



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**DÜŞÜK PROTEİNLİ BROYLER RASYONLARINA ÇAM
KABUĞU EKSTRAKTI (*Pinus pinaster*) İLAVESİNİN
PERFORMANS, ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE BAĞIRSAK
HİSTOMORFOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Gonca ÖZTAP

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN**

ANKARA

2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DÜŞÜK PROTEİNLİ BROYLER RASYONLARINA ÇAM
KABUĞU EKSTRAKTI (*Pinus pinaster*) İLAVESİNİN
PERFORMANS, ANTİOKSİDAN KAPASİTE VE
BAĞIRSAK HİSTOMORFOLOJİSİ ÜZERİNE ETKİSİ

Gonca ÖZTAP

HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
18L0239003 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA

2020

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Doktora Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Düşük Proteinli Broyler Rasyonlarına Çam Kabuğu Ekstraktı (*Pinus Pinaster*) İlavesinin Performans, Antioksidan Kapasite ve Bağırsak Histomorfolojisi Üzerine Etkisi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Projemin fikir/hipotezi tümüyle proje danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Gonca ÖZTAP

Tarih :30/Haziran/2020

İmza :

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
İçindekiler	iii
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Çam Kabuğu Ekstraktı	4
1.2. Stres ve Stres Faktörleri	8
1.3. Proteinler ve Kanatlı Beslemedeki Önemi	9
1.4. Çam Kabuğu Ekstraktının Etkileri	13
1.4.1. Antioksidan Etki	13
1.4.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu, Özellikleri ve Oksidatif Stres	14
1.4.1.2. Enzimatik Antioksidanlar	17
1.4.1.2.1. Süperoksit Dismutaz Enzimi (SOD)	17
1.4.1.2.2. Glutatyon ve Glutatyon Peroksidaz (GPx)	18
1.4.1.2.3. Katalaz (CAT)	18
1.4.1.2.4. Glutatyon Redüktaz (GR)	19
1.4.1.3. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	19
1.4.1.4. Eksojen Antioksidanlar	19
1.4.2. Antimikrobiyal Etki ve Diğer Etkiler	20
1.5. Çam Kabuğu Ekstraktının Enkapsülasyonu	22
2. GEREÇ VE YÖNTEM	26
2.1. Gereç	26
2.1.1. Hayvan Materyali	26
2.1.2. Yem Materyali	26
2.2. Yöntem	29
2.2.1. Çam Kabuğu Ekstraktının Enkapsülasyonu	29
2.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini	31
2.2.3. Enkapsülasyon Değerlendirmesi	31
2.2.3.1. Hazırlama Verimi	32
2.2.3.2. Yükleme Kapasitesi	32
2.2.3.3. Yükleme Verimliliği	33
2.2.4. İn Vitro Salım Çalışmalarının Yapılması	33
2.2.4.1. Mide Koşullarında İn Vitro Salım Çalışması	33
2.2.4.2. Bağırsak Koşullarında İn Vitro Salım Çalışması	34
2.2.5. Deneme Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi	35
2.2.6. Karma Yemlerin Besin Madde Miktarlarının ve Enerji Düzeylerinin Belirlenmesi	36
2.2.7. Canlı Ağırlık Değişiminin Belirlenmesi	36
2.2.8. Yem Tüketimleri ve Yem Dönüşüm Oranı (YDO)'nun Belirlenmesi	36

2.2.9.	Kesim İşlemi	37
2.2.10.	Sıcak Karkas Randımanının Belirlenmesi	37
2.2.11.	Ölüm Oranının Belirlenmesi	37
2.2.12.	Yaşam Gücünün Belirlenmesi	38
2.2.13.	Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü'nün (EPEF) Belirlenmesi	38
2.2.14.	İç Organ Ağırlıklarının Belirlenmesi	38
2.2.15.	Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi	39
2.2.16.	Piliç Göğüs Eti pH Değerinin Belirlenmesi	39
2.2.17.	Piliç Göğüs Eti MDA Değerinin Belirlenmesi	39
2.2.18.	Dışkı ve Altık Kuru Maddesinin Belirlenmesi	40
2.2.19.	Dışkı ve Altıkta Amonyak Düzeyinin Belirlenmesi	40
2.2.20.	Histomorfolojik Analizler	40
2.2.21.	İstatistiksel Analizler	41
3.	BULGULAR	42
3.1.	Rasyonların Besin Madde Bileşimi	42
3.2.	Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışı	43
3.3.	Yem Tüketimi ve Yem Dönüşüm Oranı	45
3.4.	Kesim ve Karkas Ağırlıkları, Karkas Randımanı ve Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü	47
3.5.	Gruplarda Ölüm ve Yaşam Gücü ve Bazı İç Organ Ağırlıkları	48
3.6.	Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler	50
3.7.	But, Göğüs Eti pH Değerleri ve İnce Bağırsak, Bezli Mide, Taşlı Mide pH Değerleri	51
3.8.	Göğüs Eti TBARS Değerleri	53
3.9.	Dışkı, Altık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak Düzeyler	54
3.10.	Çam Kabuğu Ekstraktı ve Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktının Toplam Fenolik Madde Düzeyleri, Yükleme Kapasitesi ve Enkapsülasyon Verimliliği	55
3.11.	İnce Bağırsak Histomorfolojisi	56
4.	TARTIŞMA	59
4.1.	Broyler Denemesi	59
4.1.1.	Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışı	59
4.1.2.	Yem Tüketimi ve Yem Dönüşüm Oranı	62
4.1.3.	Avrupa Etkinlik Faktörü ve Yaşama Gücü	64
4.1.4.	Karkas Ağırlıkları, Karkas Randımanı ve Bazı İç Organ Ağırlıkları	65
4.1.5.	Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler	67
4.1.6.	But, Göğüs Eti pH Değerleri ve İnce Bağırsak, Bezli Mide, Taşlı Mide pH Değerleri	69
4.1.7.	Göğüs Eti TBARS Değerleri	71
4.1.8.	Dışkı, Altık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak Düzeyleri	73
4.1.9.	İnce Bağırsak Histomorfolojisi	73
4.2.	İnvitro çalışmalar	76
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	80
	ÖZET	84
	SUMMARY	86
	KAYNAKLAR	87

EKLER

100

EK-1

100

ÖZGEÇMİŞ

101



ÖNSÖZ

Kanatlı sektöründe stratejik yem ve su uygulamaları antibiyotiklerin kullanımının sınırlandırılması ya da tamamen kaldırılmasında önem teşkil etmektedir. Antibiyotiklerin keşfi hastalıkların kontrolü ve/veya hastalıkların etkilerinin azaltılmasında devrim niteliğindedir. Ancak yanlış ve gereksiz kullanımları sonucu gelişen antimikrobiyal direnç (AMD) günümüzde tüm dünyada insan sağlığını tehdit eden en önemli sorunlardan biri olarak gösterilmektedir (Lima, 2017). Ayrıca antibiyotiklerin uzun süreli kullanımları bağırsak florasındaki yararlı mikroorganizmaların azalmasına neden olmakta ve hayvansal ürünlerde kalıntı bırakma riski de tüketici hassasiyeti oluşturmaktadır. Bu nedenlerle gerek insan gerekse hayvan sağlığı için antibiyotiklerin kullanımının sınırlandırılmasına yönelik önlemler alınması daha da önemli bir hal almıştır. Bu kapsamda ülkemizde, antibiyotiklerin tüm hayvanlarda büyütme faktörü olarak kullanılması, Avrupa Birliği'nin 1831/2003 EC nolu mevzuatına uyumlu olarak hazırlanan 2006/1 nolu tebliğle, 2006 yılından itibaren yasaklanmıştır.

Antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımının yasaklanması ve doğal ve sağlıklı gıdalara olan talebin artması sonucu tüm dünyada bu yönde kullanılabilecek doğal alternatif yem katkı maddeleri arayışı ortaya çıkmıştır ve son yıllarda aromatik bileşiklerin bu yönde kullanımları giderek önem kazanmıştır. Aromatik bir yem katkı maddesi olan çam kabuğu ekstraktı da, antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar ve bağışıklık sistemini düzenleyici özellikleri yönüyle değerlendirilebilecek bileşiklerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır.

Rasyonlardaki protein düzeyinin düşük olması rasyonun enerji-protein dengesini bozar ve hayvanlar üzerinde stres oluşturur. Stres faktörlerinin olduğu bazı olumsuz durumlarda serbest radikal üretimi aşırı düzeyde artarak endojen antioksidan havuzunu tüketebilir. Bu durumda antioksidan sistemi destekleyen yem katkı maddeleri katılabilmektedir. Çam kabuğu ekstraktı da içerdiği fenolik bileşikleriyle antioksidan özellik taşımaktadır.

Ayrıca aromatik bileşiklerin alginat ile enkapsüle edilmesi, aktif maddelerin çevre şartlarından ve mide asitinden etkilenmeden ince bağırsağa ulaşmalarını sağlamak ve biyo yararlanılabilirliklerini artırmaktadır. Bu tez çalışmasında da çam kabuğu ekstraktı ve alginat ile enkapsüle edilmiş çam kabuğu ekstraktı birlikte araştırılmıştır.

Yürütülen bu çalışma ile normal ve protein düzeyi düşük etlik piliç rasyonlarına çam kabuğu ekstraktı ve alginat ile enkapsüle edilen çam kabuğu ekstraktının ilavesinin; performans, karkas randımanı, antioksidan kapasite, göğüs etinde lipid peroksidasyon, kesim sonrası pH değerleri, ayrıca kanda bazı biyokimyasal parametreler ve bağırsak histomorfolojisine yönelik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu alanda ileride yapılacak çalışmalara veri sunmak ve giderek artan antimikrobiyal direnç sorununa karşı antibiyotiklere alternatif ürünler sunulmasına katkı sağlayarak ticari üretim süreçlerine fayda sağlamak hedeflenmektedir.

Tez çalışmamda deneyimleri, değerli görüş ve katkıları ile bana yardımcı olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN'a, önerileri ile ben yönlendiren Sayın Prof. Dr. Sakine YALÇIN ve Sayın Prof. Dr. Emel ERGÜN'e, ilgi ve desteğini esirgemeyen değerli hocalarıma, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı tüm çalışanlarına ve emekleri geçen yüksek lisans/doktora öğrencisi arkadaşlara, tezimin histoloj ile ilgili kısımlarında yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı hocalarıma ve Prof. Dr. Alev Gürol Bayraktaroğlu'na, öğrenim hayatım boyunca her türlü desteği gösteren ve yardımcı olan AİLEM'e en içten teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AChE	Asetilkolinesteraz
ACTH	Adrenokortikotropin
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanine Aminotransferase
AMD	Antimikrobiyal direnç
AST	Aspartate Aminotransferase
BChE	Bütirilkolinesteraz
BHA	Bütillenmiş hidroksianisol
BHT	Bütillenmiş hidroksitoluen
CAT	Katalaz
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
DMPD	Dimetil-p-fenilendiamin
DPPH	Difenil-1-pikrilhidrazil
EPEF	Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
GAE	Gallik asit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyonun indirgenmiş formu
KH ₂ PO ₄	Potasyum dihidrojen fosfat
KD	Kript derinliği
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LOO [•]	Lipid peroksit radikalleri
LOOH	Lipid peroksitleri
MDA	Malondialdehit
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
O ₂ ⁻	Süperoksit
1O ₂	Tekli Oksijen
ORAC	Oksijen radikal absorbans kapasite
ROS	Reaktif oksijen radikalleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SR	Serbest Radikaller
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürat reaktif maddeler
VY	Villus yüksekliği
YDO	Yem dönüşüm oranı

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Enkapsülasyon cihazı (BUCHI B-390)	30
Şekil 2.2. Enkapsülasyon çalışması	30
Şekil 2.3. In vitro salım çalışmaları	35
Şekil 3.1. Gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi	56



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Çam kabuğu ekstraktının kompozisyonu	7
Çizelge 2.1.1. Gruplarda deneme düzeni	27
Çizelge 2.1.2. Rasyonların içeriği ve hesapla bulunan besin madde bileşimleri ile metabolize olabilir enerji değerleri	28
Çizelge 3.1. Kontrol ve deneme gruplarının besin madde bileşimleri ile metabolize olabilir enerji değerleri	42
Çizelge 3.2. Kontrol ve deneme gruplarında canlı ağırlık ortalamaları, (g)	43
Çizelge 3.3. Kontrol ve deneme gruplarında canlı ağırlık artış ortalamaları, (g)	44
Çizelge 3.4. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama yem tüketimleri, (g)	45
Çizelge 3.5. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama yem dönüşüm oranları, kg yem/kg CAA	46
Çizelge 3.6. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama kesim ve karkas ağırlığı, (g), karkas randımanı (%) ile EPEF değerleri,	47
Çizelge 3.7. Gruplar arası ölüm oranları ve yaşam gücü değerleri	48
Çizelge 3.8. Kontrol ve deneme gruplarında bazı iç organ ağırlıkları ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranları	49
Çizelge 3.9. Kontrol ve deneme gruplarında kan serumunda bazı biyokimyasal parametreler	50
Çizelge 3.10. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama but eti ve göğüs eti pH değerleri	51
Çizelge 3.11. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama ince bağırsak, bezli mide, taşlık ortalama pH değerleri	52
Çizelge 3.12. Kontrol ve deneme gruplarında göğüs eti ortalama TBARS değerleri	53
Çizelge 3.13. Kontrol ve deneme gruplarında dışkı ve altlık kuru madde değerleri ve amonyak düzeyleri (mmol/l)	54
Çizelge 3.14. ÇKE ve KÇKE'nin toplam fenolik madde düzeyleri	55
Çizelge 3.15. KÇKE'nin yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon verimliliği, (%)	55
Çizelge 3.16. KÇKE'nin invitro salım değerleri, (%)	55

Çizelge 3.17. Kontrol ve deneme grupları rasyonlarının 21. gün jejunum ve ileum histomorfolojisine etkisi, (μm)

57

Çizelge 3.18. Kontrol ve deneme grupları rasyonlarının 41. gün jejunum ve ileum histomorfolojisine etkisi, (μm)

58



1. GİRİŞ

Dünya nüfusu giderek çoğalmakta ve artan nüfusun yeterli ve dengeli beslenmesinin sağlanmasında kanatlı eti önemli bir yer tutmaktadır. Nüfus artışıyla ilişkili olarak kanatlı eti tüketimi de artmaktadır. Kanatlı eti tüketimindeki artışa bağlı olarak kanatlı üretimi her geçen yıl artmakta ve kanatlı üretimindeki artış diğer hayvansal protein kaynaklarına göre daha fazla olmaktadır. FAO Dünya Gıda Piyasaları Raporu Kasım-2019'a göre; kanatlı sektöründe dünya genelinde 2018 yılına göre 2019 yılında %4.7'lik büyüme olduğu belirtilmiştir. Dünya kanatlı eti üretiminin 2018 yılında 124.618.000 ton olarak gerçekleştiği ve 2019 yılında 130.500 000 ton gibi bir rakama ulaştığı bildirilmiştir. Raporda 2019 yılı için, Dünya kanatlı eti üretimindeki büyümenin en fazla olarak Çin, AB ülkeleri, Brezilya, ABD ve Meksika, Türkiye, ve Tayland'da gerçekleştiği görülmektedir. İhracat faaliyetleri için de 2019 yılında Dünya genelinde kanatlı eti ihracatının yaklaşık %80'inin Brezilya, ABD, AB ülkeleri, Tayland, Türkiye, Ukrayna ve Çin tarafından yapıldığı yer almaktadır (FAO, 2019).

Ülkemizde kanatlı sektörü ekonomiye katkısı olan büyük bir sektördür. 2018 yılı ülkemiz kanatlı hayvan varlığının %64'ünü et tavuğu, %35'ini yumurta tavuğu %1'lik kısmını ise hindi, ördek ve kaz gibi diğer kanatlılar teşkil etmektedir. 2018 yılında kanatlı eti üretimi toplamı yaklaşık 2,2 milyon ton yumurta üretimi yaklaşık 20 milyar adet olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2019). Beyaz et ihracatı 500 bin tonu aşmıştır. 2019 yılı içinde kanatlı eti üretimi toplamı yaklaşık 2,4 milyon ton (BESD-BİR, 2020), yumurta üretimi yaklaşık 22 milyar adet olarak belirtilmiştir. Görüldüğü üzere hayvansal protein kaynakları arasında kanatlı ürünleri ülkemizde ve tüm dünyada önemli yer tutmaktadır.

Kanatlı yetiştiriciliğinde genel duruma müdahale eden tüm faktörler stres etkenleri olarak değerlendirilmekte ve kanatlının bu etkenlerle mücadele etmesi stres

oluşumuna neden olmaktadır. Pratik olarak gaga kesimi, aşılama, tartım, yer değiştirmeler, aşırı kalabalıkta yetiştirme veya yanlış havalandırma gibi hatalı yönetim şartları, kanatlılara verilen rasyonun yüksek üretim hızı gerekliliklerini sağlamaması, rasyon dengesizlikleri gibi faktörler ‘önlenebilir stres veya kaçınılmaz stres’e yol açan durumlardır. Kanatlılarda stresin etkileri gizli seyreder ve kanatlı hayvanlar stresin etkisiyle korku, şok, rahatsızlık, yoksunluk, ağrı ve daha pek çok negatif uyarımların etkisi altında kalabilir. Bu durumlar da yetiştiricilikte verim kaybı ve performans düşüklüğüne neden olur. Bundan dolayı iyi bakım ve besleme uygulamaları ile her türlü önlenebilir stresin yok edilmesi ve kaçınılmaz olanların ise azaltılmaya çalışılması yetiştiriciliğin ekonomik olmasında esas teşkil etmektedir.

Son zamanlarda özellikle gıda değeri olan hayvanlarda kullanılan ilaçların gıdalar yoluyla insanları etkilemesi ve istenmeyen bir takım olumsuzluklara sebep olabileceğine yönelik tartışmalar gündemdeki bir konudur. Bu hususta karşımıza çıkan en önemli konu antibiyotik dirençliliğidir. Bu da bakterilerin antibiyotik kullanımına daha az duyarlı veya bağışık hale gelmesi anlamına gelmektedir. Günümüzde antibiyotik direnç sorunundan ötürü zaman zaman insanlar ve hayvanlarda iyileşmesi beklenen bakteriyel infeksiyonların sağaltımı gerçekleşmemekte, hastalık ve ölüm insidansı artışı ile karşılaşılmaktadır.

Antibiyotikler hastalıkların önlenmesi ve tedavide her ne kadar gerekli olsalar da, gereksiz ve yanlış kullanımları sonucu antimikrobiyal direnç (AMD) gelişimi günümüzde tüm dünyada insan sağlığını tehdit eden en önemli sorunlardan biri olarak gösterilmektedir. 2011 yılında Dünya Sağlık Teşkilatı Avrupa Bölge Ofisi AMD konusunda bölgesel strateji geliştirmiş ve 7 stratejik hedef belirlemiştir. Ulusal düzeyde 7 stratejik hedef;

1. İlgili sektörler arası koordinasyonun güçlendirilmesi,
2. Antibiyotik direncin izlenmesinin sağlanması ve güçlendirilmesi,

3. Akılcı antibiyotik kullanımına yönelik stratejilerin organize edilmesi ve antibiyotik kullanımının izlenmesinin güçlendirilmesi,
4. Sağlık hizmetlerine bağlı antibiyotik direnç kontrol ve izlenmesinin güçlendirilmesi,
5. Gıda zincirindeki antibiyotik direnç gelişiminin ve yayılımının kontrolü ve önlenmesi,
6. Yeni ilaçlar ve teknolojilere yönelik araştırma ve yeniliklerin organize edilmesi,
7. İşbirliği, hasta güvenliği ve farkındalığın geliştirilmesidir.

Bu 7 stratejik hedefe bağlı olarak Avrupa Birliği (AB) üyesi ülkelerin insan sağlığı ve veteriner hekimlik alanlarını içeren ulusal stratejilerini ve eylem planlarını geliştirmesi kararlaştırılmıştır. Konu önemi dolayısıyla Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO), Dünya Hayvan Sağlığı Teşkilatı (OIE) ve FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı) tarafından ele alınmış, her bir kuruluş Antimikrobiyal Dirençle Mücadele amacıyla Strateji Belgeleri hazırlamıştır. 2014 yılı Birleşik Krallık hükümeti antimikrobiyal direnç raporu 2050 yılı projeksiyonunda, 10 milyon insanın antibiyotik dirençliliği nedeniyle hayatını kaybedebileceği ön görülmüş ve bu durumun kanserden daha büyük bir tehlike olarak karşımıza çıkacağı dile getirilmiştir. Dünya Sağlık Teşkilatı tarafından yayımlanan 'Antimikrobiyal Direnç Küresel Raporu'nda, antibiyotik direnç sorununun önemi ortaya konulmuş, acilen ele alınması gereken bir tehdit oluşturabileceği belirtilmiştir. Ayrıca 2016 yılı Birleşmiş Milletler (BM) Yüksek Düzeyli Toplantısı'nda Antimikrobiyal direnç konusu ele alınmış ve bu konu AIDS, Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar ve Ebola'dan sonra BM gündemine taşınan 4. sağlık konusu olmuştur.

AB, 2016 yılında 'Antimikrobiyal Dirençle Mücadele Eylem Planı' nı yeniden gözden geçirerek 'Antimikrobiyal Dirençle Mücadelede AB Tek Sağlık Yeni Eylem Planı' adlı planı yayımlanmıştır. Bu plan üç ana konu başlığı üzerine yapılandırılmıştır. Bu başlıklar:

1. AB ülkelerini antimikrobiyal dirençle mücadele uygulamalarının en iyi yürütüldüğü bölge haline getirmek,
2. Antimikrobiyallere alternatif yöntemler geliştirmek, araştırmalar yürütmek,
3. Antimikrobiyal Dirençle Mücadelede global yeni planlar oluşturmaktır.

'Antimikrobiyallere alternatif yöntemler geliştirmek, araştırmalar yürütmek' başlığı, antibiyotiklere alternatif olabilecek maddeler üzerinde yoğunlaşmaktadır. Son zamanlarda antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımının yasaklanması yanında, doğal ve sağlıklı gıdalara olan talebin artması sonucu tüm dünyada alternatif yem katkı maddesi arayışı daha da önem kazanmıştır. AB planı'nda yer alan bu başlıkta, bu arayışa yeni bir bakış açısı daha kazandırmış ve alternatif yem katkı maddeleri kullanımlarının önemini bir kat daha artırmıştır. Bu amaçlarla günümüzde 'probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler, esansiyel yağlar, aromatik bitkiler ve ekstraktları vb. katkıların' ayrı ayrı veya birlikte kullanımları alternatif katkı maddeleri arayışına cevap olabilmek için yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Bu gelişmeler antimikrobiyal dirençle mücadelede hayvan kaynaklı yayılımın önlenmesindeki başarı için temel teşkil etmektedir. Bu hususta polifenolik bileşiklerce zengin, antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, hipokolesterolemik ve antiviral etkileri belirtilen çam kabuğu ekstraktı da alternatif kullanımlarda değerlendirilebilecek aromatik bir bileşik olarak karşımıza çıkmaktadır.

1.1. Çam Kabuğu Ekstraktı

Çam kabuğu özünün, 450 yıllık bir efsaneye sahip olduğu kaynaklarda geçmektedir. 1534'de, kaşif Jacques Cartier liderliğindeki bir Fransız gemisinin Quebec, Kanada yakınlarındaki buzda mahsur kaldığı, bu sırada geminin mürettebatın da diyetlerindeki C vitamini eksikliğinden ötürü ciddi bir şekilde

iskorbüt hastalığı görüldüğü rapor edilmiştir. Bu durumda Quebecli bir Hintli'nin, mürettebata çam kabuğu ve iğnelerden bir içecek yapmalarını önerdiği ve böylece ekibin kurtarıldığı belirtilmiştir. Dört yüzyıl sonra 1950'lerde, Jacques Masquelier adlı bir Fransız araştırmacı, Kanada'da araştırma yaparken Cartier'in hikayesini öğrenmiş ve bu çözüm yolunun etkinliğinin nedenini araştırmıştır. Çam kabuğu'nun bileşiminde bulunan bir maddenin vücutta antioksidan görevi gördüğü ve çam iğnelerinde bulunan C vitamininin etkinliğini artırdığı sonucuna varmıştır. Jacques Masquelier çam ağaçlarının kabuğu ile çalışmalarına uzun yıllar devam etmiştir ve çam kabuğu ekstraktını pycnogenol (piknogenol) olarak adlandırmıştır. Pknogenol® (pycnogenol) ticari markası 1987'de Amerika Birleşik Devletlerinde 5720956 ve 6372266 numaraları ile iki patent almıştır ve ardından da pekçok ülkede patentlendirilmiştir. Patentli ekstraktın antioksidan özelliklere sahip olduğu yasal olarak iddia edilebilir hal almıştır. Pknogenol®'ün insanlarda günlük kullanım miktarı 50 mg (1-2 kapsül) olarak önerildiği bildirilmiş ve doktor tavsiyesine bağlı olan kullanım durumlarında 300 mg ya da fazla kullanılabileceği de belirtilmiştir (Longe, 2005). Pknogenol®'ün ticari olarak 20-100 mg'lık tablet ve kapsüllerinin ayrıca, 5 mg etken madde içeren sakızlarının ve tek kullanımda 2 mg etken madde içeren sprey formülasyonlarının olduğu ve piknogenol içeren kozmetik ürünlerin dünyada yaygın olarak kullanımda olduğu bildirilmiştir (Rohdewald, 2005).

Çam kabuğu ekstraktı (piknogenol), çam ağacının kabuklarından elde edilir. Yaygın olarak *Pinus maritime* olarak bilinen Fransız sahil çamı-*Pinus pinaster*den elde edilen prosiyanidler karışımının generik adıdır. Sahil çamı çamgiller (Pinaceae) ailesindendir. Genel olarak Fransa ve Portekiz'in Atlantik kıyılarından başlar, Yunanistan ve Ege kıyılarına kadar olan sahillerde görülen çam türüdür. Ülkemizde sahil ve kumul alanların ağaçlandırılmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Sahil çamı 30 metre boylarında, genç yaşlarında piramidal, yaşlandıkça dağınık tepeli, yüksek nisbi neme ihtiyaç duymayan çam türüdür. İğne yapraklar ikili yapıda olup 10-20 cm uzunluğunda parlak yeşil renklidir. İğne yapraklarının büyüklüğü ile

diğer çamlardan kolayca ayrılır. Gövdesindeki kabuk ileriki yaşlarda derin çatlaklı ve kırmızı kahverengi renklidir.

Piknogenol® ekstraktı temizlenmiş, ayıklanmış, kırılmış çam kabuklarından hazırlanmaktadır. Patentli ekstraksiyon zincirinde etanol ve su solvent olarak kullanılarak pekçok aşamalı proses uygulanır. Saflaştırılmış sulu ekstrakt sprey kurutma yöntemi ile kurutulur ve ekşi tadı ve aromatic kokusu ile koyu kahverengi renkli bir toz görünümü sergiler. Ekstrakt su, methanol ve etanolde çözünürken yağda çözünmez veya az miktarda çözünür özelliktedir. 1000 kg çam kabuğundan 1 kg çam kabuğu ekstraktı-piknogenol üretildiği bildirilmiştir (Rohdewald, 2005).

Çam kabuğu ekstraktı (ÇKE)'nin kimyasal tanımlama çalışmaları yapısının başlıca prosiyadinler ve fenolik asitten oluştuğunu göstermektedir. Prosiyadinler kateşin ve epikateşin biyopolimerleri olup, beslenmede önemli bileşenlerdir. ÇKE'nin monomerik kateşin ayrıca 7 ve daha fazla flavonoid ünitesi içeren taksifolin olmak üzere çeşitli prosiyanidin varieteleri içerdiği belirtilmiştir (Rohdewald, 2002).

Piknogenol®'ün kalitesi USP 28 monografında belirlenmiştir. Buna göre yapısında %70+/-5 kateşin ve epikateşin tanninlerinden oluşan prosiyanidler bulunmaktadır (USP, 2005). Ayrıca ağırlıkça %8 oranında flavonoid monomerleri içermektedir (Rice-Evans ve ark., 1996). Yapısında ayrıca benzoik veya sinamik asit ve bunların glikozitleri ile polifenolik monomerler yer almaktadır (D'andrea, 2010; Rohdewald, 2002). Piknogenolün tanımlanmasında ve analizinde prosiyanidinler, taksifolin, ferulik asit, kateşin ve kafeik asit esas kabul edilen bileşenlerdir (USP, 2005). Çam kabuğu ekstraktının kompozisyonu Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Çam kabuğu ekstraktının kompozisyonu, (%)

Çam kabuğu ekstraktı		
Bileşim		Düzye %
Prosiyanidinler	Kateşin	70 +/-5
	Epikateşin	
Kafeik asit		0,2
Flavonoid		8
Taksifolin		1,4
Ferulik asit		0,3

(Rice-Evans ve ark., 1996; USP, 2005)

Kurlbaum ve Högger, (2011) ÇKE'nin bileşimindeki polifenollerin plazma proteinlerine bağlanma düzeylerine açıklık getirmek ve ekstraktın biyoaktivitesinin anlaşılmasına esas teşkil edecek veriler sağlamak amaçlarıyla yaptıkları bir çalışmada; insan kan plazma örneklerinde flavonoidlerden kateşin ve toksifolinin plazma proteinlerine bağlanma düzeyinin %100'e yakın olduğu, bunları %73,5+/-0,12 ile prosiyadin B1 ve sinnamik asit derivesi ferulik asitin izlediği, ardından da %66+/-0,23 ile kafeik asit ve %65,4+/-4,84 ile p-kumarik asitin izlediğinin saptandığı bildirilmiştir. Benzoik asit derivesi vanillik asitte %56,3+/- 1,16; p-hidroksi benzoik asit %35,3+/-10,9; gallik asit %31,6+/-0,56 ve patakateşik asitte %20,7+/-0,09 ile plazma proteinlerine daha düşük bağlanma kapasitesi ölçüldüğü belirtilmiştir. En düşük bağlanma kapasitesinin ise valerolaktone metabolitlerinde görüldüğü bildirilmiştir.

