojenizasyon işlemi

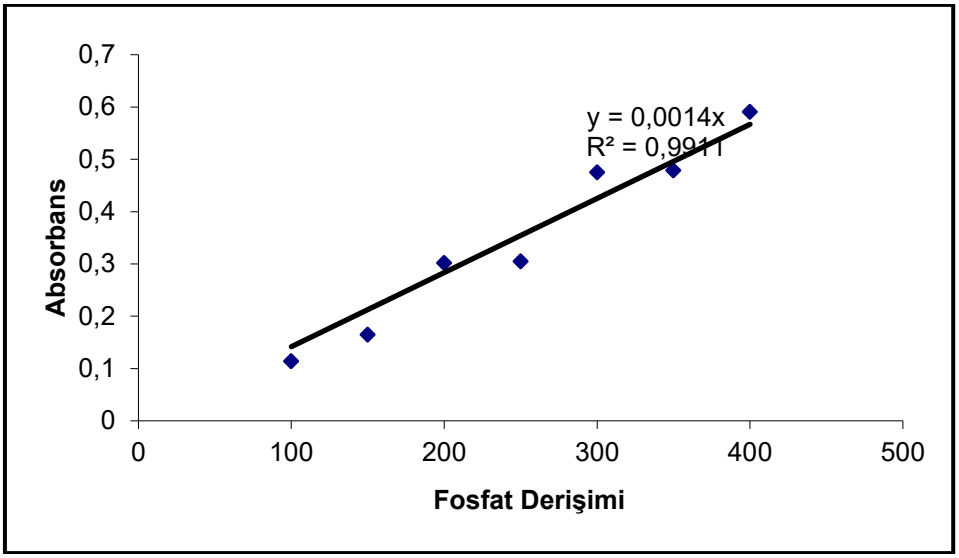


Resim 3.7. Santrifüjleme işlemi

3.3.2. İnorganik fosfat tayini

İnorganik fosfat tayini, ATP'den açığa çıkan Pi'nin Polioksietilen 10 Lauril eter ile fosfomolibdatın oluşturduğu sarı renkli kompleksin absorbansının 390 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır (Atkinson, Posner, Quirk, 1972).

Yöntem: Na^+/K^+-ATPaz için 100 mM NaCl, 20 mM KCl, 4 mM $MgCl_2$, 3mM ATP, 1mM ouabain ve 40 mM tris baz ve 30 µL örnek cam tüplere konmuş; pH:7.7 olan 37°C'de 5 dakika su banyosunda inkübe edilmiştir. Üzerlerine; saf su, eter ve molibdik asitten oluşan ana ayıraçtan 3 mL eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Oluşan sarı renkli kompleks 390 nm dalga boyunda ölçülmesiyle inorganik fosfat miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 µm KH_2PO_4 çözeltisinden hazırlanarak elde edilen standart eğri üzerinden değerlendirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. İnorganik fosfat miktarı

3.3.3. Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinin belirlenmesi

Çizelge 3.3. Na^+/K^+-ATPaz aktivite değerleri

	(Total-ATPaz)	(Mg-ATPaz)	Ör Kör	ATP Kör	Kör
-Ouabain inkbübasyon ortamı	870 µL	---	870 µL	870 µL	870 µL
+Ouabain inkbübasyon ortamı	---	870 µL	---	---	---
Örnek	30 µL	30 µL	---	30 µL	---
H_2O	---	---	30 µL	100 µL	130 µL
37^0C'de 5dakika inkübe edilir.					
ATP	100µL	100µL	100µL	---	---
	37^0C'de 30 dakika inkübe edilir.				
	500 µL soğuk saf su (+4^0C) eklenir.				

Spektrofotometrik analizde örneklerin absorbans değerleri 390 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

Hesaplama Eş. 3.1 kullanılmıştır.

$$\text{ATPaz aktivitesi} = \frac{\text{OD}/0{,}0014 \text{ x} 4{,}5 \text{ (mL)}}{1000 \text{ x } 0{,}03 \text{ (mL) x } 0{,}5 \text{ (sa.) x mg prot./mL}} \quad (3.1)$$

- *=İnorganik fosfat regresyon eşitliği (y=0,0014x)

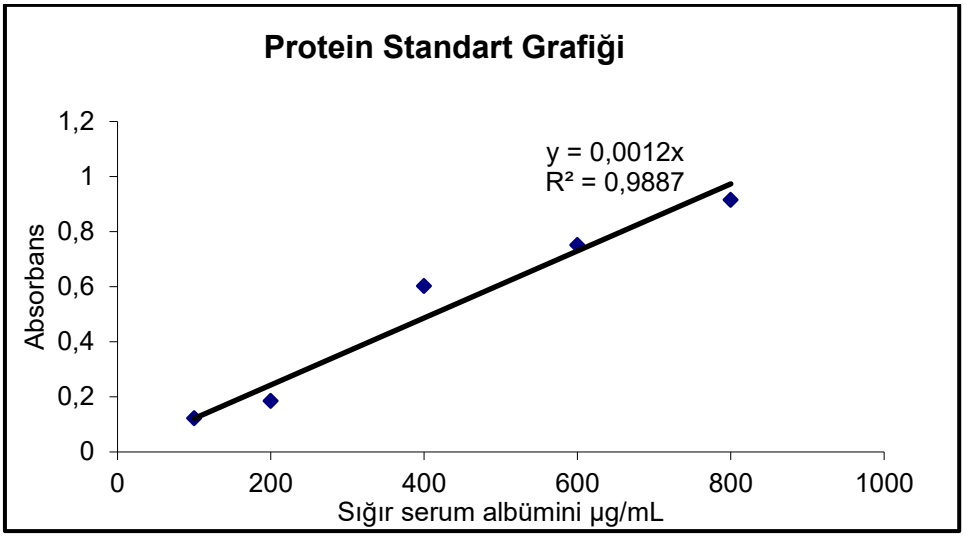
3.3.4. Protein yöntemi

Doku protein miktarları Na^{+}/K^{+}-ATPaz enzim aktivitelerini hesaplamak amacıyla ölçülmüştür. Proteinler, alkali koşullar altında Cu^{+2} iyonları ile etkileşime girerek bakır–peptit bağları aracılığıyla karakteristik mor renkli bir kompleks meydana getirir. Elde edilen renkli çözelti, Biochrom Libra S22 model spektrofotometre ile 750 nm dalga boyunda ölçülerek protein miktarı belirlenir (Lowry, Rosebrough, Farll, Randall, 1951). Protein miktarını belirlemek amacıyla, çözeltiler kör ve örnek tüplerine Çizelge 3.4'te gösterildiği şekilde eklenmiştir.

Çizelge 3.4. Protein miktarını belirlemede kullanılan çözeltiler

Çözeltiler	Kör (mL)	Örnek (mL)
Saf Su	0.3	-
Örnek	-	0.3
Alkali Çözeltisi	3.0	3.0
Oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir.		
Folin-Ciocalteu	0.3	0.3

Reaksiyon karışımları oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiş ve ardından spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar, sığır serum albümini (BSA) kullanılarak hazırlanan standart eğri üzerinden hesaplanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Protein miktarı

3.3.5. Toplam antioksidan seviyesi (TAS)

Numuneler Otto Scientific kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışılmıştır. Kit içerisinden çıkan standart ile tam otomatik biyokimya cihazı kalibre edilmiştir. Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µl, numuneden ise 18 µl alınmıştır. Ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 600 nm'de yapılmıştır. Reaktif 2'den 45 µl alınıp küvet içerisinde karıştırılmıştır ve 37 °C'de 5 dakika bekletilip ikinci okuma 660 nm'de yapılmıştır.

3.3.6. Toplam oksidan seviyesi (TOS)

Numuneler Otto Scientific kiti ile Mindray BS400 cihazında tam otomatik olarak çalışılmıştır. Kit içerisinden çıkan standart ile tam otomatik biyokimya cihazı kalibre edilmiştir. Otomatik cihaz tarafından Reaktif 1'den 300 µl, numuneden ise 45 µl alınmıştır. Ardından küvet içinde karıştırılıp 30 saniye sonra ilk okuma 530 nm'de yapılmıştır. Reaktif 2'den 15 µl alınıp küvet içerisinde karıştırılmıştır ve 37 °C'de 5 dakika bekletilip ikinci okuma 530 nm'de yapılmıştır.

3.3.7. 8-OHdG yöntemi

Çalışmaya başlamadan 1 saat kadar önce numuneler ve kit oda ısısına çıkarılmıştır. İlk olarak standartlar hazırlanmıştır. 8 adet eppendorf tüp hazırlanmıştır ve her birine 500 µl dilüent

eklenmiştir. Son eppendorf tüpünün kapağı kapatılmıştır. İlk tüpe uygun hacimde standart konulmuştur ve örnekler yüklenene kadar pipetaj yapılmıştır. İlk 8 kuyu standartlar için boş bırakılmıştır. 50 µl standart, 50 µl numune ve 50 µl biotin kuyulara yüklenmiştir. 45 dakika 37 ^{o}C'de Nüve EN055 cihazında inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminin ardından plate 3 kere yıkanmıştır. Mikroplate kuyulara 50 µl HRP konulmuştur. 30 dakika 37 ^{o}C'de inkübe edilmiştir. Kuyulara sırasıyla 90 substrat eklenmiştir 37 ^{o}C'de 15 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon ardından 50 µl stop solüsyonu eklenmiştir. 10 dakika içerisinde 450 nm'de okuma yapılmıştır.

3.3.8. Protein karbonil yöntemi

Numune ve kontrol olmak üzere iki farklı tüp hazırlanmıştır. Numune tüpü için 2 ml'lik eppendorf tüplerine 0,1 ml numune ve 0,4 ml DNPH çözeltisi eklenmiştir. Kontrol tüpü için 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine 0,1 ml numune ve 0,4 ml asit reaktifi eklenmiştir. 1 dakika boyunca çalkalanarak karıştırılmıştır. 37 ^{o}C'de ışıktan korunarak 30 dakika inkübe edilmiştir. 0,5 ml protein çöktürücü eklenip 1 dakika boyunca çalkalanarak iyice karıştırılmıştır. 13780 g'de 4 ^{o}C'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant atılıp çökelti saklanmıştır. 1 ml susuz etanol-etil asetat karışım çözeltisi eklenip 1 dakika boyunca çalkalanarak iyice karıştırılmış ardından 13780 g'de 4 ^{o}C'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. İşlem sonrası süpernatant atılıp çökelti saklanmıştır. 1,25 ml denatüran eklenip iyice karıştırılarak çözünmesi sağlanmıştır. 37 ^{o}C su banyosunda tam olarak 15 dakika inkübe edilmiştir. Çökelti, tamamen çözünmesi için iyice çalkalanıp karıştırılmıştır ve 13780 g'de 4 ^{o}C'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Spektrofotometre "reaktif 6" ile sıfırlanıp her tüpün optik yoğunluk değerleri 370 nm dalga boyunda 0,5 cm optik yola sahip kuvars ile ölçülmüştür. Aynı zamanda süpernatantın protein konsantrasyonu da belirlenmiştir.

3.3.9. İstatistik analizi

Bu çalışma sonucu elde edilen veriler, SPSS 20 paket programı ile Student-Newman Keul's Test (SNK) ve Student-t testi kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

Bu çalışmada aspartam maruziyetinin 7 ve 21 günlük sürelerde *U. delicatus* üzerinde oluşturduğu biyokimyasal etkiler değerlendirilmiş; THCs ile solungaç ve hepatopankreas dokularında Hemosit, TAS, TOS, 8-OHdG ve protein karbonil düzeyleri ile Na^+/K^+-ATPaz enzim aktivitesi araştırılmıştır.

4.1. Toplam Hemosit Sayısı (THS)

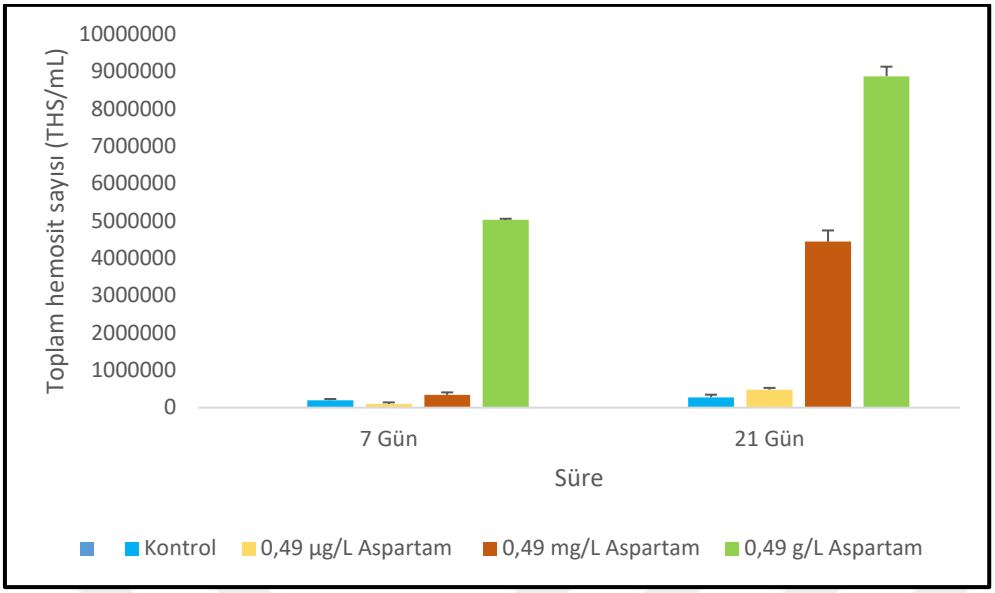
U. delicatus'un 7 ve 21 günlük maruziyet sürelerinde aspartam derişimlerinin etkilerini değerlendirmek amacıyla THS analiz edilmiş; elde edilen bulgular Çizelge 4.1'de ve Şekil 4.1'de sunulmuştur.

