



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ALJİNAT VE KİTOSAN İLE KAPLANAN ZEYTİN
YAPRAĞI EKSTRAKTININ BROYLERDE
PERFORMANS, ANTIOKSİDAN KAPASİTE ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Najwa OMAR HAIBA

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN**

**ANKARA
2017**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ALJİNAT VE KİTOSAN İLE KAPLANAN ZEYTİN
YAPRAĞI EKSTRAKTININ BROYLERDE
PERFORMANS, ANTİOKSİDAN KAPASİTE ÜZERİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN
Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN

ANKARA
2017

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Aljinat ve Kitosan ile Kaplanan Zeytin Yaprağı Ekstraktının Broylerde Performans, Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez 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 : Najwa OMAR HAIBA
Tarih : 16/08/2017
İmza :

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında Najwa OMAR HAIBA
tarafından hazırlanan "Aljinat ve Kitosan ile Kaplanan Zeytin Yapağı Ekstraktının Broylerde
Performans, Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisinin Araştırılması" adlı tez çalışması,
aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 16/08/2017



Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Sakine YALÇIN
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Raportör



Doç. Dr. İlyas ONBAŞILAR
Hacıtepe Üniversitesi
Transgenik Hayvan Tek. UAM
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	ii
KABUL VE ONAY	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÖNSÖZ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER	ix
ÇİZELGELER	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Zeytinin Genel Özellikleri	2
1.1.1. Zeytin Yaprığı	4
1.1.2. Zeytin Yaprığı Ekstraktı	5
1.1.3. Zeytinde Bulunan Fenolik Bileşikler	8
1.1.4. Zeytin Yaprığının Etkileri	13
1.1.4.1. Antioksidan Etki	14
1.1.4.2. Antimikrobiyal ve Antiviral Etki	16
1.1.4.3. Karaciğer Koruyucu Etkisi	17
1.2. Zeytin Yaprığı Ekstraktların Enkapsülasyonu	17
1.3. Zeytin Yaprığı ve Ekstraktının Kanatlı Beslemede Kullanılması	21
2. GEREÇ VE YÖNTEM	25
2.1. Gereç	25
2.1.1. Hayvan Materyali	25
2.1.2. Yem Materyali	25
2.2. Yöntem	27
2.2.1. Zeytin Yaprığı Ekstraktının Enkapsülasyonu	27
2.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini	28
2.2.3. Enkapsülasyonun Değerlendirilmesi	29
2.2.3.1. Hazırlama Verimi	29
2.2.3.2. Yükleme Kapasitesi	30
2.2.3.3. Yükleme Verimliliği	30
2.2.4. İn Vitro Salım Çalışmalarının Yapılması	31
2.2.4.1. Mide Koşullarında İn Vitro Salım Çalışması	31
2.2.4.2. Bağırsak Koşullarında İn Vitro Salım Çalışması	32
2.2.5. Deneme Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi	33
2.2.6. Karma Yemlerin Zeytin Yaprığı Ekstraktı, Besin Madde Miktarlarının ve Enerji Düzeylerinin Belirlenmesi	33
2.2.7. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Değişiminin Belirlenmesi	34
2.2.8. Yem Tüketimleri ve Yem Dönüşüm Oranının Belirlenmesi	34
2.2.9. Kesim İşlemi	34
2.2.10. Sıcak Karkas Randımanının Belirlenmesi	35
2.2.11. Ölüm Oranının Belirlenmesi	35
2.2.12. Yaşam Gücünün Belirlenmesi	35
2.2.13. Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü'nün (EPEF) Belirlenmesi	36
2.2.14. İç Organ Ağırlıkları, Duodenum, Jejunum, İleum pH'larının Belirlenmesi	36
2.2.15. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi	36
2.2.16. But ve Göğüs Eti pH Değeri ile Tibia ve Femur En, Boy, Ağırlıklarının Belirlenmesi	36
2.2.17. Göğüs Eti MDA Değerinin Belirlenmesi	37
2.2.18. Dışkı, Altlık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak-Azotu Düzeylerinin	

Belirlenmesi	38
2.2.19. İstatistik Analizler	38
3. BULGULAR	39
3.1. Rasyonların Besin Madde ve Metabolize Olabilir Enerji Değerleri	39
3.2. Gruplarda Performans, Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü ve Yaşama Gücü Değerleri	39
3.3. Karkas Ağırlığı, Randımanı, Bazı Bazı İç Organ Ağırlıkları ve Bunların 100 g Canlı Ağırlığa Oranları, Duodenum, Jejenum, İleum pH'ları	43
3.4. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler	45
3.5. But Eti ve Göğüs Eti pH Değerleri ile Tibia Eni, Boyu, Ağırlığı ile Femur Eni, Boyu, Ağırlığı Değerleri	46
3.6. Göğüs Etinde MDA Değerleri	47
3.7. Dışkı, Altlık Kuru Madde ve Dışkı, Altlık Amonyak Düzeyleri	47
3.8. Enkapsülasyon çalışması denemeleri	48
4. TARTIŞMA	50
4.1. Broiler Denemesi	50
4.1.1. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışı	50
4.1.2. Yem Tüketimi ve Yem Dönüşüm Oranı	51
4.1.3. Karkas Ağırlıkları, Karkas Randımanı ve Bazı İç Organ Ağırlıkları	52
4.1.4. İnce Bağırsak ve But, Göğüs Eti pH değerleri	52
4.1.5. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler	53
4.1.6. Göğüs Etinde MDA Değerleri	54
4.1.7. Dışkı, Altlık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak Düzeyleri	54
4.2. İnvitro çalışmalar	55
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	57
ÖZET	59
SUMMARY	60
KAYNAKLAR	61
EKLER	73
ÖZGEÇMİŞ	74

ÖNSÖZ

Etlik piliçlerde uzun yıllardır performansı arttırmak için kullanılan antibiyotikler, antimikrobiyal dirence neden olması, hayvansal dokularda kalıntı bırakması ve bu kalıntıların gıda yoluyla insana geçmesi nedenleriyle 2006 yılı itibari ile Avrupa Birliği ve Türkiye’de yem katkısı olarak kullanılması yasaklanmıştır. Bu durum kalıntı bırakmayan, güvenilir doğal ürünlerin kullanımına yönelmeye neden olmuştur.

Antibiyotiklere alternatif olarak probiyotik, prebiyotik, enzim, organik asit, bitkisel ekstraktlar gibi ürünlere yönelik çalışmalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu kapsamda bitkilerin yapısında bulunan doğal biyoaktif bileşenler veya bitkisel yan ürünlerden elde edilen antioksidan ve antimikrobiyal etkili fenolik bileşenlere olan ilgi artmıştır. Zeytin yaprağı ekstraktı yapısında bulunan fenolik bileşikler nedeniyle son yıllarda doğal antioksidan olarak kullanılmaya başlanmıştır. Zeytin yaprağı yapısında bulunan oleuropein başta olmak üzere hidrokstitirozol, verbaskozit, apigenin-7-glikozit, luteolin-7-glikozit gibi fenolik bileşiklerden dolayı oldukça güçlü antioksidan aktivite göstermektedir. Aktif maddenin çevre şartlarından, mide ortamının asidik koşullarından etkilenmeden ince bağırsağa ulaşması ve buradan emilerek biyoyararlılığı yüksek ürünler elde edilmesi istenmektedir. Bu nedenle son yıllarda aljinat ile enkapsülasyonu yapılarak, çevre şartlarından etkilenmeyen, düşük pH’da stabil, mide koşullarında kısmen dayanıklı, ince bağırsak gibi yüksek pH’da şişip dağılması sağlanmaktadır. Aljinat ile enkapsülasyon yapıldıktan sonra, kitosan ile bir kat daha kaplanması sağlanmaktadır.

Yürütülen bu çalışma ile etlik piliçlerde zeytin yaprağı ekstraktının ve aljinat-kitosan ile enkapsüle edilen zeytin yaprağı ekstraktının, performans, karkas randımanına, kanda biyokimyasal değerlere, göğüs etinde lipid peroksidasyon ve kesim sonrası pH değerlerine yönelik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu alanda ileride ticari üretim süreçleri için veri sağlayıp katkı sunması hedeflenmektedir.

Yüksek Lisans eğitimine başlamamdan, bu aşamaya gelmemde büyük katkısı olan sayın hocam ve danışmanım Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN’a sonsuz şükranlarımı ve saygılarımı sunuyorum.

Çalışma süresinde desteklerini ve katkılarını esirgemeyen değerli hocalarım Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sakine YALÇIN'a, Prof. Dr. Kemal KÜÇÜKERSAN'a, Prof. Dr. Gültekin YILDIZ'a, Prof. Dr. Adnan ŞEHU'ya ve Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI'ya, Dr. Ali ÇALIK'a, Dr. Özge SIZMAZ'a, Dr. Özlem AYDIN'a, Araş. Gör. Emre Sunay GEBEŞ'e, Vet. Hek. Oğuz Berk GÜNTÜRKÜN'e, Muhammed Shazeb RAMAY'a, Vet. Hek. Mahlagha PİRPAHAHİ'ye, Vet. Hek. İmge DURU'ya, Dr. Erinç GÜMÜŞ'e, Dr. Ender BURÇAK'a, Anabilim dalımız idari personelleri Zir. Müh. Ayşe AKSOY ve Serpil KOÇYİĞİT'e, Cemil SÖYLEMEZOĞLU'na, arkadaşım Hiba Hashim Mohamed ALI'ye katkıları ve ilgilerinden dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin hayvan materyali olan civcivleri temin eden BEYPİLİÇ'e, Zeytin yaprağı ekstraktını sağlayan KALE Natural Ltd. Şti. Harun DURUKAN'a, enkapsülasyon deneyimlerini bizimle paylaşan Yıldız BAL'a teşekkürlerimi sunarım.

Türkiye de Yüksek Lisans Eğitimi yapmamda imkan sağlayan Yurtdışı Türkler ve Akraba Topluluklar Başkanlığı (YTB)'na teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman beni destekleyen ve yol gösteren, benden sevgilerini hiç esirgemeyen ve hep yanımda olan, dört yıl süredir her aşamada bütün sıkıntılarımı benimle paylaşan, canım annem Hanyeh Zayed Mohammed ZAYED'e ve sevgili babam Hussein Omar HAİBA'ya, kardeşlerim'e sonsuz ve en içten teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

AK-ZYE	Aljinat ve Kitosanla kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı
ADF	Asit deterjan fiber
ADL	Asit deterjan lignin
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanine Aminotransferase
AST	Aspartate Aminotransferase
BHA	Butilathidroksianisol
BHT	Butilat hidroksitoluen
CA	Canlı ağırlık
CAA	Canlı ağırlık artışı
EPEF	Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
MDA	Malondialdehit
NDF	Nötral deterjan fiber
OLE	Oleuropein
PG	Ppropil galat
TBARS	Tiyobarbitürat reaktif maddeler
TBHQ	Tersiyerhidroksiquinon
YDO	Yem dönüşüm oranı
YT	Yem tüketimi
ZYE	Zeytin yaprağı ekstraktı

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Zeytin yaprağından ekstrakt eldesi	7
Şekil 1.2. Oleuropeinin kimyasal yapısı	9
Şekil 1.3. β -glikozidaz enzimi ile oleuropeininin hidrolize olması	9
Şekil 2.1. Enkapsülasyon cihazı (BUCHI B-390).	27
Şekil 2.2. Enkapsülasyon çalışması	28
Şekil 2.3. In vitro çalışma	33
Şekil 3.1. Gallik asit standardının kalibrasyon eğrisi	49



ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Dünyada 2014 yılı itibariyle zeytin üretimi, ton	2
Çizelge 1.2. 2016 yılı itibariyle Türkiye'deki zeytin ağacı miktarı ve zeytin üretimi	3
Çizelge 1.3. Zeytin ve bazı ürünlerindeki polifenol miktarları	4
Çizelge 1.4. Zeytin yaprağının kimyasal bileşimi (%)	5
Çizelge 1.5. Farklı çözücülerle elde edilen zeytin yaprağı ekstraktının antioksidan aktivitesi	6
Çizelge 1.6. Bazı ülkelerdeki zeytin (<i>Olea europaea</i>) yapraklarında belirlenen oleuropein miktarları	7
Çizelge 1.7. Zeytin yapraklarında çözücü olarak metanolün kullanılmasıyla elde edilen oleuropein düzeyleri	8
Çizelge 1.8. Zeytin yaprağının ekstraktındaki fenolik bileşikler ve düzeyleri (%)	10
Çizelge 1.9. Zeytin yapraklarından ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri	10
Çizelge 1.10. Bazı zeytin ve yan ürünlerinin oleuropein düzeyleri	12
Çizelge 1.11. Oleuropeinin biyolojik aktiviteleri ve etkileri	13
Çizelge 2.1. Rasyonların içeriği ve hesapla bulunan bileşimi	26
Çizelge 3.1. Araştırma rasyonlarının, kaplanmış, kaplanmamış zeytin yaprağı ekstraktlarının besin madde (%) miktarları ve metabolize olabilir enerji (kcal/kg) değerleri ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktının su aktivitesi düzeyleri	39
Çizelge 3.2. Deneme gruplarında canlı ağırlık ortalamaları	40
Çizelge 3.3. Deneme gruplarında canlı ağırlık artış ortalamaları	41
Çizelge 3.4. Deneme gruplarının haftalık ortalama yem tüketimleri (g)	41
Çizelge 3.5. Deneme gruplarının haftalık ortalama yem dönüşüm oranları (kg yem / kg CAA)	42
Çizelge 3.6. Gruplarda Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF) ve yaşam gücü	43
Çizelge 3.7. Deneme gruplarının ortalama kesim ağırlığı, karkas ağırlığı, karkas randımanı	43
Çizelge 3.8. Deneme gruplarında bazı iç organ ağırlıkları (g) ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranları.	44
Çizelge 3.9. Deneme gruplarının ortalama duodenum, jejunum, ileum pH'ları	45
Çizelge 3.10. Gruplarda kan serumunda bazı biyokimyasal parametreler	45
Çizelge 3.11. Deneme gruplarının ortalama but eti ve göğüs eti pH'ları	46
Çizelge 3.12. Gruplarda ortalama tibia eni, boyu, ağırlığı ile femur eni, boyu, ağırlığı	46
Çizelge 3.13. Gruplarda ortalama göğüs eti MDA değerleri (mg/kg)	47
Çizelge 3.14. Gruplarda dışkı, altlık kuru madde (%) ve dışkı, altlık amonyak azotu (mmol/l) düzeyleri	47
Çizelge 3.15. Zeytin yaprağı ekstraktı ile aljinat-kitosanla kaplanan ekstraktların toplam fenolik madde düzeyleri	48
Çizelge 3.16. Aljinat-kitosanla kaplanan zeytin yaprağı ekstraktının hazırlama verimi, yükleme kapasitesi ve yükleme verimliliği, %	48
Çizelge 3.17. Zeytin yaprağı ekstraktı ile aljinat-kitosanla kaplanan ekstraktların in vitro salım değerleri	48

1. GİRİŞ

Beyaz et üretiminde en önemli girdi kalemleri arasında yem ve yem katkı maddeleri yer almaktadır. Karma yemlerde antibiyotik büyütme faktörlerinin kullanımının Avrupa Birliği ülkelerinde ve ülkemizde 2006 yılında tamamen yasaklanmasından sonra bunların yerini alabilecek probiyotik, prebiyotik, enzim, organik asit, bitkisel ekstraktlar gibi alternatif ürünlere yönelik çalışmalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Son yıllarda özellikle bitkilerin yapısında bulunan doğal biyoaktif bileşenler veya yan ürünlerden elde edilen antioksidan ve antimikrobiyal etkili fenolik bileşenlere olan ilgiyi artırmıştır (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş 2011).

Antioksidanlar, oksidatif stresin önlenmesi, ürünlerin raf ömrünün uzatılması ve serbest radikallerin zararlı etkilerinin önlenmesi açısından önemli yem katkı maddeleri olup, piyasada hem doğal hem de sentetik pek çok antioksidan ürün yer almaktadır. Antioksidan maddeler, kent yaşamında maruz kalınan kirletici maddeler, radyasyon ve fiziksel stres gibi etkenlerin neden olduğu serbest radikallerin ve reaktif bileşiklerin insan ve hayvan sağlığında yol açtığı olumsuz etkilerin ortadan kaldırılmasında önem taşımaktadır. Ayrıca lipid oksidasyonu sonucu oluşan oksidatif stresin önlenmesinde antioksidanların olumlu etkisi bulunmaktadır. Buna karşın sentetik antioksidanların kullanımı durumunda karsinojenik etkileri nedeniyle karaciğer, akciğer ve bağırsak hasarlarına neden oldukları bildirilmiştir (Wanasundara ve ark.,1998). Sentetik antioksidanlar arasında en yaygın kullanılanları; Propil gallat (PG), Bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), Bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), ve Tert-Butilhidrokinon (TBHQ)'dur. Sentetik bazı antioksidanların karsinojenik ve toksik etkileri nedeniyle katkı maddesi olarak kullanımı bir çok ülkelerde kullanımının yasaklanması veya sınırlandırılması, doğal antioksidanların yem katkı maddesi olarak kullanımı yaygınlaşmakta, üretilen ticari preparatların sayısı artmaktadır (Farag, 2003). Zeytin yaprağı ekstraktının antioksidan, antimikrobiyal özellikleri yanı sıra antikanserojen, antimutajen ve antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirtilmektedir (Basmacıoğlu-Malayoğlu ve Aktaş 2011).

Bütün bu özellikler zeytin yaprağı ekstraktında bulunan oleuropein isimli fenolik bileşik içinde söz konusudur. Polifenollerin kolayca okside olabilme özelliği nedeniyle üretim süreçlerinde etken madde düzeyleri azalmaktadır. Aynı zamanda vücutta değerlendirilmesi için sindirim kanalından hafif alkali bir ortama ihtiyaç duyulmaktadır. Polifenollerin hem dış ortamdan hemde sindirim kanalında olumsuz ortamlardan etkisinden korumak amacıyla çeşitli ürünlerle enkapsüle edilmektedir (Anbinder ve ark., 2011; Çoruhli, 2013; Mohammedi ve ark., 2016).

Zeytin yaprağı ekstraktı enkapsüle edilmesiyle hem antioksidan hemde antimikrobiyal etkileri nedeniyle kanatlı sektöründe bağırsak sağlığını iyileştirmede etkili ve antioksidan özellikli bir yem katkı maddesi olması nedeniyle ithal ürünlere üstünlük sağlayacaktır. Elde edilen ürünün yaygınlaşmasıyla sahada ilaç kullanımı azalacak, verim kaybı doğal bir şekilde önlenecektir. Ayrıca antioksidan özelliği sayesinde ürünlerin raf ömrü uzayacaktır böylelikle hayvansal üretimde çok yönlü verim kayıpları önlenebilecektir (Mourtzinou ve ark., 2007).

1.1. Zeytinin Genel Özellikleri

Zeytin (*Olea europaea* L.) üretiminde İspanya, İtalya ve Yunanistanın ardından Türkiye, dördüncü, zeytinyağı üretiminde ise beşinci sıradadır. Libyada 2014 yılı itibariyle zeytin üretimi 188.415 ton olmuştur (Çizelge 1.1) (FAO, 2017). Türkiyede Ege, Marmara, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde zeytin üretimi yapılmaktadır. Zeytin üretimi yapılan iller Aydın, Balıkesir, Bursa, Gaziantep, Çanakkale, İzmir, Muğla, Manisa ve Mersindir. Türkiye de 2016 yılı üretimi miktarı toplam 1.730 bin tondur (TÜİK, 2016). (Çizelge 1.2)

Çizelge 1.1. Dünyada 2014 yılı itibariyle zeytin üretimi, ton (FAO, 2017).