İnsanlarda ÇKE'nin oral uygulanmasının akabinde akut ve kronik toksisitenin çok düşük yüzdelerde olduğu bildirilmektedir. ÇKE'nin yapısındaki ferulik asit ve taksifolin bileşenlerinin erkeklerde hızla emilerek, glukoronidler ya da sülfatlara salgılandığı, prosiyadinlerin ise; yavaşça emilerek glukoronidler olarak salgılanan valerolaktone metabolize olduğu belirtilmiştir (Rohdewald, 2002). Klinik çalışmalarla çam kabuğu ekstraktının kronik venöz yetmezlik ve retinal mikro

kanamaların tedavisinde etkili olduğunun gösterildiği bildirilmektedir. Hayvanlarda in vitro ve in vivo olarak antienflamatuvar aktivitesinin ortaya konuğundan da bahsedilmektedir. Ayrıca ÇKE'nin hücre içi antioksidan enzimlerin sentezini katlandırarak ve güçlü bir serbest radikal avcısı gibi davranarak pekçok hücre sistemlerini oksidatif strese karşı koruduğu ve Vitamin C ile E'nin tekrar üretilmesi ve korunmasında olumlu roller içerdđi belirtilmektedir.

1.2. Stres ve Stres Faktörleri

Stres, organizmanın stres faktörlerine karşı kendisini koruma mekanizmasıdır (Freeman, 1987). Diğer bir ifade ile, organizmanın dengesini bozan çeşitli uyarılara karşı göstermiş olduğu, anatomik, fizyolojik ve davranışsal değişikliklerdir (Yarsan ve Güleç, 2003).

Stres Faktörleri; 'iklimsel (havanın durumu vb.), çevresel (aydınlıkta durumu, taşıma vb.), yeme bağlı (besin maddelerinin az/fazla olması, vb.), fizyolojik (elektrik şoku ve anestezi vb.), fiziksel (hareketsizlik, hayvanlara yeterli alan sağlanmaması vb.), sosyal (sürüdeki değişiklikler vb.), psikolojik (korku vb.)' gibi hayvanların vücut dengesini tehdit eden iç ya da dış sebepli olaylardır (Freeman, 1987).

Organizmada strese cevap oluşturulması süreci 3 aşamalı olarak gerçekteşmektedir. Stres faktörünün vücut tarafından anlaşılması ile başlar ardından organizmanın savunma mekanizması devreye girer ve ardından strese cevap oluşur. Bu cevabın merkezi sinir sistemi tarafından vücut dengesini bozucu bir uyarı olarak algılanması ile hipotalamus etkilenir ve hipofiz bezinden adrenokortikotropin (ACTH) salgılanır. Kan dolaşımına karışan ACTH adrenal korteksi direkt olarak etkiler ve glikosteroid hormonlarının salınmasına neden olur. Salgılanan kortikosteronlar hücrelerdeki RNA'yı etkiler ve enzimler ve proteinlerin sentezini

değiştirir ve canlıda çeşitli fizyolojik değişiklikler ortaya çıkar. Kanatlı hayvanlarda stres durumunun immun sistem ve üreme sistemi ile, enerji ve metabolizma dengelerini negatif yönde etkilediği bildirilmiştir (Mench, 1992).

Rasyondaki temel besin maddelerinden biri olan proteinlerin eksikliği, fazlalığı ya da rasyondaki diğer temel besin maddeleri ile arasında belirli bir oran olmaması durumları da kanatlı hayvanlar için stres oluşturan faktörler arasındadır. Stres faktörleri kanatlı hayvanların, virus, bakteri ve protozoalara karşı hassasiyetini artırmakta ayrıca verim düşüklüğüne neden olmaktadır. Bu sebeple kanatlı yetiştiriciliğinin ekonomikliğinde strese neden olacak faktörler istenmeyen durumlar olarak karşımıza çıkmaktadır.

1.3. Proteinler ve Kanatlı Beslemedeki Önemi

Proteinler; karbonhidrat, yağ, vitamin ve mineraller gibi diğer besin maddeleri ile birlikte kanatlı rasyonları için son derece önemli temel besin maddeleridir. Dokularının oluşumunun yanı sıra, her biri organizmada özel bir role sahip olan plazma proteinleri; enzimler, hormonlar ve antikorlar gibi metabolik olaylarda fonksiyon göstren yapıların oluşumunda yer alırlar (Cheeke, 2005). Hayvan vücudunda türlere göre değişmekle birlikte ortalama %15-20 arasında bulunurlar. Proteinlerin yapı taşları olan amino asitler rasyonla alınır ve emiliminin ardından kan aracılığıyla dokulara taşınırlar (Pond ve ark., 1995). Proteinler ya da amino asitlerin dokunun yapı maddesi olmasının yanı sıra, immun yanıtların düzenlenmesinde de önemli görevleri vardır. T ve B lenfositler, doğal öldürücü hücreler ve makrofajların cevap oluşturmaları, gen ekspresyonu, hücrelerel redoks, lenfosit artışı, antikorlar ve sitokinlerin üretimi gibi bağışıklık yanıtlarının oluşmasında görevler alırlar (Li ve ark., 2007a).

Kanatlıların bağışıklık sisteminin bir kısmı kuluçka döneminde gelişmektedir. Primer bağışıklık organları olan timus ve bursa fabricusda lenfoid hücreler mevcuttur ve embriyonun 6. gününden itibaren lenfoid hücreler farklı şekillerde timusa hareket ederler. Bu hücreler timusa geçer ve periferel dokularda çoğalırlar (Dibner ve Richards, 2004). Bursa fabricus ve timus bezinin büyümeleri nispeten kanatlının vücut gelişimine göre daha hızlı gerçekleşmektedir, bu nedenle özellikle büyüme döneminin başlangıcında gerekli protein miktarının sağlanması önem taşır. Çünkü bu safhadaki protein yetersizliği lenfoid organların düzensiz gelişimine neden olmaktadır (Demirel ve Peker, 2006). Ayrıca immun yanıtın göstergesi olan immunoglobulin (Ig)'ler valin ve treonin amino asitlerini yüksek düzeyde içerirler ki, bu amino asitlerin yetersizliği de kanatlılarda immun yanıtı zayıflatmaktadır (Demirel ve Peker, 2006).

Kısaca, hayvansal organizmadaki önemi vurgulanmaya çalışılan proteinlerin diyetteki eksikliği durumunda plazmadaki amino asitlerin konsantrasyonunun azaldığı ve immun sistemin zayıfladığı bildirilmektedir. Ayrıca protein noksalığının şiddetine bağlı olarak civcilerde büyümenin yavaşlaması, durması ve/veya ağırlık kaybı görüldüğü, yumurta tavuklarında ise, yumurtanın küçülmesi, yumurta veriminin azalması veya tamamen durması ile karşılaşılabilirdi de uzun süredir bilinmektedir. Hatta protein yetersizliğinin şiddetine ve süresine bağlı olarak tüm hayvanlarda ölüm görülebildiği de belirtilmektedir. Bu nedenle kanatlı hayvanların proteinleri, mutlaka yemlerle alması gerektiği unutulmamalıdır (Kutlu, 2015). Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde yüksek kaliteli protein kaynağı olan yem ham maddelerin varlığı, bu yem maddelerinin amino asit kompozisyonu ile hayvanın yaşama ve verim fonksiyonlarına uygun rasyon formülasyonları oluşturulması önemlidir. Ancak kanatlı hayvanların protein ihtiyaçları ve rasyonların protein düzeyleri ayarlanırken protein kaynaklarının pahalı yem maddeleri olduğu da hatırlanarak dikkatli davranılmalıdır.

Etlik piliç yetiştiriciliğinin ekonomikliğinde rasyondaki besin maddeleri ile rasyonun enerji düzeyi arasında dengenin olması önemlidir (Ravindran, 2005). Kanatlı beslemede protein kaynağı olarak bitkisel ve hayvansal protein kaynakları kullanılmaktadır. Ancak hayvansal protein kaynaklarının kanatlı yemlerinde kullanımının sınırlandırılmasının ardından kanatlı rasyonlarının protein ihtiyacının büyük kısmı bitkisel kaynaklardan karşılanmaktadır. Kanatlı rasyonlarında geleneksel olarak en fazla kullanılan protein kaynağı soyadır. Özellikle de soya küspesi tercih edilmektedir. Ancak soya küspesinin yüksek fiyatı, dünyada ticarete konu olan soyanın çoğunluğunun genetiği değiştirilmiş soya olması nedeniyle alternatif bitkisel protein kaynaklarına talep artmaktadır. Alternatif bitkisel protein kaynakları ile optimum amino asit dengesini sağlamak için sentetik amino asit takviyesi gerekli olabilmektedir (Ravindran, 2013). Optimum canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranının sağlanması ile, immün yanıtın gelişmesi amacıyla sentetik amino asitlerin rasyonlara katılması oldukça yaygın bir uygulamadır (Li ve ark., 2007a). Rasyonlara amino asitler katılırken rasyondaki oranlarının dengesinin sağlanması, hayvanların ihtiyacı düzeyinde ve ekonomiklik durumunun göz önünde bulundurularak ilaveler yapılması önemlidir. Amino asitlerin belirtilen bu hususlara uygun şekilde rasyonlara katılması ile, protein kaynaklarının israfının önlenmesinin hedeflenmesi son zamanlarda önem kazanmış bir yaklaşımdır.

Sentetik amino asitlerin uygun kullanımları ile; rasyon protein düzeyinin azaltılması, pahalı olan protein kaynaklarının kullanımını azaltmakta, böylece birim üretim başına yem maliyetini düşürebilmenin yanı sıra performans iyileşme ve azot atılımının azaltılarak çevre kirliliğinin önlenmesine katkı sağlanmaktadır (Corzo ve ark., 2009). Etlik piliç rasyonları için ideal protein profilinin sağlanmasında, vücut protein sentezi için bir amino asitin diğer amino asite oranını ve dengesini en ekonomik şekilde göz önünde tutan formülasyon tercih edilmelidir. Etlik piliç rasyonlarının ideal amino asit oranları belirlenirken en ekonomik formülasyonun halihazırda optimum sindirilebilir lizin seviyesine göre yapılan ayarlamalarla elde edildiği bildirilmiştir (Sakomura ve ark., 2015; Kidd ve Tillman, 2016). Ayrıca

maksimum sindirilebilir treonin düzeyinin de göz önünde tutulmasının faydalı olduğu belirtilmiştir (Emmert ve Warren, 2000).

Ayrıca düşük proteinli ancak yeterli düzeyde amino asitleri içeren rasyonlarla beslenen etlik piliçlerin gelişiminin geri kaldığı ve aşırı yağlı olduklarının görüldüğü bildirilmiş ve bu nedenle etlik piliç rasyonlarında esansiyel amino asitlerin yanı sıra yeterli düzeyde esansiyel olmayan amino asitlere de gereksinimlerinin olduğu bu nedenle rasyon ham protein düzeyinin dengesinin önemli olduğu belirtilmiştir (Pesti, 2009).

Etlik piliçlerde rasyon protein düzeyi, yem tüketimini etkileyen faktörlerden biridir. Bazı ırklar yüksek proteinli rasyonlarla beslendiğinde yem tüketim seviyeleri aynı kalır ama daha fazla canlı ağırlık artışı sağlarlar böylece yemden yararlanma oranları iyileşir. Bazı ırklar ise; daha az yem tüketip, büyüme seviyelerini aynı tutarak daha iyi yemden yararlanma sağlarlar. Ayrıca rasyon protein düzeyi büyüme ve yemden yararlanmanın yanı sıra; karkas verimi ve özellikle abdominal yağ oranını da etkilemektedir. Özetleyecek olursak; rasyon ham proteini sırasıyla maksimum canlı ağırlık, yemden yararlanma oranında iyileşme, maksimum karkas kalitesi sağlanması ve minimum karkas yağ oranı elde edilmesinde rol oynamaktadır (Pesti, 2009). Etlik piliç rasyonlarında optimum performansı daha ekonomik olarak yakalamak için hem rasyonun esansiyel amino asit ihtiyacı hem de esansiyel olmayan amino asitler için rasyonun ham protein düzeyi göz önünde tutularak rasyonlar hazırlanması gereklidir.

Ayrıca kanatlı hayvan yetiştiriciliğinin ekonomikliğinde rasyondaki ham protein eksikliğinden kaynaklanacak olumsuzlukların tolere edilmesinde son yıllarda pek çok olumlu etkileri dolayısıyla rasyonlara ilave edilen aromatik bileşiklerin ilavesinin nasıl etkilerinin olacağının araştırılmasının da faydalı olacağı anlaşılmıştır.

1.4. Çam Kabuğu Ekstraktının Etkileri

1.4.1. Antioksidan Etki

Çam kabuğu ekstraktı (ÇKE)'nin yapısındaki maddeler çok güçlü antioksidan özellikler gösterirler. Antioksidan özellikleri ile etkili serbest radikallerle savaşır ve dokulardaki oksidatif zararı azaltırlar. Packer ve ark., (1999) ÇKE'nin Avrupa ve Kuzey Amerika'da uzun süreler bazı hastalıklarda geleneksel tedavide kullanıldığını bildirmişlerdir. Pknogenolün reaktif oksijen ve nitrojenlere karşı güçlü serbest radikal uzaklaştırma aktivitesi ve askorbil radikallerin rejenere potansiyeli ile; oksidatif strese endojen vitamin E ve glutasyon korumasıyla kapiller permeabilitenin artışı ve mikrosirkülasyonu güçlendirerek kardiyovasküler fayda sağladığı rapor edilmiştir (Çeliktas ve ark; 2009). Ayrıca lipit, protein ve DNA olmak üzere tüm biyomolekülleri oksidatif hasardan koruyarak, oksidatif stres kaynaklı hastalıklara karşı koruyucu etkili olduğu bildirilmiştir (Maimoona ve ark., 2011; Gulati, 2015). EFSA, (2010) 'Diyetik Ürünler, Beslenme ve Allerjiler Paneli' yayınında, *Pinus pinaster* ekstraktı içeren preparatların bileşimindeki polifenoller dolayısıyla insanlarda antioksidan özellikler ortaya koyup hücre koruyucu etki sağladıkları yönündeki iddiaların onaylandığı yer almış, ayrıca sağlığın korunmasında etkili oldukları belirtilmiştir (EFSA, 2010).

Antioksidanlar, yağların oksidasyonunu yavaşlatan maddelerdir. Oksidatif stresin önlenmesinin yanı sıra hayvansal ürünlerin kalitesinin ve raf ömrünün artması için de antioksidanlar önem taşımaktadır. Antioksidanlar hem laboratuvar koşullarında üretilmiş sentetik, hem de diyetlerden temin edilebilen doğal antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Butile Hidroksitoluen, Bütillenmiş Hidroksianisol gibi sentetik antioksidanlar hayvan ve insan beslenmesinde kullanılmasına karşın, kanserojen ve toksik etkileri nedeniyle bazı ülkelerde kullanımı sınırlandırılmıştır (Sáyago-Ayerdi ve ark., 2009; Vondruskova ve ark.,

2010). Doğal antioksidanlar arasında da vitamin A, vitamin C, vitamin E, fenolik asitler, tokoferoller, flavonoidler, karotenoidler ve peptitler sayılmaktadır (Erbaş ve ark., 2008).

Organizmada gerçekleşen biyokimyasal olaylar ile ortaya çıkan oksitlenme sürecinde serbest radikaller (SR) oluşur ve bunlar oldukça reaktif moleküller olup diğer moleküllerle reaksiyona girip hücrelere ve canlıya zarar verebilirler. Antioksidan bileşikler ise; SR'le reaksiyon oluşturup, hücrelere olan zararlı etkilerini önlemeye çalışırlar. Hücre yıkımını azaltırlar ve daha sağlıklı bir yaşam sürme imkanı sağlarlar. Antioksidan maddelerin bir kısmı gıdalarla alınır. Katalaz, SOD (superoksit dismutaz) ve glutatyon peroksidaz vb. diğer bir kısmı da, organizma tarafından SR'e karşı kendini savunma mekanizması olarak üretilirler ve bu enzimler 'birincil antioksidanlar' olarak adlandırılırlar. Bunlar, SR'in hücre içi yapıları ve besinsel bileşenleri etkilemesini önleyerek SR'lerin bir hücreden diğerine geçişini sınırlandırarak etki gösterirler (Diplock, 1998). Gıdalarla alınan ikincil antioksidanlar ise; vitamin C, E, ürik asit ve polifenoller gibi bileşiklerdir, bunlar oksijen radikalini yakalar ve SR zincir reaksiyonlarını yıkımlayarak etki gösterirler (Ou ve ark., 2002).

1.4.1.1. Serbest Radikallerin Oluşumu, Özellikleri ve Oksidatif Stres

Oksidasyon, temel olarak elektronların bir atomdan diğerine aktarılması olayıdır. Oksijen, enerji üreten elektron akış sistemindeki nihai elektron alıcısıdır (Pietta, 2000). Bununla birlikte hücre içinde eşlenmemiş elektronların aktarımının aksamaması durumunda problemler meydana gelmekte, serbest radikaller (SR) olarak adlandırılan oldukça dayanıksız reaktif atom ve bileşikler şekillenmektedir (Mercan, 2004). Serbest radikaller, eşleşmemiş elektronlara sahip yüksek düzeyde stabil olmayan ve diğer moleküller ile kimyasal reaksiyon gerçekleştirme eğiliminde olan atom, molekül ve iyonlar olarak tanımlanır (Carocho ve Ferreira, 2013).

Metabolizmadaki en önemli SR'ler oksijenden üretilmekte olup ya bir moleküle elektron ilavesi ile kovalent bağın bozulması ya da diğer radikaller tarafından hidrojenin uzaklaştırılması sonucu şekillenmektedir (Mercan, 2004). Oksijenin (O_2)'nin kısmi indirgenmesi ile, hücrelere zararlı etkisi olan serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar ve bu olay 'oksijen peroksidasyonu' olarak tanımlanır (Michael ve Taylor, 1988; Yerer ve Aydoğan, 2000). Oksidanlardan süperoksit, hidroksil alkoksil, peroksil ve hiperoksi radikalleri elektron eksikliği olan radikaller olarak belirtilirken, hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit ve hipoklorit elektron eksikliği olmayan non radikaller olarak belirtilebilmektedir (Özdemir, 1993; Yerer ve Aydoğan, 2000; Kaur ve Kapoor, 2001).

Tüm aerobik hücrelerde oksijen molekülü etrafındaki başka bir molekülden elektron (e^-) alırsa süperoksit radikali meydana gelir. Süperoksit radikali O_2^- 'nin suya indirgenmesi zincirinde ilk oluşan radikal olması dolayısıyla en fazla ve kolaylıkla ortaya çıkan radikal olup, düşük pH düzeylerinde daha reaktiftir $O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$ (Süperoksit). Süperoksit oksijen molekülünün etrafında bulunan başka bir molekülden 2 e^- almasıyla veya süperoksit radikalının bir e^- almasıyla peroksit ortaya çıkar. Peroksit molekülü 2 hidrojen (H^+) atomu ile birleşirse hidrojen peroksit oluşur. Süperoksit radikali bir hidrojen atomu ile birleşirse reaktivitesi yüksek hidroksil radikali oluşur. Biyolojik sistemlerdeki en reaktif radikaldır.

Serbest radikaller çok sayıda biyomolekülle kolayca reaksiyona girerek bir zincir reaksiyonu başlatabilirler. Bu zincir reaksiyonunun durması için yeni şekillenmiş bir radikalın diğer serbest radikaller ile reaksiyona girerek eşlenmemiş elektronları ortadan kaldırması veya bir antioksidan ile reaksiyona girmesi gerekir. Reaktif oksijen radikalleri (ROS)'un 'karsinogenez, kardiyovasküler hastalıklar, kataraktogenez, travma, şok, stres, fiziksel egzersiz, mutasyon, ateroskleroz, diabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklar' gibi pek çok biyolojik olayda işe karıştığı kabul edilmektedir (Fridovich 1999; Halliwell 1999; Toyokuni 1999; Cnubben ve ark 2001). ROS ekzojen kaynaklardan başka mitokondriyal ve mikrozomal elektron

transport sistemi ile araşidonik asit metabolizmasına bağılı olarak her hücrede üretilmektedir. SR'lerde eşleşmemiş elektronlar onlara oldukça fazla reaktiflik kazandırarak, hücrenin DNA, nükleotid koenzimler, protein ve lipidler vb. biyolojik materyaline etki edebilmektedir. Bu etkilerin çeşitli kanser türleri, kalp-damar hastalıkları, immun sistemde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları, yaşlanma, katarak vb. pek çok duruma neden olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Babior, 2000). Ayrıca iyonize edici radyasyonla oluşan SR'lerin DNA hasarı, mutasyon ve hücre ölümü oluşturabileceğı bildirilmiştir.

Lipidler SR'lerden kolaylıkla etkilenirler. Hücre zarlarındaki kolesterol ve yağ asitleri SR'lerle reaksiyona girer ve bu lipid peroksidasyonu olarak tanımlanır. Yağ asitlerindeki çift bağılardan H^+ atomu ayrılması ile yağ asitleri lipid radikaline dönüşür. Lipid radikallerinin O_2 ile etkileşmesiyle lipid peroksit radikalleri ($LOO\bullet$), bunların H^+ atomları alması ile lipid peroksitleri ($LOOH$) oluşur. $LOOH$ yıkımlandığında aldehitler ortaya çıkar. Bu bileşikler organizmada metabolize edilirler ve etkisiz hale gelirler ya da hücrenin diğer bölümlerine yayılıp, hasarı artırırlar. SR'lerin artışı indirekt olarak, lipidler, proteinler ve DNA ile etkileşimleriyle ortaya çıkan ürünlerin ölçülmesi ile belirlenmektedir ve bu amaçla da en çok lipid peroksidasyonu son ürünlerinin ölçümü kullanılmaktadır. Üç ve üçten çok sayıda çiftli bağı bulunduran yağ asitlerinin peroksidasyonunda; kanda ve idrarda ortaya çıkan malondialdehit düzeyi lipidlerin peroksitlenme düzeyi ile birebirlik sergiler. Bundan dolayı kanda veya idrardaki malondialdehit düzeyinin belirlenmesi, lipidlerin peroksit düzeylerinin göstergesi, yani oksidatif stresin bir indikatörü olarak kullanılabilmektedir (Akkuş, 1995).

Proteinler poliansatüre yağ asitlerine göre SR'lere daha az duyarlıdır ancak amino asit kompozisyonlarına bağılı olarak SR'lerden etkilenme düzeyleri değışiklik göstermektedir. Triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi kükürtlü amino asitleri bulunduran proteinler SR'lerden daha kolay etkilenmektedir ve sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller daha kolay oluşmaktadır.

Ayrıca yapısında çok sayıda disülfid bağı bulunan Ig G ve albümin gibi proteinlerde bozulmalar ve fonksiyon kaybı olduğu belirtilmiştir. Prolin ve lizin amino asitlerinin de SR'lerin etkisiyle nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabildikleri bildirilmiştir (Akkuş, 1995).

Hücrel savunma mekanizması aracılığıyla yok edilenden daha çok ROS oluşması veya antioksidan savunmadaki azalma, 'oksidatif stres' olarak tanımlanmaktadır (Cnubben ve ark 2001, Uttaraç ve ark 2009). Organizmada her şey düzenli çalıştığında veya ROS artışına neden olan etkenler olmadığında, düşük düzeyde ortaya çıkan bu etkiler antioksidanlarla yok edilmektedir. Oksidatif stres durumunda ROS miktarları organizmanın temizleme olanaklarını aştığında ise; hücre hasarı meydana gelebileceği de bildirilmektedir. (Ferrari ve ark., 1985; McCord, 1985; Wolf ve ark., 1986).

1.4.1.2. Enzimatik Antioksidanlar

1.4.1.2.1. Süperoksit Dismutaz Enzimi (SOD)

Süperoksit dismutaz enzimi, süperoksit radikallerini H_2O_2 ve oksijene dönüştürerek bu SR'lerin potansiyel substratlarla reaksiyon oluşturmalarını önlemeye çalışır. Süperoksit dismutaz enziminin, bakır-çinko içeren ve mangan içeren olmak üzere iki çeşiti vardır. Bu enzim en yüksek aktiviteyi karaciğer, dalak, böbrek ve adrenal bezlerde göstermektedir. SOD'un aktivitesi dokularda oksijen varlığında gerçekleşen biyosentez ile düzenlenmektedir (Marklund 1984).

1.4.1.2.2. Glutatyon ve Glutatyon Peroksidaz (GPx)

Glutatyon, tiyol grubu içeren tripeptittir, suda çözünebilir özelliktedir ve SR'lerin olumsuz etkilerini önleme veya azaltma da rol oynayan pek çok enzimin substratı olarak görev yapar. Hücre membranlarını lipid peroksidasyonuna karşı enzimatik olarak korur. Glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi, glutatyon'un indirgenmiş formu GSH'yi, H_2O_2 radikali varlığında oksitlenmiş form olan GSSG'ye dönüştürür ve reaksiyon sırasında su çıkışı da olur.

Hücrede sitozol ve mitokondriyal matrikste yer alan GPx'in selenyuma (Se) bağlı ve bağlı olmayan olmak üzere iki çeşiti mevcuttur. Bunlar, H_2O_2 ve organik hidroperoksitlerin redüksiyonlarında görev alırlar. GPx'in selenyuma bağlı tipi sitozolde yer alır ve H_2O_2 'nin düşük konsantrasyonlarında etki gösterir, bağlı olmayan tipi ise; substrat olarak H_2O_2 'yi kullanır (Ivanova ve ark 2015). Glutatyon aynı zamanda enzim katalizörlüğü olmaksızın hücrede tekli oksijen ($1O_2$), süperoksit ($O_2^{\bullet}$) ve hidroksi ($OH^{\bullet}$) radikalleri vb. oksidanlarla reaksiyona girerek onların olumsuz etkilerini azaltmaya çalışır (Larson 1988).

1.4.1.2.3. Katalaz (CAT)

Katalaz pek çok dokuda bulunur ve hücre içi hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda görev alır. Karaciğer, böbrek ve eritrositlerde daha yüksek düzeylerdedir. Bu enzim özellikle hidrojen peroksidin arttığı durumlarda etkilidir ve hidrojen peroksit düzeyine bağlı olarak peroksidatik veya katalitik reaksiyonla hidrojen peroksidin suya dönüştürülmesinde rol alır.

Katalaz daha çok peroksizomlarda lokalize olurken glutatyon peroksidaz sitosol ve mitokondride yer alır ve böylece hücre içi hidrojen peroksit

konsantrasyonun düzenlenmesinde birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler (Onat ve ark., 2006).

1.4.1.2.4. Glutatyon Redüktaz (GR)

Okside glutatyon (GSSG)'un, glutatyon'un indirgenmiş formu (GSH)'ye redükte edilmesinden sorumlu enzimdir. Reaksiyon sırasında GR elektron vericisi olarak NADPH'yi kullanır. Bu nedenle GR, NADPH serbest radikal hasarının engellenmesinde görevli alır. GSH'da GPx tarafından tekrar GSSH'ye dönüştürülür. (Peters-Campo ve ark., 1993).

1.4.1.3. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

SR'leri, radikal ve toksik olmayan moleküllere dönüştürürler. Glutatyon, askorbik asit, melatonin, ürat, sistein, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, myogloblin, hemoglobin, ferritin, albumin ve bilirubin enzimatik olmayan endojen kaynaklı antioksidanlar arasındadır (Finaud, 2006).

1.4.1.4. Eksojen Antioksidanlar

Yağda çözünen bir sekiz stereoizomerli asimetric bir bileşik olan Vitamin E'nin antioksidan kapasitesi oldukça yüksektir. Asimetric formlar arasında en biyoaktif formu olan α tokoferol, hücre membranlarını SR'lerin hasarlarından koruyucu etki gösterir. Vitamin E, genellikle tekli oksijenin çoğunlukla ($\text{OH}^\bullet$) ya da ($\text{O}_2^\bullet$)'ye redüksiyonuyla peroksidasyon zincirini kırarak etkisini gerçekleştirir. Antioksidan kapasitesinin yüksekliği SR'lerin ortadan kaldırılması, onarıcı etki göstermesi ve endojen antioksidanların artışının desteklenmesi mekanizmalarının hepsini kullanmasından kaynaklanır. GPx ve Vitamin E birbirlerini destekleyen etkiyle

çalışır ve GPx'in hücre içindeki koruyucu etkisini, Vitamin E hücre zarında ortaya koyar. Başka bir ifade ile, Vitamin E peroksitlerin oluşumunu engellemeye çalışırken, GPx oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırmaya yönelik etki gösterir (Young ve Woodside, 2001).