Hemosit sayıları 7 günlük sürede 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 1,7 kat ve 25 kat artarken, 0,49 µg/L derişiminde yaklaşık 2 kat azalma görülmüştür. 21 günlük sürede ise hemosit sayıları kontrol grubuna göre 0,49 µg/L'de 1,70 kat; 0,49 mg/L'de 16 kat ve 0,49 g/L'de 32,15 kat artmıştır($P<0,05$). Süreler arasında karşılaştırma yapıldığında 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde 21 günlük süredeki hemosit seviyeleri 7 günlük süreye göre sırasıyla 4,89; 13,01 ve 1,76 kat daha yüksek bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Aspartamın farklı derişimlerine maruz bırakılan *U. delicatus* bireylerinin toplam hemosit sayıları(hücrex10^3)/mL

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	199999,8±30623[a]*	98666,6±42027[a]	341333,4±67079[a]	5030666,6±27366[b]
21 Gün	275999,8±71386[a]	482666±46024[b]	4444000±301519[b]	8876000±255148[c]

*Aynı satırda ve sütunda a,b,c harfleri ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.1. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* toplam hemosit sayıları (hücrex10^3)/mL

4.2. Toplam Antioksidan Seviyesi (TAS)

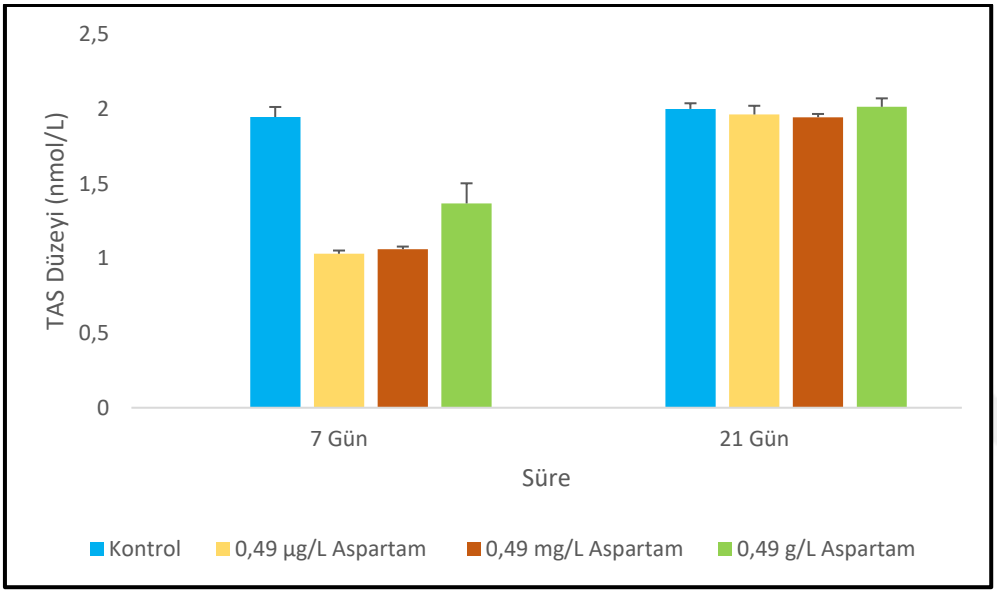
U. delicatus'un 7 ve 21 günlük maruziyet sürelerinde aspartam derişimlerinin etkilerini değerlendirmek amacıyla TAS analiz edilmiş; elde edilen bulgular Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Solungaç dokusundaki TAS düzeyi, 21 günlük süredeki 0,49 g/L derişimi hariç çalışılan her iki maruziyet süresinde ve tüm aspartam derişimlerinde kontrol grubuna göre azalış göstermiştir. Ancak 7 günlük maruziyette kontrol grubuna kıyasla 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla %47,02; %45,45 ve %29,72 oranlarında azalma belirlenmiştir ($p < 0,05$). 21 günlük maruziyet sonunda ise 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla %1,85 ve %2,76 oranlarında azalma; 0,49 g/L derişiminde ise %0,69 oranında artış gözlenmiştir. Ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ayrıca 21 günlük maruziyet süresi, 7 güne kıyasla 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla 1,90; 1,83 ve 1,47 kat artış ile sonuçlanmış olup bu artışlar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.2).

Çizelge 4.2. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusu TAS düzeyleri (nmol/L)

Süre	Konsantrasyon (µg/L; mg/L; g/L)			
	Kontrol	0,49 µg /L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	1,9464±0,0673^{ax}	1,0312±0,0213^{bx}	1,0617±0,0172^{bx}	1,3679±0,1347^{cx}
21 Gün	2,0007±0,0378^{ax}	1,9635±0,0582^{ay}	1,9453±0,0215^{ay}	2,0147±0,0566^{ay}

SNK; a, b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



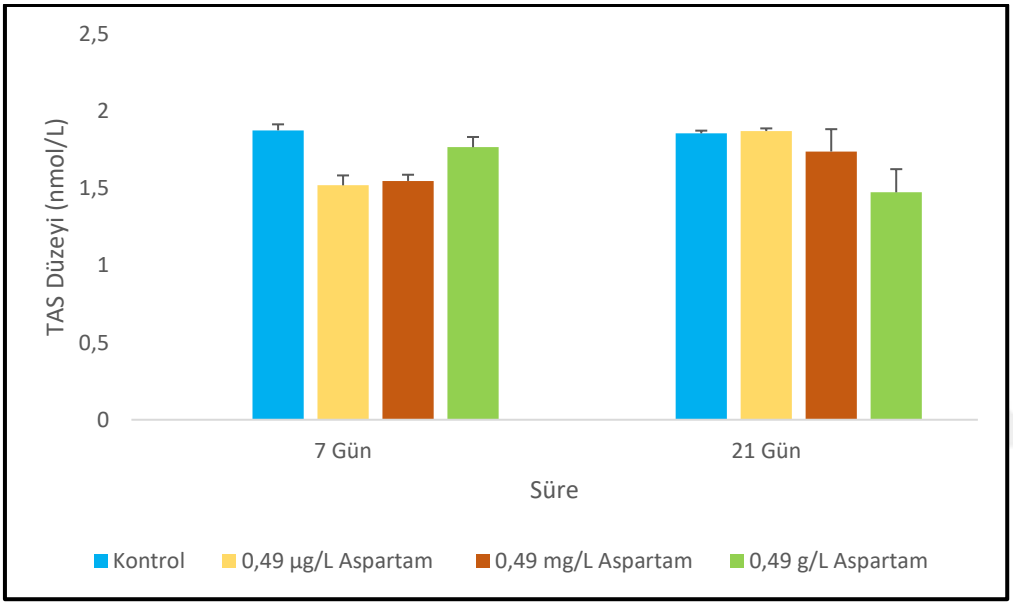
Şekil 4.2. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* solungaç dokusu TAS düzeyleri (nmol/L)

Sindirim dokusu TAS düzeyi, 7 günlük maruziyette 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %18,98; %17,46 ve %5,82 oranlarında azalmış; bu değişimlerden 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L derişimlerindeki azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 21 günlük maruziyette ise 0,49 µg/L derişiminde kontrol grubuna göre %0,81 artış; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde sırasıyla %6,33 ve %20,57 oranlarında azalış gözlenmiştir ($p>0,05$). Maruziyet süreleri karşılaştırıldığında, 21 günlük sürenin 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L derişimlerinde 7 günlük süreye göre sırasıyla 1,23 ve 1,12 kat artış; 0,49 g/L derişiminde ise 0,83 kat azalış tespit edilmiş ve yalnızca 0,49 µg/L derişimindeki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.3, Şekil 4.3).

Çizelge 4.3. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusu TAS düzeyleri (nmol/L)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	1,8770±0,0392^{ax}	1,5206±0,0642^{bx}	1,5491±0,0402^{bx}	1,7676±0,0665^{ax}
21 Gün	1,8575±0,0178^{ax}	1,8726±0,0173^{ay}	1,7399±0,1449^{ax}	1,4753±0,1501^{ax}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.3. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* sindirim dokusu TAS düzeyleri (nmol/L)

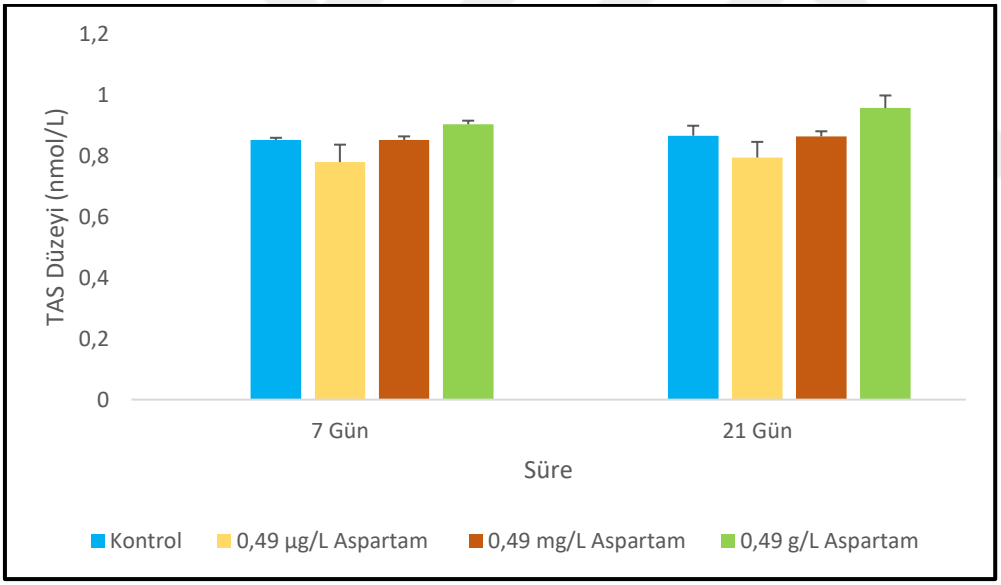
Hemolenf sıvısında TAS düzeyleri 7 günlük sürede kontrol grubuna kıyasla 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L aspartam derişimlerinde sırasıyla %8,52 ve %0,05'lük azalış, 0,49 g/L derişimde ise %6,06'lık artış göstermiştir. Bu değişimler arasında 0,49 µg/L ve 0,49 g/L derişimlerindeki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 21 günlük sürede kontrol grubuna kıyasla 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L aspartam derişimlerinde sırasıyla %8,28 ve %0,25'lik azalış; 0,49 g/L derişimde ise %10,46'lık artış kaydedilmiştir. Bu dönemde de 0,49 µg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde meydana gelen değişimler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). TAS düzeyleri 21 günlük sürede 7 güne göre 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla 1,02; 1,01 ve 1,06 kat artmıştır. Ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) dolayısıyla hemolenf TAS düzeyinde süreye bağlı önemli bir değişim gözlenmemiştir. Aynı zamanda 0,49 g/L derişimi, 7 ve 21

günlük sürelerde 0,49 µg/L derişimine kıyasla sırasıyla %15,95 ve %20,44 oranlarında anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Bununla birlikte her iki sürede de kontrol grubuna göre diğer gruplar arasında anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$) (Çizelge 4.4, Şekil 4.4).