İspanya	4.560.400
İtalya	1.963.676
Yunanistan	1.780.560
Türkiye	1.768.000
Libya	188.415

Çizelge 1.2. 2016 yılı itibariyle Türkiyedeki zeytin ağacı miktarı ve zeytin üretimi (TÜİK, 2016).

Ağaç sayısı (bin)			Zeytin üretimi (ton)		
Toplam	Ürün alınan	Ürün alınmayan	Toplam	Sofralık	Yağlık
173.785	147.430	26.355	1.730.000	430.000	1.300.000

Zeytin ağacı yavaş gelişen, tam gelişimi yaklaşık 20 yıl olan ve yaşla birlikte verimi artan bir ağaçtır (Ünsal, 2000). Akdeniz bölgesinde zeytin ağacının bölgeye ekonomik ve sosyal açıdan önemli etkisi bulunmaktadır. Özellikle Akdeniz bölgesinde zeytin ağacı çoğunlukla kısa olup nadiren 8-15 metre uzunluğa ulaşmakta ve yıl boyunca yapraklıdır. Yaprakların uzunluğu 4-10 cm ve genişliği 1-3 cm'dir. Yaprakları dayanıklı olup, ortalama 18-30 ay yaşarlar. Yaprakların bir kısmı dökülürken bir kısmı yeniden çıktığından, zeytin ağaçları yapraklarını hiç dökmez gibi görünmektedir (Anonim 2017a).

Binlerce yıldır zeytin gıda olarak tüketilmekte, zeytin ağacı yaprakları ise yara tedavisinde kullanılmaktadır. Kullanımı Giritlilere kadar gitmektedir. Zeytin dalı barışı sembolize eder ve Antik dönem olimpiyat oyunlarında atletler tarafından kullanılmıştır. 19. Yüzyılda sıtma tedavisinde yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Amerikan Kanser Araştırma Enstitüsü, 21. yüzyılın doğal antimikrobiyal, antiviral bir etkiye sahip en önemli bitkileri arasında zeytin ağacını bildirmiştir (Anonim, 2017b).

Zeytin hasadı esnasında çok sayıda yaprak tane ile birlikte dalından koparılmakta ve işleme tesislerine getirilmektedir. Ayrıca sofralık zeytin üretiminde ezik, çürük zeytin taneleri gibi standart dışı kalmış küçük zeytinler ile yağ sanayii artıklarından zeytin posası (prina) ve zeytin karasuyu bu artıklardan sayılabilir. Zeytin sanayii atık ürünleri hayvan besleme açısından değerlendirildiğinde bir kısmı kaba yem değerinde olabildiği gibi, hayvanlar için etkin sayılabilecek bazı besin maddelerini de içerebilmektedir. Zeytin ve zeytinden elde edilen ürünlerinin kullanım şekli ve miktarı mevcut pazar gereksinimine göre değişiklik göstermektedir. Bu ürünlerin faydalı etkileri ve besleyici değerinin tespit edilmesi amacıyla son 20 yıldır, yapısındaki fenolik bileşikler ve yağ asitleri miktarı ve özellikleri ile bunların

rasyonlara ilave edilmesi durumunda etkilerinin incelenmesi üzerine çalışmalar yoğunlaştırılmıştır (Molina-Alcaide ve Yanez-Ruiz, 2008). Zeytin ve bazı ürünlerindeki polifenol miktarları Çizelge 1.3.'de verilmektedir (Farag ve ark., 2003).

Çizelge 1.3. Zeytin ve bazı ürünlerindeki polifenol miktarları (Farag ve ark., 2003).

Ürünler	Polifenol miktarları (mg/kg)
Zeytin	495
Zeytin yaprağı	250
Zeytinyağı	195
Zeytin kara suyu	170
Zeytin küspesi	73

Zeytin ağacından elde edilen ana ürün zeytin ve zeytinyağıdır. Ayrıca zeytinyağı üretiminden arta kalan posası (prina), karasu, zeytin ağacı dalı ve yaprakları da çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Boudhrioua ve ark., 2009).

1.1.1. Zeytin Yaprağı

Zeytin yaprağı, ağaçlarda budama işlemi, zeytin hasadı ve harmanlama işlemleri sırasında elde edilmektedir. Yaprak miktarı ağacın yaşı ve budama tipine göre değişmekle birlikte, her bir zeytin ağacı için yaklaşık 12-30 kgdır (Keser ve Bilal, 2010). Türkiye’de yaklaşık 147 milyon adet zeytin ağacı olduğu düşünülürse, elde edilen yaprak miktarının 1,7-4,4 milyon ton aralığında olduğu hesaplanabilir.

Zeytin yaprağının kimyasal bileşimi; orjinine, hasat sırasında karışan dal kısımlarının miktarına, depolama şartlarına, zeyin ağacının yetiştiği bölgenin iklim koşullarına ve hasat sırasında toprakla ya da yağ gibi maddelerle bulaşma düzeyine bağlı olarak değişmektedir. Zeytin yaprağı ham protein değeri (70-129 g/kg KM) düşük, tirozin ve sistin bakımından ise fakir ve lösün, arjinin ve valin bakımından zengindir (Martin-Garcia ve ark., 2006). Zeytin yaprağının ADL (%14,1-21,1) ve NDF (%34,9-41,3), ADF (%25,5-34,2) içeriği dal miktarı, depolama süresi ve kurutma süresine göre değişim göstermektedir (Martin-Garcia ve ark., 2003; Molina-Alcaide ve

ark, 2003; Molina-Alcaide ve Yanez-Ruiz, 2008). Zeytin yaprağının kimyasal bileşimi Çizelge 1.4’de verilmektedir (Molina-Alcaide ve Yanez-Ruiz, 2008).

Çizelge 1.4. Zeytin yaprağının kimyasal bileşimi (%) (Molina-Alcaide ve Yanez-Ruiz, 2008)

	KM	HP	HY	HK	NDF	ADF	ADL
Zeytin Yapağı	77.7	10.0	5.6	12.0	40.6	30.2	19.9

1.1.2. Zeytin Yapağı Ekstraktı

Zeytin yapağı ekstraktı, zeytin ağacı (*Olea europaea* L.) yaprağının aktif bileşenlerini elde etmek için kimyasal ekstraksiyon metodlarıyla elde edilen yeşil renkte yaprak özüdür. Bu özüt, zeytin yaprağında bulunan bileşenleri konsantre olarak içermektedir. Kıyaslandığında 1 g yaprak yaklaşık %5 oleuropein içerirken, bu oran zeytin yapağı ekstraktında %20’ye ulaşmaktadır. Piyasada ticari olarak %6 - 15 arasında oleuropein içeren kurutulmuş zeytin yapağı özü satılmaktadır (Anonim, 2008).

Ancak zeytin yaprağından biofenollerin ekstraksiyonu için sınırlı sayıda yöntem bulunmaktadır. Bu amaçla hekzan ve metanol/su karışımı gibi çözücülerin kullanıldığı Soxhlet ekstraksiyon yöntemi, mikrodalga veya ultrasonla ekstraksiyon ve süper-ısıtılmış sıvı ekstraksiyonu teknolojileri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerdeki ekstraksiyon zamanı, kullanılan ekstraksiyon çözeltisi miktarı ekstrakt hacmi gibi parametreler açısından farklılık arz etmektedir (Türköz ve ark., 2008).

Zeytin yapraklarından hidrokstitirozol elde etmek için oleuropeinin öncelikle ekstrakte edilmesi gerekmektedir. Bunun için, çözücü olarak hekzan ve metanol-su karışımı kullanılmaktadır (Guinda ve ark., 2002; Savournin ve ark., 2001). Ancak hekzan ve metanol gibi toksik maddeler ekstraksiyonda sorun oluşturduğu gibi, uzun işlem süresi fenolik bileşenlerde kimyasal değişimlere sebep olmakta ve ayrıca endüstriyel üretim giderini arttırmaktadır (Luque de Castro ve Japo’n-Luja’n, 2006). Lafka ve ark. (2013), çözücü olarak metanol, etanol, etanol:su 1:1, n-propanol,

izopropanol ve etil asetat kullanılarak en iyi ekstraksiyonu araştırmışlardır. Zeytin yapraklarından, yüksek fenol içeriğine ve yüksek antioksidan etkinliğe sahip ekstraktların üretilmesi için en uygun çözücünün (180 dakika, çözücü - örnek oranı 5:1 v/w ve pH: 2) etanol olduğu belirlenmiştir (izelge 1.5).

Çizelge 1.5. Farklı çözücülerle elde edilen zeytin yaprağı ekstraktının antioksidan aktivitesi (Lafka ve ark., 2013).

Zeytin Yapradı Ekstraktı	Antioksidan Aktivitesi (%)
Metanol ekstratı	46.2
Etanol ekstratı	55.0
Etanol/water 1:1 ekstratı	40.9
n-Propanol ekstratı	18.8
Isopropanol ekstratı	32.8
Etil asetat ekstratı	22.5
SFE/CO2 ekstratı	33.9

Zeytin yaprağının ieridiği bileşikler, zeytin yaprağının türüne, olgunluğuna ve yaprağın hasat dönemine bağlı olarak değişmektedir. İlkbaharda hasat edilen yaprakların sonbaharda hasat edilenlere göre ve genç yapraklarda olgunlara göre yüksek düzeyde oleuropein içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca genetik yapının önemli bir faktör olduğuda bildirilmiştir (Erbay ve İçier, 2010). Zeytin yaprağının etil alkol ile ekstraksiyonunda uygulanan aşamalar Şekil 1.1'de gösterilmektedir (Jemai ve ark, 2008).



Şekil 1.1. Zeytin yaprağından ekstrakt eldesi (Jemai ve ark, 2008).

Zeytin varyetelerine, ekstrakte edilen çözücüye göre yapraklarındaki oleuropein içeriği değişmektedir. Yurt dışında oleuropeine içeriğine göre standardize edilmiş pek çok ürün bulunmasına rağmen ülkemizde henüz böyle bir ürün bulunmamaktadır. Bazı ülkelerde zeytin yapraklarında belirlenen oleuropein miktarları % 0,02-37,7 arasındada değiştiği Çizelge 1.6'da görülmektedir (Işık, 2010).

Çizelge 1.6. Bazı ülkelerdeki zeytin (*Olea europaea*) yapraklarında belirlenen oleuropein miktarları (Işık, 2010)

Toplanma Yeri	Kullanılan Çözücü	Oleuropein Miktarı (%)	Kaynak
İspanya	Etanol (%59)	2,26	Japon-Lujan ve ark., 2006
Yunanistan	Su	0,02-0,24	Agalias ve ark., 2005
	Metanol	30,2	Agalias ve ark., 2005
	Aseton	37,7	Agalias ve ark., 2005
Fransa	Etanol (%60)	9,04-14,32	Savournin ve ark., 2001

Çözücü olarak metanolün kullanıldığı bir çalışmada farklı bölgelerden toplanan zeytin yapraklarında belirlenen oleuropein miktarları Çizelge 1.7’de verilmektedir (Işık, 2010).

Çizelge 1.7. Zeytin yapraklarında çözücü olarak metanolün kullanılmasıyla elde edilen oleuropein düzeyleri (Işık, 2010).

Toplanma Yeri	Kullanılan Çözücü	Oleuropein Miktarı (%)	Kaynak
Kilis-1	Metanol (%70)	6,32	Işık, 2010
Kilis-2		4,84	
Nizip		3,89	
Gemlik		2,49	
Kuzey Kıbrıs		1,69	

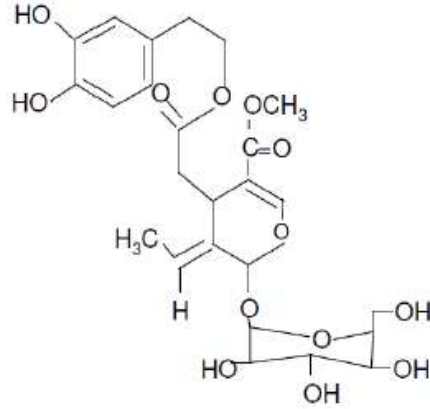
1.1.3. Zeytinde Bulunan Fenolik Bileşikler

Zeytinyağı veya sofralık zeytinin hem oksidatif stabilitesini ve hem de duyuşal özelliklerini etkilediğı için fenolik bileşikler önem taşımaktadır. Fenol bileşikleri aynı zamanda antioksidan ve antimikrobiyel özellikleri de içinde barındırmakta ve zeytinin doğal savunma sisteminde de rol almaktadır. Ayrıca bu bileşikler zeytinin rengini, tadını ve olgunlaşmasını etkilediğinden meyvenin işlenmesinde de önemlidirler. Sağlık açısından önem arzeden fenol bileşenleri; dolaşım sistemi üzerine olumlu etkilerinden dolayı bir dönem P vitamini olarak adlandırılmıştır (Pirgün, 2007).

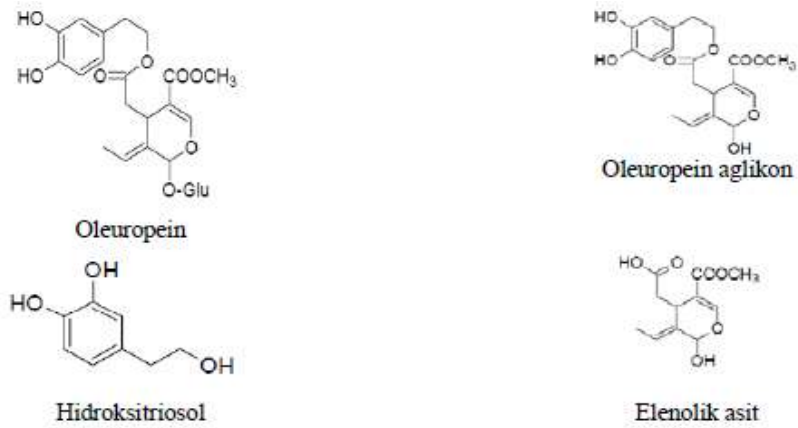
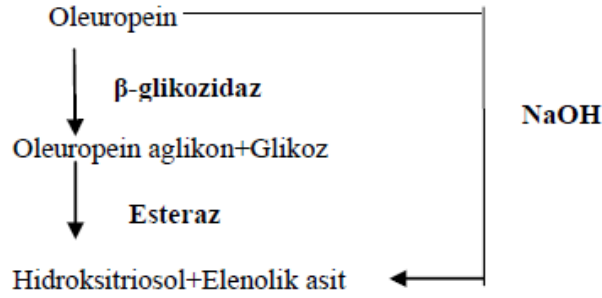
Yapılan araştırmalara göre zeytin yaprağı, 101 çeşit madde içermektedir. İçindeki polifenolik antioksidanlardan en önemlisi oleuropeindir. Zeytin ağaçları, dayanıklı olmalarını ve uzun yıllar yaşamalarını "oleuropein" adı verilen hastalık ve zararlılara karşı direnç oluşturan bu maddeyi üretmelerine borçludur.

Oleuropein, hidroksitriosolün ve elenolik asitin heterozidik esteridir (Şekil 1.2). (Winkelhausen ve ark., 2005). Oleuropein, β -glikozidaz enziminin aktive edilmesiyle glikoz ve oleuropein aglikona hidroliz olmakta, sonrasında ise esteraz enzimiyle

hidroksitriosol ve elenolik asite dönüştürülmektedir (Şekil 1.3) (Marsillo ve Lanza, 1998).



Şekil 1.2. Oleuropeinin kimyasal yapısı (Winkelhausen ve ark., 2005)



Şekil 1.3. β -glukozidaz enzimi ile oleuropeininin hidrolize olması (Marsillo ve Lanza, 1998).

Zeytin yaprağı ekstraktının yapısında bulunan fenolik bileşikler nedeniyle son yıllarda doğal antioksidan olarak kullanılmaya başlanmıştır. Zeytin yaprağının yapısında bulunan en başta oleuropein ve hidrokstitirozol, verbaskozit, apigenin-7-glikozit, luteolin-7-glikozit gibi fenolik bileşiklerden dolayı oldukça güçlü antioksidan aktivite göstermektedir (Benavente-Garcia ve ark., 2000; Visioli ve ark., 2002). Zeytin yaprağında bulunan ve başlıca polifenolik antioksidanlardan biri olan oleuropein, yapraktaki en etken fenolik bileşiktir (Soler-Rivas ve ark., 2000). Bu fenolik bileşiğin doğal antioksidan olabileceği yapılan in vitro (Chimi ve ark., 1991; Visioli ve Galli, 1994) ve in vivo (Ruiz-Gutierrez ve ark., 1995) çalışmalarla tespit edilmiştir. Zeytin yaprağının ekstraktındaki bulunan fenolik bileşikler ve düzeyleri Çizelge 1.8’de verilmektedir (Benavente-Garcia ve ark., 2000).

Çizelge 1.8. Zeytin yaprağının ekstraktındaki fenolik bileşikler ve düzeyleri (%) (Benavente-Garcia ve ark., 2000).

Dleropoesideler	Oleuropein verbaskosid	24,54 -1,11
Flavonlar	Luteolin-7-glukosid	1,38
	Apigenin-7-glukosid	1,37
	Diosmetin-7-glukosid	0,54
	Luteolin	0,21
	Diosmetin	0,05
Flavanol	Rutin	0,050
	Kateşin	0,04
	Tirosol	0,71
Flavan-3-ol	Hidroksitirosol	1,46
	Vaniliin	0,34
Fenoller	Vanilik asit	0,05
	Kafeik asit	0,63

Yapılan bir çalışmada oleuropein, hidrokstitirozol ve zeytin yaprağı ekstraktının vitamin E ve sentetik bir antioksidan olan BHT'den daha güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Le Tutour ve Guedon, 1992). Zeytin yapraklarından ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri Çizelge 1.9’da gösterilmektedir (Erbay ve İçier, 2010).

Çizelge 1.9. Zeytin yapraklarından ekstrakte elde edilen fenolik bileşiklerin antioksidan aktiviteleri (Erbay ve İçier, 2010).

Fenolik bileşik	Miktar (% KM)	Antioksidan kapasite TEAC*(mmol/L)
Zeytin yaprağı ekstraktı	-	1.58
Oleuropein	24.54	0.88
Hidroksitirozol	1.46	1.57
Luteolin-7-glukosit	1.38	0.71
Apigenin-7-glukosit	1.37	0.42
Verbaskosit	1.11	1.02
Tirozol	0.71	0.35
Vanilik asit	0.63	0.67
Dismometin-7-glukosit	0.54	0.64
Kafeik asit	0.34	1.37
Luteolin	0.21	2.25
Rutin	0.05	2.75
Diosmetin	0.05	1.42
Vanilin	0.05	0.13
Kateşin	1.46	2.28

*TEAC (Troloks eşdeğer antioksidan kapasite)

Oleuropein mide içerisinde hızlıca hidrolize olduktan sonra hidroksitirozol ve tirozol formunda ince bağırsaklara geçmektedir. Ancak oleuropein bağırsaklardan direkt kana geçemez. Kalın bağırsaklara geçen oleuropein bakteriler tarafından parçalanarak yine hidroksitirozola dönüştürülmektedir (Corona ve ark., 2006). Bununla birlikte kalın bağırsakların her hangi bir emilim faaliyeti yoktur. Kan hidroksitirozol seviyelerine ilişkin insanlar üzerinde yapılan ölçümleri gösteren araştırma sonuçlarına göre, hidroksitirozolun, kandaki en üst seviyesine 32. dakikada ulaştığı ve yarı ömrününün 2,43 saat olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak oleuropeinin önemli bir ürünü olan hidroksitirozolün alındıktan yaklaşık 150 dakikat sonra kanda, vücuda alınan dozunun yarısına indiği rapor edilmiştir (Miro-Cases ve ark., 2003).