Vitamin C, özellikle süperoksit, hidroperoksil, singlet oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ve hipokloröz asit gibi ROS'ların ve reaktif nitrojen türlerinin temizlenmesinde önem arz eder ve böylelikle oksidatif hasarı önleyici etki sergiler (Carr ve Frei, 1999).

Oldukça güçlü bir antioksidan olan melatonin, hidroksil SR'ini indolil katyon radikaline d n şt ken, bu radikalde süperoksit radikalini tutar. Melatonin lipofilik yapıda bir antioksidan olduğundan hücre çekirdeğine ve organellere ulaşarak antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin kanserin ilerleme ve gelişme safhalarını geciktirdiği yönünde bilgiler mevcuttur. Yaşlanma ile organizmada üretimi azaldığı belirtilmiştir (Akkuş, 1995).

1.4.2 Antimikrobiyal Etki ve Diğer Etkiler

 am kabuğu ekstraktı ( KE)'nin yapısında doğal olarak bulunan prosiyanidin bileşikleri dolayısıyla gıda takviyesi olarak kullanılan bir madde olduğu belirtilmiş (EFSA, 2010), antioksidan özelliklerinin yanı sıra antikanserojen, antimutajenik etkilerinin de dikkate değer olduğu (Kocabaş-Hameş ve ark., 2008) ve antimikrobiyal aktivite gösterdikleri bildirilmiştir (Jerez ve ark; 2007). Ayrıca gıda endüstrisi için kimyasal koruyuculara alternatif doğal koruyucu olabileceği  nerisi literatürlerde yer almaktadır (Hammer ve ark., 1999; Tsigarida ve ark., 2000).

Kocabaş-Hameş ve ark., (2008)  KE'nin pişmiş kırmızı etteki *Staphylococcus aureus*  zerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında  KE'nin *S. aureus*'un gıdalarda üreme ve çoğalmasını engelleyici etkisinin olduğunu

belirlediklerini bildirmişlerdir. Yine bir diğer çalışmada da pycnogenolün çiğ sığır etinde tiyobarbitürik asitle ilişkili substansların oluşumunu geciktirdiği ve patojenlerin sayısını etkin bir şekilde düşürdüğü bildirilmiştir (Ahn ve ark., 2007).

Çam kabuğu ekstraktının Gram (+) ve Gram (-) bakteriler dahil pek çok mikroorganizma üzerine antimikrobiyal etkisi literatürlerde geçmektedir (Hao ve ark., 1998; Tsigarida ve ark., 2000). *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Aspergillus oryzae*, ve *Salmonella* spp. vb. 23 patojen mikroorganizma üzerine ÇKE'nin antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı ve sonuç olarak test edilen tüm mikroorganizmalarda bakteri gelişimini inhibe ettiği ve yapılan çalışmada test edilen mikroorganizmalarda minimal inhibitör konsantrasyon aralığının 20-250 µg/mL arasında değişim gösterdiği belirtilmiştir (Torras ve ark., 2005).

ÇKE'nin gastrik hücrelerde *Helicobacter pylori* üzerine antimikrobiyal etkileri olduğu da belirtilmiş, ekstraktın kullanım miktarına bağlı olarak *Helicobacter pylori*'nin üreme ve gelişimi ile gastrik hücreye adhezyonunu inhibe ettiğinin gösterildiği bildirilmiştir (Rohdewald ve Beil, 2008). Ayrıca Molan ve ark., (2009) çalışmalarında ÇKE'nin antikoksidyal aktivitesi olduğundan da bahsetmiş, *Eimeria maxima* sporlarının çam kabuğu ekstraktı ile inhibe olmaya *Eimeria tenella* ve *Eimeria acervulina*'ya göre daha dirençli olduğunu belirtmişlerdir.

Amerika Botanik Konseyi Bilimsel ve Klinik Monografında, (IRS code section 501(c)(3)) ÇKE'nin laboratuvar denemelerinin yanı sıra hayvan ve insan denemelerinin de yapıldığı belirtilerek insanlar için astım, kolestrol, kronik venöz yetmezlik, diabet, endometrit, hipertansiyon, kas krampları, osteoartrit, retinopati durumlarında kullanılması önerilen günlük miktarlara yer verilmiştir (Monograf, 2008). Ayrıca Monografıta ÇKE'nin antienflamatuar etki gösterdiği belirtilmiş ve ROS, nükleer faktör kappa B (NF-κB) aktifleşmesi vb. proenflamatuar prosesleri de etkilediği bildirilmiştir (Monograf, 2008). Cho ve ark., (2001)'da çalışmalarında

ÇKE'nin, NF-κB ve aktivatör protein-1 faktörünü inhibe ederek interlökin-1β ve mRNA düzeylerini kullanım miktarlarına bağlı olarak azalttığını ayrıca; forbol, 1-2 miristat, 1-3 asetat ve iyonomisin ile aktive edilen interlökin-2 gen ekspresyonunu durdurarak etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

ÇKE'nin etlik piliçlerde bağışıklık sistemini düzenleyici etkisine yönelik olarak yürütülmüş bir çalışmada Park ve ark., (2011); *Pinus radiata*'dan elde edilmiş proanticiyonidler civcivlere farklı miktarlarda 2-5 hafta süre ile uygulamış ve 2 haftalık uygulama sonrası periferik kan mononükleer hücrelerinin arttığını, 5 haftalık uygulama sonrası timositlerin artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu etkinin oluşumunda lipopolisakkaritlerin humoral immuniteden sorumlu B hücrelerinin artışında rol oynadığı ve konkanalin A'nın da hücrelerel bağışıklıkta rol oynayan T hücrelerinin aktivasyonu ile görev aldığını belirtmişlerdir. Ayrıca proanthocyanidlerin yardımcı T1 hücreleri sitokinlerinin (interferonların) artışını sağladığı ve T2 sitokinleri ise azalttığını (interlökin 6) bildirmişlerdir.

Cesarone ve ark., (2010)'da ÇKE'nin insanlarda kronik venöz yetmezlik komplikasyonlarını azalttığını ve tolere edilebilirliği artırdığını belirtmişler ve aterosklerozun önleminde de etkili olduğunu bildirilmişlerdir. EFSA, (2013) 'Diyetik Ürünler, Beslenme ve Allerjiler Paneli yayınında, *Pinus pinaster* ekstraktından gelen prosiyadinleri içeren karışım bir preparatın insanlar için LDL kolesterol ve total kolesterol düşürücü etki gösterdiği yönündeki iddiaların onaylandığı yer almıştır (EFSA, 2013).

1.5. Çam Kabuğu Ekstraktının Enkapsülasyonu

Enkapsülasyon bir veya daha fazla maddenin içeriğini korumak veya stabilize etmek amacıyla başka bir madde ile sarmalanması olarak tanımlanmıştır (Madene ve ark., 2006). Mikroenkapsülasyon ise çekirdek material-iç faz olan nitelendirilen aktif

bir maddenin çevresinin, duvar-kabuk materyali olarak belirtilen bir veya daha fazla kaplama maddesi ile kaplı kapsüllerin oluşturulmasında kullanılan bir teknolojidir (Gharsallaoui ve ark., 2007).

Mikrokapsüllerin dış görünüşleri mikroenkapsülasyon tekniğine ve iç fazın fizikokimyasal özellikleri ile, duvar materyalinin bileşimine göre değişim gösterir. Bu teknoloji gıda endüstrisinde de kullanılmaktadır. Bu alanda kaplanan maddeyi nem, sıcaklık, hava ve ışık gibi dış etkenlerden korumak, başka bileşenlerle reaksiyona girmesini önlemek, tat ve kokusunu muhafaza etmek amaçlarıyla tercih edildiği belirtilmektedir (Desai ve Park, 2005).

Son zamanlarda oral kullanılan ilaçlarda etken maddenin midenin asidik pH'sından koruması amacıyla kaplanması önem kazanmıştır. Böylece etken madde daha yüksek pH'lı kolona yönlendirilmekte ve sindirim sistemindeki bu pH farklılıkları kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesinde avantaj sağlamaktadır. Bu teknoloji ile; çekirdek materyal pH'ya duyarlı polimerlerle kaplanır böylece asidik ortamda çözünmez ve pH 6 ve üzerindeki değerlerinde çözünmesi hedeflenir. Kaplama materyali olarak en çok 'aljinat, amiloz, dekstran, guar gum, inülin, kitosan, kondroitin sülfat ve pektin' gibi polisakkaritler kullanıldığı bildirilmiştir. (Türk ve ark., 2006).

Kaplama materyallerinden aljinat, ekstraksiyon yöntemiyle su yosunlarından elde edilen bir polisakkarittir. Bu polisakkaritin gıda ve ilaç sanayilerinde jel oluşturucu, kıvam verici, emülgatör ve stabilizatör olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Vos ve ark, 2010). Aljinat çözeltilerinde çözelti özelliklerinin oluşumunda, en çok görev alan katyon kalsiyumdur. Sodyum aljinat çözeltisine kalsiyum iyonları ilave edildiğinde, kalsiyum iyonları aljinat çözeltisindeki karboksil ve hidroksil gruplarına bağlanır ve "yumurta-kafes" modeli oluşturur. Reaksiyon aljinatın tamamının, kalsiyum aljinata olarak bağlanmasına kadar sürer. Kalsiyum

aljinat, biyoaktif bilşenlerin, ilaçların, proteinlerin kontrollü salınımlarında yaygın olarak tercih edilir. Düşük pH'da dayanıklıdır. Alkali pH'ya sahip olan ince bağırsakta şişerek dağılmaktadır (Yoo ve ark., 2006).

Böceklerin iskeletinde ve kabuklu su hayvanlarında bulunan kitin kullanımı yaygın olan ikinci biyopolimerdir (Guang, 2002). Seyretilik asitler, birçok organik çözücüler ve katyonik özelliği ile pH<6 ortamlarda kolay çözünebilmektedir (George ve Abraham, 2006; Aslı ve Necdet, 2009). İlaç sanayinde de kullanıldığı belirtilen kitinin yara ve doku iyileştirici, ağrı kesici ve antimikrobiyal etkisi bulunduğu bildirilmiştir (Abreu ve ark., 2008; Lee ve ark., 2012).

Bitkisel ürünlerin içeriğindeki polifenolik bileşikler ısı ve ışığa maruz kalma, ortamdaki çeşitli metal iyonları, pH'ın uygun olmaması, ortamda fazla miktarda şeker varlığı durumlarında kolayca oksitlenebilmekte ve etken madde düzeyleri azalmaktadır. Ayrıca fenolik bileşenlerin organizmada hızlı metabolize olup absorpsiyonlarının düşük olması nedeniyle biyoyararlılıkları düşmektedir. Çeşitli fenolik bileşiklerin stabiltesinin ve biyoyararlanılabilirliğinin arttırılmasında enkapsülasyon teknolojisinin faydalı olduğu bildirilmiştir (Çoruhli, 2013). Ayrıca son zamanlarda bitki ekstraktlarındaki fenolik bileşiklerin, nano-enkapsulasyon yöntemiyle korunması, salınımının kontrol altına alınması ve antioksidan özelliklerinin arttırılmasına yönelik araştırmalar yapıldığının bahsi geçmektedir (Mohammedi ve ark., 2016).

Bu çalışma ile; çam kabuğu ekstratı ve alginat ile enkapsüle edilmiş çam kabuğu ekstraktının düşük ve normal proteinli broyler rasyonlarına ilavesinin performans, karkas randımanı, iç organ ağırlıkları, bazı kan parametreleri, göğüs etinde antioksidan kapasite ve bağırsak histomorfolojisi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada düşük proteinli rasyonlar kullanılarak, sahaya yönelik bir modelleme oluşturulmaya çalışılmıştır. Düşük proteinli rasyonlara ÇKE ve KÇKE ilavesiyle, ticari işletmelerde sık karşılaşılan bir durum olan strese bağlı verim kayıplarında ÇKE ve KÇKE'nin kullanılmasının etkileri gözlemlenecek olup; bu araştırmada ülkemizde çam kabuğu ekstraktı ilk kez alginat ile kaplanarak hayvan beslemede kullanılacaktır. Bu çalışmayla ülkemizde üretilen ÇKE ve KÇKE kaynakları kullanılarak elde edilecek verilerin bilimsel alanda ve yetiştiricilik alanında fayda sağlaması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan Materyali

Bir kanatlı işletmesinden temin edilen 288 adet 1 günlük yaşta Ross 308 erkek broyler civciv araştırmanın hayvan materyalini oluşturmuştur. Çalışmada 288 civciv, 48 civcivden oluşan 6 gruba dağıtılmış, bu gruplarda 8 civcivden oluşan 6 alt gruba ayrılmıştır. Normal protein ve düşük proteinli rasyonlarda gruplar, 1 kontrol ve 2 deneme grubu olarak planlanmıştır. Çalışmanın yürütülmesi için ‘Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan 2017-22-178 karar numaralı etik kurul izni alınmıştır, karar ekte yer almaktadır.

2.1.2. Yem Materyali

Hayvanların başlangıç, büyütme ve bitiş dönemleri ihtiyaçlarına uygun olarak oluşturulmuş rasyonlar ‘Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nde hazırlanmıştır. Normal proteinli gruplara 10 günlük yaşta %23 ham protein 3000 kcal/kg metabolik enerji (ME) başlangıç rasyonu, 11-24 günlük yaşta %21.5 ham protein ve 3100 kcal/kg büyütme rasyonu ve 25-41 günlük yaşta %19.5 ham protein ve 3200 kcal/kg ME içeren bitiş rasyonu kullanılmıştır. Düşük proteinli grupların rasyonlarının ham protein düzeyleri başlangıç, büyütme ve bitiş dönemlerinde sırasıyla %20,7-19,4-17,5 düzeyine düşürülmüştür. Diğer besin madde düzeylerinde değişiklik olmamıştır.

Normal ve düşük proteinli grupların kontrol grubu rasyonlarına herhangi bir ilave yapılmazken, deneme grupları rasyonları 100 mg/kg ÇKE* ve KÇKE (kaplanmış çam kabuğu ekstraktı) içerecek şekilde hesaplanarak ilave edilmiştir. Grupların deneme düzeni Çizelge 2.1.1'de, rasyonların içeriği ve hesapla bulunan besin madde bileşimleri ile metabolik enerji değerleri Çizelge 2.1.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.1.1. Gruplarda deneme düzeni

A-Normal Proteinli Gruplar (%100)			B-Düşük Proteinli Gruplar (%90)		
1	2	3	4	5	6
Kontrol (NP-K)	Çam Kabuğu Ekstraktı (NP-ÇKE)	Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı (NP-KÇKE)	Kontrol (DP-K)	Çam Kabuğu Ekstraktı (DP-ÇKE)	Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı (DP-KÇKE)

*Çam kabuğu ekstraktı: Kale Naturel Ltd.Şti, Edremit/Balıkesir /Türkiye

Çizelge 2.1.2. Rasyonların içeriği ve hesapla bulunan besin madde bileşimleri (%) ile metabolize olabilir enerji (kcal/kg) değerleri

Rasyon İçeriği	Normal Proteinli Grup			Düşük Proteinli Grup		
	Günler					
	0-10	11-24	25-41	0-10	11-24	25-41
Mısır	51,17	47	50	56,5	50	52
Tam Yağlı Soya	18	16	15	13	12,2	12
Bitkisel Yağ	1	2	3	1	2,2	2,5
Soya Küspesi	24,97	22,7	18,5	24,4	19	14
Buğday	0	8	9,3	0	12,05	15,1
MCP	2	1,7	1,6	2	1,7	1,6
Kireç taşı	1,8	1,55	1,6	1,8	1,55	1,5
Soda	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Tuz	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
DL-Metiyonin	0,3	0,2	0,2	0,34	0,25	0,25
L-Lizin	0,2	0,15	0,1	0,35	0,35	0,35
Vitamin Premiksi*	0,15	0,20	0,2	0,15	0,20	0,2
Mineral Premiksi**	0,1	0,10	0,1	0,1	0,10	0,1
Antikoksidiyal	0,06	0,0	0,0	0,06	0,0	0,0
Toplam	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Hesapta Bulunan Bileşim						
Ham Protein	23	21,6	19,6	20,7	19,4	17,5
Metabolize Olabilir Enerji	3030	3105	3201	3038	3117	3207
Kalsiyum	1,13	0,98	0,97	1,12	0,96	0,92
Fosfor	0,57	0,50	0,47	0,57	0,50	0,46
Sodyum	0,15	0,19	0,19	0,15	0,19	0,19
Metiyonin+Sistin	1,05	0,91	0,85	1,05	0,89	0,83
Lizin	1,46	1,32	1,15	1,46	1,29	1,16
Treonin	0,89	0,83	0,75	0,82	0,72	0,64
Triptofan	0,30	0,28	0,25	0,28	0,25	0,21
Linoleik asit	3,08	3,34	3,80	2,75	2,81	3,30

*Her kg vitamin mineral karmasında: A Vitamini: 11.000 IU, D₃ Vitamini: 3.500 IU, E Vitamini: 100 mg, K₃ Vitamini: 3mg, Vitamin B₁: 3 mg, B₂: 6 mg, B₆: 4 mg, B₁₂: 0,02 mg, Niacin: 35 mg, Folik asit:1,5 mg, H Vitamini: 0,2 mg, B₅ Vitamini: 15 mg içermektedir. **Her kg mineral karmasında: Mangan: 120 mg, Çinko:110 mg, Bakır: 30 mg, Demir: 50 mg, Kobalt:0,5 mg, İyot: 2 mg, Selenyum:0,3 mg içermektedir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Çam Kabuğu Eksratının Enkapsülasyonu

BUCHI B-390 marka enkapsülatör cihazı ile enkapsülasyon işlemi uygulanmıştır (Şekil 2.1). %0,5; 1; 1,5; 2 konsantrasyonlarında sodyum alginat çözeltisi ve jelleştirici çözelti olarak 0,5; 1; 1,5; 2 M CaCl_2 çeşitli konsantrasyonlarda kullanılarak alginat ile en uygun enkapsülasyon koşulları belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca enkapsülatör cihazında da farklı basınç, sıcaklık ve voltaj koşulları denenerek cihazın optimizasyonu sağlanmaya çalışılmıştır.

Yerli sodyum aljinatın %1 çözeltisi en uygun çalışma koşulları olarak tespit edilmiştir. %1 lik aljinat çözeltisine, çam kabuğu ekstraktının toz formu %1,5 düzeyinde hazırlanarak karıştırılıp homojenize edilmiştir. Karışım bir gece dinlendirilerek yüzeydeki hava kabarcıklarının sönmesi sağlanmıştır. CaCl_2 1,7 M olarak hazırlanmıştır.

Aljinat-ekstrakt karışımı enkapsülatör cihazının şişesine doldurulmuştur, cihazda 1000 μm nozzle, 700 frekans 500 bar basınç ve 700 volt akımın en uygun olduğu tespit edildikten sonra karışım enkapsülasyon cihazından geçirilip, cihazdan CaCl_2 çözeltisi içine püskürtülmesi sağlanmıştır. Bu işlemin ardından CaCl_2 çözeltisi süzülüp oluşan mikrokapsüller deiyonize su ile iyice yıkanmıştır. Süzgeç kağıdı üzerine serilip bekletilerek kurutulmuştur (Şekil 2.2).



Şekil 2.1. Enkapsülasyon Cihazı (BUCHI B-390)



Şekil 2.2. Enkapsülasyon çalışması

2.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini

Çam kabuğu ekstraktı ve aljinatla kaplanmış ekstraktta toplam fenolik madde analizi spektrofotometrik bir yöntem olan Folin-Ciocalteu'ya göre (Singleton ve Rossi, 1965; Singleton ve ark., 1999) yapılmıştır.

ÇKE ve KÇKE'dan 0,5'er gram tartılarak, üzerlerine 1ml HCL çözeltisi eklenip, ultrasonikasyon cihazında 60 sn tutulmuştur. Ardından 3 kez 4 °C'de 5000 rpm de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanıp, işlem sonrası yukarı çıkan sıvı kısımlardan 0,5 ml alınarak üzerine 2,5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş ve karıştırılmıştır. 3 dakika sonra 2 ml %7,5'lik sodyum karbonat eklenerek karanlık bir ortamda 60 dakika bekletilmiştir. Ardından oluşan mavi rengin absorbansı spektrofotometrede (Schimatzu UV-1208) dalga boyu 765 nm olarak ayarlanarak okunmuştur. Gallik asit çözeltileri standart olarak kullanılarak eğri oluşturulmuş ve sonuçlar gallik asit (GAE) eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (GAE mg/g).

2.2.3. Enkapsülasyon Değerlendirmesi

Enkapsülasyonun değerlendirilmesi için, hazırlama verimi, yükleme kapasitesi ve yükleme verimliliği hesaplanmıştır. Hazırlanmış olan aljinat-çam kabuğu enkapsüllerinin yükleme etkinliği nanopartikül tarafından sarmalanarak partikül içinde hapsedilmiş aktif madde miktarının veya enkapsül tarafından çevrelenmemiş dışarda kalmış fenolik bileşik düzeyinin ölçülmesi ile hesaplanabilmektedir.

2.2.3.1. Hazırlama Verimi

Enkapsüllerin hazırlanmasında kullanılan metotların etkinliğini ortaya koymak için enkapsülasyon hazırlama verimi hesaplanmıştır. Bu hesaplama aşağıdaki eşitliğe göre yapılmıştır.

$$\text{Hazırlama Verimi, \%} = (A/B) \times 100$$

A: Elde edilen toplam enkapsül ağırlığı, (mg)

B: Etken madde + Kaplanmış madde ağırlığı, (mg)

2.2.3.2. Yükleme Kapasitesi

KÇKE kapsüllerinden 0,1 g tartılıp üzerine 5 ml sodyum sitrat (%10 w/v) ve 5 ml n-hekzan ilave edilmiştir. Karışımın manyetik karıştırıcıda 37 °C'de 125 rpm hızında 60 dakika süre ile erimesi sağlanmıştır. Ardından ependorf tüplere alınan karışıma 4500 rpm hızında 10 dakika süreyle santrifüj işlemi uygulanmıştır. İşlem bitiminde üst kısımda oluşan berrak sıvıdan alınarak Folin-Ciocalteu yöntemiyle 765 nm dalga boyunda Schimatzu UV-1208 spektrofotometrede konsantrasyon okunmuştur. Gallik asit çözeltisi ile standart eğri oluşturulmuş ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak aşağıdaki eşitlik ile (GAE, mg/kg) hesaplanmıştır (Bal, 2014).

$$\text{Yükleme Kapasitesi, \%} = (A-A_0/B) \times 100$$

A: Toplam aktif madde düzeyi

A₀: Yüklenden kalan aktif madde düzeyi

B: Enkapsül ağırlığı

2.2.3.3. Yükleme Verimliliği

CaCl₂ ile jelleştirilmede enkapsüle olmayan toplam fenolik bileşiklerin Folin-Ciocalteu metoduyla UV-spektrofotometre 765 nm dalga boyunda okunması ile ölçülmüştür. Aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır (Santos ve ark., 2013).

$$\text{Yükleme Verimliliği, \%} = (A-B/A) \times 100$$

A: Toplam aktif madde düzeyi

B: Yüklennmemiş aktif madde düzeyi

2.2.4. In Vitro Salım Çalışmalarının Yapılması

2.2.4.1. Mide Koşullarında İn Vitro Salım Çalışması

Invitro salınım çalışmaları genellikle insan midesine uyarlanarak tasarlanan çalışmaları içermektedir. Kanatlı hayvanlar için bakıldığında, daha az sayıda olmakla beraber kanatlı sindirim sistemi ortamı oluşturulmaya çalışılarak planlanmış çalışmalar ile karşılaşmaktadır (Weurding ve ark., 2001; Stippler ve ark. 2004; Yonsel ve Batum, 2015; Anna ve ark., 2016).

Invitro çalışmaların laboratuvar analizinde kapaklı kuru madde kaplarına 0,1 g KÇKE örnekleri tartılarak başlanmıştır. Çalışma planında dört paralel örnek kullanılmıştır. Sindirim sistemindeki basamaklı sindirimde olduğu gibi çalışma basamak-basamak planlanmıştır, her basamak sonrası alınan bir örnek analiz edilirken, diğer örneklerde diğer sindirim basamakları modeli devam ettirilmiştir.

Midedeki sindirim basamağında yapay mide sıvısı modeli oluşturulurken bazı çalışmalara benzer şekilde pepsinsiz yapay mide sıvısı kullanılmıştır. Enzimsiz mide sıvısı ortamı modeli oluşturmak için 1000 mg NaCl ve %37'lik 3,5 ml HCl distile suyla 500 ml hacme tamamlanıp, pH 1,8'e ayarlanmıştır. KÇKE kapsülleri üzerine hazırlanan karışım ilave edilmiştir ve 42°C'de 50 rpm'de su banyosunda 5 dakika bekletilerek proventrikulus ortamı oluşturulmaya çalışılmıştır. Diğer örneklerde pH 2,5'a ayarlanıp, birkaç cam boncuk atılarak taşlı mide ortamı oluşturulmaya çalışılmıştır ve 25 dakika yüksek devirde çalkalanmıştır. Belirtilmiş süreler sonundaki aşamalarda alınmış olan örnekler Folin-Ciocalteau yöntemi uygulanıp mide ortamına salınan ÇKE'nin konsantrasyonu 765 nm'de spektrofotometre ile okunarak belirlenmeye çalışılmıştır (Lapornik ve ark., 2005). Oluşturulmuş yapay mide koşullarında ekstraktan salınmış toplam polifenol miktarı aşağıdaki formülle hesaplanarak belirlenmiştir.

KÇKE'dan salınmış, % = $\frac{\text{KÇKE'dan ortama salınmış miktar}}{\text{Kapsüldeki başlangıçtaki ekstrakt miktarı}} \times 100$

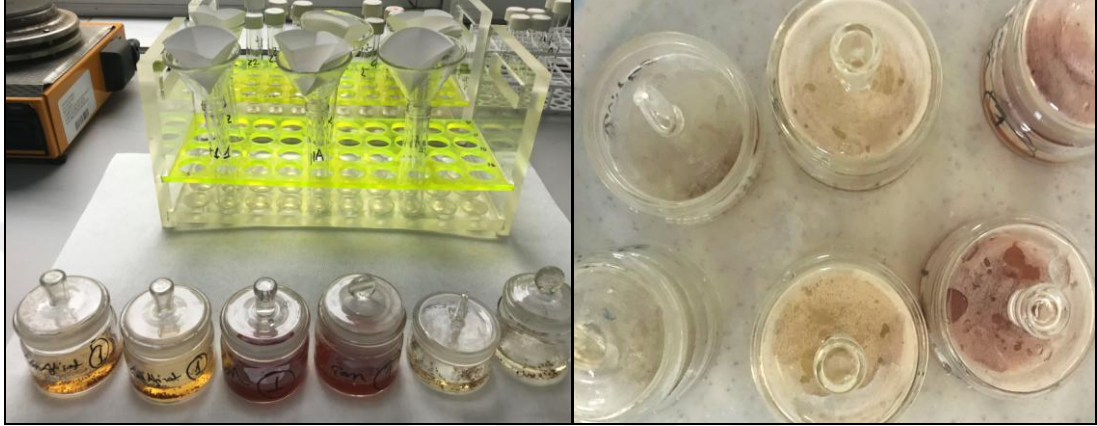
2.2.4.2. Bağırsak Koşullarında In Vitro Salım Çalışması

Yapay bağırsak sıvısı modeli için 680,5 mg potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) ve 89,6 mg sodyum hidroksit (NaOH) suda çözüldükten sonra 100 mL'ye tamamlanıp pH = 6,4' e ayarlanarak pankreatinsiz yapay bağırsak sıvısı hazırlanmıştır.

Yapay mide ortamı koşullarında bekletilmiş örnekler, duodenum ortamı için 42°C'de 50 rpm'de 10 dakika inkübatörde bekletilmiştir. İnce bağırsak ortamı için de pH 6,9'a ayarlanıp 4 saat 42°C'de 50 rpm'de su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Belirtilen süreler sonunda alınan örnekler Folin-Ciocalteau metodu uygulanıp 765 nm'de spektrofotometre ile absorbansı ölçülerek duodenum ve ince

bağırsak ortamına salınmış ÇKE'nin konsantrasyonu aşağıdaki formülle belirlenmiştir (Lapornik ve ark., 2005).

$$\text{KÇKE'dan salınmış, \%} = \frac{\text{KÇKE'dan ortama salınmış miktar}}{\text{Kapsüldeki başlangıçtaki ekstrakt miktarı}} \times 100$$



Şekil 2.3. In vitro salım çalışmaları

2.2.5. Deneme Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi

Deneme 'Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Uygulama Çiftliği, Etlik Piliç Kümesi'nde gerçekleştirilmiştir. Cıvcıvlara grup yemlemesi uygulanarak toplam 41 gün boyunca kontrol ve deneme rasyonları ile *ad libitum* olarak beslenmiştir. Cıvcıvlerin su ihtiyacı *ad libitum* olarak her bölmede yer alan iki adet damla tipi (nipel) sulukla karşılanmıştır. Cıvcıvlerin büyüme dönemlerine göre yemlik ve sulukların yükseklikleri ayarlanmıştır. Deneme gruplarındaki bölmelere altlık olarak odun talaşı serilmiştir. Kümes içinde aydınlatma devamlı sağlanmıştır, gündüz gün ışığı geceleri de ampuller kullanılarak sağlanmıştır. Ortam ısısı elektrikli ısıtıcılar ve klima ile ayarlanmıştır. İlk hafta kümes içi sıcaklık 32-35°C olarak sağlanmıştır. Ardından çalışmanın iki, üç ve dördüncü haftalarında kümes içi sıcaklık 22-24°C'ye ayarlanmıştır ve sonraki

haftalarda deneme sonuna kadar ortam sıcaklık 20⁰C olarak düzenlenmiştir. Havalandırma kümes içinde yer alan 70x90 cm ebatlarında 4 adet pencere ve 40x40 cm boyutlarında üç vantilatör ile sağlanmıştır.