Çizelge 4.4. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında TAS düzeyleri (nmol/L)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	0,8527±0,0071^{abx}	0,7800±0,0573^{ax}	0,8523±0,0122^{abx}	0,9044±0,0117^{bx}
21 Gün	0,8668±0,0327^{abx}	0,7950±0,0514^{ax}	0,8646±0,0166^{abx}	0,9575±0,0414^{bx}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.4. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* hemolenf sıvısında TAS düzeyleri (nmol/L)

4.3. Toplam Oksidan Seviyesi (TOS)

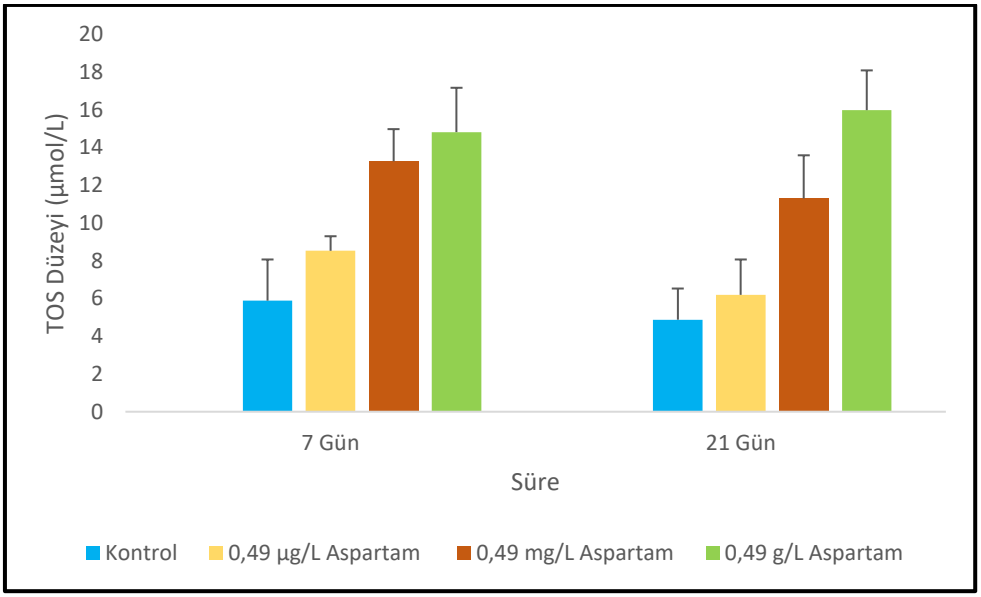
U. delicatus'un 7 ve 21 günlük maruziyet sürelerinde aspartam derişimlerinin etkilerini değerlendirmek amacıyla TOS analiz edilmiş; elde edilen bulgular Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'te sunulmuştur.

Solungaç dokusunda TOS düzeyleri 7 günlük maruziyette kontrol grubuna kıyasla 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla 2,25 ve 2,52 kat artış göstermiştir ($p<0,05$). 21 günlük sürede kontrol grubuna göre TOS düzeylerinde 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde sırasıyla 1,27; 2,32 ve 3,28 kat artış görülmüş; bu artışlardan 0,49 g/L derişimindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Süre karşılaştırmalarında 21 günlük süre 7 günlük süreye kıyasla 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L derişimlerinde sırasıyla 0,73 ve 0,85 kat azalış, 0,49 g/L derişiminde ise 1,08 kat artış kaydedilmiş; ancak hiçbir derişimde süreye bağlı olarak istatistiksel farklılık oluşmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.5. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda TOS düzeyleri (µmol/L)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	5,8845±2,1833^{ax}	8,5273±0,7721^{abx}	13,269±1,7058^{bx}	14,8169±2,3495^{bx}
21 Gün	4,8759±1,6521^{ax}	6,193±1,8741^{ax}	11,3017±2,2862^{abx}	15,9795±2,1087^{bx}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



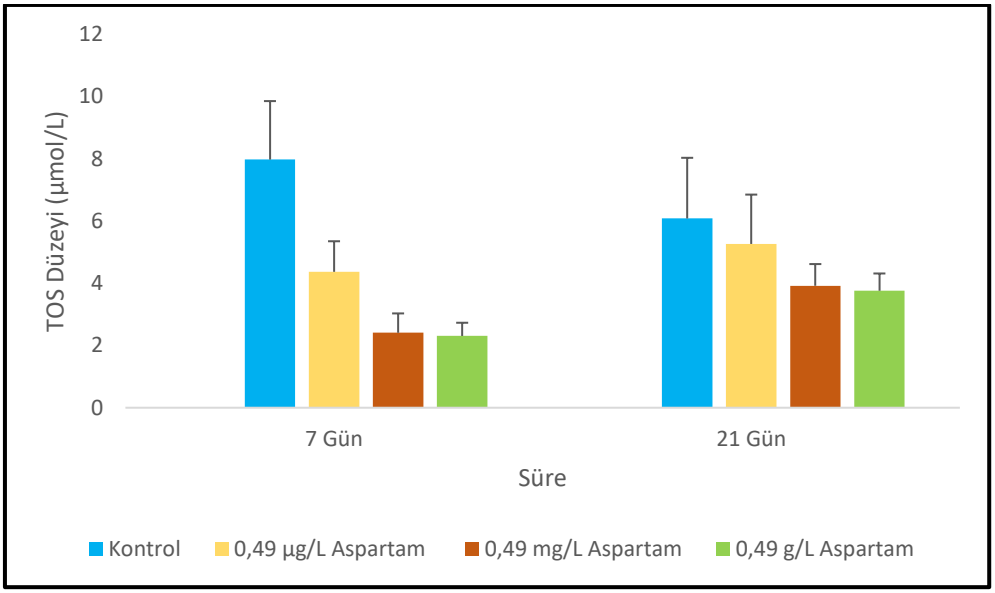
Şekil 4.5. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* solungaç dokusunda TOS düzeyleri (µmol/L)

Sindirim dokusunda TOS düzeyleri, 7 günlük maruziyette 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %45,23; %69,79 ve %71,08 oranlarında azalmış ve bu düşüşler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 21 günlük maruziyet sonunda ise aynı derişimlerde kontrol grubuna göre sırasıyla %13,45; %35,56 ve %38,20 oranlarında azalış gözlenmiş; ancak bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). 21 günlük sürede TOS değerleri 7 güne kıyasla 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla 1,21; 1,63 ve 1,63 kat artış göstermiştir. Ancak bu artışların hiçbiri istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.6, Şekil 4.6).

Çizelge 4.6. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda TOS düzeyleri (µmol/L)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	$7,9737\pm1,8799^{ax}$	$4,3668\pm0,9827^{bx}$	$2,4081\pm0,6225^{bx}$	$2,3054\pm0,4247^{bx}$
21 Gün	$6,0808\pm1,9499^{ax}$	$5,2629\pm1,5859^{ax}$	$3,9184\pm0,6977^{ax}$	$3,7579\pm0,5558^{ax}$

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



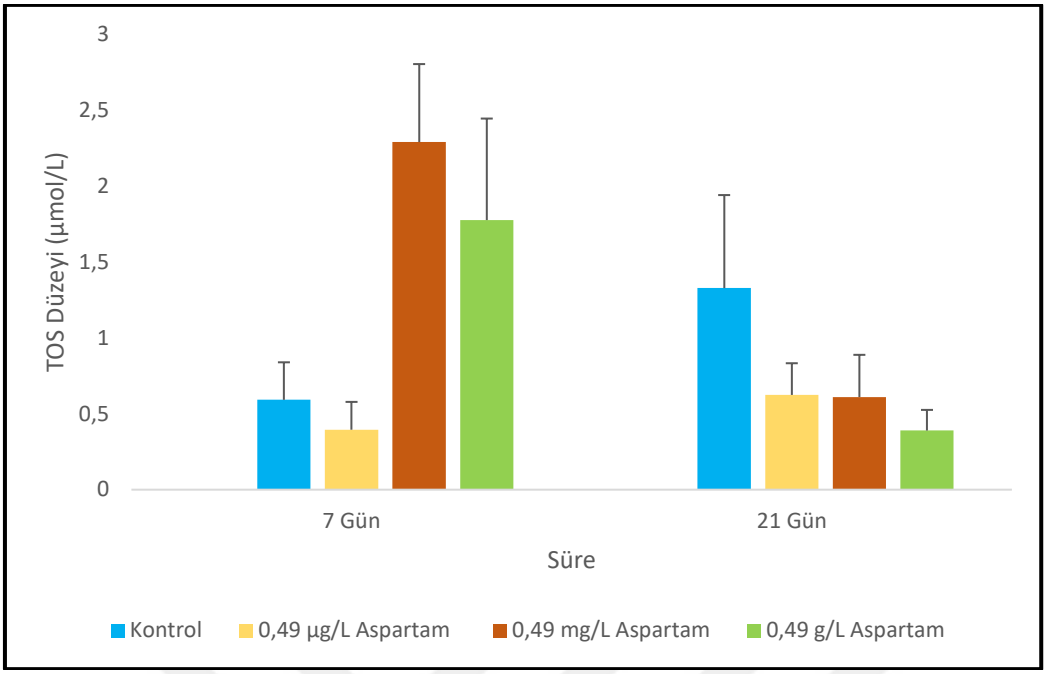
Şekil 4.6. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* sindirim dokusunda TOS düzeyleri (µmol/L)

Hemolenf TOS düzeyi 7 günlük sürede kontrol grubuna kıyasla 0,49 µg/L aspartam derişiminde TOS düzeyi 0,67 kat azalmış olup bu değişim istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Buna karşın 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla 3,87 kat ve 3,0 katlık artış belirlenmiş ve bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). TOS düzeyi 21 günde kontrol grubuna göre 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla 0,47; 0,46 ve 0,29 katlık azalış kaydedilmiş olup, sadece 0,49 g/L ortamında istatistik fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Süre karşılaştırmalarında, 21 günlük süre 7 günlük süreye göre 0,49 µg/L aspartam derişiminde 1,58 kat artış görülmüş ancak bu artış istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p>0,05$). Öte yandan 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde sırasıyla 0,27 ve 0,22 katlık azalış tespit edilmiştir (Çizelge 4.7, Şekil 4.7).

Çizelge 4.7. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında TOS düzeyleri (µmol/L)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	$0,5917\pm0,2472^{ax}$	$0,3949\pm0,1832^{ax}$	$2,2895\pm0,5138^{bx}$	$1,7758\pm0,6688^{abx}$
21 Gün	$1,3277\pm0,6128^{ax}$	$0,624\pm0,2088^{abx}$	$0,6100\pm0,2781^{aby}$	$0,3895\pm0,1359^{bx}$

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0.05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.7. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* hemolenf sıvısında TOS düzeyleri (µmol/L)

4.4. 8-OHdG

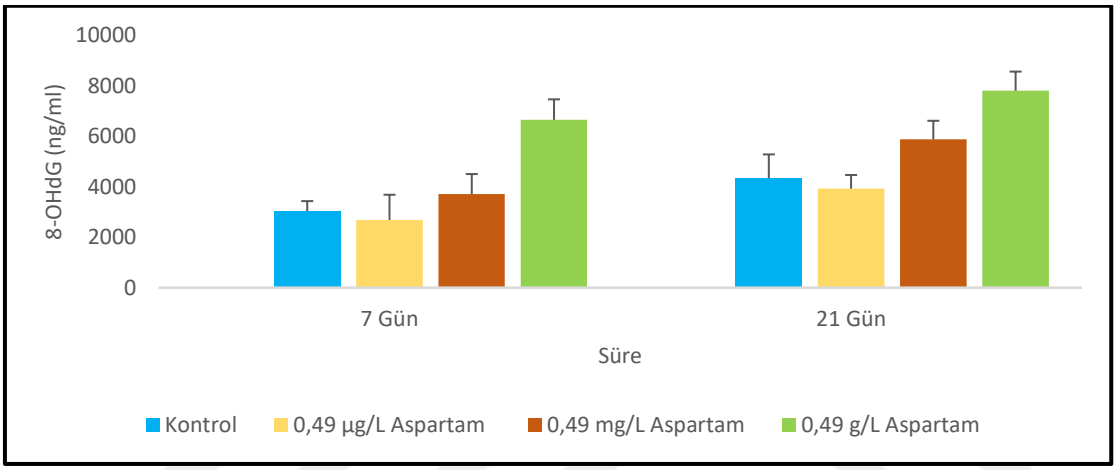
U. delicatus'un 7 ve 21 günlük maruziyet sürelerinde aspartam derişimlerinin etkilerini değerlendirmek amacıyla 8-OHdG analiz edilmiş, elde edilen bulgular Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8'de sunulmuştur.

Solungaç dokusunda 8-OHdG miktarı, hem 7 hem de 21 günlük deney sürelerinde 0,49 µg/L aspartam derişimi dışında tüm derişimlerde kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Bu artışlar 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde 7 günlük sürede sırasıyla 1,22 ve 2,19 kat; 21 günlük sürede ise 1,36 ve 1,80 kat olarak belirlenmiş ve istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Öte yandan 21 günlük sürede 0,49 µg/L derişiminde kontrol grubuna kıyasla 0,91 kat azalma görülmüştür. Deney süreleri karşılaştırıldığında, tüm derişimlerde 21 günlük süre 7 günlük süre ile kıyaslandığında bir artış eğilimi olsa da bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$) (Çizelge 4.8, Şekil 4.8).