Zeytin yaprağında bulunan oleuropein ve hidroksitirozol gibi fenolik bileşikler; serbest radikalleri bağlayarak ve low density lipoprotein (LDL) oksidasyonu önleyerek, endojen antioksidan savunma mekanizmasını güçlendirerek, metal şelatları oluşturarak, kısa zincirli aldehit ve ketonların oluşumunu engelleyerek, vitamin C ve E gibi doğal antioksidanların ince bağırsakta parçalanmalarını önleyerek lipid oksidasyonu engellemektedir (Visioli ve ark., 2002). Jemai et al. (2008), kolesterolce zengin rasyonla beslenen sığanların karma yemine zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin

toplam kolesterol ve trigliserid ile LDL kolesterol düzeyini azalttığını, HDL kolesterol düzeyini ise artırdığını bildirmişlerdir.

Erener ve ark. (2009) zeytin yaprağı ekstraktındaki oleuropein içeriğini 112,98 mg, kafeik asit 4,42 mg, kateşin düzeyini ise 1,68 mg, rutin 34,45 mg, hidroksitirosol 16,67 mg, vanilin 7,33 mg, vanilik asit 4,68 mg, antioksidan kapasitesini ise EC50 19,54 µl olarak tespit etmişlerdir. Zeytin ve bazı yan ürünlerindeki oleuropein düzeyleri Çizelge 1.10'de gösterilmektedir (Barbaro ve ark., 2014)

Çizelge 1.10. Bazı zeytin ve yan ürünlerinin oleuropein düzeyleri (Barbaro ve ark., 2014)

	Oleuropein düzeyi, (mg/kg KM)	Kaynak
Zeytin yaprağı	93-134	Savournin ve ark., 2001
	6,1-13,3	Ansari ve ark., 2011
	5,6-9,2	Tayoub ve ark., 2012
	34,0-38,1	Malik ve Bradford, 2006
	60-90	Omar, 2010a
Zeytin	0,6-1,1	Tayoub ve ark., 2012
	1,3-5,8	Bouaziz ve ark., 2010
Zeytin dalları	11-14	Altinyay ve Altun, 2006
	18,9	Japón-Lujan ve Luque de Castro, 2007
Zeytin kökü	1,9-6,0	Ortega-García ve Peragón, 2010
Zeytin çiçeği	15,3-20,9	Malik ve Bradford, 2006
Sofralık zeytin	0,0-0,5	Zoidou ve ark., 2010
Sızma zeytinyağı	0,0-11,2	Perri ve ark., 1999
Zeytin küspesi	0,4	Kanakis ve ark., 2013
Zeytin kara suyu	6,5	Goldsmith ve ark., 2014

Zeytinde bulunan fenolik bileşiklerin miktarı kullanılan tarımsal yöntemlere göre değişmektedir. Oleuropein türevlerinin miktarı bazı istisnalar dışında meyvenin aşırı olgunlaşma sürecinde azalmaktadır. Bu istisnalara örnek olarak sıcak iklime sahip bölgelerden elde edilen zeytinyağlarının, soğuk iklime sahip bölgelere göre daha yüksek oranda biofenol içerdiği tespit edilmiştir (Ünsal, 2000).

1.1.4. Zeytin Yaprağının Etkileri

Asırlarca canlı kalabilme özellikleri olan zeytin ağaçlarından elde edilen ürünlerin sağlığa yararlı etkileri uzun zamandır bilinmektedir (Soler-Rivas ve ark., 2000). Zeytin ağacının ürünleri ihtiva ettikleri oleuropeinin antiinflamatuvar, antiaterojenik, antioksidan, antikarsinojenik, antimikrobiyel, antiviral aktiviteler gibi çok sayıda etkiye sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından rapor edilmektedir (Carluccio, 2003; Gikas ve ark., 2007; Micol ve ark., 2005; Owen ve ark., 2000; Sanchez ve ark., 2007; Tripoli ve ark., 2005; Visioli ve ark., 1998; Visioli ve ark., 2002).

Yapılan çalışmalarda, yüksek düzeyde oleuropein içeren zeytin yapraklarının, lipoprotein oksidasyonunu önlemesi açısından takviye edici gıda olarak önemli rolü bulunmaktadır (Tuck ve Hayball, 2002; Visioli ve ark., 1995). Zeytin yaprağı içeriğinde fenol bileşikleri bulundurmasından dolayı tıp, kozmetik, farmasötik ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır (Boudhrioua ve ark., 2009; Jemai ve ark., 2008;). Oleuropeinin bazı biyolojik aktiviteleri ve etkileri (Barbaro ve ark., 2014) Çizelge 1.11’de özetlenmiştir.

Çizelge 1.11. Oleuropeinin biyolojik aktiviteleri ve etkileri (Barbaro ve ark., 2014)

Aktivite	Etkileri
Antioksidan	Reaktif oksijen türlerini (ROS) atma etkisi
	LDL'nin oksidasyonunu engelleme
	Radikal stabilitenin gelişimi
Anti-enflamatuvar	Lipoksigenaz inhibisyonu
Anti-tümör	ROS atma etkisi
	Antimigrasyon etkisi
	Apoptozis indüksiyon
	Anjiyogenez inhibisyonu
Antimikrobiyel	Bakteri hücre membranı zararı
Antiviral	Viral Kılıf Etkileşimi
	Viral integrase inhibisyonu
Nöroprotektif	Oksidatif stres azaltma
	Tau fibrilasyon inhibisyonu
Hepatoprotektif	Oksidatif stres azaltma
	Karaciğer yağlanmasını azaltma

1.1.4.1. Antioksidan Etki

Zeytin yaprağı ekstraktının, yüksek antioksidan özelliği bulunmaktadır. Bu durum oleuropein bileşiğiyle beraber diğer fenolik bileşiklerin sinerjik etkileşimleri sonucu meydana gelmektedir. Zeytin yaprağı ekstraktı vitamin C ve E'den yaklaşık 2,5 katı kadar daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir (Sarı, 2016).

Antioksidanlar, vücutta meydana gelen yağların oksidasyonuna bağlı stresin olumsuz etkilerini azaltmak, et ve yumurta gibi hayvansal ürünlerin lipit stabilitesini artırmak suretiyle raf ömrünü uzattıklarından dolayı son yıllarda fonksiyonel gıda üretiminde yemlere katkı maddesi olarak ilave edilmektedir. Uzun yıllar gıda ve yem sektöründe BHA, BHT, PG, TBHQ gibi sentetik antioksidanlar ile (α)-tokoferol asetat, (β)-karoten ve C vitamini gibi doğal antioksidanların güçlü antioksidan aktivite göstermeleri, ucuz olmaları, nedeniyle kullanımları yaygındır (Bandoniene ve ark., 2002). Bununla birlikte sentetik antioksidanlarının sağlık üzerine zehirli etkilerinin olabileceğinin bildirilmesi ve bu sonucunda kullanımlarına sınırlama veya yasaklama getirilmesi; sağlık otoritelerince bitkisel antioksidanların güvenilir ürünler olarak gösterilmesi, bitkisel ürünlerin kullanımını gündeme getirmiştir (Akgül, 1989; Akgül ve Ayar, 1993).

Oleuropein serbest radikal oluşumunu, demir ve bakır gibi metal iyonlarıyla bağ oluşturmak ve bu oluşan bağ sayesinde birçok yangı enzimlerini baskılamak suretiyle engellemektedir. Bununla birlikte oleuropein ve metabolitleri hidroksitirosolün antioksidan veya zincir kırma aktivitesini gösterebilmesi için kateşol grubuna gereksinim duyulmaktadır (Al-Azzawie ve Alhamdani, 2006).

Oleuropein aynı zamanda antioksidan, hipotansif, sekoiridoit, spazmolitik, amaçla kullanılan bir glikozittir. Glikozitler, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk ve köklerinde bulunmaktadır. Glikozit yapı sayesinde bakterilerin hücre duvarını etkilemek suretiyle bağışıklık sistemini güçlendirmektedir (Markin ve ark., 2003).

Al-Azzawie ve Alhamdani (2006), yapmış oldukları bir çalışmada, zeytin yaprağı ekstraktından elde edilen oleuropeini diyabetik tavşanlara ağız yoluyla günlük

20 mg/kg düzeyinde kullanılmış ve tavşanlarda oleuropeinin oksidatif stresi ve hiperglisemiye azalttığını tespit etmişlerdir. Diğer polifenolik bileşiklerden zengin bitkisel ürünlerdeki gibi zeytin işleme yan ürünlerinden elde edilen özütlerin toplam antioksidan aktiviteleri ile fenol içeriği arasında yüksek bir ilişki rapor edilmiştir (Le Tutour ve Guedon, 1992; Silva, 2006)

Zeytin yaprağı makrofaj fonksiyonlarına etkili olmakta ve yangı ajanlarına karşı aktiviteye katkıda bulunmaktadır. Oleuropeinin immun sistemi güçlendirdiği, koroner kan akışında artışa sebep olduğu ve kardiyak aritmileri önlediği bildirilmektedir (Alçiçek ve Ötleş, 2011). Yapılan araştırmalara göre zeytin yaprağındaki oleuropein vücutta kalsiyum elenolat'a çevrilmektedir. Oleuropeinin içeriğindeki elonoik asidin serbest radikallere karşı koruyucu ve kötü huylu kolesterolün oksidasyonunu inhibe edici özellikler taşıdığı bildirilmektedir (Özdemir ve Özdemir, 2011).

Zeytin ve zeytinyağındaki fenolik bileşiklerin günlük diyetlerle yeterince alınmasının koroner kalp hastalığı ve sindirim sisteminde serbest oksijen köklerine oluşturulan hastalıklara karşıda riski azalttığı gösterilmiştir. İn vivo şartlarda yapılan birçok çalışma, oleuropeinin, vasodilatör, tansiyon düşürücü ve antiaritmik özellikleri gösterdiği, LDL kolesterolü azalttığı, kan dolaşımını arttırıp, kalp kasının pompalama hareketini geliştirerek, kalp krizini önlediği bildirilmiştir. Zeytin yaprağında bulunan fenolik bileşiklerin, damar içi plak oluşumunu da engellediği gözlenmiştir (Sarı, 2016).

Alçiçek ve Ötleş (2011), zeytin yaprağı ekstraktının %19 oleuropein, %1,8 flavonoid glikozitler ve 3-4 dihydroxy-phenethyl esterler içerdiğini, zeytin yaprağındaki çeşitli fenolik bileşiklerin LDL kolesterolü oksidasyona karşı koruyucu etki gösterdiğini, oleuropeinin LDL'nin CuSO₄ ile uyarılmış oksidasyonunu engellediğini, BHT, C ve E vitaminleri gibi diğer antioksidanlara göre daha güçlü antioksidan etkisiye sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, oleuropeinin hayvanlarda koroner damar kan akımını arttırdığını, aynı zamanda kalp atımlarını düzenlediği, aritmileri önlediğini bildirmişlerdir.

1.1.4.2. Antimikrobiyal ve Antiviral Etki

2006 yılından sonra antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak hayvan beslemede kullanılmasının başta AB ülkeleri olmak üzere, birçok ülkede ve Türkiyede yasaklanması sonucu yapılan bilimsel araştırmalarda yem katkı maddesi olarak bitkisel özütlerin sıklıkla kullanılmasına olan ilgiyi artırmıştır. Ayrıca son yıllarda insanların gerek organik ürünlere olan talebinin artması, gerekse sağlıklı yaşama olan trendin yükselmesine paralel olarak bitkisel ürünlere olan ilgi giderek hız kazanmıştır. Bunun sonucu olarak bitkisel özütlerin hayvan beslemede yem katkı maddesi olarak kullanım sıklığı artmıştır.

Kanatlı etinin çoklu doymamış yağ asitlerince zenginleştirilmesi; ürünün işlenmesi, depolanması ve pazarlanması esnasında lipid oksidasyonuna karşı hassasiyetini artırmaktadır (Botsoglou ve ark., 2003). Lipid oksidasyonu;etin tadında, kokusunda değişim ve besin değerinde kayıp ile raf ömrünün kısılmasına, ileri derecedeki oksidatif bozulma, kısa zincirli aldehitlerin, ketonların ve diğer oksidatif bileşiklerin oluşmasına yol açmaktadır (Botsoglou ve ark., 2002).

Oleuropeinin, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Mycoplasma spp*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* gibi bakteriler üzerine etkisinin olduğu değerlendirilmektedir. Oleuropein Spiroket grubu bakterilerin neden olduğu Lyme hastalığının belirtilerini azalttığı da bildirilmektedir.

Oleuropein antimikrobiyal aktivitesi hem gram negatif hem de *Lactobacillus plantarum*, *Bacillus cereus* ve *Salmonella enteritidis* dahil olmak üzere gram pozitif bakterilere karşı göstermektedir. İn vitro çalışmalar, oleuropeinin aynı zamanda, yaygın antibiyotik tedavilerine dirençli mycoplasma suşlarına karşı antimikoplazmal aktivitesini de ortaya çıkarmıştır (Barbaro ve ark., 2014).

Oleuropein kronik yorgunluk sendromunun bazı semptomlarını azaltmaktadır. Bu durumun sendromun etkin rolü olan Mycoplasma bakterisinin zeytin yaprağınca elimine edilmesinden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Sarı, 2016).

Oleuropein antiviral etkinliğe de sahiptir. Viral hemorajik septisemi virüsü (VHSV), hepatit B virüsü (HBV) ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV)'ne karşı etkinliği gösterilmiştir (Barbaro ve ark., 2014).

1.1.4.3. Karaciğer Koruyucu Etkisi

Zeytinyağı, alkole bağlı olmayan karaciğerdeki yağ infiltrasyonunun karaciğer ağırlığınının %5-10'unu aştığı yağlı karaciğer hastalığının ilerlemesini, azaltmada yardımcı olmaktadır. Oleuropein uygulamasının farelerde karbon tetraklorüre bağlı karaciğer hasarına karşı, karaciğer koruyucu ve tedavi edici etkilere sahiptir. Üstelik, alkole bağlı olmayan karaciğer yağlanması durumunda oleuropein takviyeli yüksek yağlı diyetin karaciğerindeki lipid birikimini azalttığı bildirilmektedir (Barbaro ve ark., 2014).

Zeytin yaprakları, hiper tansiyonu önleyici, hipoglisemik, antiseptik ve diüretik özellikleri nedeniyle modern tıpt ve fitoterapide tedavi amaçlı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Buna sebep olarak zeytin yapraklarında bulunanen önmeli bileşik olarak oleuropein bildirilmiştir (Sarı, 2016).

1.2. Zeytin Yaprakları Ekstraktlarının Enkapsülasyonu

Bir maddenin veya karışımın başka bir madde veya sistem ile kaplanması veya hapsedilmesi işlemi enkapsülasyon olarak tanımlanmaktadır (Madene ve ark., 2006). Mikroenkapsülasyon ise aktif bir maddenin (çekirdek materyal) çevresinin bir veya daha fazla kaplama maddesi (duvar materyali) ile sarılıp kapsüllerin elde edilmesinde kullanılan bir teknolojidir. Mikroenkapsüllerin içerisindeki madde veya karışım çekirdek, iç faz veya dolgu olarak ifade edilirken dış kısımda yer alan kısım kabuk, kaplama, duvar materyali veya membran olarak tanımlanmaktadır (Gharsallaoui ve ark., 2007).

Mikroenkapsüllerin dış görünüşleri çekirdek materyalinin fiziko-kimyasal özellikler, duvar materyalinin kompozisyonu ve mikroenkapsülasyon tekniğine göre değişim göstermektedir. Bu teknoloji gıda endüstrisinde, kaplanacak maddenin nem,

sıcaklık, hava ve ışık gibi dış etkenlere karşı korunması, buharlaşmanın önlenmesi, kolay taşınması, doğru yerde ve doğru zamanda çalışması, kaplanacak maddenin tat ve kokusunun örtülmesi, başka bileşenlerle reaksiyona girmesinin önlenmesi, küçük miktarlarda kullanımı istendiğinde seyreltilmesi ve seyreltmenin homojen bir halde sağlanması nedeniyle uygulanmaktadır (Desai ve Park, 2005).

Son dönemlerde, oral kullanılan ilaçların kolona hedeflenerek hastalıkların tedavisi artan bir önem kazanmıştır. Etkin maddelerin kolona hedeflendirilmesi amacıyla pH'ya duyarlı, mikrofloraya dayanıklı, zaman ve basınç kontrollü sistemler gibi bir çok yeni strateji geliştirilmiştir. Bu işlem özellikle, lokal hastalıkların direkt tedavi edilmesinde çok büyük avantajları bulunmaktadır. Mide pH'sı asidik iken, ince bağırsaklar ve kolonun pH değeri yüksektir. Sindirim sistemindeki bu pH farklılıkları kolona özgü ilaç taşıyıcı sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılmaktadır. Bu amaçla çekirdek materyalin pH'ya duyarlı polimerlerle kaplanarak, asidik ortamda çözünmemesi ve pH 6 ve üzerindeki pH değerlerinde ise çözünmeleri hedeflenmektedir. Bu şekilde bir kaplama ile etkin maddelerin gastrointestinal kanalında bozulmadan geçişi sağlanabilmektedir. Kaplama materyali hazırlanmasında en çok aljinat, amiloz, dekstran, guar gum, inülin, kitosan, kondroitin sülfat ve pektin gibi polisakkaritler kullanılmaktadır. (Türk ve ark., 2006).

Aljinat, su yosunlarından ekstraksiyonla elde edilen bir polisakkarittir. Bu polisakkarit, jel oluşturucu, kıvam verici, emülgatör ve stabilizatör olarak gıda ve ilaç sanayilerinde kullanılmaktadır (Vos ve ark, 2010).

Aljinat çözeltisinin akışkanlığını, viskozitesini ve jel oluşumu özelliklerini değiştirmek için en çok kullanılan katyon kalsiyumdur. Sodyum aljinat çözeltisine kalsiyum iyonları ilave edildiğinde, kalsiyum iyonları aljinat çözeltisindeki karboksil ve hidroksil gruplarına bağlanarak "yumurta-kafes" modeli oluşmaktadır. Reaksiyon tüm aljinatın, kalsiyum aljinat olarak çöküşüne kadar devam etmektedir. Kalsiyum aljinat, biyoaktif bileşenlerin, ilaçların, proteinlerin kontrollü salınımlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Kalsiyum aljinat matriksi düşük pH'da stabil, mide koşullarına kısmen dayanıklı iken, ince bağırsak gibi yüksek pH da şişerek dağılmaktadır (Yoo ve ark., 2006).