2.2.6. Karma Yemlerin Besin Madde Miktarlarının ve Enerji Düzeylerinin Belirlenmesi

Denemede kullanılmak üzere hazırlanmış konsantre yemlerin ham besin madde düzeyleri AOAC (2000)'de yer alan metotlara göre 'Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda analiz edilmiştir. Kullanılan konsantre yemlerin metabolize olabilir enerji düzeyleri Carpenter ve Clegg (1956)'ya göre hesaplanmıştır.

2.2.7. Canlı Ağırlık Değişiminin Belirlenmesi

Denemenin 0, 10, 21, 31 ve 41. günlerinde çalışmada yer alan broylerler tek tek tartılarak canlı ağırlık (CA)'ları kaydedilmiştir. Süreye bağlı olarak gerçekleşen tartımlar arası değer farklarını kullanarak, alt gruplar arasındaki ortalama CA değişimleri hesaplanmıştır.

2.2.8. Yem Tüketimleri ve Yem Dönüşüm Oranı (YDO)'nun Belirlenmesi

Araştırmada 10, 21, 31 ve 41. günlerde yemliklerde bulunan yem miktarları tartılmıştır. Bu değerler söz konusu on gün içerisinde alt gruplara verilmiş olan toplam yem miktarından düşülerek alt grupların on gün içerisinde tüketmiş olduğu yem miktarı hesaplanmıştır. Belirlenen miktarlar alt gruptaki mevcut broyler adedine bölünüp alt grupların ortalama ne kadar yem tükettikleri belirlenmiştir. Çalışma başlangıcından sonuna kadar birbirini izleyen iki tartım aralığında broylerlerin

tüketmiş olduğu yem miktarlarının, yine aynı iki tartım aralığında tespit edilmiş ortalama CA artışlarına bölünmesi ile alt grupların YDO'ları belirlenmiştir.

2.2.9. Kesim İşlemi

Araştırmanın 41. günü gruplardaki her hayvan tartılarak değerler kaydedilmiştir. Ardından her alt gruptan, canlı ağırlık ortalamalarını temsil edecek 2'şer piliç belirlenmiş ve seçilen hayvanların uygun yöntemlerle kesimi yapılmıştır.

2.2.10. Sıcak Karkas Randımanının Belirlenmesi

Kesim işleminin tamamlanmasının ardından, iç organlar çıkartılıp karkaslar ivedilikle tartılarak sıcak karkas ağırlığı belirlenmiştir. Sıcak karkas randımanı aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Sıcak Karkas Randımanı, \%} = \frac{\text{Sıcak Karkas Ağırlığı (g)}}{\text{Canlı Ağırlık (g)}} \times 100$$

2.2.11. Ölüm Oranının Belirlenmesi

Araştırma süresinde ölen broilerlerin grubu, ölüm tarihi, ölüm nedeni kaydedilerek aşağıda verilen formül ile ölüm oranı tespit edilmiştir.

$$\text{Ölüm Oranı, \%} = \frac{\text{Deneme Boyunca ölen piliç sayısı (adet)}}{\text{Başlangıçtaki civciv sayısı (adet)}} \times 100$$

2.2.12. Yaşam Gücünün Belirlenmesi

Yaşam gücünün belirlenmesinde aşağıda belirtilen formül kullanılarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

$$Yaşam\ Gücü, \% = \frac{Canlı\ piliç\ sayısı\ (adet)}{Başlangıçtaki\ civciv\ sayısı\ (adet)} \times 100$$

2.2.13. Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü'nün (EPEF) Belirlenmesi

Deneme sonunda bütün grupların EPEF (European Production Efficiency Factor-Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü) olarak da belirtilen üretim verimlilik faktörü aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$EPEF, \% = \frac{Canlı\ Ağırlık\ (kg) \times Yaşam\ Gücü\ (\%)}{Yaş\ (gün) \times Yem\ Dönüşüm\ Oranı} \times 100$$

2.2.14. İç Organ Ağırlıklarının Belirlenmesi

Araştırma sonunda her alt gruptan kesilmiş olan 2 hayvana ait kalp, karaciğer, taşlık, bezli mide, dalak, abdominal yağ ile bursa Fabricius kısımları çıkartılarak bezli mide ve taşlık içeriği dokulara zarar vermeden temizlenmiştir. Bu işlemin ardından çıkartılan organlar ± 10 mg'a duyarlı hassas terazi ile ayrı ayrı tartılmış ve ağırlıkları kaydedilmiştir. İç organ ağırlıklarının 100 g canlı ağırlığa bölünmesi ile iç organ ağırlığının 100 g canlı ağırlığa oranları hesaplanmıştır.

2.2.15. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Araştırmanın sonunda kesilen hayvanlardan alınan kan örneklerinde ALT, AST, ALP, toplam kolesterol, HDL, LDL ve trigliserit kan parametreleri özel bir laboratuvarıda otoanalizörde kitlerle ölçülerek belirlenmiştir.

2.2.16. Piliç But ve Göğüs Eti pH Değerinin Belirlenmesi

41. gün sonunda TSE (1997)'de belirtilen parçalama tekniğine uygun olarak kesilen hayvanlar karkaslarının sol göğüs etleri (M. pectoralis majör), kostaların sternuma bağlandığı articulatio sternocostalis'ten ayrılmıştır. Alınan göğüs ve but etleri +4°C'de bekletilerek kesimden sonra 1'nci, 3'üncü ve 7'nci günlerde pH metre (Testo 205 pH Meter) yardımıyla toplam 3 kez beş değişik noktadaki pH ölçülerek değerler kayıt altına alınmıştır.

2.2.17. Piliç Göğüs Eti MDA Değerinin Belirlenmesi

Kesilen her hayvana ait göğüs etlerinden ikişer numune alınmış ve biri +4°C'de 1 gün diğeri ise +4°C'de 3 gün tutulup MDA gerçekleştirilmiştir. MDA analizi için göğüs eti numunelerden 10 g örnek alınıp 97,5 ml distile su ilave edilerek ultra turrax ile homojenizasyon uygulanmıştır. Karışım, kjeldahl tüplerine aktarılıp üzerine 2 ml HCl (6N) çözeltisi ilave edildikten sonra distilasyon uygulanmıştır. Toplanan 50 ml distilattan 5'er ml vida kapaklı cam tüplere alınmış ve üzerlerine 0,02 M, 2-thiobarbütirik asit (TBA) ayırıcından 5 ml ilave edilip 35 dakika kaynar su banyosunda tutulmuştur. Süre sonunda hızlı bir şekilde spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) 530 nm'de değerler ölçülmüştür. Ölçülen absorbanslar "K" katsayısı (K=7,8) ile çarpılıp, mg malonaldehit/kg olarak TBARS değeri 1. gün ve 3.gün örnekleri için hesaplanmıştır (Tarladgis ve ark., 1960).

2.2.18. Dışkı ve Altık Kuru Maddesinin Belirlenmesi

Denemenin 41. günü bölmelere naylon örtü serilip dışkılar toplanmıştır. Toplanan dışkılar AOAC (2000)'ne göre, kuru darası bilinen petri kaplarına tartılıp, 105°C'de 8 saat kurutma fırınında kurutulmuştur. Kurutma işlemini müteakiben petri kapları desikatöre alınıp soğutulup hassas terazi aracılığıyla tartılarak kuru madde düzeyi belirlenmiştir.

2.2.19. Dışkı ve Altıkta Amonyak Düzeyinin Belirlenmesi

Dışkı ve altık örneklerinde $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu indofenol mavisi metoduyla; spektrofotometre yardımıyla (Shimadzu UV-1208) 546 nm dalga boyunda ölçülerek belirlenmiştir.

2.2.20. Histomorfolojik Analizler

Denemenin 21 ve 41. günlerinde her bir alt gruptan iki adet etlik piliç (her bir grup için 12 adet hayvan) kesilerek bağırsakları karkasdan ayrılmıştır. Doku örneklerinde her hayvanda bir örnekliğin sağlanması için jejunum numunesi Meckel divertikulumun 80 mm üstünden, ileum numunesi ise, ileosekal bağlantı kısmının 80 mm üstünden alınmıştır. Alınan 10 mm ebatındaki parçacıklar fizyolojik tuzlu su (FTS) ile yıkanıp, %10 tamponlu formolde 24 saat bırakılmıştır. Ardından alkol ve ksilolden geçilip paraplastta bloklanmıştır. Bloklardan kesitler alınıp Crossman'ın üçlü boyaması uygulanmıştır. Hazırlanan preparatlarda villus yüksekliği (villusun en üst kısmından noktasından kript başlangıcına kadar), kript derinliği (kriptin en dip noktasından kriptin başlangıcına kadar) ve villus yüksekliği/kript derinliği oranı belirlenmiştir. Her bir bağırsak kesiti için 10'ar adet villus ve kript seçilip kamera sistemi ve Cellsens CS-ST-V1.8 (Standart) yazılımı kullanılarak ölçüm sağlanmıştır.

(Applegate ve ark., 1999; Xu ve ark., 2003; Li ve ark., 2007b). Bu analiz ‘Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı’nda gerçekleştirilmiştir.

2.2.21. İstatistiksel Analizler

Canlı ağırlık, yem tüketimi, YDO ve EPEF, karkas randımanı ile iç organların ağırlıkları, serum biyokimyasal parametreleri, göğüs eti ve but etindeki pH ile göğüs etinde MDA değerleri, ince bağırsak, bezli mide, taşlık pH değerleri ve histomorfolojik analizler bakımından gruplar arasında fark olup olmadığının tespiti açısından İki Yönlü Varyans Analizi, gruplarda ölüm oranı ve yaşam gücü açısından farklılığın araştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi kullanılmıştır. Gruplar arasında farkın istatistiki açıdan anlamlı olup olmadığının tespiti için de Tukey testi uygulanmıştır (Dawson ve Trapp, 2001). Deneme verileri SPSS 22 (Inc., Chicago II, USA) bilgisayar programı kullanılarak sonuçlar %95 güven aralığında istatistiki açıdan değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Rasyonların Besin Madde Bileşimi

Çalışmamızda kullanılan kontrol ve deneme grubu yemlerinin analiz ile bulunan besin madde miktarları ve metabolize olabilir enerji düzeyleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kontrol ve deneme gruplarının besin madde bileşimleri (%) ile metabolize olabilir enerji (kcal/kg) değerleri

	Normal Proteinli Grup			Düşük Proteinli Grup		
	Günler					
	0-10	11-24	25-41	0-10	11-24	25-41
Kuru Madde	89,41	90,08	89,78	89,45	90,04	89,87
Ham Protein	22.65	21.21	19,83	20,65	19,52	17,50
Ham Kül	7,19	6,59	6,07	6,33	5,45	5,25
Ham Selüloz	3,66	3,88	3,80	3,5	3,95	3,53
Ham Yağ	5,63	6,28	7,70	6,36	6,40	7,68
Azotsuz Öz Madde	50,28	52,12	52,38	52,61	54,72	55,91
Nişasta	34,24	36,41	37,96	34,78	38,7	40,0
Kalsiyum	1,40	0,98	0,97	1,12	0,96	0,92
Fosfor	0,65	0,50	0,47	0,57	0,50	0,46
Şeker	4,80	4,6	4,18	4,08	4,22	4,13
Metabolize Olabilir Enerji*	3018	3101	3218	3000	3127	3211

*Metabolize Olabilir Enerjinin hesaplanmasında Carpenter and Clegg (1956) formülü kullanılmıştır.

3.2. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışı

Araştırmanın 0, 10, 21, 31 ve 41. günlerindeki ortalama canlı ağırlık ortalamaları Çizelge 3.2’de yer almaktadır.

Çizelge 3.2. Kontrol ve deneme gruplarında canlı ağırlık ortalamaları, (g)

		Günler				
GRUPLAR		0	10	21	31	41
NP-K		41,52	226,19	818,53 ^{bc}	1640,44	2973,67
NP-ÇKE		41,47	229,39	866,18 ^{ab}	1679,88	3049,58
NP-KÇKE		41,64	228,05	906,57 ^a	1718,94	3003,00
DP-K		41,45	226,93	800,42 ^c	1478,30	2602,83
DP-ÇKE		41,33	233,79	840,80 ^{bc}	1584,97	2856,58
DP-KÇKE		41,33	231,22	816,87 ^{bc}	1565,56	2827,08
Protein	Normal	41,37	230,65	863,76	1543,04	3008,75
	Düşük	41,54	227,88	819,36	1679,75	2762,17
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	41,49	226,56	809,47 ^y	1559,37 ^y	2788,25
	Var	41,40	231,59	853,49 ^x	1632,43 ^{xy}	2953,08
	Kaplama	41,49	229,63	861,72 ^x	1642,40 ^x	2915,04
SEM		0,04	2,30	6,08	12,28	29,96
Protein		0,045	0,55	0,001	0,001	0,001
ÇKE		0,62	0,67	0,003	0,02	0,08
Protein X ÇKE		0,49	0,95	0,043	0,49	0,35

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b,c; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

Çalışmada, 0 ve 10. günlerde canlı ağırlık bakımından istatistiki fark görülmemiştir. 21, 31 ve 41. günler için gruplar arası farklılık protein açısından istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05). 21 ve 31. günlerde gruplara KÇE ve

KÇKE ilavesinde canlı ağırlıklar istatistik bakımından önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($P<0,05$).

Canlı ağırlık artışı (CAA) bulguları Çizelge 3.3’de verilmiştir. 11-21, 22-31, 32-41, 0-21, 22-41 ve 0-41 günler arası dönemlerde gruplar arasındaki fark protein yönünden istatistiki olarak önemli bulunmuştur. ÇKE yönünden ise; 11-21 ve 0-21. günler arasındaki artışların ve bu dönemlerdeki protein ve ÇKE etkileşim değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 3.3. Kontrol ve deneme gruplarında canlı ağırlık artış ortalamaları, (g)

		Günler						
GRUPLAR		0-10	11-21	22-31	32-41	0-21	22-41	0-41
NP-K		185,48	591,60 ^{bc}	821,91	1333,22	777,08 ^{bc}	2155,13	2932,21
NP-ÇKE		192,46	632,39 ^b	813,70	1369,70	824,85 ^{ab}	2183,40	3008,25
NP-KÇKE		189,89	675,35 ^a	812,37	1284,06	865,24 ^a	2096,43	2961,67
DP-K		184,67	574,23 ^c	677,88	1124,53	758,89 ^c	1802,41	2561,31
DP-ÇKE		187,92	611,41 ^{bc}	744,17	1271,61	799,33 ^{bc}	2015,78	2815,11
DP-KÇKE		186,40	588,83 ^{bc}	748,98	1261,22	775,23 ^{bc}	2010,21	2785,44
Protein	Normal	189,27	633,11	815,99	1328,99	822,39	2144,99	2967,38
	Düşük	186,33	591,49	723,68	1219,12	777,82	1942,80	2720,62
Çam	Yok	185,07	582,91 ^y	749,90	1228,88	767,98 ^y	1978,77	2746,76
Kabuğu	Var	190,19	621,90 ^x	778,93	1320,66	812,09 ^x	2099,59	2911,68
Ekstraktı	Kaplama	188,15	632,09 ^x	780,68	1272,64	820,23 ^x	2053,31	2873,56
SEM		2,29	4,83	11,11	23,34	6,082	28,077	29,97
P								
Protein		0,52	< 0,001	0,001	0,025	0,001	0,001	0,001
ÇKE		0,66	0,001	0,455	0,29	0,003	0,224	0,079
Protein X ÇKE		0,94	0,010	0,272	0,278	0,042	0,157	0,353

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b,c; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir ($P<0,05$).

3.3. Yem Tüketimi ve Yem Dönüşüm Oranı

Yem tüketimleri açısından grupların değerleri Çizelge 3.4’de yer almaktadır. 22-31 ve 0-41.günler arasındaki yem tüketimleri protein yönünden istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Gruplardaki yem tüketimlerinin ÇKE yönünden yapılan kıyaslamalarında değişimler arasında istatistiki açıdan farklılık görülmemiştir. Protein ve ÇKE interaksiyon değerlerinin de istatistiki açıdan önemlilik göstermediği tespit edilmiştir ($P>0,05$).

Çizelge 3.4. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama yem tüketimleri, (g)

		Günler						
GRUPLAR		0-10	11-21	22-31	32-41	0-21	22-41	0-41
NP-K		261,86	1033,67	1340,70	2094,11	1295,53	3434,8	4730,34
NP-ÇKE		278,12	1026,52	1274,65	2021,33	1304,64	3295,98	4600,62
NP-KÇKE		285,39	1028,12	1288,99	2015,86	1313,51	3304,85	4618,36
DP-K		276,28	1004,76	1146,68	2010,27	1281,05	3156,95	4438,01
DP-ÇKE		269,88	1001,14	1176,85	2058,92	1271,02	3235,77	4506,78
DP-KÇKE		268,21	954,79	1202,43	2062,83	1223	3265,27	4488,27
Protein	Normal	275,46	1029,43	1301,45	2043,77	1304,56	3345,22	4649,77
	Düşük	271,46	986,90	1175,32	2044,01	1258,36	3219,33	4477,69
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	269,08	1019,21	1243,69	2052,19	1288,29	3295,88	4584,17
	Var	274,00	1013,83	1225,75	2040,13	1287,83	3265,88	4553,70
	Kaplama	276,80	991,45	1245,71	2039,35	1268,26	3285,06	4553,32
SEM		3,02	11,64	14,33	26,40	12,72	35,45	42,10
P								
Protein		0,548	0,078	0,001	0,996	0,079	0,086	0,049
ÇKE		0,577	0,592	0,823	0,976	0,766	0,941	0,943
Protein X ÇKE		0,106	0,649	0,258	0,536	0,456	0,328	0,597

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir ($P<0,05$).

Grupların yem dönüşüm oranları Çizelge 3.5’de yer almaktadır. 32-41, 22-41, 0-41. günler için gruplar arasındaki fark protein yönünden, 11-21, 0-21 ve 0-41. günler arasındaki fark ise ÇKE yönünden istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$).

Çizelge 3.5. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama yem dönüşüm oranları, (kg yem/kg CAA)

		Günler						
GRUPLAR		0-10	11-21	22-31	32-41	0-21	22-41	0-41
NP-K		1,41	1,75	1,64	1,58	1,67	1,60	1,62
NP-ÇKE		1,45	1,63	1,58	1,48	1,58	1,51	1,53
NP-KÇKE		1,51	1,52	1,59	1,59	1,52	1,59	1,56
DP-K		1,50	1,76	1,7	1,83	1,69	1,77	1,74
DP-ÇKE		1,44	1,64	1,59	1,62	1,59	1,61	1,60
DP-KÇKE		1,44	1,62	1,61	1,64	1,58	1,63	1,61
Protein	Normal	1,45	1,63	1,60	1,55	1,59	1,56	1,57
	Düşük	1,46	1,67	1,63	1,69	1,62	1,67	1,65
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	1,46	1,75 ^x	1,67	1,71	1,68 ^x	1,68	1,68 ^x
	Var	1,44	1,63 ^{xy}	1,58	1,55	1,59 ^{xy}	1,56	1,57 ^y
	Kaplama	1,47	1,57 ^y	1,60	1,62	1,55 ^y	1,61	1,59 ^{xy}
SEM		0,016	0,02	0,023	0,032	0,016	0,023	0,017
		P						
Protein		0,87	0,351	0,55	0,03	0,36	0,03	0,02
ÇKE		0,71	0,004	0,32	0,15	0,008	0,09	0,03
Protein X ÇKE		0,16	0,59	0,89	0,48	0,81	0,49	0,63

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir ($P<0,05$).

3.4. Kesim ve Karkas Ağırlıkları, Karkas Randımanı ve Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü

Kesim ve karkas ağırlığı, karkas randımanı ve Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü'ne (EPEF) ait veriler Çizelge 3.6'da yer almaktadır. Rakamsal olarak normal protein ve ÇKE-KÇKE ilavesinin EPEF değerine ve karkas randımanına olumlu etkide bulunduğu saptanmıştır.

Çizelge 3.6. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama kesim ve karkas ağırlığı (g), karkas randımanı (%) ile EPEF değerleri

GRUPLAR		Kesim Ağırlığı (g)	Karkas Ağırlığı (g)	Karkas Randımanı (%)	EPEF
NP-K		2950,61	2139,69	72,49	444,62
NP-ÇKE		3013,04	2198,78	72,96	482,79
NP-KÇKE		2996,25	2188,75	73,20	467,87
DP-K		2582,31	1856,92	71,84	361,05
DP-ÇKE		2827,06	2078,00	73,53	433,93
DP-KÇKE		2807,93	2084,92	74,24	426,78
Protein	Normal	2986,63	2175,74	73,20	465,09
	Düşük	2739,10	2006,61	72,815	407,25
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	2766,46 ^y	1998,31 ^y	72,163	402,83
	Var	2920,05 ^x	2138,39 ^x	73,25	458,36
	Kaplama	2902,09 ^{xy}	2136,83 ^x	73,62	447,32
SEM		23,74	20,95	0,25	0,001
P					
Protein		0,001	0,001	0,442	1,0
ÇKE		0,025	0,014	0,063	1,0
Protein X ÇKE		0,215	0,17	0,31	1,0

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

3.5. Gruplarda Ölüm ve Yaşam Gücü ve Bazı İç Organ Ağırlıkları

Gruplarda ölüm ve yaşam gücü oranları Çizelge 3.7 de sunulmaktadır. Gruplar arasında istatistiki açıdan fark bulunmamıştır.

Grupların kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, kloaka yağı, bezli mide ve taşlı mide ağırlıkları ve bunların CA yüzdesine olan oranları Çizelge 3.8’da yer almaktadır. Düşük protein düzeyinde karaciğer ve abdominal yağın ağırlıklarının 100g CA oranı normal protein grubuna göre istatistiki olarak daha ağır bulunmuştur ($P<0,05$). Kalp, karaciğer ve bezli mide ağırlıklarının 100g CA oranı ise ÇKE ve KÇKE gruplarında, katılmayan gruba göre istatistiki olarak daha düşük ağırlıkta bulunmuştur ($P<0,05$). Protein-ÇKE interaksiyonu açısından sadece kalp ağırlıklarının 100g CA oranı açısından istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Çizelge 3.7. Gruplar arası ölüm oranı ve yaşam gücü değerleri, (%)

	NP-K	NP-ÇKE	NP-KÇKE	DP-K	DP-ÇKE	DP-KÇKE	SEM	P
Ölüm Oranı	0,69	0,69	0,35	1,04	0,35	0,35	0,24	0,96
Yaşam Gücü	99,31	99,31	99,65	98,96	99,65	99,65	0,24	0,96

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

Grupların ortalama değerleri arası fark istatistiki açıdan önem göstermemektedir ($P>0,05$).

Çizelge 3.8. Kontrol ve deneme gruplarında bazı iç organ ağırlıkları, (g) ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranları, (g/100g CA)

GRUPLAR		Kalp, g	Kalp, g/100g CA	Dalak, g	Dalak, g/100g CA	Karaciğer, g	Karaciğer, g/100g CA	Bursa fabricius, g	Bursa fabricius g/100g CA	Abdominal Yağ, g	Abdominal Yağ g/100g CA	Bezli mide, g	Bezli mide, g/100g CA	Taşlı mide, g	Taşlı mide, kg/100g CA
NP-K		14,32	0,485 ^{ab}	4,21	0,14	67,91	2,30	5,27	0,18	41,71	1,41	9,65	0,33	35,33	1,20
NP-ÇKE		14,61	0,485 ^{ab}	3,73	0,12	66,18	2,20	6,22	0,21	45,39	1,50	8,95	0,30	34,97	1,16
NP-KÇKE		14,37	0,481 ^{ab}	3,99	0,13	63,58	2,13	5,28	0,18	42,03	1,40	8,55	0,29	36,78	1,23
DP-K		13,23	0,51 ^a	3,127	0,12	70,65	2,75	4,83	0,19	46,29	1,79	8,56	0,33	33,08	1,29
DP-ÇKE		12,09	0,43 ^b	3,97	0,14	66,92	2,37	5,51	0,20	47,89	1,70	8,79	0,31	32,49	1,15
DP-KÇKE		13,22	0,47 ^{ab}	4,36	0,15	72,83	2,60	4,49	0,16	52,35	1,86	8,45	0,30	33,25	1,19
Protein Normal		14,43	0,48	3,98	0,13	65,89	2,21	5,59	0,19	48,84	1,44	9,04	0,30	35,69	1,20
Düşük		12,85	0,47	3,822	0,14	70,13	2,57	4,94	0,18	43,04	1,78	8,6	0,32	32,94	1,21
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	13,78	0,5 ^x	3,67	0,13	69,28	2,53 ^x	5,05	0,18	44	1,60	9,1	0,33 ^x	34,2	1,24
	Var	13,35	0,46 ^y	3,85	0,13	66,55	2,28 ^y	5,86	0,20	46,63	1,60	8,87	0,30 ^{xy}	33,72	1,15
	Kaplama	13,8	0,48 ^{xy}	4,18	0,14	68,21	2,36 ^{xy}	4,89	0,17	47,19	1,63	8,5	0,29 ^y	35,01	1,21
SEM		0,17	0,006	0,14	0,005	0,8	0,04	0,17	0,006	1,37	0,05	0,14	0,005	0,54	0,02
P															
Protein		0,001	0,27	0,583	0,58	0,013	0,001	0,066	0,63	0,043	0,001	0,11	0,26	0,015	0,76
ÇKE		0,49	0,02	0,328	0,54	0,386	0,03	0,057	0,12	0,603	0,96	0,22	0,028	0,617	0,19
Protein X ÇKE		0,174	0,02	0,078	0,18	0,093	0,18	0,9	0,69	0,492	0,48	0,28	0,94	0,874	0,38

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu1 Ekstraktı

a,b; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

3.6. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler

Grupların kan serumunda ALP, AST, ALT, HDL, LDL, trigliserit, total kolesterol, değerlerine ilişkin bulgular Çizelge 3.9’da yer almaktadır.

Çizelge 3.9. Kontrol ve deneme gruplarında kan serumunda bazı biyokimyasal parametreler

GRUPLAR		ALP, IU/L	AST, IU/L	ALT IU/L	HDL, mg/dl	LDL, mg/dl	Trigli serid, mg/dl	Total kolesterol, mg/dl
NP-K		891,75 ^b	284,58	4,13	69,8	65,26	44,25	60,67
NP-ÇKE		1123,33 ^a	358,42	4,08	86,52	74,25	52,25	69,17
NP-KÇKE		997,91 ^b	253,25	3,93	75,07	61,11	50,67	59,58
DP-K		1123,66 ^{ab}	243,46	4,57	79,40	54,19	50,17	65,92
DP-ÇKE		884,16 ^b	203,33	4,31	71,45	40,06	48,83	58,75
DP-KÇKE		1091,25 ^{ab}	212,08	4,32	71,58	41,05	51,08	59,92
Protein	Normal	1004,33	298,75	4,05	77,12	66,88	49,06	63,14
	Düşük	1033,03	219,62	4,4	74,14	45,10	50,03	61,53
ÇKE	Yok	1007,71	264,02	4,35	74,58	59,73	47,21	63,29
	Var	1003,75	280,87	4,20	78,99	57,16	50,54	63,96
	Kaplama	1044,58	232,67	3,92	73,32	51,08	50,87	59,75
SEM		24,02	14,00	0,15	2,15	2,22	0,94	1,7
P								
Protein		0,55	0,008	0,05	0,49	0,001	0,61	0,64
ÇKE		0,75	0,374	0,24	0,53	0,28	0,23	0,56
Protein X ÇKE		0,001	0,18	0,42	0,08	0,12	0,14	0,17

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

AST ve LDL düzeyleri normal proteinli gruplarda istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermiştir (P<0,05). ALP düzeyinde, protein-ÇKE etkileşim değeri istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermiştir (P<0,05).

3.7. But, Göğüs Eti pH Değerleri ve İnce Bağırsak, Bezli Mide, Taşlı Mide pH Değerleri

Araştırma sonunda but ve göğüs eti numunelerinin kesim sonrası 1, 3 ve 7. gün ortalama pH değerleri Çizelge 3.10’da yer almaktadır.