Çizelge 4.8. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	3030,008±398,951^{ax}	2684,640±996,092^{ax}	3702,163±798,17^{ax}	6645,477±813,192^{bx}
21 Gün	4327,250±951^{ax}	3921,59±541,365^{ax}	5869,053±740,588^{abx}	7799,400±756,762^{bx}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



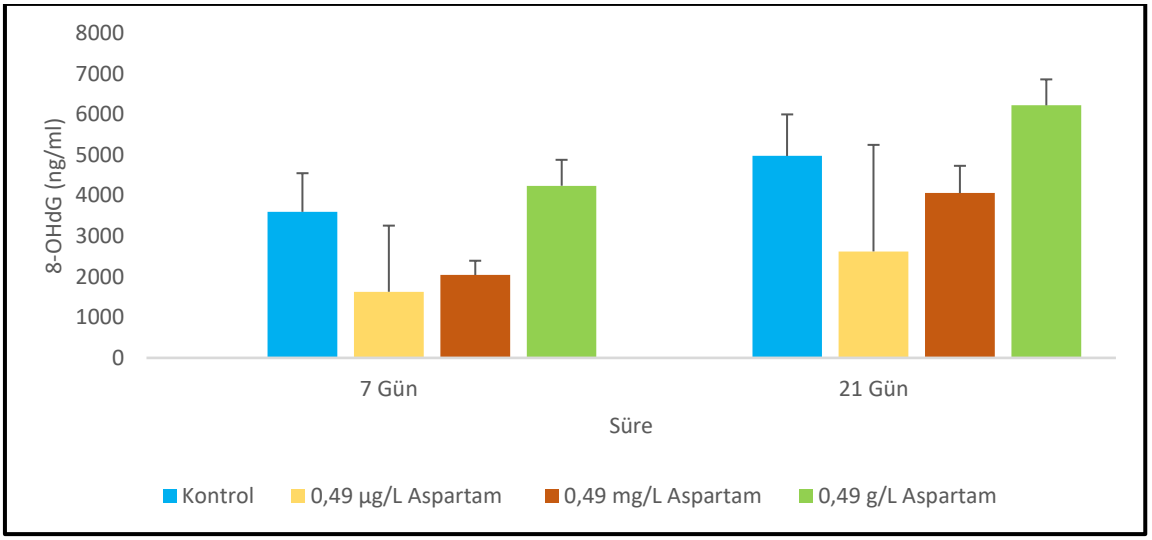
Şekil 4.8. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* solungaç dokusunda 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

Sindirim dokusu 8-OHdG miktarı her iki deney süresi boyunca 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L aspartam derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla azalış görülmüş; buna karşılık 0,49 g/L derişiminde 7 günlük sürede 1,18 kat; 21 günlük sürede ise 1,25 katlık artış belirlenmiş ve bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 7 ve 21 günlük sürelerde 0,49 mg/L derişiminde kontrol grubuna göre sırasıyla 0,57 ve 0,82 katlık azalış kaydedilmiş olup bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Süre karşılaştırmalarında 21 günlük sürede 7 günlük süreye göre 0,49 mg/L derişiminde 1,99 kat; 0,49 g/L derişiminde ise 1,47 katlık artış gerçekleşmiş ve bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$) (Çizelge 4.9, Şekil 4.9).

Çizelge 4.9. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	3599,649±951,562^{abx}	1629,846±768,334^{ax}	2042,621±352,081^{abx}	4242,345±639,022^{bx}
21 Gün	4976,298±1024,306^{abx}	2624,757±455,390^{bx}	4061,775±671,831^{aby}	6223,399±640,122^{ay}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



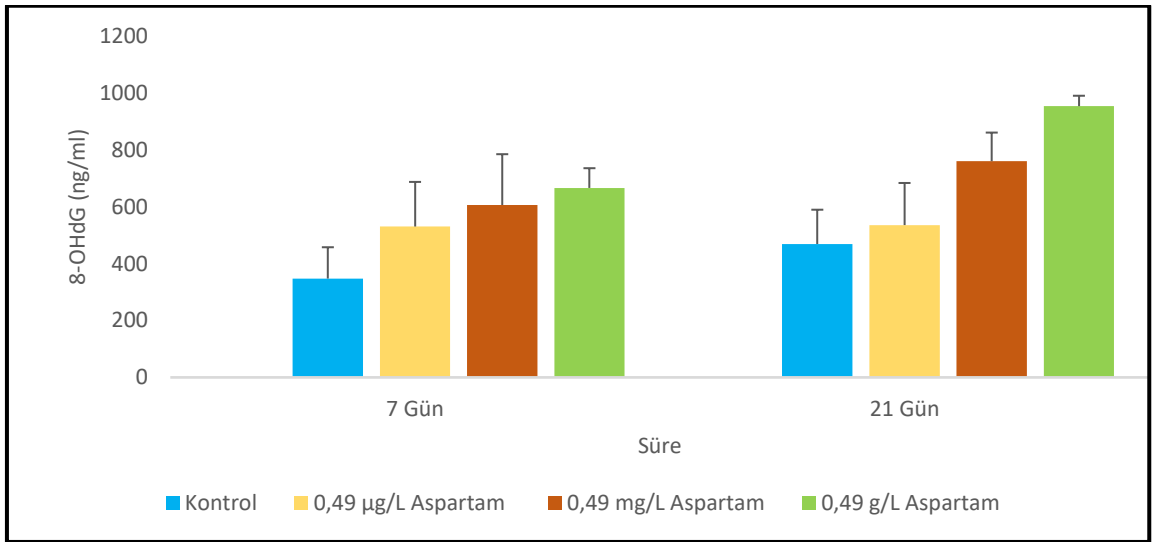
Şekil 4.9. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* sindirim dokusunda 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

Hemolenf 8-OHdG düzeyleri, aspartam uygulanan tüm deney gruplarında kontrol grubuna göre artış göstermiştir. 21 günlük sürede 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde bu artış sırasıyla 1,62 kat ve 2,03 kat olarak belirlenmiştir ($p< 0,05$). 7 günlük süredeki artışlar ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 0,49 g/L aspartam derişiminde 8-OHdG düzeyleri 21 günlük sürede 7 günlük süreye göre 1,43 kat daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Diğer derişimlerde süreler arasında anlamlı bir değişim gözlenmemiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.10).

Çizelge 4.10. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	347,427±110,119^{ax}	530,345±156,963^{ax}	605,936±178,833^{ax}	666,051±69,456^{ax}
21 Gün	468,936±120,653^{ax}	535,426±148,089^{ax}	760,090±100,659^{abx}	953,537±36,729^{by}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.10. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* hemolenf sıvısında 8-OHdG düzeyleri (ng/ml)

4.5. Protein Karbonil

U. delicatus'un 7 ve 21 günlük maruziyet sürelerinde aspartam derişimlerinin etkilerini değerlendirmek amacıyla protein karbonil analiz edilmiş, elde edilen bulgular Çizelge 4.11 ve Şekil 4.11'de sunulmuştur.

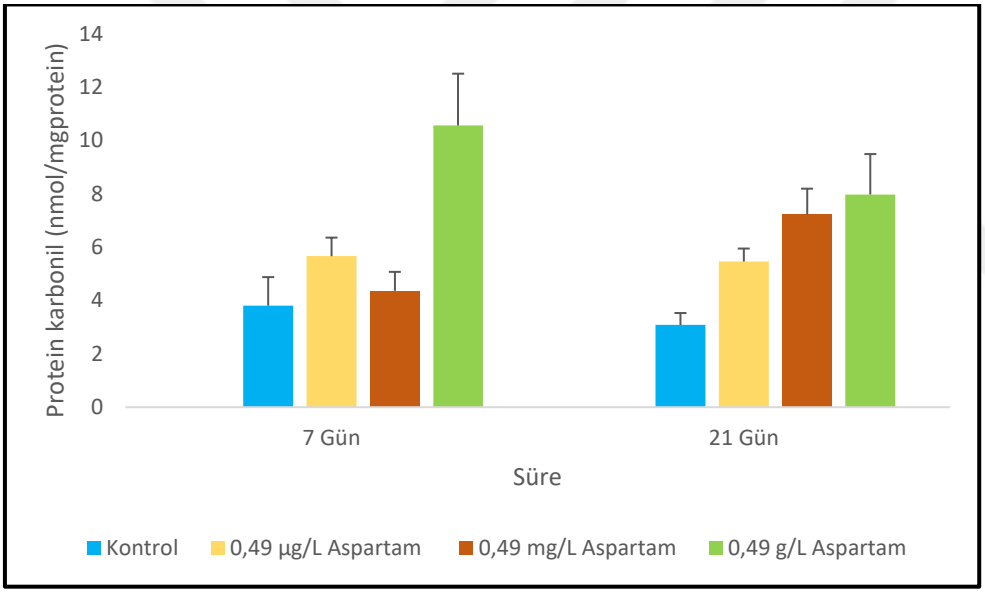
Solungaç dokusu protein karbonil düzeyleri, deney sürelerinde tüm aspartam derişimlerinde kontrol grubuna göre artış göstermiştir. 7 günlük sürede 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde protein karbonil düzeyleri kontrol grubuna göre sırasıyla %48,70; %14,60 ve %177,40 oranlarında artmıştır. 21 günlük sürede ise aynı derişimler için artışlar %77,18;

%134,26 ve %158,68 olarak belirlenmiştir. Protein karbonil düzeyi 0,49 mg/L aspartam derişiminde, 21 günlük sürede 7 güne göre 1,66 katlık artış göstermiştir ($p<0,05$).

Çizelge 4.11. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda protein karbonil düzeyleri (nmol/mgprotein)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	$3,8071\pm1,0695^{ax}$	$5,661\pm0,697^{ax}$	$4,363\pm0,711^{ax}$	$10,561\pm1,943^{bx}$
21 Gün	$3,0821\pm0,4486^{ax}$	$5,461\pm0,487^{abx}$	$7,2201\pm0,973^{by}$	$7,9729\pm1,517^{bx}$

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.11. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* solungaç dokusunda protein karbonil düzeyleri (nmol/mgprotein)

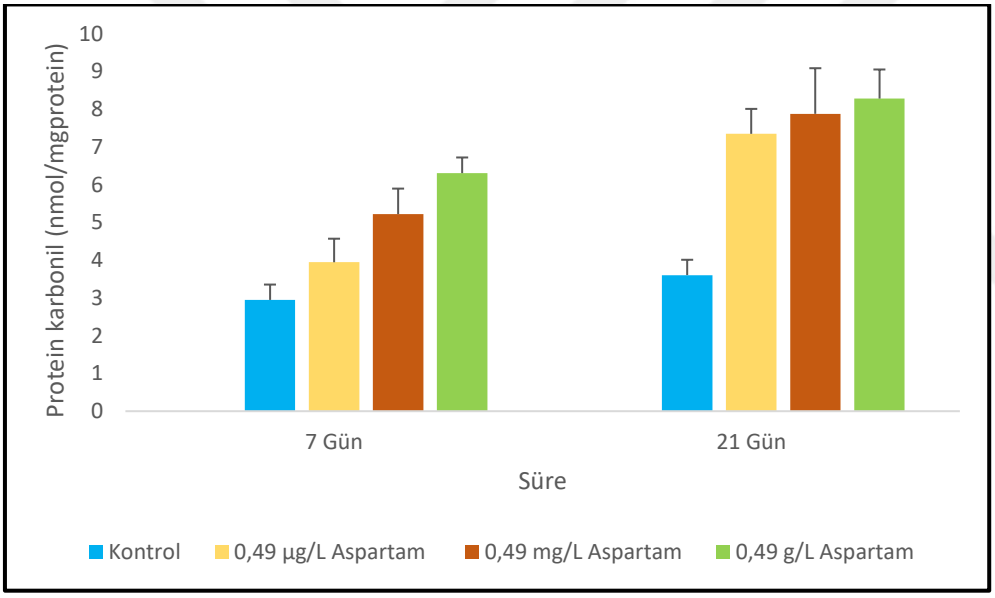
Sindirim dokusundaki protein karbonil düzeyleri, 7 günlük maruziyette 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla 1,34; 1,77 ve 2,14 kat artış göstermiştir. Bu artışlardan 0,49 g/L derişimindeki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 21 günlük maruziyette ise aynı derişimlerde protein karbonil miktarı kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 2,04; 2,19 ve 2,30 kat artmıştır ($p<0,05$). Deney süreleri karşılaştırıldığında, 21 günlük süredeki değerler 7 günlük süreye göre 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla 1,86; 1,51 ve 1,31 kat yüksek bulunmuştur. Bu süreye bağlı artışların yalnızca 0,49 µg/L derişiminde istatistiksel olarak anlamlı olduğu,

diğer iki derişimde ise istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.12).