Dünyada selülozdan sonraki kullanımı en yaygın olan ikinci biyopolimer kitindir. Kitin, karides, yengeç, gibi kabuklu su ürünlerinin ana bileşeni olup, böceklerin iskeletinde bulunmaktadır (Guang, 2002). Kitin, çok miktarda molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları ve yarı kristalimsi yapıdadır. Bu nedenle seyreltik asitlerde ve birçok organik çözücü de çözünmemektedir. Ancak katyonik yapısı sayesinde pH<6 ortamda kolayca çözünebilmektedir (Aslı ve Necdet, 2009; George ve Abraham, 2006). Kitosan ilaç sanayinde jel oluşturma, film tablet, sünger oluşturma, mikropartiküler sistem ve tablet basımında kullanılmaktadır. Ayrıca yara ve doku iyileştirici, hemostatik, analjezik ve antimikrobiyal etkisinde bulunmaktadır. (Abreu ve ark., 2008; Lee ve ark., 2012).

Günümüz şartlarında sağlıklı beslenmenin önem kazanmasıyla tüketiciler arasında antioksidanlarca zengin fonksiyonel ve doğal gıdalara ilgi artmıştır. Bitkisel ürünlerin etkisi özellikle içeriğindeki polifenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Isı, ışık, metal iyonları, pH, ortamda şeker ve askorbik asit bulunması durumlarında polifenoller kolayca okside olabileme özelliğiyle, üretim süreçlerinde etken madde düzeyleri azalmaktadır. Ayrıca fenolik bileşenlerin, vücutta hızlı metabolize olmaları, absorpsiyonlarının düşük olması sebebiyle biyoyararlılıkları azalmaktadır. Fenolik bileşiklerden olan oleuropein alındıktan sonra büyük kısmı midede metabolize edilirken, ince bağırsağa ulaşan kısmı yüksek pH da parçalanmaktadır. Aynı zamanda vücutta değerlendirilmesi için sindirim kanalından hafif alkali bir ortama ihtiyaç duyulmaktadır. Çeşitli fenolik bileşiklerin stabiltesinin ve biyoulaşılabilirliğinin artırılmasında enkapsülasyon teknolojisinde başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Çoruhli, 2013).

Son yıllarda zeytin yaprağı ekstraktındaki fenolik bileşiklerin, nano-enkapsülasyon yöntemiyle, korunması, salınımının kontrol altına alınması ve antioksidan özelliklerinin artırılması üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Mohammedi ve ark., 2016).

Anbinder ve ark. (2011), soya yağı içinde, nano emülsiyon ile kapsüllenmiş zeytin yaprağı ekstraktının antioksidan aktivitesini değerlendirmek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Depolamanın 100, 200 ve 300 mg zeytin yaprağı ekstraktı içeren

bu emülsiyonların antioksidan aktivitesi, soya yağı içinde peroksit değeri, TBA değeri ve rancimat termal stabilite testi ile değerlendirilerek kapsüllenmemiş zeytin yaprağı ekstraktının ve sentetik bir antioksidan ile karşılaştırılmıştır. Artan çözünürlük ve zeytin yaprağı fenolik bileşiklerinin nano-kapsülleme yoluyla kontrollü salınması ile daha yüksek bir antioksidan aktivite elde edilmiştir.

Zeytin yaprağı ekstraktının spray-drying yöntemiyle kitosan ile enkapsülasyonunda, kapsülleme veriminin %44 olduğu tespit edilmiştir. Polifenollerin serbest bırakma özelliklerinin pH'ya bağımlı olduğu, pH 7,4'te, polifenol salınımının 6 saat sonra tamamlandığı, serbest bırakılan polifenol miktarının ise pH 5,5'te aynı sürede %40 olduğu tespit edilmiştir (Acosta ve ark., 2015). Zeytin yaprağının elektrostatik ekstrüzyon ile aljinat-kitosan enkapsülasyonunda kapsülleme verimi %80-89 oranında tespit edilmiştir (Belščak-Cvitanović ve ark., 2011).

Zeytin yaprağı ekstraktının spray-drying yöntemiyle kitosan ile enkapsülasyonunda polifenolik bileşiklerin kapsülleme verimi için yükleme oranının %27 olduğu saptanmıştır (Kosaraju ve ark., 2006).

Zeytin çekirdeği ve yapraklarından polifenollerin geri kazanımı için mikrodalga yardımcı ekstraksiyon ve mikrodalga yardımcı enzimatik ekstraksiyonunda zeytin çekirdeği ve yapraklarında fenolik madde içeriği 10,37 ve 29,52 mg/g GAE tespit edilmiştir. Benzer şekilde, geleneksel ekstraksiyonda zeytin çekirdeği ve yapraklarından sırasıyla fenolik madde içeriği 11,41 ve 34,53 mg/g olduğu belirlenmiştir. Maltodextrin ile mikrokapsülleme verimi, zeytin çekirdeği ve yapraklarında sırasıyla %82,39-92,12 ve %87,98-91,06 arasında değişmiştir (Chanioti, 2016).

Zeytin yaprağı ekstraktının toplam fenolik bileşiklerin konsantrasyonu 725 nm dalga boyunda 0,26 mg/mL'dir. Zeytin yaprağı ekstraktında toplam fenolik bileşik içeriği 260 mg GAE/g, antioksidan kapasitenin 2,18 mmol of TEAC/g olduğu belirlenmiştir (Özdamar, 2014).

Yapılan bir çalışmada, zeytin ağacının yapraklarının toplam polifenol içeriği 2,058 mg/100 g GAE (gallik asit eşdeğeri) olarak belirlenmiştir. Depolama koşulları, iklim koşulları ve nem içeriği zeytin yapraklarının kimyasal bileşimini etkileyebileceği söylenmiştir (Makris ve ark., 2007).

Bal (2014), zeytin yaprağı ekstraktının aljinat ile enkapsülasyonda yükleme kapasitesini %80, aljinat-kitosan ile enkapsülasyonda ise %99 olduğunu tespit etmişlerdir. Bu nedenle, zeytin yaprağı ekstraktının oral kullanımı için alginat-kitosan kapsülasyonunun daha etkili bir araç olabileceğini ifade etmişlerdir.

1.3. Zeytin Yaprağı ve Ekstraktının Kanatlı Beslemede Kullanılması

Hayvan besleme alanında içerdiği fenolik bileşikler nedeniyle zeytin, zeytin yaprağı, zeytin karasuyu ve zeytin küspesinin antioksidan ve antimikrobiyal olarak kullanımına ilişkin çok sayıda araştırma yapılmıştır.

Yumurta tavuğu karma yemlerine %0, 1, 2, 3 düzeylerinde zeytin yaprağı toz şeklinde ilave edilmesi, yumurta verimi, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranını etkilemezken, yumurta sarı renginde iyileşme, yumurta sarısı kolesterol düzeyinde %10 düzeyinde azalma sağlamıştır (Cayan ve Erener, 2015).

Toptaş (2010), etlik bildircinler ile yaptığı çalışmasında, hiçbir katkı maddesi içermeyen karma yemle kontrol grubunu, 200 ppm E vitamini (α tokoferol asetat) ve 50, 100, 150 ve 200 ppm oleuropein içeren karma yemlerle deneme gruplarını oluşturmuştur. Gruplarda CAA, GYT ve YYO bakımından istatistiksel olarak farklılık bulunmazken, 200 ppm düzeyinde OLE katılan grupta toplam kolesterol düzeyi önemli derecede düştüğünü tespit etmiştir ($P < 0.05$). Karkas parçalarının depolanma süresi arttıkça kontrol grubundaki but etinin MDA düzeyi, E vitamini 150 ve 200 ppm oleuropein katılan gruplara göre önemli derecede yüksek bulunmuş, bu durum diyetlere E vitamini veya oleuropein katılmasının etlerin raf ömrünü uzattığı şeklinde değerlendirilmiştir. Ayrıca 200 ppm oleuropein katılan grupta etlerde omega-3 yağ asidinde artış tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda etlerde lipit oksidasyonunun

önlenmesi ve omega-3 yağasidinin korunması bakımından 200 ppm E vitamini ilavesi yerine 100 ppm oleuropein katılmasının yeterli olduğu belirtilmiştir.

Bıldırıcın karma yemlerine 80 ve 120 ppm Oleuropein içerecek düzeyde zeytin yaprağı özütü katılmıştır. Yumurta sarısı örneklerinde 80 ppm Oleuropein içeren grupta doymuş yağ asitleri oranı diğer gruplardan düşük bulunmuştur (Özdemir ve Azman, 2013).

Zeytin yaprağı 5 ve 10 g/kg düzeyinde hindi rasyonlarına ilave edildiği bir çalışmada, zeytin yaprağının yeme 10 g/kg düzeyinde ilavesi, +4°C'de 12 gün süre ile depolanan hindi göğüs eti fletolarında lipid peroksidasyonu önemli düzeyde engellemiştir (Botsoglu ve ark., 2010).

Kurutulmuş öğütülmüş zeytin yaprağı ilave edilen grupların (1 g/kg), *E.coli*'ye karşı immüniteyi geliştirdiği, ND ve IB'ye karşı aşılanan gruplarla karşılaştırıldığında antikor titrelerinin arttığı, aşının etkilerini güçlendirme yeteneği olduğunu ortaya koymuşlardır (Elsaaed ve ark., 2014).

Etlik piliç rasyonlarına %0, 0,25, 0,5, 0,75 ve 1,0 düzeylerinde zeytin yaprağı ilave edilmiştir. Rasyonlara %0,75 düzeyinde ilave edilmesi total IgG ve IgM'yi etkilemezken IgY yükselmiştir. Kan lipid profili, karaciğer enzimleri olumlu yönde etkilenmiştir (Parsaei ve ark., 2014).

Etlik piliç rasyonlarına 75, 150, 300 ve 600 mg/kg oleuropein içerecek şekilde zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin performans, bazı kan parametreleri ve kör bağırsak mikroflorası üzerine etkisinin araştırılması amacıyla bir araştırma yapılmıştır. Sonuç olarak, zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin yem tüketimi ve canlı ağırlığı arttırdığı, yemden yararlanma oranını iyileştirdiği, kör bağırsak *S. aureus* ve *Lactobacillus spp.* sayısını etkilemediği ancak *E. coli* sayısını düşürdüğü, dolayısıyla daha dengeli bağırsak mikroflorası oluşturduğu saptanmıştır (Erener ve ark., 2009).

Etlik piliç rasyonlarına 5, 10 ve 15 g/kg zeytin yaprağı ilavesinin soğuk stres ve normal koşullarda performans özellikleri ve kan parametreleri üzerine etkileri

araştırılmıştır. Stres ve normal koşullarda yürütülen denemelerin sonunda zeytin yaprağı ilavesinin canlı ağırlık, yemden yararlanma, yem tüketimi üzerine etkisi görülmezken soğuk stresi altında zeytin yaprağının artan düzeylerde ilavesinin lineer olarak askitize bağlı ölüm oranını düşürdüğü, kan parametrelerinden AST düzeyinin her iki koşulda etkilenmediği, ancak zeytin yaprağı ilavesinin ALT düzeyini her iki koşulda da düşürdüğü bildirilmiştir (Varmaghany ve ark., 2013).

Shafey ve ark. (2013a), etlik piliç yemlerine 0, 1,8; 3,6 ve 6,25 g/kg oleuropein içerecek miktarda zeytin yaprağı ekstraktı ilave etmişlerdir. Çalışma sonucunda canlı ağırlık, yem tüketimi ve yemden yararlanma oranı bakımından gruplar arasında bir fark gözlenmemiştir. Rasyonlara 6,25 g/kg zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin abdominal yağ oranını kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($P<0,01$) azalttığı saptanmıştır.

Shafey ve ark. (2013b), etlik piliç yemlerine 0, 15, 30 ve 50 g/kg düzeylerinde zeytin yaprağı ilave etmişlerdir. Deneme sonunda rasyonlara 30 ve 50 g/kg zeytin yaprağı ilavesinin canlı ağırlık artışını düşürdüğü, 50 g/kg zeytin yaprağı ilavesinin ise yemden yararlanmayı kontrol grubuna göre kötüleştirdiği, yem tüketiminin muamelelerden etkilenmediği, ayrıca 50 g/kg zeytin yaprağı ilavesinin karkas ağırlığını kontrol grubuna göre düşürdüğü bildirilmiştir.

Etlik piliç rasyonlarına 100 ppm ve 200 ppm üzüm çekirdeği ekstraktı, zeytin yaprağı ekstraktı, nar kabuğu ekstraktı ilavesinin performansı, karkas özellikleri, bazı kan parametreleri ve ince bağırsak bakteri sayısı üzerine etkilerinin araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda yem tüketiminin etkilemediği, yemden yararlanmanın iyileştiği, zeytin yaprağı ekstraktının 200 ppm, nar kabuğu ekstraktının 100 ppm ve 200 ppm düzeylerinin kan HDL düzeyini önemli düzeyde arttırdığı, LDL düzeyini düşürdüğü, toplam aerobik bakteri sayısının etkilenmediği, tüm katkı maddelerinin kontrole göre ileum toplam koliform bakteri sayısını düşürdüğü, üzüm çekirdeği ekstraktının 100 ppm düzeyi hariç diğer muamele gruplarında ileum *E. coli* sayısının kontrole göre düştüğü bildirilmiştir (Atılğan 2012).

Zeytin yaprağının ve ekstraktının kanatlı beslemede antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmış olmasına karşın, enkapsülasyonu yapılmış zeytin yaprağı ekstraktının broyler rasyonlarında kullanılmasına ilişkin bir araştırma bulunamamıştır. Bu nedenle çalışmamızda aljinat ve kitosan ile kaplanan zeytin yaprağı ekstraktının etlik piliç rasyonlarında kullanılmasının performans (canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yem dönüşüm oranı, yaşama gücü ve EPEF değeri), sıcak karkas ağırlığı ve randımanı, bazı iç organ (kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, taşlı mide, bezli mide, abdominal yağ) ağırlığı, bazı biyokimyasal kan parametreleri (ALT, AST, ADL, toplam kolesterol, HDL, LDL, trigliserit, toplam protein, IgG), göğüs ve but eti pH, göğüs eti MDA düzeyi, bağırsak pH'sı, tibia ve femur en, boy, ağırlıkları ile dışkı ve altlık kuru madde, amonyak düzeylerine etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada özel bir tavukçuluk işletmesinden alınan 105 adet günlük Ross 308 erkek broyler civciv kullanılmıştır. Her biri 35 civcivden oluşan 3 grup halinde deneme yürütülmüştür. Her grup da 7 civcivden oluşan 5 alt gruba ayrılmıştır. Deneme Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Geliştirme Çiftliğinde bulunan broyler araştırma kümesinde yapılmıştır. Deneme için Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 2016-21-179 karar numaralı etik kurul izni alınmıştır (Ek-1).

2.1.2. Yem Materyali

Araştırma, kontrol (K), zeytin yaprağı ekstraktı (ZYE) ve aljinat ve kitosan ile enkapsüle edilen zeytin yaprağı ekstraktı (AK-ZYE) olmak üzere 3 deneme grubu olacak şekilde yürütülmüştür. Rasyonlar hazırlanırken hayvanların besin madde ihtiyaçlarının belirlenmesinde Ross 308 katalog değerleri kullanılmıştır (Ross 308).

Broylerler 1-14. gün başlangıç rasyonu, (%22,5 HP, 3100 kcal/kg ME) 15-28. gün büyütme rasyonu (%22 HP ve 3100 kcal/kg ME) ve 29-37. gün bitirme rasyonu (%21 HP ve 3200 kcal/kg ME) ile beslenmişlerdir. Rasyonun içeriği ve hesapla bulunan bileşimi Çizelge 2.1'de belirtilmektedir. Denemede kullanılacak zeytin yaprağı ekstraktının özel bir laboratuvarında yaptırılan analizinde toplam polifenol miktarı 227 mg/g, oleuropein düzeyi ise 114 mg/g olduğu tespit edilmiştir. Kaplanmamış ve kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktları 125 mg/kg düzeyinde oleuropein içerecek şekilde hesaplanarak rasyonlara ilave edilmiştir.

Çizelge 2.1. Rasyonların içeriği ve hesapla bulunan bileşimi

	Broyles civciv 0-14 gün	Broyles piliç-I 14-28 gün	Broyles piliç-II 28-37 gün
Mısır	51,00	52,25	56,45
Tam yağlı soya	19,62	18,00	14,00
Bitkisel yağ	1,00	2,00	3,00
Soya kütspesi, %48	24,00	24,00	23,00
DCP	2,40	2,00	2,00
Kireç taşı	0,8	0,85	0,85
Soda	0,10	0,10	0,10
Tuz	0,25	0,25	0,25
Dl-Metiyonin	0,37	0,25	0,15
L-lizin	0,2	0,10	0
Vitamin premix*	0,10	0,10	0,10
Mineral premix**	0,10	0,10	0,10
Antikoksidiyal	0,06	-	-
TOPLAM	100	100	100
Hesapla Bulunan Bileşim			
Ham Protein, %	22,01	21,56	20,03
ME, kcal/kg	3099	3158	3219
Kalsiyum, %	1,01	0,92	0,91
Fosfor, %	0,5	0,44	0,44
Sodyum, %	0,16	0,16	0,16
Metiyonin+Sistin, %	1,09	0,96	0,82
Lizin, %	1,44	1,33	1,14
Treonin, %	0,88	0,85	0,79
Triptofan, %	0,30	0,30	0,23
Linoleik asit, %	3,72	3,61	3,85

*Her kg vitamin mineral karması: Vitamin A 11.000 IU, Vitamin D3 3.500 IU, Vitamin E 100 mg, K3 3mg, B1 3 mg, B2 6 mg, B6 4 mg, B12 0,02 mg, Niacin 35 mg, Folik asit 1,5 mg, Biotin 0,2 mg, Kalsiyum D-Pantotenat 15 mg içermektedir.

**Her kg mineral karması: Mangan 120 mg, Demir 50 mg, Çinko 110 mg, Bakır 30 mg, İyot 2 mg, Kobalt 0,5 mg, Selenyum 0,3 mg içermektedir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Zeytin Yaprağı Ekstraktının Enkapsülasyonu

Enkapsülasyon işlemi BUCHI B-390 marka enkapsülator cihazı ile yapılmıştır (Resim 2.1) Alginat ile enkapsülasyon koşullarının belirlenmesi amacıyla, farklı konsantrasyonlarda sodyum alginat çözeltisi (%0,5 1,0 1,5 ve 2,0) ve jelleştirici çözelti olarak CaCl_2 (0,5 1,0 1,5 ve 2,0 M) farklı konsantrasyonlarda hazırlanarak en uygun enkapsülasyon yapılabilen konsantrasyon belirlenmiştir. Cihazın da optimize edilmesi amacıyla farklı basınç, sıcaklık ve voltaj denemeleri yapılarak, uygun çalışma koşulları tespit edilmiştir.



Şekil 2.1. Enkapsülasyon cihazı (BUCHI B-390).

En uygun çalışma koşulları olarak yerli sodyum aljinatın %1 çözeltisi hazırlanmıştır. Zeytin yaprağı ekstraktının toz formu %1,5 düzeyinde, hazırlanan aljinat çözeltisiyle karıştırılıp homojenize edilerek bir gece dinlendirilmiş, böylece hava kabarcıklarının sönmesi sağlanmıştır. Jelleştirici olarak en uygun CaCl_2 konsantrasyonunun 1,7 M olduğu belirlenmiştir.