Çizelge 3.10. Kontrol ve deneme gruplarında ortalama but eti ve göğüs eti pH değerleri

GRUPLAR		But eti pH			Göğüs eti pH		
		1. gün	3.gün	7.gün	1.gün	3.gün	7.gün
NP-K		6,18 ^{bc}	6,30	6,12 ^c	5,96	6,02	5,95 ^{ab}
NP-ÇKE		6,11 ^{bc}	6,32	6,20 ^{abc}	5,94	5,96	5,97 ^{ab}
NP-KÇKE		6,25 ^{ab}	6,33	6,33 ^{abc}	5,94	6,03	6,03 ^{ab}
DP-K		6,33 ^a	6,28	6,53 ^a	6,00	6,04	6,27 ^a
DP-ÇKE		6,20 ^{abc}	6,27	6,14 ^c	6,06	6,02	5,85 ^b
DP-KÇKE		6,10 ^c	6,23	6,46 ^{ab}	5,98	6,03	6,31 ^a
Protein	Normal	6,21	6,31	6,22	5,94	6,00	5,98
	Düşük	6,18	6,26	6,38	6,01	6,03	6,14
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	6,25 ^x	6,29	6,33 ^{xy}	5,98	5,99	6,11 ^{xy}
	Var	6,15 ^y	6,29	6,17 ^y	6,00	6,03	5,91 ^y
	Kaplama	6,18 ^{xy}	6,28	6,40 ^x	5,96	6,03	6,17 ^x
SEM		0,014	0,013	0,028	0,018	0,014	0,04
		P					
Protein		0,29	0,05	0,006	0,06	0,32	0,04
ÇKE		0,015	0,90	0,009	0,70	0,45	0,02
Protein X ÇKE		0,001	0,45	0,006	0,64	0,60	0,04

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b,c; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

İnce bağırsak, bezli mide ve taşlı mide pH değerleri Çizelge 3.11’de yer almaktadır.

Çizelge 3.11. Kontrol ve deneme gruplarında ince bağırsak, bezli mide, taşlı mide ortalama pH değerleri.

GRUPLAR		pH duodenum	pH jejunum	pH ileum	pH bezli mide	pH taşlı mide
NP-K		6,16	6,00	6,94 ^b	3,25	3,07
NP-ÇKE		6,12	6,07	7,31 ^a	2,94	2,98
NP-KÇKE		6,24	6,08	6,90 ^b	2,80	2,87
DP-K		6,04	6,07	6,32 ^c	3,27	3,03
DP-ÇKE		6,19	6,22	6,42 ^c	2,98	2,53
DP-KÇKE		6,21	6,22	7,06 ^{ab}	3,11	2,78
Protein	Normal	6,15	6,05	7,05	3,00	2,97
	Düşük	6,17	6,17	6,60	3,12	2,78
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	6,09 ^y	6,04 ^y	6,63 ^y	3,26	3,05
	Var	6,15 ^{xy}	6,15 ^x	6,86 ^x	2,96	2,75
	Kaplama	6,22 ^x	6,15 ^x	6,98 ^x	2,96	2,82
SEM		0,012	0,012	0,03	0,09	0,07
P						
Protein		0,29	0,001	0,001	0,48	1,87
ÇKE		0,001	0,001	0,001	0,27	1,53
Protein X ÇKE		0,008	0,32	0,001	0,75	0,81

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b,c; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

3.8. Göğüs Eti TBARS Değerleri

Araştırmada göğüs etinde tespit edilen TBARS değerleri Çizelge 3.12’de yer almaktadır. TBARS değerleri açısından protein, ÇKE ve protein-ÇKE etkileşimi açısından grupların 3. gün değerlerinde farklar istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Çizelge 3.12. Kontrol ve deneme gruplarında göğüs eti ortalama TBARS değerleri, (mg/kg)

		TBARS değerleri	
GRUPLAR		1.Gün	3. Gün
NP-K		0,46	1,02 ^a
NP-ÇKE		0,31	0,68 ^c
NP-KÇKE		0,25	0,63 ^c
DP-K		0,49	1,09 ^a
DP-ÇKE		0,40	0,86 ^b
DP-KÇKE		0,33	0,67 ^b
Protein	Normal	0,34	0,77
	Düşük	0,41	0,90
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	0,47	1,05 ^x
	Var	0,35	0,74 ^y
	Kaplama	0,29	0,60 ^y
SEM		0,07	0,10
P			
Protein		0,21	0,02
ÇKE		0,3	0,05
Protein X ÇKE		0,25	0,01

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b,c; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir ($P<0,05$).

3.9. Dışkı, Altlık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak Düzeyleri

Araştırma sonunda grupların altlık ve dışkı kuru madde oranları ve amonyak düzeyleri Çizelge 3.13’de verilmiştir. Düşük protein grubunda dışkı ve altlık amonyak düzeyleri normal protein grubuna göre istatistik bakımdan önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0,05$). KÇKE ilave edilen grupta daha yüksek altlık kuru madde düzeyi ile elde edilmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 3.13. Kontrol ve deneme gruplarında dışkı ve altlık kuru madde değerleri (%) ve amonyak düzeyleri, (mmol/l)

GRUPLAR		Dışkı Kuru Madde	Dışkı Amonyak	Altlık Kuru Madde	Altlık Amonyak
NP-K		23,50	4,50	75,89	4,79
NP-ÇKE		26,65	3,43	75,48	4,45
NP-KÇKE		27,42	3,38	78,01	3,96
DP-K		25,60	4,22	73,44	4,75
DP-ÇKE		28,75	3,25	73,94	3,83
DP-KÇKE		26,28	3,16	77,98	3,15
Protein	Normal	25,86	3,73	76,46	4,4
	Düşük	26,88	3,54	75,12	3,91
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	24,55	4,36	74,67 ^y	4,77
	Var	27,70	3,30	74,71 ^y	3,85
	Kaplama	26,85	3,27	77,99 ^x	3,55
SEM		0,7	0,16	0,54	0,11
P					
Protein		0,46	0,03	0,22	0,03
ÇKE		0,17	0,45	0,02	0,6
Protein X ÇKE		0,54	0,47	0,66	0,26

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

x,y.: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir ($P<0,05$).

3.10. Çam Kabuğu Ekstraktı ve Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktının Toplam Fenolik Madde Düzeyleri, Yükleme Kapasitesi ve Enkapsülasyon Verimliliği

Çam kabuğu ekstraktı ve kaplanmış çam kabuğu ekstraktının toplam fenolik madde düzeyleri Çizelge 3.14’de, KÇKE yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon verimliliği Çizelge 3.15’de, ÇKE ve KÇKE’nın invitro salım değerleri Çizelge 3.16’da sunulmuştur.

Çizelge 3.14. Çam kabuğu ekstraktı ve kaplanmış çam kabuğu ekstraktının toplam fenolik madde düzeyleri, (g/kg)

	ÇKE	KÇKE
Toplam Fenolik Madde Miktarı	1215	573

ÇKE: Çam kabuğu ekstraktı, KÇKE: Kaplanmış çam kabuğu ekstraktı

Çizelge 3.15. Kaplanmış çam kabuğu ekstraktının yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon verimliliği, (%)

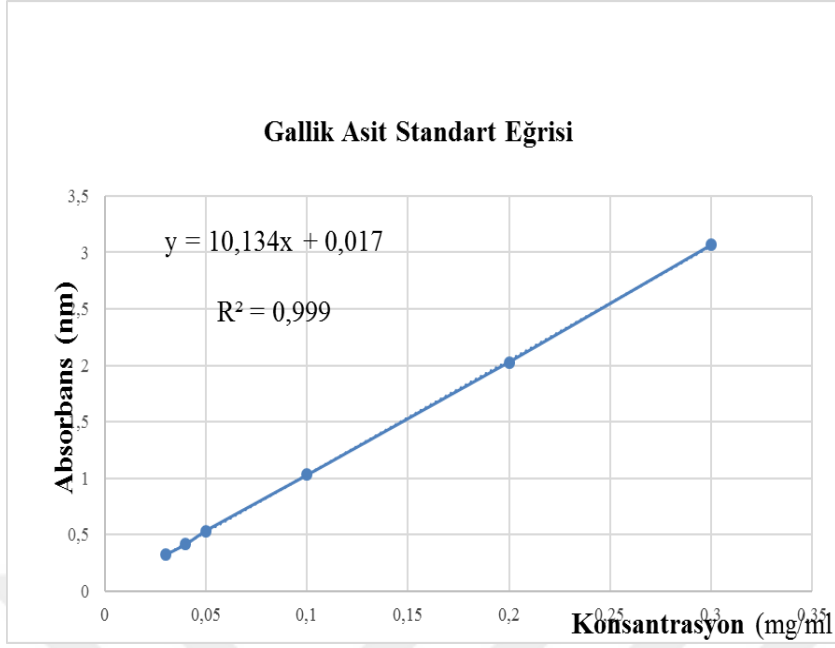
	Hazırlama Verimi	Yükleme Verimliliği	Yükleme Kapasitesi
KÇKE	100	75,5	48,8

KÇKE: Kaplanmış çam kabuğu ekstraktı

Çizelge 3.16. KÇKE’nın invitro salım değerleri, (%)

	Proventrikulus	Taşlı Mide	Doudenum	İnce Bağırsak
KÇKE	11,66	23,60	35,87	46,40

KÇKE: Kaplanmış çam kabuğu ekstraktı



Şekil 3.1. Gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi.

ÇKE ve KÇKE’de toplam fenolik madde düzeyinin Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılan analizinin hesaplamalarında kullanılan gallik asit standardı kalibrasyonuna ilişkin eğri Şekil 3.1’de gösterilmektedir.

3.11. İnce Bağırsak Histomorfolojisi

Kontrol ve deneme grubu rasyonlarının 21. gün ve 41. gün jejunum ve ileum villus yüksekliği (VY), kript derinliği (KD) ve villus yüksekliği/kript derinlikleri (VY/KD) Çizelge 3.17 ve Çizelge 3.18’de verilmiştir.

Çizelge 3.17. Kontrol ve deneme grubu rasyonlarının 21. gün jejunum ve ileum histomorfolojisine etkisi, (µm)

		Jejunum			İleum		
GRUPLAR		Villus Yüksekliği	Kript Derinliği	Villus Yüksekliği/Kript Derinliği	Villus Yüksekliği	Kript Derinliği	Villus Yüksekliği/Kript Derinliği
NP-K		1174,69	156,33 ^{ab}	7,57	726,42	126,05	6,30
NP-ÇKE		1181,70	146,94 ^{abc}	8,05	754,83	127,61	5,72
NP-KÇKE		1288,67	162,5 ^a	7,94	779,22	134,00	5,64
DP-K		1071,83	135,08 ^c	7,58	710,00	120,19	6,15
DP-ÇKE		1164,11	141,61 ^{bc}	7,96	736,33	134,97	5,68
DP-KÇKE		1186,69	162,36 ^a	7,33	748,91	137,08	5,21
Protein	Normal	1215,02	155,26	7,86	753,49	129,22	5,89
	Düşük	1140,88	146,35	7,62	731,75	130,75	5,68
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	1123,26 ^y	145,71 ^y	7,58	718,21	123,12	6,23
	Var	1172,90 ^{xy}	144,28 ^y	8,00	745,58	131,29	5,70
	Kaplama	1237,68 ^x	162,43 ^x	7,63	764,07	135,54	5,43
SEM		12,40	1,72	0,11	14,02	2,26	0,15
P							
Protein		0,006	0,015	0,312	0,44	0,73	0,45
ÇKE		0,003	0,001	0,251	0,42	0,09	2,28
Protein X ÇKE		0,29	0,047	0,5	0,98	0,49	0,14

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b,c; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

Çizelge 3.18. Kontrol ve deneme grubu rasyonlarının 41. gün jejenum ve ileum histomorfolojisine etkisi, (µm)

		Jejenum			İleum		
GRUPLAR		Villus Yüksekliği	Kript Derinliği	Villus Yüksekliği/ Kript Derinliği	Villus Yüksekliği	Kript Derinliği	Villus Yüksekliği/ Kript Derinliği
NP-K		1267,30	154,41 ^b	8,26	1117,24	143,83	6,05
NP-ÇKE		1334,47	171,77 ^a	7,79	1151,60	153,55	7,63
NP-KÇKE		1392,16	190,11 ^a	7,33	1150,50	146,19	7,57
DP-K		1256,33	154,19 ^b	8,16	877,82	135,64	8,26
DP-ÇKE		1320,08	168,83 ^b	7,83	1159,50	147,30	7,83
DP-KÇKE		1322,13	160,17 ^b	8,26	1101,99	159,11	7,23
Protein	Normal	1331,31	172,10	7,79	1139,78	147,86	7,08
	Düşük	1299,51	161,17	8,08	1046,44	147,35	7,77
Çam Kabuğu Ekstraktı	Yok	1261,82 ^y	154,31 ^y	8,21	997,53	139,73 ^y	7,15
	Var	1327,27 ^x	170,31 ^x	7,82	1140,89	150,43 ^{xy}	7,72
	Kaplama	1357,15 ^x	175,29 ^x	7,80	1126,25	152,65 ^x	7,40
SEM		10,77	1,79	0,10	31,30	2,03	0,23
P							
Protein		0,15	0,005	0,15	0,15	0,90	0,14
ÇKE		0,04	0,001	0,16	0,22	0,032	0,6
Protein X ÇKE		0,46	0,003	0,08	0,12	0,08	0,07

NP-K: Normal Protein Kontrol, NP-ÇKE: Normal Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, NP-KÇKE: Normal Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-K: Düşük Protein Kontrol, DP-ÇKE: Düşük Protein Çam Kabuğu Ekstraktı, DP-KÇKE: Düşük Protein Kaplanmış Çam Kabuğu Ekstraktı.

a,b,c; x,y: Aynı sütunda yer alıp farklı harf ile belirtilmiş ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki açıdan önemlilik göstermektedir (P<0,05).

4. TARTIŞMA

Bu araştırma ile, düşük proteinli etlik piliç rasyonlarına doğal antioksidan ürünlerinden olan ÇKE ve KÇKE ilavesinin; performans (canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yem dönüşüm oranı, ölüm oranı ve Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü değeri), sıcak karkas ağırlığı ve randımanı, bazı iç organların (kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, taşlık, bezli mide, abdominal yağ) ağırlıkları ve 100g canlı ağırlığa oranları, bazı biyokimyasal kan parametreleri (ALT, AST, ALP, toplam kolesterol, HDL, LDL, trigliserit), göğüs eti pH, göğüs eti MDA düzeyi, bağırsak pH'sı ile dışkı ve altlık kuru madde ve amonyak düzeyleri ve bağırsak histomorfolojisine etkileri belirlenmiştir.

4.1. Broyler Denemesi

4.1.1. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışı

Çalışma grupları canlı ağırlık açısından incelendiğinde, 0 ve 10. günlerde canlı ağırlık bakımından istatistiki fark görülmemiştir. 21, 31 ve 41. günler için gruplar arası farklılık protein açısından istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.2). 21 günde sayısal olarak en iyi canlı ağırlık normal protein kaplanmış çam kabuğu ekstraktı (NP-KÇKE) grubunda, 41. günde ise; en iyi canlı ağırlık değeri normal protein çam kabuğu ekstraktı (NP-ÇKE) grubunda; en düşük canlı ağırlık ise düşük protein kontrol (DP-K) grubunda görülmüştür. 21, 31 ve 41. günlerde normal ve düşük proteinli gruplar arasındaki %10 luk protein farkının CA için istatistiki açıdan anlamlı farklılık gösterdiği ($P<0,05$) görülmüş, normal proteinli gruplarda daha yüksek CA tespit edilmiştir. 41. günde CA'da DP-K grubuna göre NP-K grubunda %12,5' lik artış gözlenmiştir.

Ayrıca normal ve düşük proteinli gruplarda ÇKE ve KÇKE ilavesinde kontrol gruplarına göre CA'da deneme süresince sayısal artış gözlenmiş ve bu artışın 21 ve 31. günlerde ÇKE yönünden istatistiksel anlamlılık gösterdiği ($P<0,05$) tespit edilmiştir. Ayrıca 21. günde protein ve çam kabuğu etkileşimi de istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Etkileşim yönünden değerlendirildiğinde KÇKE ilavesi; normal proteinli gruplarda kontrol gruplarına göre olumlu etki sağlarken, düşük proteinli gruplarda istatistiki açıdan anlam taşıyan bir etki oluşturmamıştır. 41. günde NP-K grubunda CA'da DP-K, DP-ÇKE ve DP-KÇKE'ya göre sırasıyla %12,5; 5,93 ve 4,93' lük artış görülmüştür. NP-ÇKE ve NP-KÇKE gruplarında ise; NP-K'ya göre sırasıyla CA'da %2,5 ve %0,99 artış tespit edilmiştir.

Canlı ağırlık artışı (CAA) açısından da 11-21, 22-31, 32-41, 0-21, 22-41 ve 0-41 günler arası dönemlerde gruplar arasındaki fark protein yönünden istatistiki olarak önemli bulunmuştur. ÇKE yönünden ise; 11-21 ve 0-21. günler arasındaki artışların ve bu dönemlerdeki protein ve ÇKE etkileşim değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$) (Çizelge 3.3). 0-41. günler arası dönemde sayısal olarak en yüksek CAA, NP-ÇKE ardından da normal protein çam kabuğu ekstraktı NP-KÇKE gruplarında görülmüştür. CAA değerlerinin normal protein içeren gruplarda, düşük protein içeren gruplara göre protein yönünden istatistiki açıdan anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiş olup, en düşük CAA değeri DP-K grubunda görülmüştür. CAA artışı ÇKE yönünden kıyaslandığında 11-21 ve 0-21.günlerde istatistiki açıdan anlamlılık gösterdiği tespit edilmiş olup, bu günlerde etkileşim değeri de istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Etkileşim değerine göre yapılan değerlendirme, kaplanmış ekstrakt ilavesinin normal proteinli gruplarda CAA için istatistiki önem taşıyan olumlu etkiler sağladığı görülmüştür. Düşük proteinli gruplarda ÇKE ve KÇKE verilen gruplarda DP-K grubuna göre sayısal olarak artışlar gözlenmiştir.

Sigolo ve ark. (2017), broylerlerde protein düzeyinin önerilen seviyelerden %2,5 azaltılması ile yürüttükleri çalışmalarında büyüme performansının negatif etkilendiğini saptadıklarını belirtmişlerdir. Düşük proteinli gruplara treonin amino asiti ilavesi durumunda CAA ve yem tüketiminde artışlar olduğunu bildirmişlerdir. Cardinal ve ark., (2019), broylerlerde standart proteinli, protein seviyesinin %6 düşürüldüğü ve standart ve düşük proteinli gruplara proteaz ilave edildiği durumda büyüme performansının ve bağırsak sağlığının karşılaştırıldığı çalışmalarında; düşük proteinli grupta CA, CAA ve YDO'nun 1-42 günlük periyotta standart proteinli gruba göre istatistiki olarak anlamlı şekilde olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir. Düşük proteinli gruba proteaz ilavesinde ise; düşük proteinli gruba göre tüm periyot için canlı ağırlık artışı ve YDO'nun pozitif yönde etkilendiğini bildirmişlerdir. Bağırsak sağlığı açısından tüm periyot için yapılan değerlendirme de en iyi indeksin düşük proteinli gruba proteaz ilavesinde en olumsuz değerlerin ise; standart proteinli gruba proteaz ilavesi durumunda gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Düşük proteinli grupta epitel kalınlığı ve epitelyal plazma infiltrasyonunun negatif etkilendiği ancak lamina propria kalınlığını olumlu etkilediği bu nedenle de standart proteinli gruba göre daha iyi bağırsak sağlığı tablosu şekillendiğini bildirmişler ve bağırsak sağlığı açısından yaptıkları değerlendirme de proteaz ilavesi durumunun istatistiki önem teşkil ettiğini tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Aftab ve ark, (2006) etlik piliçlerin 0-21, 21-42 and 42-56 günlük dönemlerinde NRC (1994)'de belirtilen protein düzeylerinin amino asitlerce dengeli rasyonlar kullanılarak %10 düzeyinde azaltılması durumunda gözlenen etkileri araştırmışlardır. Bu amaçla, 0-21, 21-42 and 42-56 günlük dönemlerinde sırasıyla %20.7, %18.0 ve %16.2'lik ham protein içeren rasyonlar vermişlerdir. Ancak kontrol grubuna göre düşük proteinli tüm rasyonlarda CA, CAA ve karkas randımanında düşüş olduğunu belirtmişlerdir.

Bu çalışmalara benzer şekilde araştırmamızda normal protein içeren grupların CA ve CAA değerlerine göre, düşük protein verilen grupların CA ve CAA değerlerinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Düşük proteinli gruplarda ÇKE

veya KÇKE ilave edilmesinin normal proteinli grupların değerlerine göre, CAA'daki kaybı sayısal olarak azalttığı görülmüştür.

Ramay ve Yalçın; (2020) broyler rasyonlarına Kızılçam (*Pinus brutia*) iğnesi tozunun %0,25; 0,5; 0,75 ve 1 düzeylerinde ilavesinin performans ve et kalitesi üzerine etkilerini araştırdıkları 42 günlük çalışmalarında; deneme gruplarına kullandıkları düzeydeki çam iğnesi tozu ilavesinin CAA, yem tüketimi ve yem dönüşüm oranını etkilemediğini, ancak karkas randımanında kullanım düzeylerine bağlı lineer bir artış ($P<0,05$) gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda 41. günde ÇKE ve KÇKE ilave edilen gruplarda daha yüksek CA ve CAA artışı görülmekle beraber; ÇKE yönünden istatistiki anlamlı farklılık ($P>0,05$) tespit edilmemiştir. Ancak 21 günde CA değerleri ve 0-21 günler arası CAA açısından, ÇKE ilavesine bağlı istatistiki açıdan anlamlı artışlar ($P<0,05$) görülmüştür.

4.1.2. Yem Tüketimi ve Yem Dönüşüm Oranı

Deneme gruplarının yem tüketimlerine ait değerler Çizelge 3.4'de verilmiştir. Çalışmamız sonucunda grupların 22-31 ve 0-41.günler arasındaki yem tüketimleri protein yönünden istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). 22-31 ve 0-41. günler arasında en düşük yem tüketimi DP-K, en yüksek yem tüketimi ise, NP-K grubunda görülmüş ve düşük ve normal proteinli grupların yem tüketimleri arası farkların istatistiki açıdan da anlamlı olduğu anlaşılmıştır. Gruplardaki yem tüketimlerinin ÇKE yönünden yapılan kıyaslamalarında değişimler arasında istatistiki açıdan farklılık görülmemiştir. Protein ve ÇKE interaksiyon değerlerinin de istatistiki açıdan önemlilik göstermediği tespit edilmiştir ($P>0,05$).

Yem dönüşüm oranı (YDO) açısından bakıldığında, 32-41, 22-41, 0-41. günler için gruplar arasındaki fark protein yönünden, 11-21 ve 0-41. günler

arasındaki fark ise ÇKE yönünden istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.5). Değerler incelendiğinde 11-21 ve 0-21. günde en iyi YDO, NP-KÇKE grubunda tespit edilmiş ve KÇKE katılan gruplarda kontrol gruplarına göre istatistiki açıdan anlamlılık taşıyan daha iyi YDO değerleri gözlemlenmiştir. KÇKE ve ÇKE grupları YDO değerleri arasında sayısal olarak KÇKE ilave edilen gruplarda daha iyi YDO değerleri görülmekle birlikte gruplar arası istatistiki fark görülmemiştir. 31-41. günde en iyi YDO, NP-ÇKE grubunda tespit edilmiş ancak NP-KÇKE, DP-ÇKE, DP-KÇKE gruplarının sayısal değerleri ile istatistiki açıdan bir fark olmadığı görülmüştür. Grupların değerleri arasında protein yönünden istatistiki fark tespit edilmiş olup, normal proteinli gruplarda düşük proteinli gruplara göre daha iyi YDO bulunmuştur.

0-41. günde en iyi YDO, NP-ÇKE ardından NP-KÇKE grubunda görülmüştür. Bu değerleri sırasıyla DP-ÇKE, DP-KÇKE, N-PK grupları YDO değerleri izlemiş ve sayısal olarak en olumsuz YDO ise, D-PK grubunda tespit edilmiştir. 0-41. günde YDO değerleri arasında, hem protein hem ÇKE yönünden istatistiki açıdan anlamlı fark gözlemlenmiş olup, normal proteinli gruplarda düşük proteinli gruplara göre daha iyi YDO tespit edilmiştir. Ayrıca ÇKE açısından 0-41 günlük periyotta hem normal, hem düşük proteinli gruplarda ÇKE ve KÇKE ilavesinin kontrol gruplarına göre YDO'da istatistiki açıdan anlamlı iyileşmeler ($P<0,05$).oluşturduğu görülmüştür.

Herraren ve ark, (2011) broylerde hayvan performansı ve sindirim sistemi sağlığını artırmak için çam kabuğu ekstraktı ilave ederek yürüttükleri çalışmalarında broyler civcivleri kesimden önceki 21 gün süre ile 600 mg/kg ve 2400 mg/kg çam kabuğu ekstraktı ilave edilen rasyonlarla beslemişlerdir. Kullandıkları çam kabuğu ekstraktının ağırlıkça %10-60 arası polifenolik bileşikler, %1-20 arası lipofilik ekstraktlar, %10-40 arası karbonhidratlar içerdiğini belirtmişlerdir. Çalışma sonucunda kontrol grubuna göre, çam kabuğu ekstraktı ilave edilen gruplarda CAA'nın arttığı ve yem tüketiminin düştüğünü bildirmişler ve YDO'da belirgin

düşüş gözlemlendiğini belirterek bu durumu ÇKE'nin besin emilim prosesini artırmasına bağladıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen veriler de Herraren ve ark., (2011) çalışmalarına benzer şekilde ÇKE ve KÇKE'nin broyler rasyonlarına ilavesinin, 0-41 günde YDO'yu olumlu etkilediğini göstermiştir.

Haafez ve arkadaşları, (2015) çalışmalarında da enkapsüle edilen fitojenik yem katkı maddelerinin toz formuna göre YDO'yu olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca Mourtzinou ve ark., (2007) ve Zhang ve ark., (2015)'da enkapsülasyon işlemi ile ürün hedeflenen organa ulaşana kadar gastrointestinal sistemin zararlı etkilerinden korunduğu ve böylece biyoyararlanımın arttığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da 11-21 ve 0-21. günde en iyi YDO'nun NP-KÇKE grubunda gözlemlenmesi ve düşük ve normal proteinli gruplarda kontrol ve ÇKE ilave edilen gruplara göre KÇKE ilave edilenlerde daha iyi YDO görülmesi enkapsülasyon işleminin özellikle beslemenin ilk 21 gününde biyoyararlanımı artırdığını göstermiştir.

4.1.3. Avrupa Etkinlik Faktörü ve Yaşama Gücü

EPEF, ticari işletmelerin ve yetiştiricilerin etlik piliç sürülerinin performanslarını değerlendirmek için kullandıkları bir performans parametresidir. Ticari etlik piliç işletmelerinde bu endeksin 300 ve üzeri olması arzulanmakta, düşük olması durumunda sürüde sağlık problemleri ve/veya yönetim hataları olabileceğini işaret etmektedir. Çalışmamız sonucunda grupların hesaplanan EPEF değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 3.6). Bununla birlikte rakamsal olarak DP-K grubu en düşük değere sahipken, NP-K grubu değerinin DP-K grubuna göre daha yüksek olduğu ÇKE ve KÇKE ilavesinin EPEF değerine olumlu etkide bulunduğu saptanmıştır. En iyi EPEF değeri de NP-ÇKE grubunda gözlemlenmiştir. Grupların ölüm oranı ve yaşam gücü değerlerinin karşılaştırılmasında, gruplar arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark ($P>0,05$) tespit edilmemiştir (Çizelge 3.7).

4.1.4. Karkas Ağırlıkları, Karkas Randımanı ve Bazı İç Organ Ağırlıkları

Araştırmanın 41. günü grup ortalamalarında seçilen hayvanlar kesilerek kontrol ve deneme gruplarına ait ortalama kesim öncesi canlı ağırlık (g), sıcak karkas ağırlığı (g) ve sıcak karkas randımanları (%) değerleri belirlenmiştir (Çizelge 3.6). Sonuçlara göre sıcak karkas ağırlığı ve kesim ağırlıkları bakımından sayısal olarak normal proteinli gruplarda düşük proteinli gruplardan daha iyi sonuçlar elde edilmiş ve en iyi sonuç NP-ÇKE grubunda gözlemlenmiştir. Ayrıca bu iki parametre için hem protein, hem de ÇKE yönünden istatistiki açıdan anlamlı fark tespit edilmiştir ($P<0,05$). Sıcak karkas ağırlığı ve kesim ağırlıkları bakımından ÇKE ve KÇKE ilavesinde hem normal proteinli hem de düşük proteinli gruplarda, kontrol gruplarına göre istatistiki olarak anlamlı iyileşmeler olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Ancak ÇKE ve KÇKE ilave edilen grupların değerlerinin kendi aralarındaki kıyaslamasında farkların istatistiki olarak anlamlılık göstermediği görülmüştür.

Karkas randımanı açısından, NP-K grubunda, DP-K grubuna göre sayısal olarak daha yüksek karkas randımanı gözlemlenmişken, ÇKE ve KÇKE ilavesinde düşük proteinli grupların karkas randımanı değerlerinde sayısal olarak daha yüksek değerler ile karşılaşmıştır. Ancak gruplar arasındaki farklılıkların protein ve ÇKE yönünden istatistiksel anlamlılık göstermediği tespit edilmiştir ($P>0,05$). Karkas randımanı bakımından NP-ÇKE ve NP-KÇKE'de NPK'ya göre sırasıyla %0,64 ve %0,68'lik artış gözlemlenmiştir. NP-ÇKE ve NP-KÇKE'de DP-K'ya göre sırasıyla %1,53 ve %1,57'lik artış tespit edilmiştir.