Çizelge 4.12. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda protein karbonil düzeyleri (nmol/mgprotein)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	2,949±0,406^{ax}	3,946±0,624^{abx}	5,221±0,677^{bcx}	6,307±0,416^{cx}
21 Gün	3,606±0,406^{ax}	7,349±0,661^{by}	7,879±1,209^{bx}	8,283±0,771^{bx}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.12. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* sindirim dokusunda protein karbonil düzeyleri (nmol/mgprotein)

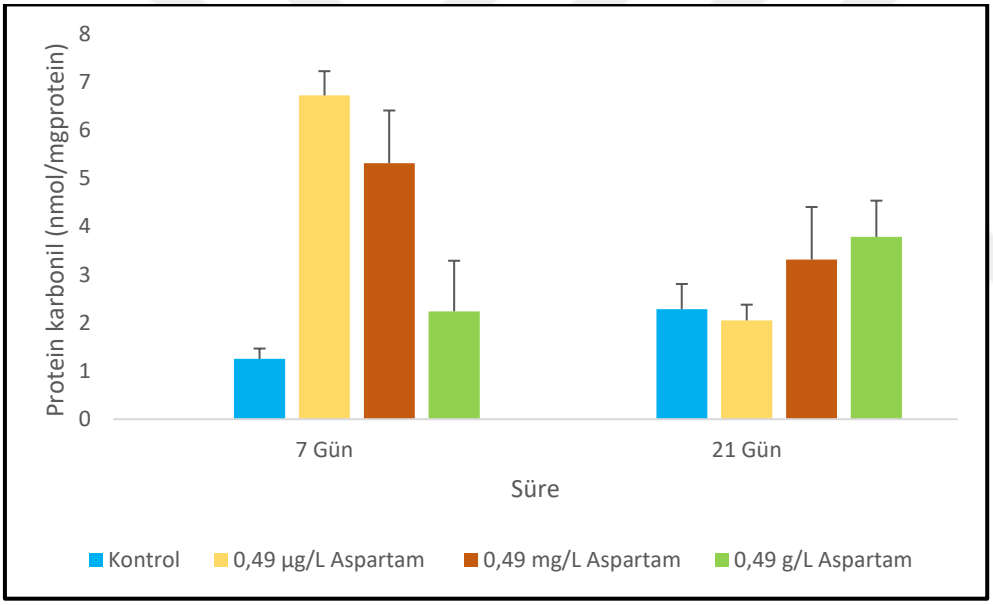
Hemolenf sıvısındaki protein karbonil düzeyleri, 7 günlük maruziyette 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla sırasıyla 5,37; 4,25 ve 1,79 kat artış göstermiştir. Bu artışlardan 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L derişimlerinde olanlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). 21 günlük maruziyette, 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde kontrol grubuna göre sırasıyla 1,45 ve 1,66 kat artış, buna karşın 0,49 µg/L derişimde 0,90 kat azalış saptanmıştır ($p>0,05$). Deney süreleri karşılaştırıldığında, 21 günlük süredeki değerler 7 günlük süreye göre 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L derişimlerinde sırasıyla 0,31 ve 0,62 kat azalmış, buna karşılık 0,49 g/L derişiminde 1,70 kat artış

görülmüştür. Süreye bağlı değişimlerin 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimleri için istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.13, Şekil 4.13).

Çizelge 4.13. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı hemolenf sıvısında protein karbonil düzeyleri (nmol/mgprotein)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	1,2509±0,216^{ax}	6,720±0,504^{bx}	5,316±1,092^{bx}	2,240±1,049^{ax}
21 Gün	2,282±0,525^{ax}	2,051±0,326^{ay}	3,314±1,091^{ax}	3,784±0,752^{ax}

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.13. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* hemolenf sıvısında protein karbonil düzeyleri (nmol/mgprotein)

4.6. Na^+/K^+-ATPaz Aktivitesi

U. delicatus'un 7 ve 21 günlük maruziyet sürelerinde aspartam derişimlerinin etkilerini değerlendirmek amacıyla Na^+/K^+-ATPaz analiz edilmiş, elde edilen bulgular Çizelge 4.14 ve Şekil 4.14'te sunulmuştur.

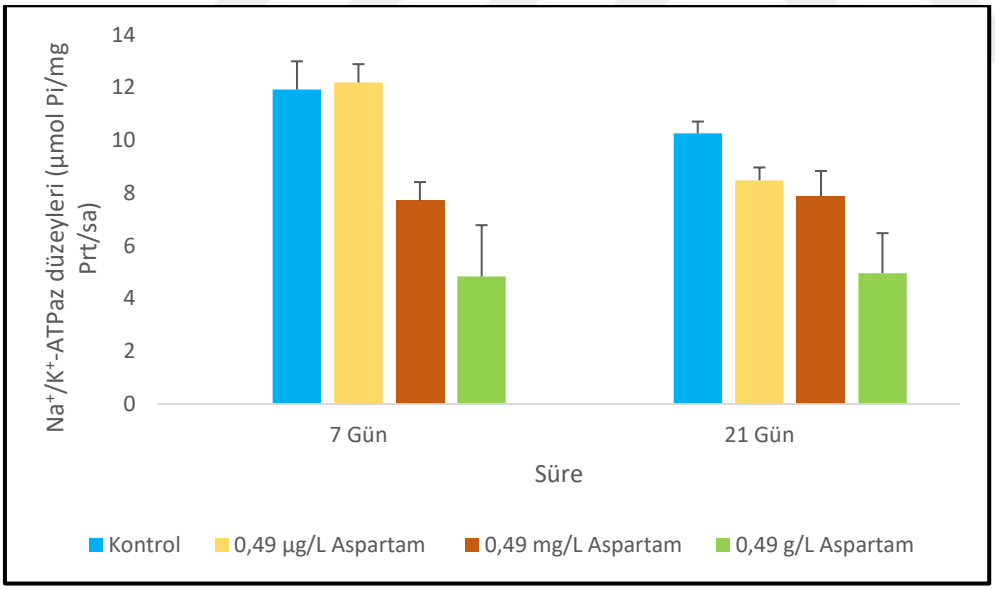
Solungaç Na^+/K^+ATPaz aktivitesi 21 günlük maruziyet sonunda tüm aspartam derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla azalmıştır. Bu azalış 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49

g/L aspartam derişimlerinde sırasıyla %17,33; %23,37 ve %51,64 olarak belirlenmiştir. Ayrıca 0,49 g/L derişiminde 7 ve 21 günlük maruziyette kontrole göre sırasıyla %59,43 ve %51,64 oranlarında azalma gerçekleşmiştir. 0,49 µg/L aspartam derişiminde enzim aktivitesinin 21 günlük sürede 7 güne göre %30,41 oranında düşüş gösterdiği tespit edilirken ($p<0,05$) diğer aspartam derişimlerinde süreye bağlı anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.14. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı solungaç dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri (µmol Pi/mg Prt/sa)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	$11,920\pm1,995^{ax}$	$12,185\pm1,264^{ax}$	$7,7034\pm1,865^{abx}$	$4,8357\pm1,367^{bx}$
21 Gün	$10,257\pm2,146^{ax}$	$8,480\pm0,984^{aby}$	$7,860\pm0,872^{abx}$	$4,960\pm1,012^{bx}$

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.14. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* solungaç dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri (µmol Pi/mg Prt/sa)

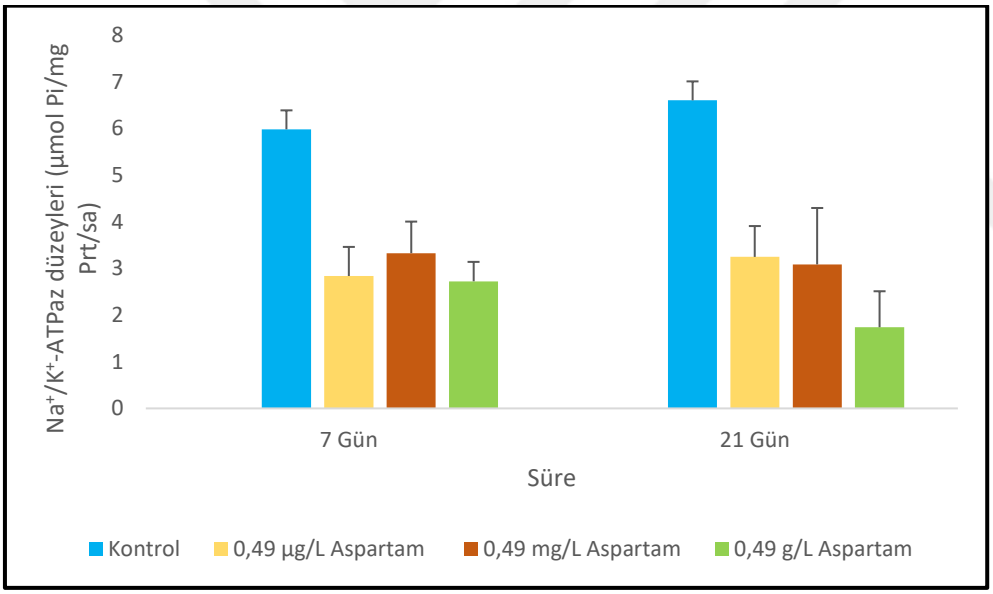
Sindirim dokusundaki Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi 0,49 µg/L; 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla 7 günlük maruziyette sırasıyla %52,57; %44,39 ve %54,46 oranlarında azalmıştır ($p<0,05$). Benzer şekilde 21 günlük maruziyette de aynı derişimlerde aktivite sırasıyla %50,83; %53,26 ve %73,65 oranlarında düşmüş olup tüm

azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Deney süreleri karşılaştırıldığında 7 ve 21 günlük süredeki değerleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark belirlenmemiştir (Çizelge 4.15, Şekil 4.15).

Çizelge 4.15. *U. delicatus'ta* aspartamın farklı derişimlerine bağlı sindirim dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri (µmol Pi/mg Prt/sa)

SÜRE	Konsantrasyon (µg/L;mg/L;g/L)			
	Kontrol	0,49 µg/L Aspartam	0,49 mg/L Aspartam	0,49 g/L Aspartam
7 Gün	$5,9794\pm1,0176^{ax}$	$2,8361\pm0,6846^{bx}$	$3,3253\pm0,5371^{bx}$	$2,7230\pm0,4811^{bx}$
21 Gün	$6,6006\pm3,6838^{ax}$	$3,2457\pm0,4977^{bx}$	$3,0850\pm0,5765^{bx}$	$1,7392\pm0,3248^{bx}$

SNK; a,b ve c harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri süreler arası ayrımı belirlemek amacı ile kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistik ayrım vardır ($p<0,05$). Aritmetik ortalama ± Standart hata



Şekil 4.15. Aspartamın farklı etki sürelerinde *U. delicatus'un* sindirim dokusunda Na^+/K^+ATPaz düzeyleri (µmol Pi/mg Prt/sa)

5. TARTIŞMA

Yapay tatlandırıcılar atık su arıtma tesislerinden her zaman tam olarak uzaklaştırılamadıklarından sucul ekosistemler için kirletici etkisi oluşturmakta ve buradaki organizmalarda ekotoksikolojik etkilere yol açmaktadır (Fernandez ve diğerleri, 2025). Tatlandırıcılar çeşitli mikroorganizmalar, algler, plankton ve bazı omurgasızlarda metabolik değişimlere, büyüme ve üreme faaliyetlerinde bozulmalara neden olabilmekte ve bu durum doz, süre, tür ve ortamın fiziko kimyasal parametrelerine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (Saputra, 2021; Çelik. Atalay, Sağdıçoğlu. Celep, Catanzaro, Marotta, 2025).

Tatlı su midyeleri sucul ekosistemde bentik yaşam sürmekte ve suyu filtreleyerek beslenmektedirler. Çevresel etkilere karşı çok duyarlı oldukları için kirliliklerin erken tespitinde biyoindikatör türler olarak kullanılmaktadır (Şereflişan, 2024).

Çevresel kirleticiler oksidatif stresi tetiklediklerinden dolayı organizmalar için tehlikedirler. Kirletici maddelere maruz kalan sucul organizmalarda oluşabilecek etkileri belirlemek için biyokimyasal parametreler kullanılmaktadır. Tatlı su midyeleri iyi bir biyoindikatör olması nedeniyle oksidatif stres belirleme yöntemleri için laboratuvar çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Canlı, 2022). Bu çalışmada çeşitli dozlarda aspartam maruziyetine kalan *U. delicatus*'un solungaç ve sindirim dokularında biyokimyasal parametrelerin etkilendiği belirlenmiştir.