Aljinat-ekstrakt karışımı cihazın şişesine doldurularak, CaCl₂ çözeltisi içine enkapsülasyon cihazından geçirilerek, 1000 µm nozzle, 700 Hz frekans, 200 bar basınç, ve 700 volt akımda püskürtülmüştür. Püskürtme işlemi bittikten sonra 60 dakika CaCl₂ çözeltisi içinde bekletilmiştir. Süre sonunda süzülerek Tris-HCl buffer çözeltisiyle (0,3 M; pH 8,5) yıkanmıştır. Meydana gelen Kalsiyum-Aljinat mikrokapsüllerinin 15 dakika bekletilerek stabilize olmaları sağlanmıştır. Daha sonra ek bir tabaka etkisi sağlamak için 30 dakika %1 kitosan çözeltisinde bekletilmiştir. Süzülerek alınan mikrokapsüller artık çözeltilerden arındırmak için 2 kez deiyonize suyla yıkanıp tekrar süzölmüştür. Süzgeç kağıdı üzerine alınan mikrokapsüller bir süre havada kurutulduktan sonra hava akımlı kurutma dolabında kurutulmuştur.



Şekil 2.2. Enkapsülasyon çalışması

2.2.2. Toplam Fenolik Madde Tayini

Zeytin yaprağı ekstraktı ve aljinat-kitosanla kaplanmış ekstrakda toplam fenolik madde analizi spektrofotometrik Folin-Ciocalteu yöntemine göre (ISO, 2005; Singleton ve ark., 1999) yapılmıştır.

Zeytin yaprağı ekstraktı ve aljinat-kitosanla kaplanmış ekstraktlar 0,5-1,5 g tartılarak 1 ml HCl çözeltisi eklenerek, magnetik karıştırıcıda 100 °C sıcaklıkta, 125

rpm'de 1 saat bekletilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulan örneklerin hacmi deiyonize su ile 10 ml'ye tamamlanarak, süzgeç kâğıdından süzölmüştür. Süzöntü toplam fenolik madde tayininde kullanılmıştır (Naczk ve Shahidi, 2004). Süzöntüden 0,5 ml alınarak üzerine 2,5 ml Folin-Ciocalteu reaktifi (% 10'luk) ilave edilip karıştırmıştır. 3 dakika sonra 2 ml %7,5'lik sodyum karbonat çözöltisi ilave edilerek iyice karıştırmıştır. Karanlık bir ortamda 60 dakika beklenildikten sonra oluşın mavi rengin absorbansı spektrofotometrede (Schimatzu UV-1208) 765 nm dalga boyunda okunmuştur. Standart olarak gallik asit çözöltileriyle eğri elde edilerek sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmıştır (GAE mg/g).

2.2.3. Enkapsölasyonun Değeriendirilmesi

Enkapsölasyonun değeriendirilmesi amacıyla, hazırlama verimi, yükleme kapasitesi ve yükleme verimliliğı tespit edilmiştir. Hazırlanan aljinat-kitosan enkapsöllerinin yükleme etkinliğı direkt olarak nanopartiköl içinde bulunan etkin madde miktarından veya dolaylı olarak serbest halde bulunan ve enkapsöl içerisine girmeyen fenolik madde miktarının tayini ile hesaplanabilmektedir.

2.2.3.1. Hazırlama Verimi

Enkapsölasyon hazırlama veriminin hesaplanması, enkapsöllerin hazırlanmasında kullanılan yöntemlerin etkinliğini değeriendirmek amacıyla yapılmıştır. Enkapsöl hazırlama veriminin hesaplanmasında aşğıdaki eşitlik kullanılmıştır.

$$\text{Hazırlama Verimi, \%} = \frac{A}{B} \times 100$$

A: Elde edilen toplam enkapsöl ağırlığı (mg)

B: Etkin madde + Kaplanan madde ağırlığı (mg)

2.2.3.2.Yükleme Kapasitesi

Aljinat ve kitosan ile kaplanan kapsüllerden 0,1 g alınarak, 5 ml sodyum sitrat (%10 w/v) + 5 ml n-hekzan ilave edilerek 60 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda 37 °C'de 125 rpmde eritilmiştir. Karışım eppendorf tüplere alınarak 4500 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst kısımdaki berrak sıvıdan alınarak Folin-Ciocalteu metoduyla 765 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Schimatzu UV-1208) kapsüllere yüklenen zeytin yaprağı konsantrasyonu belirlenmiştir. Standart olarak hazırlanan gallik asit çözeltileriyle, standart eğri elde edilerek sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmıştır (GAE mg/g). Yükleme kapasitesi yüzdesi aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır (Bal, 2014).

$$\text{Yükleme kapasitesi, \%} = \frac{A - A_0}{B} \times 100$$

A: Toplam etkin madde miktarı

A₀: Yüklenmemiş etkin madde miktarı

B: Enkapsül ağırlığı

2.2.3.3. Yükleme Verimliliği

Yükleme verimliliğinin belirlenmesinde, jelleşme ortamında (CaCl₂) enkapsüle edilmeden kalan toplam fenolik bileşikler Folin-Ciocalteu yöntemi ile UV-spektrofotometre 765nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülerek belirlenmiştir. Yükleme etkinliği aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir. (Santos ve ark., 2013).

$$\text{Yükleme verimliliği, \%} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A: Toplam etkin madde miktarı

B: Yüklenmemiş etkin madde miktarı

2.2.4. In Vitro Salım Çalışmalarının Yapılması

2.2.4.1. Mide Koşullarında İn Vitro Salım Çalışması

İnvitro salınım çalışmaları genelde insan midesi taklit edilerek yapılan çalışmalardan oluşmaktadır. Kanatlılarda sindirim sistemi ortamına göre bazı çalışmalar modifiye edilerek yapılmıştır (Anna ve ark., 2016; Stippler ve ark., 2004; Svihus, 2014; Weurding ve ark., 2001; Yonsel ve Batum 2016).

İnvitro çalışmalar için kapaklı kuru madde kaplarına 0,1 g aljinat ve kitosan ile enkapsüle edilen örnek tartılmıştır. Bu çalışmalar için dört paralel örnek hazırlanmıştır. Her adım sonrası alınan bir örnek analizler için kullanılırken diğer örneklerde aşamalar devam ettirilmiştir.

Yapay mide sıvısı, literatürdeki pek çok salım çalışmalarında pepsin içermeksizin kullanılmıştır. Pepsin kullanımı hem proteinlerin sindirip salım takibini zorlaştırdığı, hem de ek maliyet getirdiği için kullanılmayabilir. Yapay mide sıvısının bu formuna pepsinsiz yapay mide sıvısı adı verilir. Bu çalışmada da pepsinsiz mide sıvısı kullanılmıştır.

Bu amaçla enzim içermeyen mide ortamı oluşturmak için, 1g NaCl ve 3,5 ml %37'lik HCl 500 ml'ye saf su ile tamamlanarak pH 1,8'e ayarlanmıştır. Kapsüller bu sıvıya 42°C'de 50 rpm'de karıştırıcılı inkübatörde 5 dakika bekletilerek proventrikulus ortamı sağlanmıştır. Bu sürenin sonunda bir örnek alınarak mide ortamına salınan zeytin yaprağı ekstraktının konsantrasyonu, Folin-Ciocalteu yöntemi ile 765 nm'de spektrofotometre ile absorbansı ölçülerek belirlenmiştir.

Diğer örneklerde pH 2,5'e ayarlanarak, içine birkaç cam boncuk atılmıştır. Bu şekilde taşlı mide ortamı uygulanmıştır. Burada 25 dakika yüksek devirde çalkalanmıştır. Süre sonunda buradan bir örnek alınarak mide ortamına salınan zeytin yaprağı ekstraktının konsantrasyonu, Folin-Ciocalteu yöntemi ile 765 nm'de

spektrofotometre ile absorbanası ölçülerek belirlenmiştir. Ekstraktan mide koşullarında salınan toplam polifenol miktarı, aşağıdaki denklemle hesaplanmıştır.

$$\text{Ekstraktan salınan, \%} = \frac{\text{Ekstraktan ortama salınan miktar}}{\text{Kapsüldeki başlangıçtaki ekstrakt miktarı}} \times 100$$

2.2.4.2. Bağırsak Koşullarında İn Vitro Salım Çalışması

Yapay bağırsak sıvısında da enzim kullanılmamıştır. Bu nedenle pankreatinsiz yapay bağırsak sıvısı hazırlanmıştır. Bunun için 0,6805 g KH₂PO₄ ve 0,0896 g NaOH suda çözüldükten sonra 100 mL'ye tamamlanarak pH = 6,4' e ayarlanmıştır.

Daha önce mide koşullarında bekletilen örnekler, duodenum ortamı için 42°C'de 50 rpm'de 10 dakika inkübatörde bekletilmiştir. Süre sonunda bir örnek alınarak duodenum ortamına salınan zeytin yaprağı ekstraktının konsantrasyonu, Folin-Ciocalteu yöntemi ile 725 nm'de spektrofotometre ile absorbanası ölçülerek belirlenmiştir.

İnce bağırsak koşulları için yapay bağırsak sıvısı ilave edilip, pH 6,9'a ayarlanarak 4 saat 42°C'de 50 rpm'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda alınan örnekte ince bağırsak ortamına salınan zeytin yaprağı ekstraktının konsantrasyonu, Folin-Ciocalteu yöntemi ile 765 nm'de spektrofotometre ile absorbanası ölçülerek belirlenmiştir. Ekstraktan bağırsak koşullarında salınan polifenol miktarı, aşağıdaki denklemle hesaplanmıştır.

$$\text{Ekstraktan salınan, \%} = \frac{\text{Ekstraktan ortama salınan miktar}}{\text{Kapsüldeki başlangıçtaki ekstrakt miktarı}} \times 100$$



Şekil 2.3. In vitro çalışma

2.2.5. Deneme Hayvanlarının Beslenmesi ve Deneme Süresi

Deneme Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama Çiftliği – Etlik Piliç Deneme Kümesinde yürütülmüştür. Cıvcıvler grup yemlemesi tabii tutularak, günlük tüketebilecekleri miktarda yem sürekli olarak yemliklerde bulundurmak yoluyla *ad libitum* olarak beslenmiştir. Hayvanlar toplam 37 gün boyunca deneme rasyonları ile beslenmiştir. Su, her bölmede yer alan iki adet damla tipi (nipelli) sulukla *ad libitum* olarak sağlanmıştır. Yemlik ve suluklar deneme süresince büyüme dönemine paralel olacak şekilde yükseltilmiştir.

Çalışma boyunca bölmelere altlık olarak odun talaşı serilmiştir. Aydınlatma günde 24 saat ve devamlı olacak şekilde, gündüzleri gün ışığı, gece ise ampuller yardımıyla gerçekleştirilmiştir. Ortamın ısısı elektrikli ısıtıcılar ve klima yardımıyla sağlanmıştır. İlk hafta içerisinde ortam sıcaklığının 32-35°C derece olmasına özen gösterilirken araştırma döneminin iki, üç ve dördüncü haftalarında 22-24°C seviyesinde olmasına son iki haftada ise 20°C seviyesinde olmasına dikkat edilmiştir. Deneme kümesinin havalandırılması, boyutları 40x40 cm olan üç adet vantilatör ve 70x90 cm olan 4 adet pencere ile sağlanmıştır.

2.2.6. Karma Yemlerin Zeytin Yaprağı Ekstraktı, Besin Madde Miktarlarının ve Enerji Düzeylerinin Belirlenmesi

Araştırmada kullanılan karma yemlerin, kaplanmış ve kaplanmamış zeytin yaprağı ekstraktının ham besin madde miktarları AOAC (2000)'de bildirilen metotlara göre Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında belirlenmiştir. Metabolize olabilir enerji düzeylerinin hesaplanmasında ise TSE (1991)'in önerdiği formül kullanılmıştır. Kaplanmış ve kaplanmamış zeytin yaprağı ekstraktının su aktivitesi analizleri, portatif su aktivitesi lme cihazı ile (DECAGON, PAWKIT Water Activity Meter) yapılmıştır (Saenz ve ark., 2009).

2.2.7. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Değişiminin Belirlenmesi

Hayvanlar denemenin 7, 14, 21, 28 ve 37. günlerinde bireysel olarak tartılarak canlı ağırlıkları belirlenmiştir. Tartımlar arasındaki farktan faydalanılarak alt gruplar arası ortalama canlı ağırlık artışları hesaplanmıştır.

2.2.8. Yem Tüketimleri ve Yem Dönüşüm Oranının Belirlenmesi

Araştırmanın 7, 14, 21, 28 ve 37. günlerinde yemliklerde kalan yem miktarları tartılmış ve o hafta içerisinde her tekrar grubuna verilen toplam yem miktarından çıkarılarak her alt grubun bir hafta içerisinde tükettiği yem miktarı belirlenmiştir. Tespit edilen miktar mevcut hayvan sayısına bölünerek yem tüketimleri, tekrar grupları ve grupların ortalamaları olarak hesaplanmıştır. Hayvanların çalışmanın başlangıcından itibaren birbirini takip eden iki tartım aralığında tükettiği ortalama yem miktarı, bu iki tartım aralığında belirlenen ortalama canlı ağırlık artışlarına bölünerek yem dönüşüm oranları hesaplanmıştır.

2.2.9. Kesim İşlemi

Araştırmanın 37. gününde gruplar tartıldıktan sonra her alt gruptan 2'er piliç alt grup ağırlık ortalaması dikkate alınarak seçilmiş ve tartılmıştır. Tartılan hayvanlar uygun yöntemlerle kesilmiştir. Kesilen hayvanların karkasları Türk Standartları Enstitüsü parçalama tekniğine uygun olarak butlar (Art. coxae'lardan), göğüs

(costaların sternuma bağlandıkları Art. sternocostalis'ten) ayrılmıştır (TSE, 1997). Karın yağının ayrılması, bursa Fabricius çevresindeki yağın ve iç organların çıkartılması esnasında taşlık ve diğer organlara sarılı biçimde bulunan yağ kısımlarının alınması şeklinde tamamlamıştır.

2.2.10. Sıcak Karkas Randımanının Belirlenmesi

Kesim işleminin tamamlanmasının ardından, iç organlar çıkartılarak karkaslar hemen tartılarak sıcak karkas ağırlığı belirlenmiştir. Sıcak karkas ağırlığı kesim ağırlığına bölünerek sıcak karkas randımanı aşağıda belirtilen formüle uygun olarak hesaplanmıştır.

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

2.2.11. Ölüm Oranının Belirlenmesi

Deneme süresince ölen hayvanların grubu, ölüm tarihi ve ölüm nedeni kaydedilmiştir. Gruplarda ölen hayvan sayıları başlangıçtaki hayvan sayısına bölünüp aşağıda belirtilen formül yardımıyla ölüm oranı belirlenmiştir.

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

2.2.12. Yaşam Gücünün Belirlenmesi

Yaşam gücünün belirlenmesinde deneme sonunda canlı piliç sayısı başlangıçtaki civciv sayısına bölünerek aşağıda belirtilen formül kullanılarak belirlenmiştir.

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

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

Araştırma sonunda her grubun Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (European Production Efficiency Factor-EPEF) olarak da geçen üretim verimlilik faktörü aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

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

2.2.14. İç Organ Ağırlıkları, Duodenum, Jejenum, İleum pH'larının Belirlenmesi

Araştırma sonunda her alt gruptan kesilen 2 hayvana ait karaciğer, kalp, bezli mide, taşlık, dalak, bursa Fabricius ve abdominal yağ kısımları çıkartılmış, bezli mide ve taşlı mide içeriği dokulara zarar vermeden temizlenmiştir. Organlar daha sonra ± 10 mg'a duyarlı hassas terazi yardımıyla ayrı ayrı tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir. İç organ ağırlıkları kesim öncesi canlı ağırlıklarına bölünerek oranları hesaplanmıştır.

Kesilen hayvanların bağırsakları hemen ayrılmış ve duodenum, jejenum, ileum pH'ları direkt bağırsak sıvısına daldırılarak pH metre (Mettler Toledo Seven Go Portable) ile belirlenmiştir.

2.2.15. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Araştırmanın sonunda kesilen hayvanlardan alınan kan örneklerinde ALT, AST, ADL, toplam kolesterol, HDL, LDL ve trigliserit düzeyleri özel bir laboratuvarında kitler yardımıyla otoanalizörde ölçülmüştür.

2.2.16. But ve Göğüs Eti pH Değeri ile Tibia ve Femur En, Boy, Ağırlıklarının Belirlenmesi

TSE'nin (1997) belirttiği parçalama tekniğine uygun olarak sol ggs etleri (M. pectoralis majör) ve sol butları (M. biceps femoris) ayrılmıştır.

Alınan but ve ggs etleri kesimden sonra 24 saat + 4°C'de bekletilmiş, 5 farklı noktasından önceden kalibre edilmiş pH metre (Mettler Toledo Seven Go Portable) ile et probu kullanılarak beş farklı noktadan pH değeri ölçülmüştür (Anonim, 2002).

Sol butlarda pH ölçümünün ardından etleri ayrılarak kemikler kas dokularından temizlenmiştir. Temizlenen femur ve tibia kemikleri ± 10 mg'a duyarlı hassas terazi (Sartorius) ile tartılarak ağırlıkları belirlenmiştir. Tartılan kemiklerde en (genişlik ve darlık ortalaması) ve boyları (en sivri kısımlarından) kemiklerin dijital kumpas (Mitutoyo 500-184-30 ABS) kullanılarak her kemikte aynı noktadan yapmaya dikkat edilerek ölçülmüştür.

2.2.17. Ggs Eti MDA Değerinin Belirlenmesi

Alınan ggs eti numunelerden 10 g örnek alınarak 97,5 ml distile su ile ultra turrax yardımıyla homojenize edilmiştir. Bu karışım, kjeldahl tüplerine aktarılmıştır. zerine 2 ml HCl (6N) zltisi ilave edildikten sonra distilasyon ünitesine yerleştirilmiştir. Toplanan 50 ml distilattan 5'er ml alınarak vida kapaklı cam tüplere aktarılmıştır. Tüplere 5 ml TBA ayıracı (0,02 M, 2-thiobarbtirik asit) ilave edildikten sonra kaynar su banyosunda 35 dakika tutulmuştur. Absorbans değerleri 530 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu UV-1208) okunmuştur. Örneğin absorbans değerleri, "K" katsayısı ile çarpılarak ($K=7,8$), TBA değerleri mg malonaldehit/kg olarak saptanmıştır (Tarladgis ve ark., 1960).

2.2.18. Dışkı, Altlık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak-Azotu Düzeylerinin Belirlenmesi

Denemenin 37. gününde bölmelerin altına naylon örtü serilerek dışkılar toplanmıştır. Aynı günde her bölmenin 3 değişik yerinden ve yaklaşık altlık yüzeyinin 3 cm altından alınan örnekler karıştırılarak hazırlanmıştır.

Dışkı ve altlık örneklerinde kuru madde analizleri AOAC (2000)'de belirtilen metoda göre belirlenmiştir.

Dışkı ve altlık örneklerinde $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu, indofenol mavisi yöntemi ile 546 nm dalga boyunda spektrofotometre (Shimadzu UV-1208) kullanılarak belirlenmiştir (Chaney ve Marbaeh, 1962).