Fancher ve Jensen (1989), Moran ve ark., (1992), Bregendahl ve ark., (2002) düşük proteinli rasyonlar kullandıkları çalışmalarında performans parametrelerinde olumsuz etkiler ile karşılaştıklarını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda karkas randımanı açısından DP-K grubuna göre; DP-ÇKE'de % 2,4'lük ve DP-KÇKE'de ise, %3,23'lük artış tespit edilmiştir. DP-K grubuna göre, DP-ÇKE ve DP-KÇKE gruplarında kesim öncesi canlı ağırlık, sıcak karkas ağırlığı ve sıcak karkas

randımanları değerlerinde gözlenen artışın rasyonlara ilave edilen ÇKE ve KÇKE ekstraktından kaynaklandığı görülmüş olup, çam kabuğu ekstraktının antioksidan özellikleri ile rasyonlardaki protein eksikliği, enerji-protein dengesizliği sebepli oksidatif stresin etkilerinin azaltılmasını sağlayarak Herraren ve ark., (2011) çalışmalarına benzer şekilde performansta iyileşmeler oluşturabileceği anlaşılmıştır.

Çalışma sonucunda kesilen hayvanlardan kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, kloaka yağı, bezli mide ve taşlık ağırlıkları ölçülmüş, karkas randımanı ve organların canlı ağırlığa oranları hesaplanmıştır (Çizelge 3.8). Dalak, bursa Fabricius, taşlık ağırlıkları ve canlı ağırlığa oranları açısından gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. Kalp ağırlığının canlı ağırlığa oranı açısından ÇKE yönünde istatistiki anlamlılık gözlemlenmiştir. ÇKE ve KÇKE ilavesiyle DP-K grubu değerine göre istatistiki olarak anlamlı düşme tespit edilmiş ve en düşük değer DP-ÇKE grubunda tespit edilmiştir. Karaciğer ağırlığı bakımından protein yönünde istatistiki farklılık görülürken, karaciğerin canlı ağırlığa oranı açısından hem protein hem ÇKE yönünde istatistiki anlamlı farklılık ile karşılaşılmıştır. ÇKE ve KÇKE ilavesi ile karaciğerin canlı ağırlığa oranı bakımından kontrol gruplarına göre oranın azaldığı tespit edilmiştir. Karaciğer ağırlığı ve canlı ağırlığa oranında en düşük oran NP-KÇKE, en yüksek değer ise, DP-K grubunda gözlemlenmiştir ($P<0,05$).

Abdominal yağ ve canlı ağırlığa oranı açısından düşük proteinli gruplarda normal proteinli gruplara göre istatistiki önem arz eden daha yüksek değerler gözlemlenmiştir. Bezli midenin canlı ağırlığa oranında grupların değerlerindeki sayısal değişimler ÇKE yönünden istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$).

Gheisari ve ark. (2015), broylerlerde 3 farklı protein seviyesinin büyüme performansı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, düşük proteinli gruba başlangıç %18, büyüme ve bitiş %14; orta proteinli gruba başlangıç %20, büyüme %18, bitiş %16; yüksek proteinli gruba başlangıç %22, büyüme ve bitiş %18 ham proteinli rasyonlar vermişlerdir. Çalışmalarında kalp, karaciğer ve taşlık ağırlığı

bakımından yüksek proteinli grupların değerlerinin orta ve düşük proteinli gruplara göre daha yüksek olduğunu ve bu farkın istatistiki olarak anlamlılık taşıdığını ($P<0,05$) orta ve düşük proteinli grupların arasındaki farklılığın ise istatistiki önem göstermediğini belirtmişlerdir. Kalp ve taşlık ağırlığının düşük proteinden yükseğe doğru artış gösterirken, karaciğer ağırlığının ise azaldığını bildirmişlerdir. Araştırmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde kalp ve taşlık ağırlığı normal proteinli gruplarda düşük proteinli gruplara göre daha yüksekken, karaciğer ağırlığı düşük proteinli gruplarda daha yüksek bulunmuştur.

Guo ve ark. (2018), broylerde rasyonlara %0, 1, 3, 5 düzeylerinde çam iğnesi tozu ilavesinin büyüme, iç organ ağırlıkları ve kan biyokimyası üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada çam iğnesi tozu ilave edilen tüm gruplarda kontrol grubuna göre taşlık ve rektum ağırlığında istatistiki açıdan anlamlı artış, ince bağırsak ağırlığında ise düşüş gözlemlendiğinden bahsetmişlerdir. Çalışma sonucunda da broyler rasyonlarına çam iğnesi tozu ilavesinin sindirim sistemi gelişimini iyileştirebileceği sonucunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda KÇKE ilave edilen grupların taşlık ağırlıklarında kontrol gruplarına göre sayısal artışlar gözlenmiştir. Ancak bu artışlar istatistiki olarak anlamlılık göstermemiştir ($P>0,05$).

4.1.5. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler

Araştırmamıza ait kan serumundaki ALP, AST, ALT, total kolesterol, trigliserit, LDL ve HDL değerleri Çizelge 3.9'da yer almaktadır. Çalışmamızın sonuçlarına göre; gruplar arasında protein ve ÇKE için; ALT, HDL, total kolesterol, trigliserit, değerlerinde istatistiksel olarak önemli fark gözlenmemiştir. Ancak ALP için, protein-ÇKE etkileşim değeri istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermiştir. Etkileşim değerine göre yapılan değerlendirmelerde; normal proteinli gruplarda ÇKE ilavesi ile ALP'nin kandaki seviyesi artarken, düşük proteinli gruplarda azalma gösterdiği tespit edilmiştir.

Ayrıca grupların AST ve LDL değerlerinde protein yönünden istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur. LDL değeri NP-K'ya göre DP-K'da daha düşük olarak tespit edilmiştir. NP-K'ya göre NP-ÇKE'nin değeri daha yüksek, NP-KÇKE'nin ise; daha düşük bulunmuştur. DP-ÇKE ve DP-KÇKE gruplarında ise; DPK grubundan daha düşük LDL değerleri ile karşılaşılmıştır. LDL değerlerini destekler şekilde total kolesterol düzeyi de istatistiki açıdan fark göstermemekle birlikte, sayısal olarak DP-K'ya göre; DP-ÇKE, DP-KÇKE gruplarında daha düşüktür.

AST değerleri için NP-K, NP-ÇKE, NP-KÇKE ile, DP-K, DP-ÇKE, DP-KÇKE gruplarının birbirlerine göre yapılan kıyaslamalarında protein yönünden istatistiki fark tespit edilmiştir. En yüksek değer NP-ÇKE, en düşük değer DP-ÇKE grubunda gözlenmiştir. ÇKE yönünden ise sayısal olarak farklılık olması ile birlikte istatistiki fark gözlenmemiştir.

Guo ve ark. (2018)'nın, broylerde rasyonlara %0, 1, 3, 5 düzeylerinde çam iğnesi tozu ilavesinin büyüme, iç organ ağırlıkları ve kan biyokimyası üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada serum trigliserid düzeyinin %3 ve %5 çam iğnesi tozu katılan gruplarda, serum kolesterol düzeyinin de %1 ve %5 çam iğnesi tozu katılan gruplarda kontrol grubuna göre düştüğü bildirilmiş olup, çalışma sonucunda broyler rasyonlarına çam iğnesi tozu ilavesinin serum kolesterol ve trigliserid düzeylerini düşürdüğüne görüldüğü belirtilmiştir. Çalışmamızda; %10 ÇKE ve KÇKE katılması durumunda; LDL ve total kolesterol değerlerinde ÇKE yönünden istatistiki fark gözlenmemekle birlikte NPK grubuna göre; NP-ÇKE'de sayısal olarak artış, NP-KÇKE'de ise düşüş, DP-ÇKE ve DP-KÇKE gruplarında DP-K'ya göre düşüş gözlenmiştir.

Devaraj ve ark., (2002)'nin piknogenolün oksidatif stres ve kan lipid profili üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 25 sağlıklı bireye 150 mg/gün düzeyinde çam kabuğu ekstraktı 6 hafta süre ile verilmiştir. Kullanım öncesi, 3-6 haftalık uygulanmada ve kullanım sonrası vücuttan 4 haftalık atılım süresi sonrası

kan örnekleri alınmıştır. 6 haftalık kullanım sonrası plazma polifenol düzeyinde önemli bir artış tespit edildiği belirtilmiştir. Kan plazması antioksidan potansiyelinin pikoeritrin proteini yokluğunda proteinlerin oksidatif hasarını tespiti dayanan plazma oksijen radikal absorbans kapasite (ORAC) ölçümünde ORAC değerlerinin pikogenol kullanımında %40 arttığı ve 4 haftalık vucüttan atılım sonrasında kullanım öncesi düzeye döndüğünün görüldüğü bildirilmiştir. Pikogenol kullanımında deneklerin 2/3 'ünde LDL kolesterol seviyesinin düştüğü ve HDL kolesterol seviyesinin artış gösterdiği, total kolesterolün düştüğünün tespit edildiği belirtilmiş, piknogenolün plazma antioksidan kapasitesini artırdığı ve lipid profiline olumlu etkileri olduğu sonucu bildirilmiştir. İnsanlarda yapılmış bu çalışmaya benzer şekilde, çalışma bulgularımızda lipid profili bakımından normal proteinli gruplarda ÇKE ilavesi durumunda kontrol grubuna göre sayısal artışlar saptanmakla birlikte KÇKE ilavesi ile daha düşük değerler tespit edilmiştir. Özellikle düşük proteinli gruplarda kontrol grubuna göre, ÇKE ve KÇKE ilave edilen gruplar lehine olumlu değerler saptanmıştır.

4.1.6. But, Göğüs Eti pH Değerleri ve İnce Bağırsak, Bezli Mide, Taşlı Mide pH Değerleri

Çalışmamıza ait göğüs eti pH değerleri açısından düşük proteinli gruplarda daha yüksek pH değeri gözlenmiş olup, gruplar arası fark 7. günde protein yönünden istatistiksel olarak önem göstermiştir. 7. gün pH değerlerinde protein-ÇKE etkileşim değeri anlamlılık göstermiş olup, DP-ÇKE grubunda DP-KÇKE ve DP-K'ya göre istatistiki önem gösteren daha düşük değer görülmüştür.

1. ve 7. gün but eti pH değerlerinde ÇKE yönünden gruplar arasında istatistiki anlamlılık ile karşılaşılmıştır. Yine aynı günlerde protein-ÇKE etkileşim değeri anlamlılık teşkil etmiş ve en düşük değer 1. gün için DP-KÇKE grubunda görülmüştür. Bu düşüş DP-K grubuna göre istatistiki olarak anlamlılık göstermiştir. 7.gün en düşük değerler NP-K ardından DP-ÇKE grubunda en yüksek pH değeri ise,

DP-K grubunda görülmüştür. NP-KÇKE ve DP-KÇKE gruplarının değerleri ise; sayısal olarak sırasıyla NP-ÇKE ve DP-ÇKE gruplarına göre sayısal olarak yükselmiş olup, 7.gün DP-KÇKE ile DP-ÇKE değerleri arasında istatistiki fark tespit edilmiştir (Çizelge 3.10).

Ahmet ve ark., (2015), et ve et ürünlerinin muhafazasında pH değeri en önemli faktörlerden biri olarak kabul edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da ÇKE ilave edilen grupların pH değerlerinde istatistiki açıdan anlamlı düşme olması, ÇKE ilavesinin pH değerlerini olumlu etkilediği yönünde değerlendirilmiştir.

İnce bağırsak, bezli mide ve taşlı mide pH değerleri Çizelge 3.11’de yer almakta olup, bezli mide ve taşlı mide pH değerleri için gruplar arası fark istatistiksel olarak önemsizdir. İnce bağırsak için; duodenumda ÇKE yönünden, jejunum ve ileumda ise; hem protein hem ÇKE yönünden gruplar arasında istatistiki anlamlı fark tespit edilmiştir. Ayrıca ileumda protein-ÇKE etkileşim değeri de istatistiki açıdan anlamlı bulunmuştur. Kontrol gruplarına göre ÇKE ve KÇKE ilave edilen gruplarda alkali pH yönünde istatistiki yönden anlamlı hafif artış gözlenmiştir.

Kanatlılarda ince bağırsak pH değerleri bağırsak mikroflorasını, yemlerin sindirilebilirliğini ve mikrofloraya bağlı olarak immun sistemini etkileyen temel etkenler arasında yer almaktadır (Rahmani ve ark., 2005). Sindirim kanalının asidik yapıda olması yararlı bakterilerin çoğalmasına imkan verirken, 7’nin üstü yüksek alkali pH değerlerinde patojen bakterilerin popülasyonu artmaktadır (Rahmani ve ark., 2005). Çalışma sonuçlarımızda kontrol ve deneme gruplarında bezli mide ve taşlıkta, normal fizyolojik sınırlar olarak belirtilmiş olan 2.0-3,5 arası pH ile uyumlu asidik pH düzeyleri tespit edilmiş, ÇKE ve KÇKE ilavesiyle, NP-K grubuna göre NP-ÇKE ve NP-KÇKE’de; DP-K’ya göre DP-ÇKE ve DP-KÇKE gruplarında pH ‘nın asidik yönde kayma gösterdiği görülmüştür. Bağırsak içinde ÇKE ve KÇKE ilavesiyle kontrol gruplarına göre; pH’da alkali yönde hafif artış tespit edilmiştir. pH 6-7 arası değerler gözlenmiş olup, yüksek alkali pH değerleri ile karşılaşılmamıştır.

Bu durum kontrol ve deneme gruplarının sağlıklı bağırsak pH'larına sahip olduğunu göstermiştir.

4.1.7. Göğüs Eti TBARS Değerleri

Lipid peroksidasyonu sonucu doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyona girmesi ile ortaya çıkan yan ürünler arasında malondialdehit (MDA), toksisitesi nedeniyle öne çıkmaktadır (Botsoglou ve ark., 1994). MDA'nın eritrositlerin membranlarında lezyonlar oluşturarak hücre içi oksidatif strese neden olduğu, ayrıca mutajenik ve genotoksik etki gösterdiği belirtilmiş ve MDA'lı gıdaların tüketiminin risk oluşturabileceği bildirilmiştir (Botsoglou ve ark., 1994; Okolie ve ark., 2009). Dokularda ve metabolizmada bağlı ve serbest halde bulunan MDA düzeyinin değerlendirilmesinde, MDA'nın tiyobarbitürik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan bileşiklerin absorbansının ölçülmesi esasına dayanan TBARS yöntemi kanatlı ve kırmızı etlerdeki lipid oksidasyon düzeyini belirlemek amacıyla uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır (Jo ve Ahn, 1998; Gomes ve ark., 2003; Ross ve Smith, 2006).

Çalışma sonucu gruplardan seçilerek kesilen hayvanların göğüs eti örneklerinin 1. güne ait TBARS değerleri istatistiki açıdan fark göstermezken; 3. gün TBARS değerleri arası farklılık hem protein hem ÇKE yönünden istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Protein yönünden düşük proteinli grupların TBARS değerleri normal proteinli gruplardan daha yüksek tespit edilmiştir. ÇKE yönünden ise; kontrol gruplarına göre ÇKE ve KÇKE ilave edilen gruplar lehine istatistiki olarak anlamlı fark bulunmuştur ($P < 0,05$). Protein-ÇKE etkileşiminde istatistiki açıdan anlamlılık göstermiştir. Etkileşim değerlerine göre yapılan değerlendirmede NP-ÇKE ve NP-KÇKE grupları ile DP-ÇKE ve DP-KÇKE arasında istatistiki önem gösteren farklılık tespit edilmiş olup, en düşük TBARS değerleri NP-KÇKE grubunda görülmüştür (Çizelge 3.12).

Wu ve ark. (2015), broylerlerde *Aspergillus niger* ile fermente edilmiş ve nonfermente çam iğnesi ilavesinin büyüme performansı ve antioksidan kapasite üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; kontrol grubu ve rasyonlara başlangıçta %0,3 ve büyüme döneminde %0,6 çam iğnesi ilavesi yaptıkları non fermente grup ile; başlangıçta %0,1; 0,3; 0,5 ardından büyüme döneminde %0,2; %0,6 ve %1 düzeylerinde fermente çam iğnesi ilave ettikleri 3 fermente çam iğnesi grubu olmak üzere 5 grup oluşturmuştur. Çalışma sonucunda, 42 günlük dönemde rasyonlara fermente ve non fermente çam iğnesi ilavesi ile, büyüme performansında herhangi bir olumsuz etki gözlemlenemedikleri belirtilmiştir. Antioksidan kapasite açısından kontrol ve nonfermente gruba göre fermente çam iğnesi ilave ettikleri 3 fermente çam iğnesi grubunda serum ve karaciğer MDA konsantrasyonlarının istatistiki açıdan anlamlı olarak da düşüş gösterdiği bildirilmiştir. Antioksidan kapasitesinin artışı ve lipid peroksidasyonunun düşürülmesi için, MDA konsantrasyonundaki en yüksek azalmanın başlangıç rasyonunda %0,3; büyüme-bitiş rasyonunda %0,6 fermente çam iğnesi ilave ettikleri grupta tespit ettikleri belirtilmiştir.

Guo ve ark. (2018)'nın, broylerde rasyonlara %0, 1, 3, 5 düzeylerinde çam iğnesi tozu ilave ettikleri çalışmalarında %5 çam iğnesi tozu katılan grupta kontrol grubuna kıyasla serum malondialdehit içeriğinin düştüğü bildirilmiştir. Çalışma sonucunda broyler rasyonlarına çam iğnesi tozu ilavesinin antioksidan fonksiyonları iyileştirebileceğinin görüldüğü belirtilmiştir.

Çalışmamızda da ÇKE ve KÇKE ilavesinin kontrol gruplarına göre, göğüs eti MDA düzeyinin düşürülmesinde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca KÇKE ilavesiyle ÇKE ilavesine göre göğüs eti TBARS düzeyi bakımından sayısal olarak daha olumlu sonuçlar elde edilmiştir. İstatistiki anlam taşıyan en iyi sayısal değerler NP-KÇKE grubunda tespit edilmiştir.

4.1.8. Dışkı, Altlık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak Düzeyleri

Altlıklı yer sisteminde yetiştirilen kanatlılar için kümes içi çevre koşullarından biri olan altlık materyalinin çeşidi ve altlık yönetimi entansif yetiştiricilikte çok önemlidir. Özellikle hayvanın hayat boyunca üzerinde bulunduğu altlığın nemi ve mikrobiyal yükü, hayvan sağlığı, performans ve karkas kalitesi üzerine etkilidir. Deneme sonunda elde edilen dışkı, altlık kuru madde ve dışkı, altlık amonyak azotu düzeyleri Çizelge 3.13’de yer almakta olup, dışkı kuru madde düzeyleri bakımından gruplar arasında istatistiksel yönden anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Altlık kuru madde düzeylerinde gruplar arasında ÇKE yönünden anlamlı fark gözlenmiş olup, kontrol gruplarına göre ÇKE ve KÇKE ilavesi durumunda kuru madde de sayısal olarak artış tespit edilmiş ve KÇKE ilave edilen grupta daha yüksek kuru madde düzeyi ile karşılaşılmıştır. Dışkı ve altlık amonyak düzeylerinde düşük proteinli gruplarda sayısal olarak daha düşük değerler gözlenmiştir ve gruplar arası bu farklılık protein yönünden istatistiki olarak da anlamlıdır.

Genellikle doğal antioksidan ilave edilen gruplarda dışkı kuru madde düzeyinin daha düşük olabildiği bildirilen çalışmalar olmasının yanı sıra fitojenik yem katkı maddelerinin etlik piliçlerde dışkı kuru madde düzeyini arttırdığına yönelik çalışmalar da mevcuttur (Wati ve ark., 2015). Çalışmamızda da benzer şekilde ÇKE ilave edilen gruplarda dışkı kuru madde düzeyinde artış görülmüştür.

4.1.9. İnce Bağırsak Histomorfolojisi

Kontrol ve deneme grubu rasyonlarının 21. gün ve 41. gün jejunum ve ileum villus yüksekliği (VY), kript derinliği (KD) ve villus yüksekliği/kript derinlikleri (VY/KD) Çizelge 3.17 ve Çizelge 3.18’de verilmiştir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre 21 gün jejunum VY ve KD açısından gruplar arasında protein ve ÇKE yönünden istatistiki önem gösteren farklılık ($P<0,05$) tespit edilmiştir. Düşük proteinli gruplarda VY ve KD, normal proteinli gruplara göre istatistiki açıdan

anlamli ($P<0,05$) olarak daha düşük tespit edilmiştir. ÇKE açısından, KÇKE verilen gruplarda daha yüksek VY ve KD değerleri gözlenmiş olup, KÇKE verilen gruplar kontrol gruplarına göre istatistiki olarak anlamli değişimler ($P<0,05$) göstermiştir. Protein-ÇKE etkileşimi bakımından yapılan karşılaştırmalarda 21. gün kript derinliğinde etkileşim değeri istatistiki açıdan anlamli ($P<0,05$) çıkmış olup, en yüksek değerler NP-KÇKE ve ardından DP-KÇKE’da gözlenmiştir. Etkileşim değeri açısından bu iki grup arasında istatistiki fark gözlenmeyip, DP-KÇKE değeri ile DP-ÇKE arasında DP-KÇKE için olumluluk teşkil eden istatistiki anlamli fark ($P<0,05$) tespit edilmiştir. Grupların VY/KD oranları değerlendirildiğinde gruplar arası değişimler istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

41. gün jejunum villus uzunluğu için ÇKE yönünden, kript derinliği için hem protein hem ÇKE yönünden anlamli farklılık tespit edilmiştir. KD için protein-ÇKE interaksiyonu da istatistiki önem ($P<0,05$) göstermiştir. Protein yönünden VY ve KD için normal proteinli gruplarda istatistiki olarak anlamli ($P<0,05$) daha yüksek değerler gözlemlenmiştir. ÇKE yönünden de KÇKE ve ÇKE verilen grupların değerlerinin kontrol gruplarının değerlerine göre istatistiki önem gösterir şekilde ($P<0,05$) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Protein-ÇKE etkileşimi yönünden ise; NP-ÇKE ve NP-KÇKE grupları lehine anlamlılık gösteren olumlu değerler bulunmuştur. VY/KD açısından en düşük değer NP-KÇKE grubunda en yüksek değer NP-K ve DP-KÇKE grubunda bulunmuştur. 41. gün ileum VY ve VY/KD bakımından gruplar arasında istatistiki fark ($P>0,05$) gözlemlenmemiş olup KD için ÇKE yönünden istatistiki anlamli farklılık ($P<0,05$) tespit edilmiştir. En yüksek değer DP-KÇKE ve ardından DP-ÇKE gruplarında saptanmıştır.

Villus yüksekliği ve kript derinliği ince bağırsağın sindirim kapasitesi ile ilişkilidir. Villus yüksekliğinin azalması veya kript derinliğinin artması gibi sindirim sistemi histomorfolojisinde görülen değişimler bazı sorunlardan kaynaklanabilir. Villus yüzeyinin azalması ile sindirim sisteminin emilim yüzeyi azalır. Villus epitel hücreleri için köken oluşturan ve farklılaşmamış hücreler barındıran kript bölgesinin

derinliğinin artması ise, yeni hücrelere ihtiyaç duyulduğunun göstergesidir (Choct, 2009). Cook ve Bird (1973) bağırsaklarda patojen bakterilerin artışı durumunda villusların kısalıp, kriptlerin ise derinleştiğini tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Ao ve ark., (2012) Clostridium perfringens verilen broylerlerde bağırsak histomorfolojisi, hastalık dirençliliği ve performansın birbiriyle ilişkili olduğunu gösterdiklerini belirtmişlerdir. Clostridium perfringens ile nekrotik enterit oluşturdukları çalışmalarında, büyümede yavaşlama, yem dönüşüm oranında kötü yönde etkilenme, mortalitede artış ve villus /kript oranında düşme gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Laudadio ve ark., (2012) broylerlerde farklı protein seviyelerinin bağırsak histomorfolojisi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında eş enerjili 3 farklı protein düzeyinde yüksek %22,5, orta %20,5, düşük %18,5 HP içeren rasyonlarla 35 günlük bir çalışma yürütmüşlerdir. Bağırsak VY ve KD değerleri için; orta proteinli grupta yüksek ve düşük proteinli gruplara göre daha fazla artışların olduğunu bildirmişlerdir. Orta proteinli grupta yüksek ve düşük proteinli gruplara göre et kalitesinde herhangi bir olumsuz etkiyle karşılaşılmadan optimum büyüme performansı ve maksimum absorpsiyon kapasitesi gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Düşük proteinli grubun bağırsak VY, KD'ne kıyasla; orta ve yüksek proteinli grupların değerlerinde belirgin sayısal artışlar görüldüğünü, bu artışlardan orta proteinli grubun değerlerinin düşük proteinli gruba göre istatistiki önem gösterdiğini, yüksek proteinli grubun değerlerinin ise sayısal artış olarak tespit edildiğini bildirmişlerdir. VY/KD oranında da yüksek proteinli gruba göre orta proteinli grupta daha olumlu oranlar ile karşılaştıklarını belirtmişlerdir.

Tufarelli ve ark., (2010), villus yüksekliğindeki artışın bağırsaktaki toplam emilim alanında artış sağladığını bu durumun sindirim enzimlerinin faaliyeti ve villus yüzeyindeki besin maddelerinin taşınımında olumlu etki sağladığından bahsetmişlerdir. Baurhoo ve ark., (2007), ince bağırsaklardaki villus uzunluğu artışının bağırsak sağlığının gelişimi ile ilişkili olduğunu vurgulamışlardır. Van Nevel ve ark., (2005) villus yüksekliği/kript derinliği oranının düşük olması, bağırsak çevirim hızının düştüğünü gösterdiğini bu durumun yaşamsal faaliyetler için daha

düşük enerji harcanmasını sağlayarak büyüme hızında artışa yol açabileceğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda ise; 21. ve 41. gün sonuçlarında ÇKE ve KÇKE ilave edilen gruplarda kontrol gruplarına göre villus yüksekliklerinde artış tespit edilmiştir. Kript derinliği için, jejunum 21 gün sonuçlarında kontrol grubuna göre NP-ÇKE grubunda düşüş, diğer gruplarda artış, 41. günde kontrol gruplarına göre tüm gruplarda artış gözlenmiştir. İleumda da kontrol gruplarına göre 21 ve 41. gün kript derinliklerinde artış tespit edilmiştir. Villus yüksekliği ve performans artışı ile birlikte kript derinliklerinde artış görülmesi büyümedeki artış kökenli olup, olumlu bir artış olabileceği kanısına varılmıştır. İleriki çalışmalarla bu kanının desteklenmesi gerektiği anlaşılmıştır.

4.2. İn vitro çalışmalar

Fenoller biyotik ve abiyotik stres faktörlerine cevapta rol oynayan bileşiklerdir (Ruiz ve ark., 2001). Toplam fenolik madde içeriği çam ağacının çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Üstün ve ark. (2012), ülkemizde yetişen 5 çam türü *Pinus brutia*, *Pinus halepensis*, *Pinus nigra*, *Pinus pinea* ve *Pinus sylvestris* ile, *Pinus pinaster* ekstraktı olan pikogenolün 200µg/ml AChE (asetilkolinesteraz) ve BChE'ye (bütirilkolinesteraz) karşı inhibe edici etkilerinin test edildiği çalışmalarında antioksidan aktivitenin 2,2 DPPH (difenil-1-pikrilhidrazil) ve N,N- DMPD'le (dimetil-p-fenilendiamin) ölçülüp toplam fenol ve flavonoid içeriğin Folin-Ciocalteu ile belirlendiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmalarında *Pinus halepensis*'de sırasıyla AChE ve BChE inhibisyonu için %83,91±3,95 ve %82,47±5,57 ve piknogenolde AChE için %63,33±0,22, BChE için %83,67±0,22 değerlerini tespit etmişler, çam türlerinin zengin toplam fenol içeriklerinin antioksidan aktivitenin varlığını ortaya koyduğunu belirterek, esansiyel yağlarında α-β pinene'in ana bileşen olarak ayırt edildiğinin gözlemlendiği dile getirmişlerdir.

Çalışma sonucunda *Pinus pinaster* ve diğer *Pinus* türlerinin kolinesteraz metabolitleri için antioksidan özellikler ile ana kaynak olabileceğini bildirmişlerdir.

Çeliktaş ve ark. (2009), farklı *Pinus* türü çamların polifenol bileşimini ve biyolojik aktivitelerini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, farklı *Pinus* türleri LC ve LC-MS cihazları ile analiz etmişler ve çalışma sonunda *Pinus brutia* ve *Pinus nigra*'nın; *Pinus pinea* ve *Pinus sylvestris*'e kıyasla daha daha yüksek polifenol bileşik içerdiğini belirtmişlerdir. *Pinus brutia*'nın oldukça yüksek %18,5 düzeyinde taksifolin içerdiğini tespit etmişlerdir. En yüksek serbest radikal temizleyici aktivite sırasıyla *Pinus pinea* %88,6; *Pinus nigra* %87,2 ve *Pinus brutia* %86,4 olarak bulunmuştur. *Pinus sylvestris* ve ticari Piknogenol®'ün serbest radikal temizleyici aktivitesi sırasıyla %78,5 ve %58,3 olara ölçülmüştür. *Pinus brutia*, *Pinus pinea*, *Pinus sylvestris*, *Pinus nigra* ve ticari Piknogenol® (GNC, İzmir) preparatının kateşin içeriklerinin sırasıyla %7,04 $\pm$ 0,13; %3,58 $\pm$ 0,16; %1,78 $\pm$ 0,16; %3,77 $\pm$ 0,02 ve %0,15 $\pm$ 0,89 olarak ve taksifolin içeriklerinin sırasıyla; %18,56 $\pm$ 0,17; %2,87 $\pm$ 0,15; %0,66 $\pm$ 0,41; %0,30 $\pm$ 0,71; %0,17 $\pm$ 0,21 olarak ölçüldüğünü bildirilmişlerdir.