Hemositler, organizmayı savunmaktan sorumlu hücrelerdir (Impellitteri ve diğerleri, 2022). Stresli koşullar altında veya düşük seviyede kısa süreli kirleticilere maruziyet hemosit sayısını önemli düzeyde arttırmaktadır (Katalay ve diğerleri, 2019). Bu araştırmada aspartam etkisine maruz kalan *U. delicatus*'un toplam hemosit sayısı zamana ve doza bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Bağışıklık sistemlerinde kabuklu hemositleri çok önemli işleve sahiptir. Toplam hemosit sayısı bir organizmanın immünolojik durumunun bir göstergesidir (Yehouenou Tessi, 2023).

THS'nin, 7 günlük 0,49 µg/L aspartam derişimi dışında hem 7 hem de 21 günlük maruziyet sürelerinde ve tüm aspartam derişimlerinde kontrol grubuna kıyasla önemli oranda artışı organizmanın yabancı maddeye karşı tepki göstermesinden olabilmektedir. 7 günlük sürede

0,49 µg/L aspartam derişiminde THS'nin kontrol grubuna kıyasla azalması düşük seviyeli stresin immün baskılanmaya yol açabilmesinden kaynaklanabilmektedir (Renault, 2015). Akıncı (2023), Fluorence-9-bisphenolün midye üzerindeki toksik etkisi ile ilgili çalışmasında 2 ve 7 günlük sürelerde farklı derişimlere maruz bırakılan midyelerin hemosit değerlerinde azalma olduğunu tespit etmiştir.

Antioksidan savunma sisteminin en önemli özelliği, tüm bileşenlerinin reaktif oksijen türlerine karşı sinerjik bir şekilde görev alarak canlıda homeostazisin sürdürülmesinde yaşamsal bir rol oynamasıdır. Toplam oksidan/antioksidan dengeyi belirlemek için oksidan ve antioksidanları tek tek ölçülmek yerine TOS ve TAS ölçümü yapılır (Kaya ve diğerleri, 2014). TAS ve TOS, sucul ekosistemin değerlendirilmesinde kullanılan önemli oksidatif stres parametreleridir (Şelli, 2017). *U. delicatus*'un solungaç ve sindirim dokularında TAS düzeyinin, 7 günlük maruziyette kontrol grubuna kıyasla azalışı aspartamın oksidatif strese neden olmasından; 21 günlük sürede ise kontrol değerlerine yakın düzeylerde çıkması oksidatif hasarı azaltmak için antioksidan savunma sistemini artırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. THS'de ise aspartam maruziyeti sırasında her iki sürede de dalgalanmalar kaydedilmiştir. Aspartamın düşük ve yüksek dozlarına 180 gün boyunca maruz bırakılan erkek Wistar sıçanların karaciğerinde indirgenmiş glutatyon (GSH) konsantrasyonu, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitelerinde önemli ölçüde azalma olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar uzun süreli aspartam tüketiminin sıçanlarda hepatoselüler hasara ve karaciğer antioksidan potansiyelinin azalmasına neden olduğunu ve bu durumun serbest radikallerin zararlı etkisinden veya metanolün oksidasyonundan oluşan formaldehitin bu enzimler üzerindeki doğrudan etkisinden kaynaklanabildiğini bildirmişlerdir (Abhilash, Sauganth Paul, Varghese, Nair, 2011). Sodyum nitrit, sodyum sülfit, sodyum benzoat ve aspartam gibi gıda katkı maddeleri Wistar Albino sıçanlarının biyokimyasal parametrelerinde değişikliklere neden olmuştur. Karaciğer antioksidan enzimi olan katalazın sodyum benzoat ve sodyum sülfit etkisinde arttığı ve bunun oksidatif stres göstergesi olduğu ifade edilmiştir (Ifemeje, Ezeonyemalu, Egbuna, Olisah, Ifemeje, 2020).

TOS düzeyi, her iki deney süresinde de solungaç dokusunda kontrol grubuna kıyasla artmış olup, en belirgin artış 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişiminde gerçekleşmiştir. Solungaç dokusunun dış ortam ile en çok temas eden doku olmasından kaynaklı kirleticilere çok fazla maruz kalmasından ve bu durumun oksidatif stresi tetiklemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Canesi ve Fabbri, 2015; Regoli ve Giuliani, 2014). Sindirim dokusunda 7

günlük sürede tüm aspartam derişimlerinde TOS düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuş; 21 günlük sürede ise kontrol ile deney grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Solungaç ve sindirim dokularında TOS düzeylerinin süreler arasında önemli bir değişiklik bulunmamıştır.

Okatan (2023) diflubenzuronun tatlı su midyeleri üzerindeki toksik etkilerini incelediği çalışmasında, 48 saat ve 7 gün süreyle diflubenzurona maruz bırakılan midyelerde TOS düzeylerinin yüksek derişim grubunda arttığını bildirmiştir. Bu bulgular, çalışmamızda yüksek aspartam derişimlerinde gözlenen TOS artışı ile benzerlik göstermektedir. Hemolenf TOS düzeylerinde 7 günlük maruziyette 0,49 mg/L aspartam derişiminde kontrol grubuna kıyasla saptanan artışın organizmada oksidatif stresin arttığını; 21 günlük maruziyette 0,49 g/L aspartam derişiminde kontrol grubuna göre gözlenen azalışın ise adaptif bir yanıtı yansıtıyor olabileceğini düşündürmektedir. Wistar Albino cinsi sıçanlarda sodyum benzoat maruziyeti sonrasında böbrek ve karaciğer dokularında TOS seviyesinin arttığı ve bu durumun bizim çalışmamızda hemolenf sıvı ve solungaç doku TOS seviyeleri ile benzerlik gösterdiği, sindirim dokusu ile zıt olduğu belirlenmiştir (İlhan ve diğerleri, 2023). Ayrıca sodyum benzoatın oksidan–antioksidan dengesini bozarak oksidatif strese yol açtığı ifade edilmiştir.

8-OHdG, serbest radikaller yoluyla ve doğrudan fotodinamik etkilerin bir sonucu olarak oluşan oksidatif hasarlı bir DNA ürünüdür (Alak ve diğerleri, 2017). 8-OHdG birçok çalışmada yalnızca endojen oksidatif DNA hasarının ölçümü için en duyarlı biyobelirteçlerindendir. Ayrıca kanser de dahil olmak üzere birçok hastalık için bir risk faktörü olarak da yaygın olarak kullanılmaktadır (Valavanidis ve diğerleri, 2009).

Solungaç dokusunda 8-OHdG düzeyi; 0,49 g/L aspartam derişiminde 7 günlük mazuriyet süresinde kontrol grubuna göre önemli bir artış, 21 günlük de ise 0,49 µg/L derişiminde önemli bir azalış göstermiştir. Buna karşın diğer derişimler ve süreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark kaydedilmemiştir. Sindirim dokusunda 8-OHdG düzeyi, 7 günlük maruziyette kontrol grubuna kıyasla 0,49 g/L aspartam derişiminde anlamlı şekilde artarken, 21 günlük sürede 0,49 µg/L derişiminde anlamlı bir azalış kaydedilmiştir. Ayrıca 0,49 mg/L ve 0,49 g/L aspartam derişimlerinde 21 günlük sürede, 7 güne kıyasla 8-OHdG düzeylerinde önemli artışlar tespit edilmiştir. Hemolenfte ise 8-OHdG düzeyi, 0,49 g/L aspartam derişiminde 21 günlük maruziyette 7 günlük süreye göre ve kontrol grubuna göre anlamlı

şekilde yükselmiştir. Bu araştırmada *U. delicatus*'un solungaç ve sindirim bezi dokularında ve hemolenfinde aspartam uygulaması sonrasında 8-OHdG düzeyindeki artış DNA'daki oksidatif hasarın yükseldiğini; azalış ise organizmanın oksidatif strese karşı adaptasyon kapasitesini artırdığını göstermektedir. Kıraççakalı (2019) bir piretroit türü olan deltametrinin Van balığı (*Alburnus tarichi*) üzerindeki oksidatif hasarını incelemiştir. DNA hasar düzeyi değerlendirildiğinde 24 saatlik maruziyet sonunda 8-OHdG düzeyinde herhangi bir değişim gözlenmezken 48 saatlik maruziyet sonunda istatistiksel olarak anlamlı artışlar tespit edilmiştir. Maruziyet süresi ve derişim arttıkça 8-OHdG düzeylerinde hemolenf ve solungaç dokuda meydana gelen artışın, bizim çalışmamızda elde edilen bulgularla benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Beyazlatıcı bir gıda katkı maddesi olan titanyum dioksitin (TiO_2) insan bağırsak hücre hatları ve bağırsak bariyer modellerinde genotoksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada TiO_2 maruziyetinin, metabolik aktivasyondan bağımsız olarak oksidatif stresle ilişkili DNA hasarına neden olduğu ancak kromozomal sapma veya mikronükleus oluşumuna yol açmadığı belirlenmiştir. Ayrıca TiO_2'ye maruziyet sonrası farklı hücre ve bariyer modellerinde 8-OHdG düzeylerinin anlamlı biçimde arttığı saptanmıştır (Nam, Jeong, Kim, Choi, 2025).

Protein karbonil düzeyi solungaç dokusunda 7 günlük maruziyet süresinde 0,49 g/L aspartam derişiminde; 21 günlük maruziyet süresinde ise 0,49 mg/L ve 0,49 g/L derişimlerinde kontrol grubuna göre önemli artış göstermiştir. Ayrıca 0,49 mg/L aspartam derişiminde 7 günlük değeri, 21 güne kıyasla önemli oranda yüksek bulunmuştur. Protein karbonil düzeyi sindirim dokusunda kontrol grubuna göre 21 günlük sürede tüm aspartam derişimlerinde; 7 günlük sürede ise orta ve yüksek aspartam derişimlerinde önemli düzeyde artmıştır. Ayrıca 0,49 µg/L aspartam derişiminde 21 gün süredeki değeri 7 güne göre anlamlı artış göstermiştir. Hemolenf protein karbonil düzeyinde ise 7 günlük maruziyette kontrol grubuna göre 0,49 µg/L ve 0,49 mg/L derişimlerinde artış kaydedilmiştir. Buna karşın 0,49 µg/L derişiminde 21 günlük sürede 7 günlük süreye göre azalma ortaya çıkmıştır. Protein karbonil düzeylerindeki değişimler, apartamın dokularda neden olduğu oksidatif strese karşı gösterdiği yanıtlardır. Karaaslan ve ark. (2010) *Garra rufa obtusa* ve *Cyprinion macrostomus* balıklarının kas dokusundaki protein karbonil düzeyleri ağır metal, oksijen eksikliği, pH değişimi, selenyum, sıcaklık ve besin eksikliği gibi stres faktörlerinin etkisinde artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların protein karbonil düzeylerindeki artış açısından mevcut çalışmamızın bulgularıyla benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca Vence ve ark. (2017) sükraloz maruziyeti altında Cyprinus carpio'nun

solungaç, beyin ve kas dokularında protein karbonil içeriğinin kontrol grubuna kıyasla arttığını bildirmiştir. Protein karbonil düzeyindeki artış, aspartamın metabolitleri aracılığıyla hücrelerde ROS üretiminin artmasına ve antioksidan savunma sistemlerinin zayıflamasına bağlı olarak protein oksidasyonunun artmasından kaynaklanabilmektedir (Almroth ve diğerleri, 2005). Protein karbonil düzeyindeki azalış, organizmanın oksidatif strese karşı geliştirdiği adaptasyon yanıtı, antioksidan enzim aktivitelerinin artması ve detoksifikasyon mekanizmalarının etkinleşmesi ile ilişkilendirilebilmektedir.

Solungaç; sucul organizmaların solunum, iyon dengesi, asit-baz dengesi ve azotlu atıkların boşaltılması fonksiyonlarını sağlayan bir organdır. Na^+/K^+-ATPaz, hücrenin iyonik homeostazının korunmasında sorumlu ve sucul canlılarda kirleticilerle doğrudan etkileşimde bulunan enzimdir (M. Uçkun ve A. Uçkun, 2021). Membrana bağlı bir enzim olan ATPazlar, iyon taşımını sağlayarak membran geçirgenliği ve ozmotik dengenin korunmasında önemli rol oynarlar. ATPazlar, organik kirleticilerin toksik etkilerine karşı duyarlı olmaları nedeniyle suda yaşayan organizmalar üzerindeki zararlı etkilerinin saptanmasında önemli bir göstergedir (Sarı, 2024).