2.2.19. İstatistik Analizler

Canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yem dönüşüm oranı, EPEF, sıcak karkas randımanı, iç organ ağırlıkları, duodenum, jejunum, ileum pH'ları, serum biyokimyasal parametreleri, tibia eni, boyu, ağırlığı ile femur eni, boyu, ağırlığı, but ve göğüs eti pH, göğüs eti MDA, dışkı, altlık kuru madde ve dışkı, altlık amonyak azotu değerleri bakımından gruplar arasında fark olup olmadığının tespiti için Tek Yönlü Varyans Analizi, gruplar arasındaki farkın önemlilik kontrolü için ise Tukey testi uygulanmıştır (Dawson ve Trapp, 2001). Yaşam gücü ve ölüm oranının tespitinde Ki-kare analizi yapılmıştır. Elde edilen veriler SPSS 20 (Inc., Chicago II, USA) paket program kullanılarak istatistiki değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Rasyonların Besin Madde ve Metabolize Olabilir Enerji Değerleri

Deneme hayvanlarının beslenmesinde kullanılan rasyonların, kaplanmış, kaplanmamış zeytin yaprağı ekstraktlarının analiz ile bulunan besin madde miktarları ve metabolize olabilir enerji düzeyleri ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktının su aktivitesi düzeyleri Çizelge 3.1’de yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Araştırma rasyonlarının, kaplanmış, kaplanmamış zeytin yaprağı ekstraktlarının besin madde (%) miktarları ve metabolize olabilir enerji (kcal/kg) değerleri ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktının su aktivitesi düzeyleri

	Broyles Civciv	Broyles Piliç-I	Broyles Piliç-II	ZYE	AK-ZYE
Kuru Madde	89,65	87,45	87,30	95,25	82,60
Ham Protein	23,45	21,70	19,60	3,46	0,57
Ham Yağ	5,95	7,10	7,20	3,42	0,72
Ham Selüloz	3,80	4,00	3,70	1,50	3,40
Ham Kül	5,20	4,60	4,30	1,11	26,77
Azotsuz Öz Madde	51,25	50,05	52,50		
Kalsiyum	0,96	0,91	0,76		
Fosfor	0,62	0,44	0,42		
ME	3131	3153	3200		
Su aktivitesi (28,9 °C)				0,38	0,41

3.2. Gruplarda Performans, Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü ve Yaşama Gücü Değerleri

Araştırma boyunca grupların haftalık ortalama canlı ağırlık değerleri Çizelge 3.2’de yer almaktadır. Kontrol ve deneme gruplarında canlı ağırlık değerleri incelendiğinde 0, 7, 21, 28. günlerde istatistik olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Denemenin 14 ve 37. gününde canlı ağırlıklar rasyonlarına aljinat ve kitosan ile

kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı (AK-ZYE) ilave edilen grupta, kontrol ve zeytin yaprağı ekstraktı (ZYE) ilave edilen gruba göre istatistik olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Deneme sonu canlı ağırlıklar incelendiğinde AK-ZYE grubunda, kontrol ve ZYE grubuna göre sırasıyla %4,06 ve 3,68 düzeyinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.2. Deneme gruplarında canlı ağırlık ortalamaları

	Deneme Grupları				
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
0. gün	41,79	41,78	41,77	0,016	0,825
7. gün	152,30	149,35	151,02	1,209	0,643
14. gün	390,58 ^b	398,78 ^{ab}	403,52 ^a	2,086	0,022
21. gün	829,20	837,41	850,63	4,581	0,157
28. gün	1442,13	1497,55	1506,47	14,149	0,129
37. gün	2397,72 ^b	2406,44 ^b	2495,07 ^a	16,777	0,017

a,b; Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir (*: $p<0,05$).

Grupların canlı ağırlık artışları (CAA) Çizelge 3.3'de gösterilmiştir. Denemenin ilk 28 gününde canlı ağırlık artışları gruplar arasında istatistiki yönden anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$). Denemenin 29-37. günleri arasında, AK-ZYE grubunda, kontrol ve ZYE grubuna göre istatistik olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Deneme sonunda canlı ağırlık artışları kontrol grubuna göre, ZYE grubunda %3,75, AK-ZYE grubunda %4,13 daha yüksek bulunmuştur.

Grupların ortalama yem tüketimleri Çizelge 3.4'de gösterilmiştir. Deneme süresince yem tüketimi açısından gruplar arasında istatistiki yönden anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$). Denemenin sonunda, AK-ZYE grubunda yem tüketimleri, kontrol ve ZYE grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Deneme sonunda 37 gün boyunca tüketilen yem miktarı AK-ZYE grubunda, kontrol grubundan göre 31,96 g, ZYE grubuna göre 90,22 g daha az olmuştur.

Çizelge 3.3. Deneme gruplarında canlı ağırlık artış ortalamaları

Deneme Grupları					
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
0-7 gün	110,51	107,57	109,25	1,210	0,644
8-14 gün	238,28	249,43	252,50	2,755	0,075
15-21 gün	438,622	438,628	447,11	4,475	0,703
22-28 gün	612,93	660,13	655,84	11,700	0,197
29-37gün	955,58 ^b	908,89 ^b	988,60 ^a	13,115	0,030
0-21 gün	787,42	795,63	808,87	4,586	0,157
22-37 gün	1568,51 ^b	1569,03 ^b	1644,44 ^a	13,234	0,012
0-37 gün	2355,93 ^b	2364,66 ^b	2453,30 ^a	16,781	0,017

a,b; Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir (*:p<0,05)

Çizelge 3.4. Deneme gruplarının haftalık ortalama yem tüketimleri (g)

Deneme Grupları					
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
0-7 gün	141,52	149,11	139,97	2,469	0,289
8-14 gün	391,86	388,10	388,69	6,376	0,972
15-21 gün	602,70	646,77	609,26	11,578	0,261
22-28 gün	956,95	992,97	983,38	12,994	0,538
29-37gün	1581,31	1525,66	1491,08	18,853	0,142
0-21 gün	1136,08	1183,97	1137,92	15,069	0,366
22-37 gün	2538,26	2518,63	2474,45	19,695	0,430
0-37 gün	3674,34	3702,60	3612,38	26,580	0,395

Grupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistik bakımdan önemsizdir (p>0,05).

Deneme süresince gruplardaki yem dönüşüm oranları Çizelge 3.5’de gösterilmektedir. Denemenin ilk 28 gününde canlı ağırlık artışına paralel olarak, yem dönüşüm oranlarında gruplar arasında istatistiki yönden anlamlı bulunmamıştır (P>0,05). Yem dönüşüm oranları denemenin 29-37. günleri arasında, AK-ZYE

grubunda, kontrol ve ZYE grubuna göre istatistik olarak önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($P<0,05$). Deneme sonunda bir kilogram canlı ağırlık artışı için, AK-ZYE grubunda, kontrol grubu ve ZYE grubuna göre sırasıyla %5,77 ve %6,37 daha az yem tükettikleri gözlenmiştir.

Çizelge 3.5. Deneme gruplarının haftalık ortalama yem dönüşüm oranları (kg yem / kg CAA)

Deneme Grupları					
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	<i>P</i>
0-7 gün	1,28 ^b	1,39 ^a	1,28 ^b	0,019	0,028
8-14 gün	1,65	1,56	1,55	0,019	0,408
15-21 gün	1,37	1,48	1,36	0,025	0,119
22-28 gün	1,78	1,51	1,50	0,077	0,264
29-37gün	1,43 ^a	1,44 ^a	1,31 ^b	0,027	0,049
0-21 gün	1,44	1,49	1,41	0,017	0,157
22-37 gün	1,62 ^a	1,61 ^{ab}	1,51 ^b	0,019	0,023
0-37 gün	1,56 ^a	1,57 ^a	1,47 ^b	0,064	0,022

a,b; Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir (*: $p<0,05$).

Deneme sonunda gruplarda Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü'ne (EPEF) ve yaşama gücü oranlarına ait veriler Çizelge 3.6'da yer almaktadır. EPEF değeri açısından AK-ZYE grubu, kontrol ve ZYE grubuna göre istatistik anlamda önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($P<0,05$).

Yaşama gücü oranları açısından gruplar arasında istatistik bakımdan önemli bir fark gözlenmemesine ($P>0,05$) karşın en iyi yaşama gücü AK-ZYE grubunda tespit edilmiştir. Araştırma süresince kontrol grubunda 1 adet (%2,86), ZYE grubunda 2 adet (%5,71) olmak üzere toplam üç adet hayvan ölmüştür.

Çizelge 3.6. Gruplarda Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF) ve yaşam gücü (%)

Deneme Grupları					
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
EPEF	414 ^b	411 ^b	458 ^a	8,01	0,012
				χ^2	
Yaşama gücü	97,14	94,29	100,00	0,357	

a, b; Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (*:P<0,05).

3.3. Karkas Ağırlığı, Randımanı, Bazı Bazı İç Organ Ağırlıkları ve Bunların 100 g Canlı Ağırlığa Oranları, Duodenum, Jejenum, İleum pH'ları

Deneme sonunda grupların kesim ağırlıkları, karkas ağırlıkları ve karkas randımanı ile bazı iç organ ağırlıkları (g) ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranları Çizelge 3.7'de yer almaktadır. Deneme sonunda kesilen hayvanların ortalama karkas ağırlıkları deneme gruplarında istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur (P<0,05). Karkas ağırlığında istatistiki açıdan en iyi grupların AK-ZYE grubuyken, en kötü karkas ağırlığı ortalamasının ise kontrol grubunda tespit edilmiştir. Karkas randımanı bakımından grupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05).

Çizelge 3.7. Deneme gruplarının ortalama kesim ağırlığı, karkas ağırlığı, karkas randımanı

Deneme Grupları					
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
Kesim ağırlığı, g	2359,77 ^b	2413,69 ^{ab}	2446,42 ^a	11,154	0,004
Karkas ağırlığı, g	1664,69 ^b	1711,47 ^{ab}	1722,08 ^a	10,272	0,047
Karkas randımanı,%	70,54	70,90	70,38	0,215	0,602

a, b; Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (*:P<0,05).

Gruplar arasında kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, abdominal yağ, bezli mide, taşlı mide ağırlıkları ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranları Çizelge 3.8'de gösterilmektedir. Gruplar arasında kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, abdominal

yağ ve taşlı mide ağırlıkları ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranlarının istatistik bakımından önemsiz olduğu gözlemlenmiştir ($P>0,05$). Bezli mide ağırlığı ve 100 g canlı ağırlığa oranı açısından AK-ZYE ve ZYE grupları, kontrol grubuna göre istatistik olarak daha düşük ağırlıkta olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 3.8. Deneme gruplarında bazı iç organ ağırlıkları (g) ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranları.

	Deneme Grupları				
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
Kalp, g	11,52	11,70	12,01	0,192	0,592
Kalp, g/100g CA	0,49	0,50	0,48	0,010	0,747
Dalak, g	2,76	2,78	2,43	0,114	0,413
Dalak, g/100g CA	0,12	0,12	0,09	0,005	0,103
Karaciğer, g	47,01	48,43	49,89	0,694	0,240
Karaciğer, g/100g CA	1,99	2,01	2,04	0,028	0,795
bursa Fabricius, g	4,40	4,44	4,14	0,179	0,764
bursa Fabricius, g/100g CA	0,19	0,19	0,17	0,008	0,332
Abdominal yağ, g	27,73	27,03	21,54	1,232	0,088
Abdominal yağ, g/100g CA	1,17	1,13	0,95	0,053	0,207
Bezli mide, g	9,12 ^a	7,46 ^b	7,96 ^b	0,180	0,000
Bezli mide, g/100g CA	0,39 ^a	0,31 ^b	0,33 ^b	0,008	0,000
Taşlı mide, g	28,99	29,12	29,08	0,463	0,994
Taşlık mide, g/100g CA	1,23	1,21	1,19	0,020	0,740

a,b; Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir (*:p<0,05).

Deneme gruplarında ortalama duodenum, jejunum, ileum pH'ları Çizelge 3.9'da verilmektedir. Deneme gruplarında duodenum, jejunum, ileum pH'ları bakımından istatistik bakımdan önemli bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$). Duodenum ve jejunum pH değerlerinin gruplarda birbirine oldukça yakın oldukları gözlenmiştir. İleum pH değerinin istatistik bakımdan önemli olmasada AK-ZYE grubunda, kontrol ve ZYE gruplarına göre daha düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.9. Deneme gruplarının ortalama duodenum, jejunum, ileum pH'ları

	Deneme Grupları				
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
pH duodenum	6,06	6,12	6,10	0,024	0,497
pH jejunum	5,96	5,90	5,89	0,022	0,390
pH ileum	6,19	6,26	5,93	0,065	0,115

Grupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistik bakımdan önemsizdir ($p>0,05$).

3.4. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler

Deneme sonunda grupların kan serumunda ortalama ALT, ALP, AST, HDL, LDL, total kolesterol, trigliserit ve IgG değerlerine ilişkin bulgular Çizelge 3.10'da verilmektedir. Grupların kan serumunda ortalama ALT, ALP, AST, HDL, LDL, total kolesterol ve IgG değerleri istatistik bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Trigliserit düzeyinin gruplar arasında istatistik bakımdan önemli olduğu gözlenmiş olup, AK-ZYE grubunda, kontrol grubuna göre %30,76 düzeyinde düşük olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Çizelge 3.10. Gruplarda kan serumunda bazı biyokimyasal parametreler

	Deneme Grupları				
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
ALT, IU/L	2,90	2,56	2,45	0,127	0,368
ALP, IU/L	2538,88	2821,51	2618,59	93,188	0,425
AST, IU/L	250,00	291,29	255,44	8,080	0,072
HDL, mg/dl	56,44	57,76	58,25	1,203	0,821
LDL, mg/dl	52,15 ^a	42,26 ^{ab}	36,11 ^b	2,442	0,019
T. Kolesterol, mg/dl	115,47	105,81	107,29	2,044	0,112
Trigliserid, mg/dl	55,00	54,06	58,36	1,581	0,528
Toplam Protein, g/dl	5,01	4,89	4,38	0,141	0,163
IgG, mg/dl	1229,49	1219,40	1110,00	53,089	0,613

a,b; Aynı sırada farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir (*: $p<0,05$).

3.5. But Eti ve Göğüs Eti pH Değerleri ile Tibia Eni, Boyu, Ağırlığı ile Femur Eni, Boyu, Ağırlığı Değerleri

Araştırma sonunda alınan but ve göğüs eti örneklerinin ortalama pH değerleri Çizelge 3.11’de yer almaktadır. Gruplar arasında istatistik anlamda bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 3.11. Deneme gruplarının ortalama but eti ve göğüs eti pH’ları

	Deneme Grupları				
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
But eti pH	6,06	6,00	6,02	0,017	0,420
Göğüs eti pH	5,88	5,87	5,83	0,012	0,234

Grupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistik bakımdan önemsizdir ($p>0,05$).

Araştırma sonunda alınan tibia ve femur örneklerinin en, boy ve ağırlık, değerleri Çizelge 3.12’de verilmektedir. Gruplar arasında istatistik anlamda bir fark bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 3.12. Gruplarda ortalama tibia eni, boyu, ağırlığı ile femur eni, boyu, ağırlığı

	Deneme Grupları				
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
Tibia eni, mm	8,56	8,62	8,97	0,097	0,189
Tibia boy, mm	91,90	92,02	93,10	0,409	0,446
Tibia ağırlığı, g	12,10	12,79	12,35	0,164	0,224
Femur eni, mm	10,12	10,25	10,07	0,110	0,799
Femur boyu, mm	68,21	69,01	70,40	0,378	0,051
Femur ağırlığı, g	9,79	10,11	9,75	0,104	0,336

Grupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistik bakımdan önemsizdir ($p>0,05$).

3.6. Göğüs Etinde MDA Değerleri

Deneme sonunda göğüs etinde tespit edilen MDA değerleri Çizelge 3.13'de verilmektedir. MDA değerleri açısından gruplar arasındaki istatistiksel farklar önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 3.13. Gruplarda ortalama göğüs eti MDA değerleri (mg/kg)

Deneme Grupları					
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
MDA	0,4347	0,5051	0,4017	0,105	0,110

Grupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistik bakımından önemsizdir ($p>0,05$).

3.7. Dışkı, Altlık Kuru Madde ve Dışkı, Altlık Amonyak Düzeyleri

Araştırma sonunda gruplardan alınan taze dışkı ve altlıklara ait kuru madde ve amonyak düzeyleri Çizelge 3.14'de yer almaktadır. Grupların dışkı ve altlık örneklerinin ortalama kuru madde ve amonyak azotu değerleri arasındaki istatistiksel farklar önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

Çizelge 3.14. Gruplarda dışkı, altlık kuru madde (%) ve dışkı, altlık amonyak azotu (mmol/l) düzeyleri

Deneme Grupları					
	Kontrol	ZYE	AK-ZYE	SEM	P
Dışkı KM	17,71	18,22	18,19	0,351	0,814
Dışkı NH ₃ -N	3,68	3,70	3,78	0,228	0,986
Altlık KM	63,78	61,61	61,12	1,074	0,583
Altlık NH ₃ -N	12,55	14,13	13,19	0,478	0,443

Grupların ortalama değerleri arasındaki fark istatistik bakımından önemsizdir ($p>0,05$).

3.8. Enkapsülasyon çalışması denemeleri

Zeytin yaprağı ekstraktının toplam fenolik madde ve oleuropein düzeyleri Çizelge 3.15’de verilmiştir.

Çizelge 3.15. Zeytin yaprağı ekstraktı ile aljinat-kitosanla kaplanan ekstraktların toplam fenolik madde düzeyleri

	Toplam fenolik madde miktarı, g/kg	Oleuropein, g/kg
ZYE	227	114

Aljinat-kitosanla kaplanan zeytin yaprağı ekstraktının yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon verimliliği Çizelge 3.16’da verilmektedir.