Çalışmamızda kullanılan çam kabuğu ekstraktı ve kaplanmış çam kabuğu ekstraktının toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 1215 g/kg ve 573 g/kg olarak bulunmuştur (Çizelge 3.14). Kim ve ark. (2012), Kore'de yaygın olarak bulunan iki ana çam türü olan *Pinus thunbergii* ve *Pinus densiflora*'nın fenolik madde içeriklerinin Jupiter International (Seul, Kore) adlı firmadan temin ettikleri ticari Piknogenol preparatı ile karşılaştırıldığı çalışmada toplam fenolik maddeyi spektrofotometrik Folin-Ciocalteu yöntemine göre (730 nm'de ölçülerek) bildirdiklerini bildirmişlerdir. Ticari piknogenol preparatında proantisiyanidin fraksiyonlarını 573,2 $\pm$ 64,3 mg/g; serbest radikal temizleyici aktiviteyi de % 59,2 $\pm$ 3,6 olarak ölçtüklerini, *Pinus thunbergii*'nin ve *Pinus densiflora*'da proantisiyanidin fraksiyonları ve serbest radikal temizleyici aktiviteyi sırasıyla 570,9 $\pm$ 62,3 mg/g, %59,7 $\pm$ 3,8 ve 611,4 $\pm$ 38,6, %63,9 $\pm$ 4,3 olarak belirlediklerini

bildirmişlerdir. Çalışmamızda ÇKE'nin aljinatla kaplanmış formunda tespit edilen toplam fenolik madde düzeyi, Kim ve ark. (2012)'nin ticari piknogenol preparatında ölçtükleri miktar ile benzerlik göstermektedir. Üstün ve ark. (2012) ülkemizdeki bazı çam türleri ekstraktları ve ticari Piknogenol® preparatı (Dongling Health Food Co.Ltd., (Çin)) kullanarak yürüttükleri çalışmada Folin-Ciocalteu yöntemi ile en yüksek toplam fenolik madde düzeyini ticari Piknogenol® preparatında 572,28+/-5,10 mg/g olarak ölçmüşlerdir. Araştırmamızda kullandığımız ÇKE'nin toplam fenolik madde düzeyinin, Üstün ve ark. (2012)'nin kullandıkları ticari preparatın toplam fenolik madde içeriğinden yüksek olduğu, aljinatla kaplanmış ekstraktın sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği görülmüştür. Çelikleş ve ark. (2009)'ın *Pinus pinea*, *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Pinus sylvestris* ve ticari piknogenolün toplam fenolik madde miktarını LC ve LC-MS cihazlarıyla belirledikleri çalışmalarında, toplam fenolik madde miktarının sırasıyla 280,0 mg/g; 367,7 mg/g; 469,9 mg/g; 211,2 mg/kg ve 12,8 mg/kg olarak ölçüldüğünü bildirilmişlerdir.

Vieito ve ark., (2018) *Pinus pinaster*'den elde ettikleri ekstraktın çeşitli solventler kullanarak toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesini belirlemeye çalıştıkları araştırmalarında Folin-Ciocalteu yönteminde solvent olarak sadece su ve sadece etanol kullanılmasına göre; su ve etanol karışımını birlikte kullandıklarında en iyi değerleri elde ettiklerini belirtmişler ve toplam fenolik madde düzeyini 73,48+/-1,84 mg GAE/g olarak ölçtüklerini bildirmişlerdir. Çalışmalarında toplam fenolik madde içeriği ve DPPH (Difenil-1-pikrilhidrazil) arası ilişkiyi göstermek için verdikleri grafikte R^2 değeri 0,983 olarak belirtilmiştir. DDPH ve toplam fenolik madde analizi eğrilerinin doğrusal ve birbirine oldukça ilişkili değerler sergilemesiyle; toplam fenolik madde düzeyinin antioksidan aktivitenin ortaya konmasında iyi bir gösterge olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ÇKE ve KÇKE'de toplam fenolik madde düzeyinin Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılan analizinde solvent olarak etanol su karışımı kullanılmış olup, gallik asit standardı kalibrasyon eğrisi ile hemen hemen çakışan doğrusal eğri elde edilmiş ve hesaplamalarda R^2 değeri 0,9999 olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.1).

KÇKE'nin, enkapsül hazırlama verimi %100 bulunmuştur (Çizelge 3.15). Yükleme kapasitesi denklem 2.2.3.2'deki hesaplamayla, ÇKE'nin fenolik bileşenlerinin aljinat tarafından ne kadarının kapsüle edildiğini göstermektedir. Enkapsüllerin yükleme kapasitesi %48,8 olarak tespit edilmiştir.

Bağlanma oranı gösteren enkapsülasyon verimliliğinde, denklem 2.2.3.3'deki hesaplamayla ÇKE'deki fenolik bileşenlerin aljinat tarafından ne kadarının kapsüle edildiğini ve yüzeyinde tutundurduğunu göstermektedir. Yükleme verimliliği %75,5 olarak bulunmuştur.

Enkapsülasyon yönteminin en önemli faktörleri, enkapsüle edilmek istenen bileşenin ne kadarının kapsül içine hapsedildiği ve mide-bağırsak koşullarında ne kadarının salındığıdır. Eğer enkapsülasyon verimi düşükse hem aktif madde kaybı dolayısıyla ekonomik kayıplar hem de zaman kaybı söz konusu olacağından seçilen yöntemin veya parametrelerin başarılı olmadığı kararına varılabilir. Bunun yanında, aktif maddenin mide ortamının zorlu asidik koşullarından etkilenmeden ince bağırsağa ulaşması ve buradan emilerek biyoyararlılığı yüksek ürünler elde edilmesi istenmektedir. Belirtilen koşullar göz önüne alınarak KÇKE'den salınan fenolik bileşiklerin invitro salım değerlerinin proventrikulusta %11,66; taşlı midede %23,60; duodenumda 35,87; ince bağırsakta 46,40 olduğu tespit edilmiştir. KÇKE'nin kanatlılarda in vitro salınımına ilişkin yeterli sayıda çalışma olmadığı görülmüş olup bu konuda yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırma sonucunda normal ve protein düzeyi yaklaşık %10 düşük etlik piliç rasyonlarına ÇKE ve KÇKE ilavesinde; deneme gruplarında 21 ve 31. günlerde protein ve ÇKE yönünden, 41.günde protein yönünden kontrol gruplarına göre istatistiki olarak önem gösteren daha yüksek CA değerleri tespit edilmiştir ($P<0,05$). Ayrıca 41. günde NP-K grubunda CA açısından DP-K, DP-ÇKE ve DP-KÇKE'ye göre sırasıyla %12,5; 5,93 ve 4,93 lük artış görülmüştür. NP-ÇKE ve NP-KÇKE gruplarında ise; NPK'ya göre CA'da sırasıyla %2,5 ve %0,99 artış tespit edilmiştir.

CAA açısından gruplar arasında 0-41 günlerde protein yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($P<0,05$). Sayısal olarak en yüksek canlı ağırlık artışı NP-ÇKE ardından da NP-KÇKE gruplarında bulunmuştur. Etkileşim değerine göre yapılan değerlendirmede, 0-21 günlük periyotta kaplanmış ekstrakt ilavesinin normal proteinli gruplarda CAA için istatistiki önem taşıyan olumlu etkiler sağladığı görülmüştür.

Yem tüketimleri bakımından 22-31 ve 0-41. günlerde protein yönünden istatistiki önem gösteren farklılık tespit edilmiştir. 0-41. günde en iyi yem dönüşüm oranı NP-ÇKE grubunda ve ardından NP-KÇKE grubunda gözlenmiştir. Yem dönüşüm oranları bakımından 0-41. günlerde protein ve ÇKE yönünden istatistiki olarak anlamlı farklılık gözlemlenmiştir ($P<0,05$). ÇKE ve KÇKE ilave edilen grupların yem dönüşüm oranlarında kontrol gruplarına göre iyileşme tespit edilmiştir.

Kesim ağırlığı ve karkas ağırlığı bakımından hem protein, hem ÇKE yönlerinden istatistiki önem gösteren farklılık tespit edilmiş olup ($P<0,05$), en yüksek değer NP- ÇKE grubunda görülmüştür. Kesim ağırlığı için bu değeri sırasıyla

büyükten küçüğe doğru NP-KÇKE; NP-K; DP-ÇKE; DP- KÇKE; DP-K gruplarının değerleri izlemiştir. ÇKE ve KÇKE ilave edilen gruplarda fark NP-K ve DP-K'ya göre istatistiki açıdan anlamlıdır. NP-K grubu ile DP-K arasında da, NP-K'nın değeri DP-K'ya göre istatistiki açıdan anlamlı olarak daha yüksektir. Karkas randımanı açısından gruplar arasında istatistiki fark görülmemiştir ($P>0,05$).

EPEF değerleri bakımından gruplar arasında istatistiki fark görülmemiş olup ($P>0,05$), sayısal olarak grupların değerleri en iyi değerden en küçük değere doğru sırasıyla NP-ÇKE; NP-KÇKE; NP-K; DP-ÇKE; DP-KÇKE; DP-K olarak sıralanmıştır.

Gruplarda kalp, karaciğer, abdominal yağ ve bezli mide hariç ($P<0,05$), diğer iç organ ağırlıkları ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranlarında istatistiki bakımdan önemli bir farklılık görülmemiştir ($P>0,05$).

Grupların kan serumunda ortalama ALT, HDL, trigliserid, total kolesterol değerleri arası farklılık istatistiki bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Özellikle LDL ve AST değerleri bakımından gruplar arasında protein yönünden istatistiki anlam taşıyan değerler ile karşılaşılmıştır ($P<0,05$).

Gruplar arasında göğüs eti TBARS değerleri bakımından 1. günde istatistiki anlamda önemli bir farklılık olmamasına karşın, 3. günde yapılan analiz sonuçlarında ÇKE ve KÇKE tüketen gruplarda TBARS düzeyi istatistiki açıdan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur ($P<0,05$). ÇKE ve KÇKE verilen gruplar arasında istatistiki fark görülmemekle birlikte, KÇKE katılan gruplarda daha iyi TBARS değerleri tespit edilmiştir.

Kontrol ve deneme gruplarına ÇKE ve KÇKE ilavesinin ortalama göğüs eti pH'sına önemli bir etkisi bulunmadığı, ancak but eti pH'sında istatistiki açıdan anlamlı olarak düşüş oluşturduğu görülmüştür ($P<0,05$).

Deneme gruplarında duodenumda ÇKE yönünden, jejunum ve ileumda ÇKE ve protein yönünden istatistiki anlamlı farklılık görülürken, bezli mide ve taşlık pH'ları bakımından anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($P>0,05$).

Deneme sonunda gruplarda ÇKE ve KÇKE ilavesinin dışkı ve altlık kuru maddesinde artışa yol açtığı gözlemlenmiş; dışkı, altlık amonyak azotu düzeyleri bakımından protein yönünden önemlilik gösteren farklılık tespit edilmiştir ($P<0,05$).

İnce bağırsak histomorfolojisi bakımından 21 gün jejunum villus yüksekliği ve kript derinliği için, hem protein, hem ÇKE yönünden istatistiki olarak anlamlı farklılık tespit edilirken ($P<0,05$); ileum değerlerinde istatistiki olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($P>0,05$). Jejunumda en yüksek villus uzunluğu ve kript derinliği NP-KÇKE grubunda, en düşük değerler ise DP-K grubunda saptanmıştır. 41.gün jejunum villus yüksekliğinde ÇKE yönünden, kript derinliğinde hem ÇKE, hem protein yönünden istatistiki açıdan anlamlı farklılık görülmüştür ($P<0,05$). 42. gün ileum kript derinliği değerlerinde ÇKE yönünden istatistiki anlamlılık tespit edilmiştir ($P<0,05$). Genel olarak değerlendirildiğinde ÇKE ve KÇKE ilavesi durumunda kontrol grubuna göre jejunum ve ileum villus yüksekliğinde ve jejunum 21 gün NP-ÇKE grubunda saptanan değer haricinde kript derinliğinde artış görülmüştür.

Ayrıca araştırmamızda ÇKE ve KÇKE'nin invitro salınım değerleri tespit edilmiştir. Invitro çalışmalarla yapıla bitki ekstraktlarının alternatif katkı maddeleri olarak kullanılabilirliğinin tespitinde laboratuvar denemeleri ile daha hızlı fayda

sağlanacağı düşünülmüştür. Bu hususta in vitro çalışma verilerimizin ileriki çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç olduğu da anlaşılmıştır ÇKE ve KÇKE'nin farklı kullanım miktarları denendiği yeni çalışmalar planlanmasının faydalı olacağı öneri olarak sunulmuştur.



ÖZET

Düşük Proteinli Broyler Rasyonlarına Çam Kabuğu Ekstraktı (*Pinus pinaster*) İlavesinin Performans, Antioksidan Kapasite ve Bağırsak Histomorfajisi Üzerine Etkisi

Bu araştırma; broyler rasyonlarına ilave edilen ÇKE ve KÇKE'nin performans (canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yem dönüşüm oranı, Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü-EPEF), karkas özellikleri, bazı iç organ ağırlıkları (kalp, karaciğer, dalak, bursa Fabricius, taşlı mide, bezli mide ve abdominal yağ), kan serumundaki bazı biyokimyasal değerler (ALT, ALP, AST, toplam kolesterol, HDL, LDL, trigliserit), göğüs ve but eti pH değerleri, göğüs eti MDA düzeyi, bağırsak pH'sı, altlık ve dışkı kuru madde düzeyleri ile bağırsak histomorfajisi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çam kabuğu ekstraktı (%1,5) en uygun kapsüllenmenin sağlandığı aljinat (%1) ile enkapsüle edilmiştir ve kurutmaya bırakılmıştır. Kurutma işleminden sonra elde edilen KÇKE broyler rasyonlarında kullanılmıştır ayrıca in vitro sindirim analizi gerçekleştirilmiştir. Araştırmada hayvan materyali olarak 1 günlük 288 adet erkek broyler civciv kullanılmıştır. Her biri 48 civcivden oluşan 6 grup düzenlenmiş, her bir grup 8 civcivden oluşan 6 alt gruba ayrılmıştır. Normal protein ve düşük proteinli rasyonlarda gruplar 1 kontrol ve 2 deneme grubu olacak şekilde oluşturulmuştur. Kontrol gruplarına herhangi bir ilave yapılmamıştır. Normal ve düşük proteinli rasyonların deneme gruplarının birine 100 mg/kg olacak şekilde ÇKE, diğerine aynı düzeyde kaplanmış KÇKE ilave edilmiştir.

Çalışma sonucunda normal ve protein düzeyi düşük etlik piliç rasyonlarına ÇKE ve KÇKE ilavesi durumunda kontrol gruplarına göre 21. günde ve 0-21. günler arasında hem protein hem ÇKE ilavesi yönünde istatistiki açıdan anlamlı ($P<0,05$) daha iyi CA ve CAA verileri tespit edilmiştir. 0-21. günler arasında normal proteinli gruplarda KÇKE verilmesinin istatistiki açıdan da anlamlı ($P<0,05$) en iyi sonuçların elde edilmesini sağladığı görülmüştür. 41. günde ve 0-41. günler arasında ise; protein yönünden istatistiki açıdan anlamı daha iyi CA ve CAA gözlemlenmiştir. Yem dönüşüm oranı bakımından da 0-21 ve 0-41.günlerde deneme gruplarında ÇKE yönünden istatistiki açıdan anlamlı iyileşmeler ($P<0,05$) tespit edilmiştir. Kesim ağırlığı, karkas ağırlığı ve yem dönüşüm oranı bakımından en iyi değerler NP-ÇKE, ardından NP-KÇKE grubunda gözlenmiştir. Karkas randımanı açısından DP-K'ya göre, DP-KÇKE ve DP-ÇKE gruplarında sırasıyla daha yüksek karkas randımanı tespit edilmiştir.

Grupların iç organ ağırlıkları açısından kalp, karaciğer ve abdominal yağ ağırlıklarında protein yönünden, iç organ ağırlıklarının 100 g canlı ağırlığa oranlarını açısından kalp ve bezli midede ÇKE yönünden karaciğerde ise; hem protein hem ÇKE yönünden gruplar arasında istatistiki anlamlı fark görülürken ($P<0,05$), diğer iç organ ağırlıklarında istatistiki bakımdan önemli bir fark görülmemiştir ($P>0,05$). Grupların duodenum pH'ları ÇKE yönünden, jejunum, ileum pH'ları protein ve ÇKE yönünden istatistiki olarak anlamlı farklılık göstermiştir ($P<0,05$), ÇKE yönünden en olumlu değerler KÇKE ilave edilen gruplarda görülmüştür. Bezli mide ve taşlı mide pH'ları bakımından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($P>0,05$). Grupların göğüs eti MDA değerleri bakımından 1. günde istatistiki anlamda önemli bir farklılık olmamasına karşın, 3.günde yapılan analiz sonuçlarında ÇKE ve KÇKE ilave edilen gruplarda MDA düzeyi

istatistiki açıdan anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Araştırmada ayrıca ÇKE ve KÇKE'nin invitro salınım değerleri de tespit edilmiştir. Bağırsak histomorfolojisi açısından değerlendirildiğinde ÇKE ve KÇKE ilavesi durumunda kontrol grubuna göre 21 ve 42. gün jejunum VY ve KD'de en yüksek değerler NP-KÇKE ve ardından NP-ÇKE grubunda gözlemlenmiştir ($P<0,05$). 21. ve 41. gün jejunum VY'lerinde KÇKE verilen gruplarla ÇKE'ye verilen gruplar arasında istatistiki fark olmamakla ($P>0,05$) birlikte sayısal olarak daha fazla artışla karşılaşmıştır. Ayrıca 21 ve 41. günlerde DP-KÇKE grubunda, jejunum ve ileum VY ve KD açısından DP-K ve hatta NP-K'dan daha yüksek değerler tespit edilmiştir. Bağırsak histomorfolojisi bakımından protein eksikliğinin etkilerinin tolere edilmesinde KÇKE ilavesinin daha olumlu sonuçlar oluşturduğu görülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızda ilk kez ÇKE aljinat ile kaplanarak broyler rasyonlarında kullanılmıştır. Normal ve proteini %10 düzeyi düşük broyler rasyonlarına, rasyonların ekonomikliği göz önünde bulundurularak 100 mg/kg ÇKE ve KÇKE ilavesiyle; performans ve elde edilecek ürünlerde olumlu etkiler sağlanabileceği gözlemlenmiştir. Çalışma bulgularımıza göre, ÇKE ve KÇKE'nin kanatlı rasyonlarına kullanılabilecek alternatif aromatik bileşikler arasında değerlendirilebileceği sonucuna varılmış olup, enkapsülasyon uygulamasının gruplarda herhangi bir negatif etkisi olmadığı, ayrıca bağırsak histomorfolojisi açısından daha olumlu sonuçlar oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Farklı koşullarda ve kullanım düzeylerinde yeni denemeler planlanmasının ve yürütülecek in vitro çalışmalarla enkapsülasyon tekniğinin faydalarının irdelenmesinin yararlı olacağı kanısı oluşmuştur.

Anahtar Sözcükler: Broyler, Düşük Protein, Çam Kabuğu Ekstraktı, Enkapsülasyon, Performans.

SUMMARY

The Effect of *Pinus Pinaster* Extract Supplementation in Low Protein Broiler Diets on Performance, Antioxidant Capacity and Intestinal Histomorphology.

This study has been conducted to determine the effects of *Pinus pinaster* extract (PPE) and encapsulated *Pinus pinaster* extract (EPPE) supplementation in low protein broiler diets on performance, carcass efficiency, visceral organ weights, some blood parameters, breast and leg meat pH, intestinal pH, antioxidant capacity in breast meat and blood also intestinal histomorphology. *Pinus pinaster* extract was covered with alginate was the best option for covering for obtaining encapsulated *Pinus pinaster* extract. The research lasted 41-days with 288 one-day old male broiler chicks. Chicks divided to six groups contain 48 chicks and then each groups divided to six subgroups that contain eight chicks. In the study, groups are classified according to two different protein level, one of is normal protein group that contain respectively %23-21.5-19.5 crude protein, the other one is low protein group contain %20,7-19.4-17.5 crude protein at starter, grower and finisher periods. Also normal and low protein level groups divided to one control and two trial groups. It has been added amount 100 mg/kg PPE to the trial group diets in normal and coated form.

At the end of the study comparison of supplementation PPE and EPPE groups with control, statistically significant differences were observed in terms of both protein also PPE supplementation for BW and BWG on 21st days and between 0 to 21st days period in trial groups ($P<0,05$) Supplementation of EPPE in diets of normal protein groups between 0 to 21st days provided the best values for BW and BWG ($P<0,05$) in this study. On 41st days results statistically significant differences in terms of protein were seen for BW and BWG ($P<0,05$). For feed conversion ratio better results on 41st days were determined in terms of PPE supplementation ($P<0,05$). In comparison of the carcass yield at low protein trial groups than control, numerically better carcass yield was found respectively low protein EPPE group then low protein PPE group ($P>0,05$). It is detected statistically significant differences for feed intake in 21-31 days and 0-41 days between control groups with normal protein and low protein ($P<0,05$). But there was no statistically significant differences were shown in terms of PPE and EPPE groups ($P>0,05$). Statistically significant differences were found on some blood parameters, TBARS value in breast meat, pH in leg meat and intestinal histomorphology in PPE and EPPE groups ($P<0,05$). Especially it was shown supplementation of EPPE constitute better results for intestinal histomorphology.

As a result, it was observed that supplementation of 100 mg/kg PPE or EPPE in normal and low protein broiler rations give positive effects on performance intestinal histomorphology and TBARS level with antioxidant speciality also no adverse effect was observed usage of this amount in the groups. It was thought that PPE or EPPE would be use an alternative aromatic substance for broiler rations also on stress conditions in the field.

Key Words: Broiler, *Pinus Pinaster* Extract, Low Protein, Encapsulation, Performance.

KAYNAKLAR

- AOAC (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th Ed., AOAC International, Maryland, USA.
- ABREU FOMS, BIANCHINI C, FORTE M MC, KIST TBL (2008) Influence of the composition and preparation method on the morphology and swelling behavior of alginate–chitosan hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, **74**: 283–289.
- AFTAB U, ASHRAF M, JLANG Z. (2006). Low protein diets for broilers, *World's Poultry Science Journal*, 62:688-698.
- AHMED ST, LEE JW, MUN HS, YANG CJ (2015). Effects of supplementation with green tea by-products on growth performance, meat quality, blood metabolites and immune cell proliferation in goats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **99(6)**: 1127-1137.
- AHN J, GRUN IU, MUSTAPHA A (2007). Effects of plant extracts on microbial growth, color change, and lipid oxidation in cooked beef. *Food Microbiol* **24**: 7–14.
- AKKUŞ İ (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya.
- ANNA T, ALEXEY K, ANNA B, VYACHESLAV K, MIKHAIL T, ULIA M (2016). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on bioactivity of poultry protein hydrolysate. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, **4 (SI. 2)**: 77-86.
- APPLEGATE TJ, DIBNER JJ, KITCHELL ML, UNI Z, LILBURN MS (1999). Effect of turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. *Comp Biochem Physiol* **124**:381–389.
- AO Z, CHOCT M, KOCHER A (2012). Effects of dietary additives and early feeding on the performance, gut development and immune status of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Asian-Aust J Anim Sci*, **25(4)**: 541 - 551
- ASLI D, NECDET S (2009). Kitin ve kitosanın genel kullanım alanları. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **2**: 94.
- BABIOR BM (2000). Phagocytes and oxidative stress. *Am J Med*, **109(1)**: 33-44.

- BAURHOO B, PHILLIP L, RUIZ-FERIA, CA (2007). Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens. *Poult Sci*, **86**:1070–1078.
- BESD-BİR (2020). Beyaz Et Sanayicileri ve Damızlıkçıları Derneği İnternet Sitesi, <http://www.besd-bir.org/>.
- BREGENDAHL K, SELL JL, ZIMMERMAN DR (2002). Effect of low protein diet on performance and body composition of broiler chicks. *Poult Sci*, **81**: 1156-1167.
- BOTSOGLOU NA, FLETOURIS DJ, PAPAGEORGIOU GE, VASSILOPOULOS VN, MANTIS AJ, TRAKATELLIS AG (1994). A rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissues, food, and feedstuff samples. *J Agric Food Chem*. **42**, 1931-1937.
- BOTSOGLOU NA, CHRISTAKI E, FLETOURIS DJ, FLOROU-PANERI P, SPAIS AB (2002). The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci* **62**: 259–265.
- CARDINAL KM, MORAES ML, ANDRETTA I, SCHIRMANN GD, BELOTE BL, BARRIOS MA, SANTIN E, RIBEIRO AML (2019). Growth performance and intestinal health of broilers fed a standard or low-protein in diet with the addition of a protease. *R Bras Zootec* **48**:e20180232.
- CAROCHO M, FERREIRA IC (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology* **51**: 15-25.
- CARPENTER K, CLEGG K (1956). The metabolizable energy of poultry feeding stuffs in relation to their chemical composition. *J Sci Food Agr* (**7**): 45–51.
- CARR AC, FREI B (1999). Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am J Clin Nutr*, **69**(6): 1086-1107.
- CESARONE MR, BELCARO G, ROHDEWALD P, PELLEGRINI L, LEDDA A, VINCIGUERRA G (2010). Improvement of and symptoms of chronic venous insufficiency and microangiopathy with Pycnogenol®: A prospective, controlled study, *Phytomedicine*, **17**(11): 835-839.

- CHEEKE PR (2005). Livestock feeds and feeding. 3th Ed., Pearson Prentice Hall, New Jersey, USA.
- CHO KJ, YUN CH, CHUNG AS (2001). Inhibition mechanisms of bioflavonoids extracted from the bark of *Pinus maritima* on the expression of proinflammatory cytokines. *Annals of New York Academy of Sciences*, **928**:141-156.
- CHOCT M (2009). Managing gut health through nutrition. *British Poult Sci* **50**: 9-15.
- CNUBBEN NHP, RIETJENS IMCM, WORTELBOER H, VANZANDEN J, VANBLADEREN PJ (2001). The interplay of glutathione- related processes in antioxidant defence. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **10**: 141-152.
- COOK RH, BIRD FH (1973) Duodenal villus area and epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks. *Poult Sci* **52**: 2276–2280.
- CORZO A, LOAR II RE, KIDD MT (2009). Limitations of dietary isoleucine and valine in broiler chick diets. *Poult Sci* **88**: 1934-1938.
- ÇELİKTAŞ OY, GANZERA M, AKGÜN I, SEVİMLİ C, KORKMAZ KS, BEDİR E (2009). Determination of polyphenolic constituents and biological activities of bark extracts from different *Pinus* species. *J Sci Food Agric* **89**: 1339-1345.
- ÇORUHLI T (2013). Kara Dut Antosiyaninlerinin İyonik Jelasyon Yöntemi İle Enkapsülasyonu ve Enkapsülasyon Parametrelerinin Tepki Yüzeyi Metodu İle Optimize Edilmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- D'ANDREA G (2010). Pycnogenol: A blend of procyanidins with multifaceted therapeutic applications. *Fitoterapia*, **81(7)**: 724-36.
- DAWSON B, TRAPP RG (2001). Basic and Clinical Biostatistics. 3rd ed. Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division, New York.
- DEMİREL G, PEKER A (2006). Tavuklarda bağışıklığın artırılmasında besin maddelerinin rolü. *İstanbul Üni Vet Fak Derg*, **32(2)**: 71-77.
- DESAI KGH, PARK HJ (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry Technol*, **23**: 1361-1394.

- DEVARAJ S, VEGA-LOPEZ S, KAUL N, SCHÖNLAU F, ROHDEWALD P, JIALAL I (2002). Supplementation with a Pine Bark Extract Rich in Polyphenols Increases Plasma Antioxidant Capacity and Alters the Plasma Lipoprotein Profile. *Lipids*, **37**(10): 931-934.
- DIBNER JJ, RICHARDS JD (2004). T: challenges and opportunities. *J Appl Poult Res*, **13**:86-93.
- DIPLOCK A (1998). Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, 59, Belgium.
- EFSA (2010). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to various food(s)/food constituent(s) and protection of cells from premature aging, antioxidant activity, antioxidant content and antioxidant properties, and protection of DNA, proteins and lipids from oxidative damage pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, *EFSA Journal*, **8**(2):1489.
- EFSA (2013). Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to the combination of artichoke leaf dry extract standardised in caffeoylquinic acids, monacolin K in red yeast rice, sugar-cane derived policosanols, OPC from French maritime pine bark, garlic dry extract standardised in allicin, d- α -tocopheryl hydrogen succinate, riboflavin and inositol hexanicotinate in Limicol® and reduction of blood LDL-cholesterol concentrations pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, *EFSA Journal*, **11**(7):3327.
- EMMERT JL, WARREN WA (2000). Efficacy of phase feeding in supporting growth performance of broiler chicks during the starter and finisher phases. *Poult Sci*, **79**: 764-770.
- ERBAŞ M, GÜL S, ŞEKERCİ H (2008). Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Diyetetik Antioksidanlar. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- FAO (2019). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Food Outlook-Biannual Report on Global Food Markets, November-2019. Erişim adresi: <http://www.fao.org/giews/reports/food-outlook/en/>. Erişim Tarihi: 23.02.2020.
- FERRARI R, CECON, C, CURELLO S, CARGNONI A, CONDORELLI E, RADDINO R.(1985). Role of oxygen in myocardial ischemic and reperfusion damage: Effect of alpha-tocopherol. *Acta Vitaminol Enzymol*, **7**: 61-70.