Toksik bileşikler, ATPaz enzimlerini inhibe ederek hücre zarlarının fosfolipid bölgelerine bağlanmakta ve bu yolla zarın yapısal konfigürasyonunu değiştirebilmektedir (Chhaya ve diğerleri, 1997). Ayrıca oksidatif stresin membran proteinlerini etkileyerek Na^+/K^+-ATPaz aktivitesini inhibe ettiği birçok çalışmada rapor edilmiştir (Livingstone, 2001; Atli ve Canli, 2010). Solungaç Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi 0,49 g/L aspartam derişiminde kontrol grubuna göre her iki sürede de belirgin biçimde azalmıştır. Diğer derişimlerde ise kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir. Solungaç dokusunun sucul ortamlardaki kirleticilerle doğrudan temas halinde olması, membran yapısının hasar görmesine ve iyon taşınımında görevli enzimlerin inhibisyonuna neden olabilmektedir. Sindirim bezi Na^+/K^+-ATPaz aktivitesi, tüm aspartam derişimlerinde her iki maruziyet süresinde de kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde azalması sindirim bezinin toksik bileşiklerin metabolizmasında ve detoksifikasyon süreçlerinde aktif rol almasıyla ilişkili olabilmektedir. Buna karşılık, süreler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaması organizmanın adaptif yanıtlarından kaynaklanmaktadır. İnsan eritrositleri ile yapılan bir çalışmada fenilalanin, aspartik asit ve metanol gibi aspartam metabolitlerinin doza bağlı olarak eritrosit membranlarındaki Na^+/K^+-ATPaz aktivitelerini inhibe ettiği bildirilmiştir (Schulpis, 2006) Araştırıcı, bu durumun metabolitlerin reaktif oksijen türü

üretimini artırmasından dolayı olabileceğini ileri sürmüştür. Bu bulgular, çalışmamızda aspartam maruziyeti sonrası dokularda Na^+/K^+-ATPaz aktivitesinde gözlenen azalışın, artan oksidatif stres ve ROS aracılı membran hasarı ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmamızda gıda sektöründe yaygın olarak kullanılan yapay tatlandırıcı olan aspartamın tatlı su midyeleri (*U. delicatus*) üzerine toksik etkisi araştırılmıştır. Literatür araştırması sonucunda aspartamın midyeler üzerindeki etkisiyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı görülmüştür. Bu durum çalışmamıza özgünlük kazandırmakta ve literatüre katkı sağlayacaktır.

Çevresel ortamlara ulaşan aspartamın, kirleticilere karşı yüksek duyarlılık gösteren midyelerin fizyolojik ve biyokimyasal dengesi üzerinde olumsuz etkilere yol açabileceği çalışmamızda gözlemlenmiştir. Aspartama maruziyetin midyelerde oksidatif dengeyi bozması bu maddenin yalnızca insan tüketimi açısından değil sucul ekosistemlerin sürdürülebilirliği açısından da potansiyel bir çevresel risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir.

Hemosit sayısında gözlemlenen değişimlerin aspartamın midyelerin bağışıklık sisteminde etkili olabileceğini ve organizmaların çevresel stres faktörlerine karşı savunma kapasitelerinin azalabileceğini düşündürmektedir.

Aspartam maruziyeti sonrası oksidatif stres belirteci olan TAS ve TOS parametrelerindeki değişimler, organizmanın antioksidan savunma sistemi ile prooksidan yük arasındaki dengenin bozulduğunu düşündürmektedir.

8- OHdG ve protein karbonil seviyelerinin artması aspartamın DNA ve protein biyomolekülleri üzerinde yalnızca kısa vadede değil, uzun süreli maruziyette de oksidatif strese neden olabileceğini göstermektedir.

Na^+/K^+-ATPaz aktivitesindeki değişimler aspartamın hücre membran bütünlüğünü, iyon dengesini ve enerji metabolizmasını etkilediğini düşündürmektedir.

Bu araştırma sonucunda aspartamın sucul ortamlardaki canlılar üzerinde oksidatif hasara neden olabileceği ve yapay tatlandırıcıların çevresel etkilerinin çok yönlü olarak değerlendirilmesi gerektiği ortaya konmaktadır.

KAYNAKLAR

Abhilash, M., Sauganth Paul, M. V., Varghese, M. V. ve Nair, R. H. (2011). Effect of long term intake of aspartame on antioxidant defense status in liver. *Food and Chemical Toxicology,* 49, 1203–1207.

Akıncı, F. N. (2023). *Fluorene-9-Bisphenol'un Tatlı Su Midyelerinde Toksik Etkilerinin Belirlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-25.

Akkuş, G. (2016). *Çanakkale Boğazı (Kepez) Midye [Mytilus Galloprovincialis (Lamarck, 1819)] Örneklerinde Ağır Metal (CD, PB, CU, ZN, FE) ve Temel Antioksidant Enzim Düzeylerinin Mevsimsel Değişimi.* Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 2-19.

Alak, G., Uçar, A., Parlak, V., Yeltekin, A., Taş, İ. H., Ölmez, D., Kocaman, E. M., Yılgın, M., Atamanalp, M. ve Yanık, T. (2017). Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, gene expression and antioxidant enzyme activity on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues exposed to biopesticide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 203, 51-58.

Almroth, B. C., Sturve, J., Berglund, A., Forlın, L. (2005). Oxidative damage in eelpout (Zoarces viviparus), measured as protein carbonyls TBARS, as biomarkers. *Aquatic Toxicology,*73(2),171-180.

AlSuhaibani, E., S. (2010). In vivo cytogenetic studies on aspartame. *Hindawi Publishing Corporation Comparative and Functional Genomics,* 4(1), 12-24.

Ashok, I., Sheeladevi, R. ve Wankhar, D. (2014). Effect of long-term aspartame (artificial sweetener) on anxiety, locomotor activity and emotionality behavior in Wistar Albino rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition,* 4(1), 39–43.

Ashok, I., Sheeladevi, R. ve Wankhar, D. (2015). Acute effect of aspartame-induced oxidative stress in Wistar albino rat brain. *The Journal of Biomedical Research,* 29(5), 390-396.

Atkinson, R. J., Posner, A. M. ve Quirk, J. P. (1972) Kinetics of isotopic exchange of phosphate at the α-FeOOH-aqueous solution interface. *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry,* 34(7), 2201-2211.

Atli, G. ve Canli, M. (2010). Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 73(1), 1884-1889.

Ay, Ö., Korkmaz, C. ve Ak, M. H. (2014). Tatlısu midyesi *Unio terminalis*'te bakırın 96 saatlik $_{LC50}$ değeri ile birikim düzeylerinin belirlenmesi, *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 10(2), 29-34.

Aytekin, T., (2022). Evaluation of the effects of nitrilotriacetic acid as a chelating agent on the biochemical toxicity of lead in *Oreochromis niloticus*. *Biological Trace Element Research,* 200, 2908–2914.

Bedir, M. D. (2014). *Stresin Kangal Balıklı Kaplıca Balıklarında Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesine, Glutatyon (GSH/GSSG) ve Protein Karbonil (PC) Düzeylerine Etkilerinin Araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas, 4-17.

Benavides, M., Fernandez-Lodeiro, J., Coelho, P., Lodeiro, C. ve Diniz, M., S. (2016). Single and combined effects of aluminum (Al2O3) and zinc (ZnO) oxide nanoparticles in a freshwater fish, *Carassius auratus. Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 24578-24591.

Bhoumik, S., Kumar, R., Srivastaval, P., Singh, A., Siddiqui, Z. ve Rizvil, S. I. (2023). Investigation of the toxic effects of aspartame as an artificial sweetener in food: effect on redox and inflammatory biomarkers in rat. *Journal of Food Safety and Hygiene,* 9(2), 99-107.

Boğa, A., Binokay, S. (2010). Gıda katkı maddeleri ve sağlığımıza etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi,* 19(3): 141–154.

Butterfield, D. A., Koppal, T., Howard, B., Subramaniam, R., Hall, N., Hensley, K., Yatin, S., Allen, K., Aksenov, M., Aksenova, M., Carney, J. ve Ann, N. Y. (1998). Structural and functional changes in proteins induced by free radical–mediated oxidative stress and protective action of the antioxidants n-tert-butyl-_-phenylnitrone and vitamin E. *Annals of the New York Academy of Sciences,* 854(1), 448-62.

Canesi, L. ve Fabbri, E. (2015). Environmental effects of BPA: Focus on aquatic species. *Dose-Response,* 13(3), 3-19.

Canlı, E. G. (2022). Farklı sürelerde bakır etkisinde kalan tatlısu midyelerinde (*Unio tigridis*) antioksidan enzim tepkilerinin incelenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(1), 31-41.

Chhaya, J., Thaker, J., Mittal, R., Nuzhat, S., Mansuri, A. P. ve Kundu, R. (1997). Influence of textile dyeing and printing industry effluent on ATPases in liver, brain, and muscle of mudskipper, *Periophthalmus dipes. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology,* 58(1), 793-800.

Çelik, Atalay, E., Sağdıçoğlu ve Celep, A. G. (2024). Food additives and genetic influences. *Gıda,* 49(1), 1-24.

Çelik, Atalay, E., Sağdıçoğlu, Celep, A. G., Catanzaro, R. ve Marotta, F. (2025). Aspartame, saccharin, sucralose, and stevia: oxidative stress pathways and functional food perspectives. *Bioactive Compounds in Health and Disease*, 8(11), 474-488.

Çelik, E. (2014). *Alkolsüz Diyet İçeceklerde Aspartam Miktarlarının Spektrofotometrik Yöntem ile Araştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2-41.

Dang, Z., Balm, P. H. M., Flik, G., Bonga, S. E. W. ve Lock, R. A. C. (2000). Cortisol increases Na^+/K^+-ATPase density in plasma membranes of gill chloride cells in the freshwater Tilapia *Oreochromis Mossambicus. Journal of ExperimentalBiology,* 203(15), 2349-2355.

Duxburg, D. D. (1988). Aspartame sweetener propels diet beverage market. *Food Processing,* 4(1), 12-25.

Ergüden C., (2012). *İzmir Körfezi'nde Su Kalitesi ve Organoklorlu Pestisitlerin Midye (Mytilus Galloprovincialis Lamarck, 1819) Dağılımına Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 6-25.

Fernandez, R., Ojito, S., Pajaro, V., Gutierrez, C., Bolivar-Anillo, H. J., Hampel, M. ve Anfuso, G. (2025). Artificial sweeteners in aquatic ecosystems: occurrence, sources and effects. *Sustainability,* 17(1), 9946-9947.

Gan, Z., Sun, H., Feng, B., Wang, R. ve Zhang, Y. (2013). Occurrence of seven artificial sweeteners in the aquatic environment and precipitation of Tianjin, China. *Water Research,* 47,4928-4937.

Gaur, H., Purushothaman, S., Pullaguri, N., Bhargava, Y. ve Bhargava, A. (2018). Sodium benzoate induced developmental defects, oxidative stress and anxiety-like behaviour in zebrafish larva. *Biochemical and Biophysical Research Communications,* 502(1), 364-369.

Görgün, S. (2022). *Callinectes sapidus'*un (Mavi Yengeç) hepatopankreas esteraz (E. C. 3.1.1.1) aktivitesine metal iyonlarının (Zn^{+2}, Co^{+2}, Cd^{+2}, Ni^{+2}) in vitro etkilerinin belirlenmesi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi,* 12(1), 32-37.

Graille, M., Wild, P., Sauvain, J. J., Hemmendinger, M., Canu, I. G. ve Hopf, N. B. (2020). Urinary 8-OHdG as a biomarker for oxidative stress: a systematic literature review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences,* 21(1), 3743.

Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. C. (2007). *Free radicals in biology and medicine*, (4th Edition). New York: Oxford University Press, 25-45.

Ifemeje, J. C., Ezeonyemalu, U. E., Egbuna, C., Olisah, M. C. ve Ifemeje, M. O. (2020). Effects of four different food additives on the oxidative stress markers of Wistar Albino rats. *International Annals of Science,* 9(1), 46-51.

Impellitteri, F., Curpăn, A. S., Plăvan, G. ve Faggio, C. (2022). Hemocytes: a useful tool for assessing the toxicity of microplastics, heavy metals, and pesticides on aquatic invertebrates, *International Journal of Environmental Reearch and Public Health*, 19(1), 16830.

Iyyaswamy, A. ve Rathınasamy. S. (2012). Effect of chronic exposure to aspartame on oxidative stress in brain discrete regions of albino rats. *Journal of Biosciences,* 37(1), 679–688.

İlhan, İ., Kumbul, Doğuç, D., Tepebaşı, M. Y., Sancer, O. ve Büyükbayram, H. İ. (2023). Gıda katkı maddesi sodyum benzoatın oksidatif stres ve genotoksisite üzerine etkilerinin araştırılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi,* 30(3), 276-283.

Karaaslan, M. G., Akkuş, Çetinus, Ş., Okan, Bozkale, Ş., Tutar, Y. (2010, 29 Haziran-2 Temmuz). *Sivas Kangal Balıklı Kaplıca'daki Cyprinion macrostomus (Cyprinidae) balıklarda antioksidan enzim aktivitelerine ve lipid peroksidasyonuna stres etkileri.* 24. Ulusal Kimya Kongresi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak, 3-25.