Çizelge 3.16. Aljinat-kitosanla kaplanan zeytin yaprağı ekstraktının hazırlama verimi, yükleme kapasitesi ve yükleme verimliliği, %

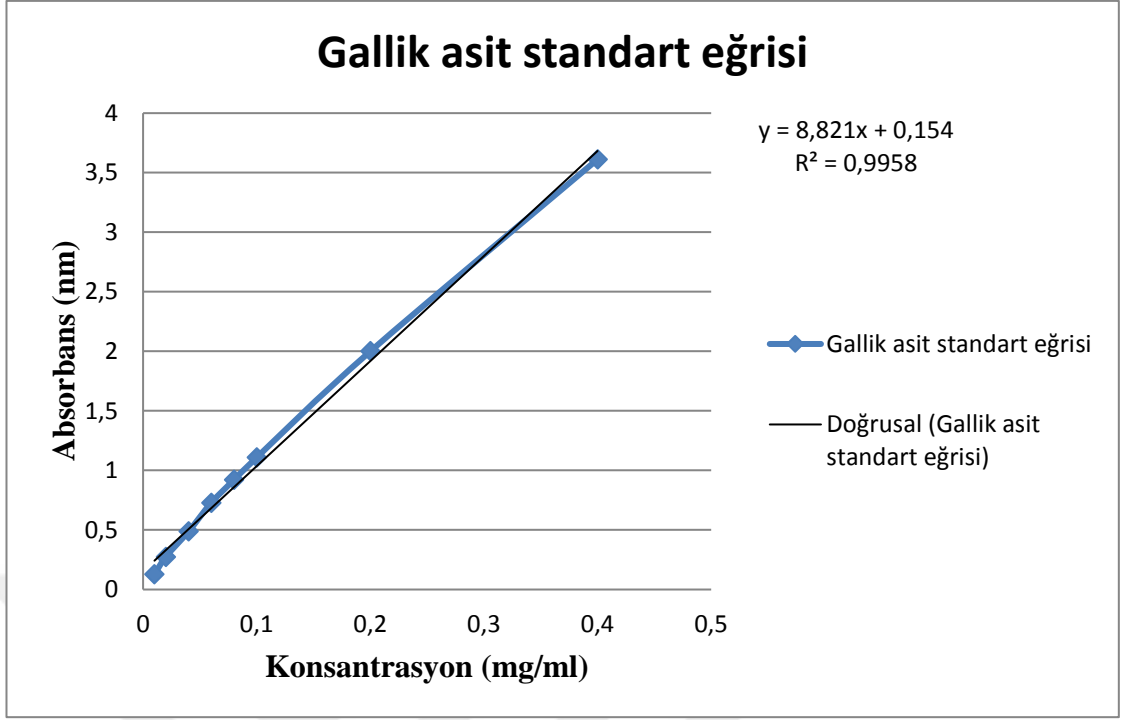
	Hazırlama Verimi	Yükleme Verimliliği	Yükleme Kapasitesi
AK-ZYE	100	90,06	53,28

Zeytin yaprağı ekstraktı ile aljinat-kitosanla kaplanan ekstraktların in vitro salım değerleri Çizelge 3.17’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.17. Zeytin yaprağı ekstraktı ile aljinat-kitosanla kaplanan ekstraktların in vitro salım değerleri

	Proventrikulus	Taşlı Mide	Duodenum	İnce Bağırsak
AK-ZYE	10,35	23,75	34,72	52,95

Zeytin yaprağı ekstraktı ve aljinat-kitosanla kaplanmış ekstrakda toplam fenolik madde analizinin Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılan analizinde hesaplamalarda kullanılan gallik asit standardı kalibrasyonuna ilişkin eğri Şekil 3.1’de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Gallik asit standardının kalibrasyon eğrisi

4. TARTIŞMA

Bu çalışma, aljinat ve kitosan ile kaplanan zeytin yaprağı ekstraktının etlik piliç rasyonlarında kullanılmasının performans (canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi, yem dönüşüm oranı, yaşama gücü ve EPEF 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, ADL, toplam kolesterol, HDL, LDL, trigliserit, toplam protein, IgG), göğüs eti pH, göğüs eti MDA düzeyi, bağırsak pH'sı ile dışkı ve altlık kuru madde, amonyak düzeylerine etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

4.1. Broyler Denemesi

4.1.1. Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışı

Çalışma grupları canlı ağırlık açısından incelendiğinde 14 ve 37. günler için gruplar arası farklılık anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.2). Oransal olarak ZYE-Aljinat/Kitosan grubu kontrol ve ZYE'e göre en iyi canlı ağırlık değerlerine sahiptir. Canlı ağırlık artışı açısından ise 29-37, 22-37 ve 0-37 günler arası dönemde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.3). Zeytin yaprağında bulunan oleuropeinin metabolizmayı düzenlemeye yardımcı olduğu ve immun sistemi güçlendirdiği bilinmektedir (Mourtzinou ve ark., 2007). Yağ metabolizmasını ve triaçilgliserol emilimini geliştirdiği, protein sindirimine yardımcı olduğu da bildirilmiştir (Bahşi ve ark., 2016). El-sayed ve arkadaşları (2014) *Escherichia coli* ile enfekte edilen broylerlerde kurutulup öğütülmüş zeytin yaprağının CAA'na olumlu etkisi olduğu ifade edilmiştir. El-sayed ve arkadaşları (2013) broyler rasyonlarına %1 oranında zeytinyağı ilavesinin kesim günü canlı ağırlık ve toplam canlı ağırlık artışını arttırdığını tespit etmiştir. Bahşi ve arkadaşları (2016) rasyonlarına 400 mg/kg oleuropein ilave edilen bıldırcınlarda kontrole göre canlı ağırlık ve canlı ağırlık artışının olumlu etkilendiği bildirilmiştir.

Enkapsülasyon gıda teknolojisinde 60 yıla yakın süredir katı, sıvı veya gaz materyallerin metabolizmada düzenli salınımı için kullanılmaktadır (Santos ve Meireles, 2010). Zeytin yaprağı ekstraktının β -siklodekstrin ile kaplanması suda çözünürlüğünü, yağ/su sisteminde bölümlenimin artırılmasını, saklama koşullarını ve biyoyararlanımını olumlu etkilediği ifade edilmektedir (Mourtzinou ve ark., 2007). Çalışmamızın bulguları, CA ve CAA açısından Lippens ve arkadaşlarının (2006) çeşitli esansiyel yağ ve organik asitlerin toz ve kaplanmış formlarının etlik piliçlerde kullanımına yönelik çalışması, Józefiak ve arkadaşlarının (2011) liyofilize diversinin enkapsüle ve enkapsüle olmayan formlarının etlik piliçlerde CA ve CAA'na etkisini incelediği araştırması ve Natsir ve arkadaşlarının (2013) sarımsak ve *Phyllanthus niruri* L.'in enkapsüle formunun toz formuna göre CAA'nın olumlu etkilediği çalışması ile uyumluluk göstermektedir.

4.1.2. Yem Tüketimi ve Yem Dönüşüm Oranı

Çalışmaya ait yem tüketimi değerleri Çizelge 3.4'de yer almaktadır. Buna göre gruplar arasında yem tüketimi açısından anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Bu açıdan çalışmamız broyler piliçlerde (Shafey ve ark., 2013a) ve bıldırcınlarda (Sarica ve ark., 2015; Bahşi ve ark., 2016) zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir. Christaki ve arkadaşları (2011) da yumurtacı Japon bıldırcınlarında öğütülmüş zeytin yaprağının yem tüketimine etkisi olmadığını ifade etmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde fitojenik yem katkı maddelerinin enkapsüle edilmesinin broyler piliçlerde yem tüketimi üzerine istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı birçok araştırma da mevcuttur (Steiner ve ark., 2014; Hafeez ve ark., 2016).

Yem dönüşüm oranı açısından bakıldığında 0-7, 22-37 ve 0-37. günler için gruplar arasında istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$) (Çizelge 3.5). Gruplar arasındaki değerler incelendiğinde en iyi YDO'nun ZYE-Aljinat/Kitosan grubunda olduğu, sadece zeytin yaprağı ekstraktı verilen grup ile kontrol grupları arasında belirgin bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak Shafey ve arkadaşları (2013a) farklı düzeylerde zeytin yaprağı ekstraktının broyler piliçlerde, Soultos ve arkadaşları (2009) tavşanlarda YDO'yu etkilemediğini belirtmiştir.

Enkapsülasyon işleminin biyoyararlanımı arttırdığı, enkapsüle edilen ürünün hedeflenen organa kadar gastrointestinal sistemin zararlı etkilerinden korunmasına yardımcı olduğu bildirilmiştir (Mourtzinou ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2015). Çalışma sonucumuza benzer şekilde, Haafez ve arkadaşları (2015) enkapsüle edilen fitojenik yem katkı maddelerinin toz formuna göre YDO'yu olumlu yönde etkilediği ifade edilmiştir.

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

Çalışma sonucunda gruptan seçilen hayvanlar kesilerek kesim ağırlığı, karkas ağırlığı, kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, kloaka yağı, bezli mide ve taşlık ağırlıkları ölçülmüş, karkas randımanı ve organların canlı ağırlığa oranları hesaplanmıştır (Çizelge 3.6). Gruplar arasında kesim ağırlığı, karkas ağırlığı, bezli mide ağırlığı ile bezli midenin canlı ağırlığa oranı istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Ortalama karkas ağırlıkları açısından çalışmamız sonuçları Nwogwugwu ve arkadaşlarının (2016) rasyonlarına *Vernonia amygdalina* ekstraktı ilave edilen broyler piliçlerde gerçekleştirdiği çalışma ile uyumluluk göstermektedir. Bununla birlikte, zeytin yaprağı ekstraktının etlik piliçlerde (Shafey ve ark., 2013a) ve bıldırcınlarda (Bahşi ve ark., 2016) karkas değerleri ve randımanına herhangi bir etkisinin tespit edilemediği çalışmalar da mevcuttur.

4.1.4. İnce Bağırsak ve But, Göğüs Eti pH değerleri

Çalışmamıza ait ince bağırsak pH değerleri Çizelge 3.7'de yer almakta olup gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. 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 ve üstü pH değerlerinde patojen bakterilerin popülasyonu artmaktadır (Rahmani ve ark., 2005). Çalışma sonuçlarımız deneme gruplarının sağlıklı bağırsak pH'larına sahip olduğunu göstermektedir.

Hayvanlardan elde edilen et ve et ürünlerinin muhafazasında en önemli faktörlerden birisi olarak pH değeri kabul edilmektedir (Ahmed ve ark., 2015). Deneme sonucu kesilen hayvanlardan alınan göğüs ve but etlerinin pH değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Çizelge 3.8). Bulgularımıza paralel olarak Paiva-Martins ve arkadaşları (2009) domuz rasyonlarına ilave edilen zeytin yaprağının et pH değerleri üzerinde etkisi olmadığını bildirmiştir.

4.1.5. Kan Serumunda Bazı Biyokimyasal Parametreler

Kaplanmış veya toz olarak verilmiş zeytin yaprağı ekstraktının etlik piliç rasyonlarına eklenmesinin, kan serumunda ALT, ALP, AST, HDL, LDL, total kolesterol, trigliserit, toplam protein ve etkisi Çizelge 3.10'da yer almaktadır. Çalışma sonucunda LDL haricinde tespit edilen değerlerde gruplar arasında istatistiki olarak fark bulunamamıştır. LDL açısından ise gruplar arası fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P<0,05$).

Çalışma sonucunda, aljinat/kitosan ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktının en düşük LDL değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktında bulunan oleuropein ve diğer polifenoller gerek serbest radikallerin düşük yoğunluklu lipoproteinler ve yüksek yoğunluklu lipoproteinler ile oksidasyon gerçekleştirmesini önleyerek gerekse hiperkolesterolemiyi önleme yetileri sayesinde metabolizmada lipid metabolizması üzerine etki göstermektedir. Çalışma sonuçlarımız yem katkı maddesi olarak zeytin yaprağı ekstraktı kullanılan ratlarda (Jemai ve ark., 2008) ve bildircinlarda (Sarıca ve Toptas, 2014) yapılan denemeler ile uyumluluk göstermektedir. Enkapsüle edilmiş zeytin yaprağı ekstraktı toz olarak verilen zeytin yaprağı ekstraktına göre daha düşük LDL seviyesine sahip olmasının daha yüksek biyoyararlanım göstermesi olduğu düşünülmektedir. Andreadou ve ark. (2006), hiperkolesterolemik tavşanların karma yemine 10 veya 20 mg/kg düzeyinde oleuropein ilavesinin plazma toplam kolesterol ve trigliserid düzeyini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir.

Polifenol bileşikler yangı önleyici ve anti-mikrobiyal etkileri ile de bilinmektedir (Omar, 2010b). Çalışma sonucunda gruplar arasında IgG değerleri istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır. Parsaei ve arkadaşları (2014) etlik piliçlerde zeytin yaprağının humoral immün yanıtı etkisini incelediği çalışmada, %0,5; %0,75 ve %1 oranında ilave edilen zeytin yaprağının IgY seviyesini kontrole göre olumlu etkilediği, IgM ve toplam Ig seviyelerine zeytin yaprağının etkisi olmadığını bildirmiştir.

4.1.6. Göğüs Etinde MDA Değerleri

Etin raf ömrüne etki eden en önemli faktör içerdiği lipidlerin acılaşmasıdır. Deneme sonunda göğüs etinde tespit edilen MDA değerleri Çizelge 3.14'de verilmektedir. MDA değerleri açısından gruplar arasındaki istatistiki farklar önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Andreadou ve ark. (2006), Fki ve ark. (2005), Hayes ve ark. (2009) zeytin yaprağı ekstraktında bulunan oleuropein ilavesinin etin lipid oksidasyonunu önemli düzeyde azalttığını bildiren sonuçlarla uyumlu bulunmamıştır. Lipid peroksidasyon doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu şekillenmekte olup, yan ürün olarak MDA'lar ortaya çıkmaktadır (Del Rio ve ark., 2005; Grotto ve ark., 2009). Çetin ve ark. (2017) biberiye uçucu yağının bıldırcın rasyonlarında kullanıldığı çalışmada göğüs eti MDA değerleriyle benzer bulunmuştur.

4.1.7. Dışkı, Altlık Örneklerinde Kuru Madde ve Amonyak Düzeyleri

Çalışmamıza ait dışkı, altlık kuru madde ve dışkı, altlık amonyak azotu düzeyleri Çizelge 3.14'de yer almakta olup gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. ZYE ve AK-ZYE gruplarında kuru madde miktarı kontrol grubuna göre bir miktar yüksek bulunmuştur.

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 atlığın nemi ve mikrobiyal yükü, hayvan sağlığı, performans ve karkas kalitesi üzerine etkilidir.

4.2. İnvitro çalışmalar

Fenolik bileşikler zeytin ağaçlarının tanımlanmasında ve karakterizasyonunda kullanılan en önemli kimyasal parametrelerdendir. Toplam fenolik madde içeriği hasat zamanı ve yeri, hasat şekli, ve zeytin çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Fenolik maddeler hem yağın biyolojik özelliklerini, hem dayanıklılığını hem de lezzetini etkilemektedir. Oleuropein gibi bazı özel fenoller renk, tat ve lezzet gibi bazı özellikleri etkilemektedir (Turan, 2005). Fenolik bileşiklerden, oleuropein genetik faktörler, hasat zamanı, renk ve yaş gibi pek çok faktörden önemli oranda etkilendiği bildirilmiştir (Ranalli ve ark., 2006).

Fenoller biyotik ve abiyotik stres faktörlerine cevapta rol oynayan bileşiklerdir (Ruiz ve ark., 2001). Birçok araştırmacı, fenolik bileşik sentez ve birikiminin biyotik ve abiyotik faktörlere bağlı olarak uyarılabileceğini bildirmişlerdir. Ancak, farklı tür ve genotipler üzerinde yapılan çalışmalarda da artan stres faktörleri ile toplam fenolik madde içeriğinde azalmalar olabileceği de saptanmıştır (Naczka ve ark., 2004).

Denemede kullanılan zeytin yaprağı ekstraktının toplam fenolik madde miktarı 227 g/kg, oleuropein miktarı ise 114 g/kg olarak bulunmuştur (Çizelge 3.15). Oleuropein düzeyini Erener ve ark. (2009), 112,98 mg/g, Özdamar (2014), toplam fenolik bileşik içeriğini 260 mg/g, Atılgan (2012) toplam fenolik bileşik içeriğini 196 mg/g, oleuropein miktarının 97 mg/g olduğunu belirlemişlerdir. Kullandığımız zeytin yaprağının Türkiye de yapılan çalışma sonuçlarıyla benzer olduğu gözlenmektedir. Fransa, Yunanistan ve İspanyada yapılan çalışmalarda farklı çözücülerin kullanıldığı araştırmalarda zeytin yapraklarında oleuropein düzeyi 0,2-37,7 mg/g aralığında bulunmuştur (Savournin ve ark., 2001; Agalias ve ark., 2005; Japon-Lujan ve ark., 2006).

Aljinat ve kitosan ile zeytin yaprağı ekstraktının, enkapsül hazırlama verimi %100 olarak bulunmuştur. (Çizelge 3.16).

Yükleme kapasitesi denklem 2.2.3.2'deki hesaplamayla, zeytin yaprağı ekstraktının fenolik bileşenlerinin aljinat-kitosan tarafından ne kadarının kapsüle edildiğini göstermektedir. Enkapsüllerin yükleme kapasitesi %53,28 olarak tespit edilmiştir.

Bağlanma oranı gösteren enkapsülasyon verimliliğinde, denklem 2.2.3.3'deki hesaplamayla zeytin yaprağı ekstraktlarındaki fenolik bileşenlerin aljinat-kitosan tarafından ne kadarının kapsüle edildiğini ve yüzeyinde tutundurduğunu göstermektedir. Yüklemeye verimliliği %90,06 olarak bulunmuştur. Enkapsülasyonda yüklemeye verimliliğine ilişkin bulgularımız zeytin yaprağı (Chinoti ve ark., 2016), ve zeytin yaprağı ekstraktı (Bal, 2014) ile yapılan çalışmalarla uyumlu 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 (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 biyoulaşabilirliği/ biyoyararlılığı yüksek ürünler elde edilmesi istenmektedir. Belirtilen koşullar göz önüne alınarak aljinat-kitosanla kaplanan zeytin yaprağı ekstraktından salınan fenolik bileşiklerin proventrikulusta %10,35, taşlı midede 23,75, duodenumda %34,72, ince bağırsakta %52,95 olduğu tespit edilmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktının kanatlılarda in vitro salınımıyla ilgili daha önce yapılan yeterli çalışma olmadığından bu konuda daha detaylı çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Etlik piliç rasyonlarına aljinat ve kitosan ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin performans değerlerine, karkas randımanı, bazı kan parametreleri üzerinde olumlu etkileri olduğu görülmüştür. Deneme sonunda aljinat ve kitosan ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen grubun, kontrol ve kaplanmamış zeytin yaprağı ilave edilen gruplardan daha iyi canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem tüketimi ve yem dönüşüm oranı, Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü (EPEF) ve yaşam gücüne sahip olduğu tespit edilmiştir.

Araştırma sonucunda karkas ağırlığı ve randımanları incelendiğinde aljinat ve kitosan ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen grubun daha yüksek değere olduğu görülmektedir. Gruplarda bezli mide hariç ($p<0.05$), diğer iç organ ağırlıkları ve bunların 100 g canlı ağırlığa oranları açısından istatistik bakımdan önemli bir farklılık görülmemiştir ($P>0,05$). Deneme gruplarında duodenum, jejunum, ileum pH'ları bakımından bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Grupların kan serumunda ortalama ALT, ALP, AST, HDL, total kolesterol, trigliserid, toplam protein ve IgG değerleri istatistik bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Aljinat ve kitosan ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı ilavesinin, LDL değeri, kontrol ve kaplanmamış zeytin yaprağı ekstraktı ilave edilen gruba göre istatistik bakımdan önemli düzeyde düşük bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuç olarak çalışmada kullanılan Aljinat ve kitosan ıla kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı performans, LDL düzeyi, karkas ağırlığı açısından en etkili sonucu verdiği daha etkili olduğu görülmüştür.

Deneme gruplarına zeytin yaprağı ekstraktı ve aljinat-kitosan ile kaplanmasının, ortalama but eti ve göğüs eti pH'ları, tibia eni, boyu, ağırlığı ile femur eni, boyu, ağırlığı açısından önemli bir etkisi bulunmamıştır.

Gruplar arasında göğüs eti MDA değerleri bakımında istatistik anlamda önemli bir farklılık olmamasına karşın, aljinat ve kitosanla kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı tüketen gruplarda daha düşük bulunmuştur.

Deneme sonunda gruplarda dışkı, altlık kuru maddesi ve dışkı, altlık amonyak azotu düzeyleri bakımından önemli bir farklılık gözlenmemiştir.

Araştırma sonuçları bütün olarak değerlendirildiğinde kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktının broyler rasyonlara ilave edilmesinin performans üzerine olumlu etkileri gözlenmiştir.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda oleuropeinin farklı dozlarında denenmesi yararlı olacaktır. Ayrıca ince bağırsak mikrobiyolojisinde incelenmesi performans üzerine olumlu etkilerin ortaya koyulmasına ışık tutacağına inanmaktayız.

Şimdiye kadar enkapsülasyonu yapılan bitki ekstraktlarının invitro çalışmaları kanatlılar için yeterli değildir. Bundan sonra invivo ve invitro çalışmaların beraber yapılarak, denemeler arasındaki ilişkiler tespit edilebilir. Böylece daha hızlı laboratuvar denemeleri yapılarak bitki ekstraktlarının alternatif katkı maddeleri olarak kullanılabilirliği ortaya koyulabilir.