- FINAUD J, LAC G, FILAIRE E (2006). Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Med*, **36(4)**: 327-358.
- FANCHER BI, JENSEN LS (1989). Dietary Protein level and essential amino acids content: Influence upon female broiler performance during the grower period. *Poult Sci*, **68**: 897-908.
- FREEMAN BM (1987). The stress syndrome. *World's Poultry Science*, **(43)**: 15- 19.
- FRIDOVICH I (1999). Fundamental aspects of reactive oxygen species or what's the matter with oxygen. *Anny N Y Acad Sci*, **893**: 13-18.
- GEORGE M, ABRAHAM TE (2006). Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan. *Journal of Controlled Release*, **114**: 1-14.
- GHARSALLAOUI A, ROUDAUT G, CHAMBIN O, VOILLEY A, SAUREL R (2007). Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An Overview. *Food Res Int*, **40**: 1107-1121.
- GHEISARI HR, ASASI K, MOSTAFA I, MOHSENIFARD E (2015). Effect of different levels of dietary crude protein on growth performance, body composition of broiler chicken and low protein diet in broiler chicken: *Int J Poult Sci*, **14(5)**: 285-292.
- GULATI OP (2015). Pycnogenol in metabolic syndrome and related disorders. *Phytother Res*, **29(7)**: 949-68.
- GUANG WY (2002). The Effect Of Chitosan And Its Derivatives On The Dyeability Of Silk, Ph. D.Thesis, Hong Kong Polytechnic University.
- GOMES HA, SILVA EN, NASCIMENTO MRL, FUKUMA HT (2003). Evaluation of the 2-thiobarbituric acid method for the measurment of lipid oxidation in mechanically deboned gamma irradiated chicken meat. *Food Chem*, **80**: 433-437.
- GUO A, CHENG L, AL-MAMUN, M, XIONG C, YANG S (2018). Effect of dietary pine needles powder supplementation on growth, organ weight and blood biochemical profiles in broilers. *Journal of Applied Animal Research*, **46(1)**: 518-522.
- HAFEEZ A, MANNER K, SCHIEDER C, ZENTEK J (2016). Effect of supplementation of phytogetic feed additives (powdered vs. encapsulated) on performance and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poult Sci*, **95(3)**: 622-629.

- HALLIWELL B (1999). Antioxidant defence mechanism, from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res*, **31**: 261-272.
- HAMMER KA, CARSO CF, RILEY TV (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, **(86)**: 985-990.
- HAO YY, BRACKET RE, DOYLE MP (1998). Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated, cooked poultry. *Food Microbiology*, **15**: 367-378.
- HERRANEN K, PIETARINEN S, LUUKKO K, HOTANEN U, LAURAEUS M, APAJALAHTI J, VUORENMAA J (2011). Method for modulating animal digestive tract microbiota and feed composition comprising bark extract. *United States Patent Application Publication Sep.1, Sheet 1 of 2*.
- HUFF GR, HUFF WE, RATH NC (2009). Nutritional Immunomodulation as an approach to decreasing the negative effects of stress in poultry production. *Journal of Arkansas Academy of Science*, **63**:87-92.
- IVANOVA AV, GERASIMOVA EL, BRAININA KZ (2015). Potentiometric Study of Antioxidant Activity: Development and Prospects. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **45**: 311–322.
- JEREZ M, SELGA A, SINEIRO J, TORRES JL, NUNEZ MJ (2007). A comparison between bark extracts from *Pinus pinaster* and *Pinus radiata*; Antioxidant activity and procyanidin composition. *Food Chemistry*, **100**: 439-444.
- JO C, AHN DU (1998). Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey. *Poult Sci*, **77**: 475-480.
- KAUR C, KAPOOR HC (2001). Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int J Food Sci Tech*, **36**: 703-725.
- KIDD MT, TILLMAN PB (2016). Key principles concerning dietary amino acid responses in broilers. *Animal Feed Sci and Tech*, **221(B)**: 314-322.
- KIM SM, KANG SW, JEON JS, UM BH (2012). A comparison of Pycnogenol® and bark extracts from *Pinus thunbergii* and *Pinus densiflora*: Extractability, antioxidant activity and proanthocyanidin composition. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6(14)**: 2839-2849.

- KOCABAŞ HAMEŞ EE, ÇELIKTAŞ YÖ, İŞLETEN M, SUKAN-VARDAR F (2008). Antimicrobial Activity of Pine Bark Extract and Assessment of Potential Application In Cooked Red Meat. *Gıda*, **33(3)**: 123-127.
- KURLBAUM M, HÖGGER P (2011). Plasma protein binding of polyphenols from maritime pine bark extract (USP) *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **54 (1)**: 127-132.
- KUTLU HR (2015). Kanatlı Hayvan Besleme, http://zootekni.cu.edu.tr/tr/yuklenenler/Kanatli_Besleme_Tum.pdf Erişim tarihi:10.01.2019
- LAPORNIK B, PROŠEK M, WONDRA AG (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, **71**: 214-222.
- LARSON RA (1988). The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, **27(4)**: 969-978.
- LAUDADIO V, PASSANTINO L, PERILLO A, LOPRESTI G, PASSANTINO A, KHAN RU, TUFARELLI V (2012). Productive performance and histological features of intestinal mucosa of broiler chickens fed different dietary protein levels. *Poult Sci* **91**: 265-270.
- LEE PS, YIM SG, CHOI Y, VAN ANH HAT, KOS (2012). Physiochemical properties and prolonged release behaviours of chitosan-denatured lactoglobulin microcapsules for potential food applications. *Food Chemistry*, **134**: 992-998.
- LI P, YIN YL, LI D, KIM WOO, S, WU G (2007a). Amino acids and immune function, Review Article, *British Journal of Nutrition*, **(98)**: 237-252.
- LI P, LIN JE, CHERVONEVA I, SCHULZ S, WALDMAN SA, PITARI GM (2007b). Homeostatic control of the crypt-villus axis by the bacterial enterotoxin receptor guanylyl cyclase c restricts the proliferating compartment in intestine. *Am J Pathol*, **171**: 1847-1858.
- LIMA F (2017). Negative Effects of Antibiotics on Production and Viable Alternatives. *International Poultry Production*, **25(5)**: 13-14.
- LONGE JACQUELINE L (2005). The Gale Encyclopedia of Alternative Medicine. 2nd Ed., Thomson Gale, USA.

- MAIMOONA A, NAEEM I, SADDIQE Z, JAMEEL KA (2011). Review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. *J Ethnopharmacol*, **133**(2): 261-77.
- MADENE A, JACQUOT M, SCHER J, DESOBRY S (2006). Flavour encapsulation and controlled release. *Int J Food Sc Tech*, **41**: 1-21.
- MARKLUND LS (1984). Extracellular superoxide dismutase in human tissues and human cell lines. *J Clin Invest*, **74**: 1384-1398.
- MOLAN AL, LIU Z, DE S (2009). Effect of pine bark (*Pinus radiata*) extracts on sporulation of coccidian oocysts. *Folia Parasitologica*, **56**(1): 1-5.
- MCCORD JM (1985). Oxygen-derived free radicals and tissue injury. *N Engl J Med*, **312**(3): 159.
- MENCH JA (1992). The welfare of poultry in modern production systems. *Poult Science Reviews*, **4**: 107-128.
- MERCAN U (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **15**(1): 91-96.
- MICHAEL G, TAYLOR KA (1988). Introduction to peroxidation and antioxidant mechanism. In. Eds: Simic M. G., Word F. J. Oxygen radicals in Biology and Medicine, Vol:49, Plenum press.
- MONOGRAPH (2008). American Botanical Council, Scientific and Clinical Monograph for PYCNOGENOL (IRS code section 501(c)(3)), Austin, Texas (www.herbalgram.org.).
- MOHAMMEDI A, JAFARI SM, ASSADPOUR F, ESFANJANI AF (2016). Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through wpc-pectin complexes and evaluating their release rate. *International Journal of Biological Macromolecules*, **82**: 816-822.
- MOURTZINOS I, SALTA F, YANNAKOPOULOU K, CHIOU A, KARATHANOS VT (2007). Encapsulation of olive leaf extract in β -cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(20): 8088-8094.

- MORAN ET JR, BUSHONG RD, BİLGİLİ SF (1992). Reducing dietary crude protein for broylers while satisfying amino acid requirements by least-cost formulation: live performance, litter composition, and yield of fast-food carcass cuts at six weeks. *Poult Sci*, **71**: 1687-1694.
- OKOLIE NP, AKIOYAMEN MO, OKPOBA N, OKONKWO C. (2009). Malondialdehyde levels of frozen fish, chicken and turkey on sale in Benin city markets. *Afr J Biotechnol*, **8(23)**: 6638-6640.
- ONAT T, EMERK K, SÖZMEN EY (2006). İnsan Biyokimyası.12. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.
- OU B, HUANG D, HAMPSCH-WOODILL M, FLANAGAN JA, DEEMER EK (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power assays: A comparative study. *J Agric Food Chem*, **50(11)**; 3122-3128.
- ÖZDEMİR G (1993). Reaktif Oksijen Partikülleri, Roche Bilimsel Eserler Serisi.
- PACKER L, RIMBACH G, VIRGILI F (1999). Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, Pycnogenol. *Free Radic Biol Med*, **27**: 704-724.
- PARK LJ, CHA SY, KANG M, SO YS, GO HG, MUN SP, RYU KS, JANG HK (2011). Effect of proanthocyanidin-rich extract from *Pinus radiata* bark on immune response of specific-pathogen-free White Leghorn chickens. *Poult Sci*, **90(5)**: 977-982.
- PESTI GM (2009). Impact of dietary amino acid and crude protein levels in broiler feeds on biological performance. *Journal of Applied Poultry Research*, **18**: 477-486.
- PETERS-CAMPO R, LEPEZ-TORRES M, ROJAS C, CADENAS S, BARJA G (1993). A comparative study of free radicals in vertebrates-i. Antioxidant enzymes. *Comp Bio Chem Physiology*, **105/B(3/4)**:749-755.
- PIETTA PG (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, **63(7)**: 1035-1042.
- POND WG, CHURCH DC, POND KR. (1995). Basic animal nutrition and feeding. John Wiley and Sons, Inc, Canada.

- RAHMANI HR, SPEER W, MODIRSANEI M (2005). The effect of Intestinal pH on Broyler Performance and Immunity. In proceedings of the 15th European Symposium on Poultry Nutrition, Balatonfüred, Hungary, 25-29 September 2005. World's Poultry Science Association (WPSA).
- RAMAY MS, YALÇIN S (2020). Effects of supplemental pine needles powder (*Pinus brutia*) on growth performance, breast meat composition, and antioxidant status in broylers fed linseed oil-based diets. *Poult Sci*, **99**: 479-486.
- RAVINDRAN R (2005). Perspectives on early nutrition-development of digestive function and possible physiological limitations in neonatal poultry. Poultry beyond 2010. Auckland, New Zealand.
- RAVINDRAN V (2013). Poultry feed availability and nutrition in developing countries: main ingredients used in poultry feed formulations. Poultry development review. Rome, Italy. FAO: 67-9.
- RICE-EVANS CA, MILLER NJ, PAGANA G (1996). Structure-anti oxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acid. *Free Radic Biol Med*, **27**: 704-724.
- ROHDEWALD P, BEIL W (2008). In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* growth and adherence to gastric mucosal cells by pycnogenol®. *Phytotherapy Research*, **22(5)**: 685-688.
- ROHDEWALD PJ (2002). A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol®), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **40(4)**: 158-68.
- ROHDEWALD PJ (2005). Pycnogenol®, French maritime pine bark extract. Encyclopedia of Dietary Supplements DOI:10.1081/E-EDS-120022123, Marcel Dekker, Germany.
- ROSS FC, SMITH DM (2006). Use of volatiles as indicators of lipid oxidation in muscle foods *CRFSFS*, **5**: 18-25.
- RUIZ JM, ROMERO L (2001). Bioactivity of the phenolic compounds in higher plants. In: Rahman A. (ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol. 25(F). Elsevier Science, 651-681.
- SAKOMURA NK, GOUS RM, KYRIAZAKIS I, HAUSCHILD L (2015). Nutritional Modelling for Pigs and Poultry. A catalogue. British Library, London, UK.

- SAYAGO-AYERDI SG, BRENES A, GOÑI I (2009). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. *LWT-Food Science and Technology*, **42**: 971-976.
- SIGOLO S, ZOHRABI Z, GALLO A, SEIDAVI A, PRANDINI A (2017). Effect of low crude protein diet supplemented with different levels of threonine on growth performance, carcass traits, blood parameters and immune responses of growing broilers. *Poult Sci*, **96**: 2751-2760.
- SINGLETON VL, ROSSI JA (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, **16**: 144-158.
- SINGLETON VL, ORTHOFER R, LAMUELA-RAVENTOS RM (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, **299**: 152-178.
- STIPPLER E, KOPP S, DRESSMAN JB (2004). Comparison of US pharmacopeia simulated intestinal fluids (without pancreatin) and phosphate standard buffer pH 6.8, TS of the international pharmacopoeia with respect to their use in vitro dissolution testing. *Dissolution Technologies*. [dx.doi.org/10.14227/DT110204P6](https://doi.org/10.14227/DT110204P6).
- TARLADGIS BG, WATTS BM, YOUNATHAN MT, DUGAN JR L (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc*, **37**: 44-48.
- TORRAS MAC, FAURA CA, SCHÖNLAU F, ROHDEWALD P (2005). Short Communication: Anti-microbial activity of Pycnogenol®. *Phytother Res* **19**: 647-648.
- TOYOKUNI S (1999). Reactive oxygen species- induced molecular damage and its application in pathology. *Pathology International*, **49**: 91-102.
- TSIGARIDA E, SKANDAMIS P, NYCHAS GJE (2000). Behavior of *Listeria monocytogenes* and autochthonous flora on meat stored under aerobic, vacuum and modified atmosphere packing conditions with or without the presence of oregano essential oil at 5 °C. *Journal of Applied Microbiology*, **89**: 901-909.
- TUFARELLI V, DESANTIS S, ZIZZA S, LAUDADIO V (2010). Performance, gut morphology, and carcass characteristics of fattening rabbits as affected by particle size of pelleted diets. *Arch Anim Nutr*, **64**: 373-382.

- TUİK (2019). Türkiye İstatistik Kurumu Verileri Erişim adresi: <http://www.tuik.gov.tr/>
Erişim tarihi: 10.01.2019.
- TURK CST, HASCICEK C, GONUL N (2006). Kolona hedeflenen ilaç taşıyıcı sistemler. *Ankara Ecz Fak Derg*, **35(2)**: 125-148.
- USP (2005). Maritime Pine Extract. Rockville, United States of Pharmacopeial Convention, **28**: 2115-2116.
- UTTARAÇ B, SINGH AA, ZAMBONI P, MAHAJAN RT (2009). Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. Bentham Science Publishers Ltd. *Current Neuropsychopharmacology*, **7**: 65-74.
- USTUN O, ŞENOL FS, KURKCUOĞLU M, ORHAN İE, KARTAL M, BASER KHC (2012). Investigation on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant activities of extracts and essential oils of Turkish Pinus species and pycnogenol. *Industrial Crops and Products*, **38**:115-123.
- VAN NEVEL CJ, DECUYPERE JA, DIERIC NA, MOLL K (2005). Incorporation of galactomannans in the diet of newly weaned piglets: Effect on bacteriological and some morphological characteristics of the small intestine. *Arch Anim Nutr*, **59**: 123-138.
- VONDRUSKOVA H, SLAMOVA R, TRCKOVA M, ZRALY M, PAVLIK I (2010). Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets: A Review. *Veterinarni Medicina*, **55(5)**: 199-224.
- VOS P, FAAS MM, SPASOJEVIC M, SIKKEMA J (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal*, **20**: 292-302.
- WATI T, GHOSH TK, SYED B, HALDAR S (2015). Comparative efficacy of a phytogetic feed additive and an antibiotic growth promoter on production performance, caecal microbial population and humoral immune response of broiler chickens inoculated with enteric pathogens. *Animal Nutrition*, **1(3)**: 213-219.
- WEURDING RE, VELDMAN A, VEEN WAG, VAN DER AAR J, VERSTEGEN MWA (2001). In vitro starch digestion correlates well with rate and extent of starch digestion in broiler chickens. *J Nutr*, **131**: 2336-2342.

- WOLF SP, GARNER A, DEAN RT (1986). Free radicals, lipids and protein degradation. *TIBS*, **(11)**: 27-31.
- WU QJ, WANG ZB, WANG GY, LI YX, QI YX (2015). Effects of feed supplemented with fermented pine needles (*Pinus ponderosa*) on growth performance and antioxidant status in broilers. *Poult Sci*, **94**: 1138-1144.
- XU ZR, HU CH, XIA MS, ZHAN XA, WANG MQ (2003). Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poult Sci*, **82**: 1030-1036.
- VIEITO C, FERNANDES E, VELHO MV, PIRES P (2018). The Effect of Different Solvents on Extraction Yield, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Extracts from Pine Bark (*Pinus Pinaster* subsp. *atlantica*). *Chemical Engineering Transactions*, **64**: 1-6.
- YARSAN E, GÜLEC M (2003). Kanatlılarda stres, vitamin ve mineral uygulamaları. *Türk Veteriner Hekimleri Birliği Dergisi*, 55-63.
- YERER MB, AYDOĞAN S (2000). Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **9(1)**: 49-53.
- YOUNG IS, WOODSIDE JW (2001). Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol*, **54**: 176-186.
- YONSEL Ş, BATUM M (2015). Tavuk Sidirim Sistemi İn Vitro Simulasyonu ile Ticari Yem Katkı Enzimlerinin İncelenmesi. 3rd International Poultry Meat Congress, 22-26 April 2015, Antalya.
- YOO S, SONG Y, CHANG PL, LEE HG (2006). Microencapsulation of α -tocopherol using sodium alginate and its controlled release properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, **38(1)**: 25-30.
- ZHANG L, LI J, YUN TT, QI WT, LIANG XX, WANG YW, LI AK (2015). Effects of pre-encapsulated and pro-encapsulated enterococcus faecalis on growth performance, blood characteristics, and cecal microflora in broiler chickens. *Poult Sci*, **94(11)**: 2821-2830.

EKLER

EK-1

ANKARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ : 01/11/2017
TOPLANTI NO : 2017-22
DOSYA NO : 2017-42
KARAR NO : 2017-22-178

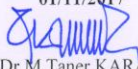
Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Seher Küçükersan'ın yaptığı; araştırmacı olarak Gonca Öztap'ın katıldığı "Düşük Proteinli Broyler Rasyonlarına Çam Kabuğu Ekstraktı (*Pinus pinaster*) İlavesinin Performans, Antioksidan Aktivite ve Bağırsak Histomorfajisi Üzerine Etkisi" başlıklı araştırma projesi Kurulumuzun 12/04/2017 tarih ve 2017-8-69 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Proje Yürütücüsü Prof.Dr.Seher Küçükersan tarafından 31.10.2017 tarih ve 31846 sayılı dilekçe ile Kurulumuza yapılan başvuruda söz konusu araştırma projesinin başlığının başvuru sırasında sehven farklı yazıldığı belirtilmiş olup, proje başlığında geçen "aktivite" kelimesinin "kapasite" olarak değiştirilmesi talep edilmektedir.

Söz konusu başvuru Üniversite Senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu'nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan "Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi"nin 11. maddesinin 5. fıkrası kapsamında değerlendirilmiş ve araştırma projesinin başlığının "Düşük Proteinli Broyler Rasyonlarına Çam Kabuğu Ekstraktı (*Pinus pinaster*) İlavesinin Performans, Antioksidan Kapasite ve Bağırsak Histomorfajisi Üzerine Etkisi" olarak değiştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.

ASLININ AYNIDIR

01/11/2017


Prof.Dr.M.Taner KARAOĞLU
A.Ü. HADYEK Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı : Gonca
Soyadı : ÖZTAP
Doğum yeri ve tarihi : Ankara/1980
Uyruğu : TC
Email : goncaoztap@gmail.com

II. Eğitimi

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi-Lisans Eğitimi, 1998-2003.

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Doktora programı, Başlangıç: 2003; Ayrılış: 2005; Devam Edilmesi: 2014.

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü-Veteriner Histoloji-Embriyoloji, Doktora Programı, 2005-2010.

III. Ünvanları

2003 : Veteriner Hekim,
2010 : Doktor Veteriner Hekim.

IV. Mesleki Deneyim

2006-2020 : Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı- Veteriner Hekim,

2005-2006 : Ankara Üniversitesi- Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji ABD, Araştırma Görevlisi.

V. Yayınları, Bilimsel Sunuları

Etanolün Rat Karaciğer Parankimi ve Vitamin A Depolanması Üzerine Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Olarak İncelenmesi, 2010, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

ÖZTAP, G. (2004). Çin’de Üretilen Geleneksel Yumurta Ürünleri-1000 Yıllık Yumurtalar. İfovet Hayvan Sağlığı Sektörü Dergisi, Temmuz, 7:22-25.

ÖZTAP, G. (2005). Pit Hücreleri. Veterinarium Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi, 16(1):82-88.

ÖZTAP, G. (2007). Lipoprotein Metabolizması. Veterinarium Konya Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi, 18(1):81-87.

ÖZTAP, G. (2012). Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Yemlerle İlgili Mevzuat ve İyi Uygulama Kriterleri, Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Yem Magazin Dergisi, Eylül-Aralık, 65:49-57.

ÖZTAP, G. (2014). Hayvan Beslemede Kullanılan Yem Katkı Maddeleri Hakkında Yönetmelik İle İlgili Uygulamalar, Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Yem Magazin Dergisi, Mart, 69:23-29.

ÖZTAP, G. (2016). Avrupa Birliği ve Türkiye'de Özel Besleme Amaçlı Yemler İle İlgili Uygulamalar, Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Yem Magazin Dergisi, Haziran, 76:65-78.

ÖZTAP, G., KÜÇÜKERSAN, S. (2016). Hayvan Beslemede Kullanılan Yem Katkı Maddeleri Hakkında Ülkemizdeki ve Avrupa Birliği'ndeki Uygulamalar. 1. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi Sözlü Sunum, 28 Eylül-01 Ekim 2016, Antalya.

ÖZTAP, G. (2017). Ülkemizde ve Avrupa Birliği'nde Yem Mevzuatı ve Uygulamalar. Türkiye Klinikleri Farmakoloji ve Toksikoloji Dergisi, Yemlerden Kaynaklanan Olumsuzluk Faktörleri Özel Sayısı, 3(2):77-82.

ÖZTAP, G., KÜÇÜKERSAN, S. (2018). Antimikrobiyal Direnç Sorunu ve Kanatlı Yetiştiriciliğinde Alternatifler II. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi Poster Sunumu, 1-4 Kasım 2018, Antalya.

ÖZTAP, G. (2018). Ulusal Salmonella Kontrol Programı konulu yazı. Gıda Güvenliği Dergisi, 2018 (2): 41.

ÖZTAP, G. (2018). Makale Hakemliği. (Article Review Acknowledgement) Archivos de Zootecnia, 31 Ağustos 2018.

ÖZTAP, G. (2018). Makale Hakemliği. (Article Review Acknowledgement) Archivos de Zootecnia, 09.10.2018.

ÖZTAP, G., KÜÇÜKERSAN, S. (2019). Antimikrobiyal Direnç Sorunu ve Kanatlı Yetiştiriciliğinde Antibiyotiklere Alternatifler, Türkiye Yem Sanayicileri Birliği Yem Magazin Dergisi, Haziran, 85:51-56.

VI. Gerçekleştirilen Etkinlikler

1. National Renderers Association ile Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi işbirliği ile gerçekleştirilen 'Hayvansal Kökenli Proteinlerin Domuz Rasyonlarında Kullanılması' konulu seminer sunumu. Mayıs 2004, Ankara.
2. Yemlerde Mikroskopik Analizler konulu TAIEX eğitimini organize etmek ve

katılım sağlamak, 5-9 Temmuz 2009, Ankara İl Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Ankara.

3. Türk Standartları Enstitüsü (TSE) Tarafından Düzenlenen İyi Tarım Uygulamaları Kontrolör Eğitiminde 'Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Kullanılan Yemler' konusunda sunum yapmak, TSE, 2012, Ankara.

4. Rendering İşletmelerinde FVO Misyona İzinimleri ve Alınan Kararlar Hakkında Değerlendirmeler konulu eğitim toplantısını organize etmek ve konuşmacı olarak katılım sağlamak, 14-15 Şubat 2012, Afyonkarahisar.

5. Türkiye Tarım Platformu 2012 İkili Görüşmeleri, Ülkemiz Yem Mevzuatında Gelişmeler Konulu sunumu yapmak, 19-23 Aralık 2012, Antalya

6. İnsan Tüketimi Amacıyla Kullanılmayan Hayvansal Yan Ürünler ve Hayvansal Yan Ürün İşletmelerinin Denetimi Toplantısını organize etmek ve toplantıya konuşmacı olarak katılmak, 17-18 Ocak 2013, Afyonkarahisar.

7. Antikoksidiyal analizlerinde uygulama birliğinin sağlanması konulu toplantıyı organize etmek ve toplantıya katılmak, 25-27 Aralık 2013, İstanbul Pendik Veteriner Kontrol Enstitü Müdürlüğü,

8. Yem Katkı Maddelerinde Risk Değerlendirme konulu TAIEX eğitimini düzenlenmek, 18-19 Kasım 2014, Ankara.

9. Sudan Heyeti Eğitim Toplantısı'nda konuşmacı olarak görev almak ve kaldıkları süre boyunca Heyete yardımcı olmak, 20-24 Ekim 2014, Ankara.

10. İl Tarım Müdürlükleri ve İl Kontrol Laboratuvar Müdürlükleri için düzenlenen 'Hayvan Beslemede Kullanılan Yem Katkı Maddeleri Yönetmeliği ve Yönetmeliğin Getirdiği Yeni Uygulamalar' konulu hizmet içi eğitim toplantısına konuşmacı olarak katılım sağlamak, 20 Şubat 2014, Ankara.

11. Yemlerde antikoksidiyal/antibiyotik analizleri ile ilgili değerlendirmeler konulu toplantıyı organize etmek ve toplantıya katılmak, 2-3 Temmuz 2014, Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Bursa.

12. Özel Besleme Amaçlı Yemlerin Onayı ve Kontrolü Konulu TAIEX Çalıştayı'nı düzenlemek ve Özel Besleme Amaçlı Yemlere İlişkin Türkiye'deki Durum konulu sunum ile katılım sağlamak, 30-31 Mayıs 2016, Ankara.

13. 'Gıda Kaynaklı Zoonozların İzlenmesine Yönelik Bakanlıkça Yapılan Çalışmalar' sözlü sunum, Zoonoz Hastalıklarda Veteriner Hekimlerin Rolü konulu paneli, 16 Kasım 2017, Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Bursa.

14. 'Ulusal *Salmonella* Kontrol Programı konulu' sözlü sunum, Gıda Güvenliği Kongresi, 03-04 Mayıs 2018, İstanbul.

15. Tek Sağlık Yaklaşımında Entegre Sürveyanslar' konulu sözlü sunum, I. Ulusal Tek Sağlık Sempozyumu, Tek Sağlık Çalışma Grubu, 21-22 Kasım 2019, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Ankara.

16. Antimikrobiyal Direnç Önleme Stratejik Eylem Planı Önceliklendirilme ve Maliyetlendirme Aracı Geliştirilmesi Çalıştayı'na katılım, Sağlık Bakanlığı-DSÖ koordinasyonu, 02-06 Mart 2020, Ankara.

VII. Katılım Sağlanan Bilimsel Eğitim, Toplantı ve Konferanslar

1. Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü Uygulamalı Hizmet İçi Eğitim Kursu, Polatlı TİM, 2007, Ankara.
2. Türk Standartları Enstitüsü ISO 9000 Kalite Yönetim Sistemi Temel Eğitim, İç Tetkik, Dökümantasyon, Proseslerin Yönetimi, Etkileşimi ve İyileştirme Teknikleri Eğitimi. 09-20.11.2009, TSE, Ankara.
3. Hayvan Besleme Konulu Kodeks Çalışma Grubu Toplantısı'na katılım, 04-08.02.2013, İsviçre.
4. 5. Dünya Yem ve Gıda Kongresi 'ne (GFFC) katılım, 18-20 Nisan 2016, Antalya.
5. EFSA Risk Değerlendirme Sonbahar Okulu konulu eğitime katılım, 14-18 Ekim 2019, Osijek-Hırvatistan.

VIII. Seminerler

- Pit hücreleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 2006.
- Lipoprotein Metabolizması, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, 2006.
- Domuz Rasyonlarında Protein Kaynaklarının Kullanılması, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 2005.
- Yem Katkı Maddelerinin Kullanım Güvenliği Açısından Avrupa Birliği Mevzuatına (EC No: 429/2008) Uyum Çalışmaları, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 2015.