Karatepe, T., U. ve Ekerbiçer, H., Ç. (2017). Gıda katkı maddeleri. *Sakarya Tıp Dergisi,* 7(4), 164-167.

Katalay, S., Ayhan, M., M. ve Günal, A., Ç. (2019). Midye (Mytilus galloprovincialis Lamarck, 1819) türünde çinko pritiyonun toplam hemosit sayıları üzerine etkileri. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,* 36(2), 185-189.

Kavuşan, H. S. ve Serdaroğlu, M. (2021). Fermente et ürünlerinde oksidatif değişiklikler ve ürün kalitesi üzerine etkileri. *Gıda*, 46(2), 443-462.

Kaya, İ., Yılmaz, M., Koç, E., Deveci, H. A., Ersan, Y. ve Karapehlivan, M. (2014). Tebukonazol (fungusit) uygulanan Cyprinus carpio (L. 1758)'da serum total antioksidan, oksidan ve sialik asit düzeylerinin incelenmesi. *Journal of FisheriesSciences,* 8(3), 214-219.

Kıraççakalı, A. N. (2019). *Deltametrin'in Van Balığı (Alburnus Tarichi) Primer Hepatosit Kültüründe Sitotoksik, Genotoksik ve Oksidatif Hasarının Belirlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van, 3-27.

Kızılaslan, N. (2017). Tatlandırıcılar ve metabolizma hastalıklarıyla ilişkisi, *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2), 191-198.

Kim, J. Y., Seo, J. ve Cho, K. H. (2011). Aspartame-fed zebrafish exhibit acute deaths with swimming defects and saccharin-fed zebrafish have elevation of cholesteryl ester transfer protein activity in hypercholesterolemia. *Food Chemical Toxicology*, 49(1), 2899–2905.

Kumar, A., Prasad, M. R., Srisvatav, K., Tripathi, S. ve Srivastav, A. K. (2010). Branchial histopathological study of Heteropneustes fossilis following exposure to purified neem extract, azadirachtin. *World Journel of Zoology*, 5(1), 239-243.

Kurtay, E. (2020). *Balık Çiftliğine Entegre Edilen Midyelerde (Mytilus Galloprovincialis, Lamarck 1819) Büyüme ve Yaşama Performansı.* Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2-36.

Lawal, A. O., Agboola, O. O., Akinjiyan, M. O., Ijatuyil, T. T., Dahunsil, D. T., Okeowo, O. M., Folorunsol, I. M., Olajuyigbe, O. J. ve Elekofehinti, O. O. (2025). The antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of Tetrapleura Tetraptera (Aidan) ethanol leaf extract in the brain of wistar rats exposed to aspartame. *Molecular Neurobiology*, 62(1), 9430–9448.

Li, X., Dong, G., Han, G., Du, L. ve Li, M. (2021). Zebrafish behavioral phenomics links artificial sweetener aspartame to behavioral toxicity and neurotransmitter homeostasis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 69(1), 15393-15402.

Li, Z. H., Li, P. ve Randak, T. (2011). Evaluating the toxicity of environmental concentrations of waterborne chromium (VI) to a model teleost, Oncorhynchus mykiss: a comparative study of in vivo and in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology,* 153(4), 402-407.

Livingstone, D. R. (2001). Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42(8), 656-666.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farll, A. L. ve Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Biological Chemistry*, 193(1), 265-75.

Magnuson, B. A., Burdock, G. A., Doull, J., Kroes, R. M., Marsh, G. M. ve Pariza, M. W. (2007). Aspartame: a safety evaluation based on current use levels, regulations, and toxicological and epidemiological studies. *Critical Reviews in Toxicology*, 37(8), 629-727.

Mourad, I. M. (2011). Effect of aspartame on some oxidative stress parameters in liver and kidney of rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(6), 678-682.

Mourad, I., M., Noor, N., A. (2011). Aspartame (a widely used artificial sweetener) and oxidative stress in the rat cerebral cortex. *International Journal Of Pharmaceutical And Bio-Medical Science,* 2(1), 4-10.

Murali, A., Giri, V., Cameron, H. J., Sperber, S., Zickgraf, F. M., Haake, V., Driemert, P., Walk, T., Kamp, H., Rietjens, I. M. ve Ravenzwaay, B. (2022). Investigating the gut microbiome and metabolome following treatment with artificial sweeteners acesulfame potassium and saccharin in young adult Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology,* 165(1), 113123.

Mutlu, A., G. ve Kürklü, N. (2018). Aspartame-induced mitochondrial DNA damage in drosophila. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 9(2), 129-135.

Nabors, L. O. ve Gelardi, R. C. (1986). *Introduction alternative sweetener chapter 1.* New York: Marcel Dekker, 41-46.

Nam, H.-N., Jeong, S.-M., Kim, S.-B. ve Choi, S.-J. (2025). Comprehensive evaluation of the genotoxic potential of food additive titanium dioxide in human intestinal cell systems. *International Journal of Molecular Sciences,* 26(1), 12026.

Okatan, A. (2023). *Diflubenzuron'un Tatlı Su Midyelerindeki Toksik Etkileri.* Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 6-32.

Özbek, N. ve Yentür, G. (1993). Gıdalarda aspartamın katkı maddesi olarak kullanılması. *Gıda,* 18(1), 67-71.

Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D. ve Bitto, A. (2017). Oxidative stress: Harms and benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 84(1), 16763.

Prabhakar, P. V., Reddy, U. A., Singh, S. P., Balasubramanyam, A., Rahman, M. F., Indu Kumari, S., Agawane, S. B., Murty, U. S. N., Grover, P. ve Mahboob, M. (2012). Oxidative stres induced by aluminum oxide nanomaterials after acute oral treatment in Wistar rats. *Journal of Applied Toxicology,* 32(1), 436–445.

Prokic, D., M., Paunović, M., G., Matić, M., M., Djordjević, N., Z., Ognjanović, B., I., Štajn, A., S. ve Saičić, Z., S. (2015). Effect of aspartame on biochemical and oxidative stress parameters in rat blood, *Archives of Biological Sciences,* 67(2), 535-545.

Regoli, F. ve Giuliani, M. E. (2014). Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers in marine organisms. *Marine Environmental Research,* 93(1), 104-117.

Renault, T. (2015). Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves. *Fish & Shellfish Immunology,* 46(1), 88-93.

Sante-Lhoutellier, V., Astruc, T., Marinova, P., Greve, E. ve Gatellier, P. (2008). Effect of meat cooking on physicochemical stateand in vitro digestibility of myofibrillar proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(1), 1488-1494.

Saputra, F., Lai, Y., Fernandez, R. A., Macabeo, A. P., Lai, H., Huang, J. ve Hsiao, C. (2021). Acute and sub-chronic exposure to artificial sweeteners at the highest environmentally relevant concentration induce less cardiovascular physiology alterations in zebrafish larvae. *Biology*, 10(6), 548.

Sarı, Z. (2024). *1-Trans Fenotrinin Midyeler Üzerindeki Toksik Etkileri.* Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-25.

Schulpis, K. H., Papassotiriou, I., Parthimos, T., Tsakiris, T. ve Tsakiris, S. (2006). The effect of L-cysteine and glutathione on inhibition of Na^+, K^+-ATPase activity by aspartame metabolites in human erythrocyte membrane. *European Journal of Clinical Nutrition,* 60(1), 593–597.

Sencar, L. ve Kuyucu, Y. (2020). Aspartam ve asesülfam K kullanımının testis yapısına etkilerinin ince yapı düzeyinde incelenmesi. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 6(3), 320-331.

Shaher, S. A. A., Mihailescu, D. F. ve Amuzescu, B. (2023). Aspartame safety as a food sweetener and related health hazards. *Nutrients*, 15(1), 3627.

Shirmardani, A., Rafieel, A. ve Moghadasi, B. (2018). Using fish brain biomarkers to assess the neurotoxicity of aspartame artificial. *Journal of the Persian Gulf (Marine Science),* 9(33), 35-40.

Soffritti, M., Belpoggi, F., Manservigi, M., Tibaldi, E., Lauriola, M., Falcioni, L. ve Bua, L. (2010). Aspartame administered in feed, beginning prenatally through life span, ınduces cancers of the liver and lung in male swiss mice. *American Journal Of Industrial Medicine,* 53(1), 1197–1206.

Srivastava, A., Jangid, N. K., Srivastava, M. ve Rawat, V. (2018). *Pesticides as Water Pollutants* (1st edition). New York: Sage, 4-36.

Şelli, H. (2017). *Balıklıgöl (Şanlıurfa) ve Fırat Nehrindeki Barbus Luteus (Heckel, 1843) Türünde Oksidatif Stres Parametlerinin Karşılaştırılması.* Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 7-42.

Şereflişan, H. (2024). Tatlı su midyesi Unio delicatus'un (bivalvia, unionidae) inci üretim potansiyelinin araştırılması. *Doğanın Sesi*, 7(13), 4-15.

Taylor, A. M. ve Maher, W. A. (2016). Developing a sentinel mollusk species for toxicity assessment: metal exposure, dose and response - laboratory v. field exposures and resident organisms. *Environmental Chemistry*, 13(3), 434–446.

Türe, S. (2020). *Aspartamın Testiste Neden Olduğu Apoptotik Etkiye Karşı Kafeik Asit Fenetil Esterin Koruyucu Etkisi.* Yüksek Lisans Tezi, Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Düzce, 6-18.

Uçkun, M. ve Uçkun, A. A. (2021). Tatlı su midyelerine (*Unio mancus*) imidakloprit uygulanmasının solungaç ATPaz aktiviteleri üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 37(1), 12-21.

U-pathi, J., Yeh, Y. C., Chen, C. W., Owaga, E. E. ve Hsieh, R. H. (2024). Relationship between aspartame-induced cerebral cortex injury and oxidative stress, inflammation, mitochondrial dysfunction, and apoptosis in sprague dawley rats. *Antioxidants*, 13(2), 6-19.

Valavanidis, A., Vlachogianni, T. ve Fiotakis, C. (2009). 8-hydroxy-2′ -deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 27(2), 120–139.

Vence, K. S., Velázquez, A. E., García, O. D., Martínez, M. G., Flores, H. I., Reyes, N. S., Medina, S. G., Navarro, M. D. H. ve Oliván, L. M. G. (2017). Toxicological hazard induced by sucralose to environmentally relevant concentrations in common carp (Cyprinus carpio). *Science of the Total Environment* 575(3), 347-357.

Watson, T. A. ve Beamish, F. W. H. (1980). Effects of zinc on branchial ATPase activity in vivo in rainbow trout, Salmo gairdneri. *Comparative Biochemistry and Physiolology Part C*, 66(1), 77-82.

Weerasooriyagedara, M., S. (2018). Toxicity effects of aspartame on embryonic development of zebrafish (Danio rerio). *International Journal of Engineering and Management Research,* 8(1), 183-188.

Weihrauch, M. R. ve Diehl, V. (2004). Artificial sweeteners—do they bear a carcinogenic risk? *Annals of Oncology*, 15(1), 1460–1465.

Wu, R., Feng, J., Yang, Y., Dai, C., Lu, A., Li, J., Liao, Y., Xiang, M., Huang, Q., Wang, D. ve Du, X. B. (2017). Significance of serum total oxidant/antioxidant status in patients with colorectal cancer. *PLoS One*, 12(1), e0170003.

Wu, Y., Lin, Z., Chen, F., Zhang, X., Liu, Y. ve Sun, H. (2024). Evaluation of aspartame effects at environmental concentration on early development of zebrafish: Morphology and transcriptome. *Environmental Pollution,* 361(1), 124792.

Yavuzcan, H. Y. ve Benli, A. Ç. K. (2004). Nitrite toxicity to crayfish, *Astacus leptodactylus*, the effects of sublethal nitrite exposure on hemolymph nitrite, total hemocyte counts, and hemolymph glucose. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 59(3), 370-375.

Yehouenou Tessi, D. R. (2023). *Toxic Effects of Lambda-Cyhalothrin and Acetamiprid on Freshwater Mussels.* Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 4-32.

Yılmaz, N. (2007). *Yapay Tatlandırıcılar ve Gıda Sanayiinde Kullanımları.* Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 2-14.

Yoloğlu, E. (2019). Assessment of Na^{+}/K^{+}-ATPase, Mg^{2+}-ATPase, Ca^{2+}-ATPase, and totalATPase activities in gills of freshwater mussels exposed to penconazole. *Commagene Journal of Biology,* 3(2), 88-92.

Zhang, J., Sundfør, E. B., Klokkerengen, R., Gonzalez, S. V., Mota, V. C., Lazado, C. C. ve Asimakopoulos, A. G. (2022). Determination of the oxidative stress biomarkers of 8-hydroxydeoxyguanosine and dityrosine in the gills, skin, dorsal fin, and liver tissue of atlantic salmon (Salmo salar) parr. *Toxics*, 10(1), 509.



Gazili olmak ayrıcalıktır