ÖZET

Aljinat ve Kitosan ile Kaplanan Zeytin Yaprağı Ekstraktının Broylerde Performans, Antioksidan Kapasite Üzerine Etkisinin Araştırılması

Bu araştırma; broyler rasyonlarına ilave edilen zeytin yaprağı ekstraktı ve aljinat-kitosan ile kaplanan zeytin yaprağı ekstraktının 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, toplam protein, IgG), göğüs ve but eti pH değerleri, göğüs eti MDA düzeyi, bağırsak pH'sı, tibia ve femur en, boy, ağırlıkları ile altlık ve dışkı kuru madde düzeyine etkisini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Zeytin yaprağı ekstraktı (%1,5) en uygun kapsüllenmenin sağlandığı aljinat (%1) ile enkapsülasyonu yapıldıktan sonra, kitosanla (%1) ikinci defa kaplanması sağlanmıştır. Kurutma işleminden sonra elde edilen aljinat ve kitosanla kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı broyler rasyonlarında kullanılmıştır. Aljinat ve kitosanla enkapsüle edilen zeytin yaprağı ekstraktlarını in vitro sindirim/biyoyararlılık analizi gerçekleştirildi.

Broylere besleme çalışmasında, 1 günlük 105 adet erkek etlik civciv kullanılmış ve çalışma 37 gün sürmüştür. Her biri 35 civcivden oluşan 3 grup düzenlenmiş, her bir grup 7 civcivden oluşan 5 alt gruba ayrılmıştır. Gruplar 1 kontrol ve 2 deneme grubu olacak şekilde oluşturulmuştur. Kontrol grubuna herhangi bir ilave yapılmamıştır. İlk deneme grubuna 125 mg/kg oleuropein içerecek düzeyde zeytin yaprağı ekstraktı (ZYE), 2.deneme grubu rasyonuna aynı düzeyde aljinat ve kitosan ile kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktı (AK-ZYE) ilave edilmiştir.

Çalışma sonunda AK-ZYE içeren grupta canlı ağırlık, canlı ağırlık artışı, yem dönüşüm oranı, Avrupa Üretim Etkinlik Faktörü üzerine etkileri kontrol ve ZYE gruplarına göre istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Yem tüketimi, yaşama gücü açısından gruplar arasında istatistik açıdan önemli farklılıklar göstermezken AK-ZYE grubunda rakamsal olarak olumlu sonuçlar ortaya koymuştur ($P>0,05$). Karkas randımanı, kalp, dalak, karaciğer, bursa Fabricius, abdominal yağ, taşlı mide ağırlıkları ve bunların canlı ağırlığa oranları açısından kontrol grubu ile ZYE ve AK-ZYE ilave edilen gruplar arasında istatistik anlamda farklılık tespit edilmemiştir ($P>0,05$). Organ ağırlıkları içerisinde sadece bezli mide ağırlığı ve canlı ağırlığa oranlarında ZYE ve AK-ZYE ilave edilen gruplarda, kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($P<0,05$) incelendiğinde diğer gruplarla Aljinat ve Kitosan ile Zeytin yaprağı ekstrakt grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur. Deneme sonunda gruplarda ortalama duodenum, jejunum, ileum, but eti, göğüs eti pH'sı, tibia ve femurun en, boy, ağırlıkları, göğüs eti MDA, dışkı ve altlık kuru maddesi, dışkı ve altlık amonyak azotu, kan serumu ALT, ALP, AST, HDL, LDL, total kolesterol ve IgG değerleri istatistik bakımdan önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Kan serumu LDL düzeyinin gruplar arasında istatistik bakımdan önemli olduğu gözlemlenmiş olup, AK-ZYE grubunda, kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Sonuç olarak tarafımızdan ilk kez aljinat ve kitosan ile kaplanan zeytin yaprağı ekstraktının içerdiği fenolik bileşiklerden oleuropeinin enkapsülasyon yöntemiyle korunması gerçekleştirilmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktının enkapsülasyonu yoluyla elde edilen ürünün broyler rasyonlarda kullanılması özellikle performans, kan parametrelerinden LDL düzeyi üzerine istatistik olarak önemli yönde iyileşmelere neden olmuştur. Bu önemli etkilere neden olan kaplanmış zeytin yaprağı ekstraktında bulunan oleuropeinin, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri açısından farklı koşullarda yapılacak çalışmalar sayesinde irdelenmesinin faydalı olacağı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Aljinat, Broylere, Enkapsülasyon, Kitosan, Performans. Zeytin Yaprağı Ekstraktı,

SUMMARY

Determining the Effect of Olive Leaves Extracts, Chitosan and Alginate Encapsulation on Performance, Some Blood Parameters and Antioxidant Activity in Broiler Diets

This study was conducted to determine the effects of olive leaves extracts and chitosan and alginate coated olive leaves coated extracts added to broiler diets on performance (body weight, body weight gain, feed intake, feed conversion ratio, European Production Efficiency Factor-EPEF,) carcass characteristics, some internal organ weights (heart, liver, spleen, bursa of Fabricius, gizzard, proventriculus and abdominal fat), some biochemical values in blood serum (ALT, ALP, AST, total cholesterol, LDL and HDL triglyceride), breast and thigh pH values, breast meat MDA level, intestinal pH, tibia and femur width, height, weights, litter and feces dry matter and ammonia levels.

The olive leaf extract (1.5%) was encapsulated with the alginate (1%) which provided the most appropriate encapsulation, followed by a second coating with chitosan (1%). Alginate and chitosan coated olive leaf extract obtained after drying process were used in broiler rations. In vitro digestion / bioavailability analysis of olive leaf extracts encapsulated with alginate and chitosan was performed.

In the broiler feeding study, 105 male broiler chicks were used for 1 day and the study lasted 37 days. Three groups, each consisting of 35 chicks, were arranged, and each group was divided into 5 subgroups consisting of 7 chicks. The groups were formed as 1 control and 2 experimental groups. No additions were made to the control group. Olive leaf extract (ZYE) containing 125 mg / kg oleuropein was added to the first experimental group and olive leaf extract (AK-ZYE) coated with alginate and chitosan at the same level for the second experiment group ration.

At the end of the study, the effects on live weight, live weight gain, feed conversion ratio, European Production Efficiency Factor were found to be statistically significant ($P < 0,05$) in control group and ZYE group. While there was no statistically significant difference between the groups in terms of feed consumption and survival, the AK-ZYE group showed positive results ($P > 0,05$). There were no statistically significant differences between control group and ZYE and AK-ZYE added groups ($P > 0,05$) in terms of carcass yield, heart, spleen, liver, bursa Fabricius, abdominal fat, proventriculus weights and their live weight ratios. A statistically significant difference ($P < 0,05$) was found between organ weights and ZYE and AK-ZYE groups only when compared with the control group in the groups with only proventriculus weight and live weight ratio and there was significant difference between the Alginate and Chitosan to olive leaf extract groups. Difference was found. At the end of the experiment, the mean values of duodenum, jejunum, ileum, thigh meat, breast meat pH, tibia and femur width, height, weight, breast meat MDA, feces and litter dry matter, feces and litter ammonia nitrogen, blood serum ALT, ALP, AST, HDL, LDL, total cholesterol and IgG values were found statistically insignificant ($P > 0.05$). Blood serum LDL levels were statistically significant among the groups and it was found that the AK-ZYE group was statistically significantly lower than the control group ($P < 0,05$).

As a result we have been able to protect oleuropein from encapsulation of phenolic compounds in olive leaf extract which is coated with alginate and chitosan for the first time. The use of broiler rations in the product obtained by encapsulation of the olive leaf extract has resulted in statistically significant improvements in performance, particularly in terms of blood levels of LDL. It has been concluded that oleuropein in the coated olive leaf extract, which causes these significant effects, would be useful to examine with antioxidant and antimicrobial properties in different conditions.

Keywords: Alginate, Broiler, Chitosan, Encapsulation, Olive Leaves Extracts, Performance.

KAYNAKLAR

- 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.
- ACOSTA N, SÁNCHEZ E, CALDERÓN L, CORDOBA-DIAZ M, CORDOBA-DIAZ D, DOM S, HERAS A (2015). Physical stability studies of semi-solid formulations from natural compounds loaded with chitosan microspheres. *Mar Drugs*, **13**: 5901-5919; doi:10.3390/md13095901.
- AGALIAS A, MELLIOU E, MAGIATIS P, MITAKU S, GIKAS E, TSARBOPOULOS A (2005). Quantitation of oleuropein and related metabolites in decoctions of *Olea europaea* leaves from ten Greek cultivated varieties by HPLC with diode array detection (HPLC-DAD). *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, **28**: 1557-1571.
- 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.
- AKGÜL A (1989). Baharatların antioksidan özellikleri. *Doğa-TR. J. of Agriculture and Forestry*, **13**: 11-24.
- AKGÜL A, AYAR A (1993). Yerli baharatların antioksidan etkileri. *Doğa-TR. J. of Agriculture and Forestry*, **17**: 1061-1068.
- AL-AZZAWIE HF, ALHAMDANI MS (2006). Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in Iloxan-diabetic rabbits. *Life Sci*, **78**: 1371-1377.
- ALÇİÇEK E, ÖTLEŞ S (2011). Ulusal Zeytin Kongresi. Zeytin Ağacı Ürünleri ve Sağlık, **163**.
- ALTINYAY C, ALTUN ML (2006). HPLC analysis of oleuropein in *Olea europaea* L. *J Fac Pharm*, **35**: 1-11.
- ANBINDER PS, DELADINO L, NAVARRO AS, AMALVY JL, MARTINO MN (2011). Yerba mate extract encapsulation with alginate and chitosan systems: Interactions between active compound encapsulation polymers. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, **1**: 80-87. doi:10.4236/jeas.2011.14011.
- ANDREADOU I, ILIODROMITIS EK, MIKROS E, CONSTANTINO M, AGALIAS A, MAGIATIS P, SKALTSOUNIS AL, KAMBER E, TSANTILI-KAKOULIDOU A, KREMASTINOS DT (2006): The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr*, **136**: 2213-2219
- 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.

- ANONİM (2002). Et ve et Ürünleri-pH ölçülmesi- Referans Yöntem, TS 3136/Aralık, TSE, Ankara
- ANONİM (2008). Natural Products from Olive Tree (*Olea europaea*) Byproducts. InsolEx project, Bi 4th Annual Meeting, December 2008, London, UK.
- ANONİM (2017a). Zeytinağacı ve zeytin. Erişim Adresi: [http://www.yaklasansaat.com/dunyamiz/canlila_zeytin.asp]. Erişim tarihi:05.01.2017.
- ANONİM (2017b). Olive leaf. Erişim Adresi: [<https://www.drugs.com/npp/olive-leaf.html>] . Erişim Tarihi: 30.01.2017.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17th Ed., AOAC International, Maryland, USA.
- ANSARI M, KAZEMIPOUR M, FATHI S (2011). Development of a simple green extraction procedure and HPLC method for determination of oleuropein in olive leaf extract applied to a multi-source comparative study. *J Iran Chem, Soc*, **8**: 38–47.
- ATILGAN D (2012). Etlik Piliç Karma Yemlerine Doğal Antimikrobiyal Olarak Üzüm çekirdeği, Zeytin Yaprağı ve Nar Kabuğu Ekstraktları İlavasının Besi Performansı, Serum ve Bağırsak Parametreleri Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- ASLI D, NECDET S (2009). Kitin ve kitosanın genel kullanım alanları. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, **2**: 94.
- BAHŞI M, CİFTÇİ M, ŞİMŞEK ÜG, AZMAN MA, OZDEMİR G, YILMAZ Ö, DALKILIÇ B (2016). Effects of olive leaf extract (oleuropein) on performance, fatty acid levels of breast muscle and some blood parameters in japanese quail (*Coturnix coturnix Japonica*) reared in different stocking densities. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **63(1)**: 61-68.
- BANDONIENE D, VENSKUTONIS PR, GRUZDIENE D, MURKOVIC M (2002). Antioxidative activity of sage (*Salvina officinalis* L.) savory (*Satureja hortensis* L.) and borage (*Borage officinalis* L.) extracts in rapeseed oil. *Eur J Lipid Sci Technol*, **104**: 286- 292.
- BAL Y (2014). Synthesizing Of Olive Leaf Extract Loaded Calcium Alginate Chitosan Microcapsules And Investigation Of Their Anticancer Activity On Cancer Cells. Engineering And Sciences of Izmir Institute Of Technology. Master Thesis.
- BARBARO B, TOIETTA G, MAGGIO R, ARCIELLO M, TAROCCHI M, GALLI A, BALSANO C (2014). Effects of the olive-derived polyphenol oleuropein on human health. *International Journal of Molecular Sciences*, **15**: 18508-18524.
- BASMACIOGLU-MALAYOGLU H, AKTAS B (2011). Zeytinyağı işleme yan ürünlerinden zeytin yaprağı ile zeytin karasuyunun antimikrobiyal ve antioksidan etkileri. *Hayvansal Üretim*, **52(1)**: 49-58.
- BELŠČAK-CVİTANOVIĆ A, STOJANOVIĆ R, MANOJLOVIĆ V, KOMES D, JURANOVIĆCINDRIĆ I, NEDOVIĆ V, BUGARSKİ B (2011). Encapsulation of polyphenolic antioxidants from medicinal plant extracts in alginate–chitosan system

- enhanced with ascorbic acid by electrostatic extrusion. *Food Research International*, **44(4)**: 1094-1101.
- BENAVENTE GARCIA O, CASTILLO J, LORENTE J, ORTUNO A, DEL RIO JA (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from *Olea europaea* l. Leaves. *Food Chemistry*, **68**: 457-462.
- BOTSOGLOU NA, FLOROU-PANER P, CHRISTAKI E, FLETOURIS DJ, SPAIS AB (2002). Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Br Poult Sci*, **43**: 223-230.
- BOTSOGLOU NA, GOVARIS BOTSOGLOU EN, GRIGOROPOULOU SH, PAPAGEORGIU G (2003). Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored turkey meat. *J Agric Food Chem*, **51**: 2930-2936.
- BOTSOGLOU E, GOVARIS A, CHRISTAKI E, BOTSOGLOU N (2010). Effect of dietary olive leaves tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*, **121(1)**: 17-22.
- BOUAZIZ M, FEKI I, AYADI M, JEMAI H, SAYADI S (2010). Stability of refined olive oil and olive-pomace oil added by phenolic compounds from olive leaves. *Eur J Lipid Sci Technol*, **112**: 894-905.
- BOUDHRIOUA N, BAHLOUL N, SLIMEN BI, KECHAOU N (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*, **29**: 412-419.
- CARLUCCIO MA, SICULELLA L, ANCORA MA, MASSARO M, SCODITTI E, STORELLI C, VISIOLI F, DISTANTE A, DECATERINA R (2003). Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **23**: 622-629.
- CAYAN H, ERENER G (2015). Effect of olive leaf (*Olea europaea*) powder on laying hens performance, egg quality and egg yolk cholesterol levels. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **28(4)**: 538-543.
- CETIN İ, YESILBAG D, CENGİZ SS, BELENLİ D (2017). Effects of supplementation with rosemary (*rosmarinus officinalis* l.) volatile oil on growth performance, meat mda level and selected plasma antioxidant parameters in quail diets. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, **23(2)**: 283-288.
- CHANEY AL MARBACH EP (1962). Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin Chem*, **8**: 130-132.
- CHANIOTI S, SIAMANDOURA P, TZIA C (2016). Evaluation of extracts prepared from olive oil by-products using microwave-assisted enzymatic extraction: Effect of encapsulation on the stability of final products. *Waste and Biomass Valorization*, **7(4)**: 831-842. DOI 10.1007/s12649-016-9533-1.

- CHIMI H, CILLARD J, CILLARD P, RAHMANI, M (1991). Peroxyl and Hydroxyl radical scavenging activity of some natural phenolic antioxidant. *J Am Oil Chem Soc*, **68**: 307- 312.
- CHRISTAKI EV, BONOS EM, FLOROU-PANERI PC (2011). Comparative evaluation of dietary oregano anise and olive leaves in laying japanese quails. *Revista Brasileira De Ciênciã Avícola*, **13(2)**: 97-101.
- CORONA G, TZOUNIS X, ASSUNTA DESSI M, DEIANA M, DEBNAM ES, VISIOLI F, SPENCER JP (2006). The fate of olive oil polyphenols in the gastrointestinal tract: implications of gastric and colonic microflora-dependent biotransformation. *Free Radic Res*, **40(6)**: 647-58.
- CORUHLI 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.
- DAWSON B, TRAPP RG (2001). Basic And Clinical Bioistatistics. 3rd Edn. Lange Medical Boks/Mcgnaw-Hill Medical Publishing Division, New York.
- DEL RIO D, STEWART AJ, PELLEGRINI N (2005), A review of recent studies on malondialdehyde as a toxic molecule and biological marker of oxidative stress, *NMCD*, **15**: 316-328.
- DESAI KGH, PARK HJ (2005). Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry Technol*, **23**: 1361-1394.
- ELSAAED EM, MAHGOUB ER, MEKKY HM, NAGWA SR (2014). Immune-stimulant effects of olive leaves in chickens infected with *Escherichia coli*. *Global Veterinaria*, **13(4)**: 649-655.
- EL-SAYED M, DOAA I, M. EL-SAYED B (2013). Effect of supplementation of broiler diets with guava leaves and/or olive oil on growth, meat composition, blood metabolites and immune response. *Benha Veterinary Medical Journal*, **25(2)**: 23-32.
- ERBAY Z, ICIER F(2010). The importance and potential uses of olive leaves. *Food Reviews International*, **26**: 319-334.
- ERENER G, OCAK N, OZTURK E, CANKAYA S, OZKANCA R (2009). Zeytin yaprağı ekstraktının etlik piliçlerde performans, bazı kan parametreleri ve körbağrsak mikroflorası üzerine etkileri. Tübitak, Tovag 1070820 nolu proje kesin raporu.
- FAO (2017). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Erişim Adresi: [<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.] Erişim Tarihi: 01.06.2017
- FARAG RS, EL-BAROTY GS, BASUNY AM (2003). The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant (cvs. picual and kroneki), on the stability of sunflower oil. *International Journal of Food Science and Technology*, **38**: 81-87.
- FKI I, BOUAZIZ M, SAHNOUN Z, SAYADI S (2005). Hypocholesterolemic effects of phenolic-rich extracts of chemlali olive cultivar in rat fed a cholesterol-rich diet. *J Bioorg Med Chem*, **13**: 5362-5370.

- 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.
- GIKAS E, BAZOTI FN, TSARBOPOULOS A (2007). Conformation of Oleuropein, the major bioactive compound of *Olea europea*. *J Mol Struct Theochem*, **821**: 125-132.
- GOLDSMITH CD, STATHOPOULOS CE, GOLDING JB, ROACH PD (2014). Fate of the phenolic compounds during olive oil production with the traditional press method. *Int Food Res J*, **21**: 101-109.
- GROTTO D, SANTA MARIA L, VALENTINI J, PANIZ C, SCHMITT G, GARCIA SC, (2009). Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quim Nova*, **32**: 169-174.
- GUANG WY (2002). The Effect Of Chitosan And Its Derivatives On The Dyeability Of Silk, Ph. D. Thesis, Hong Kong Polytechnic University.
- GUINDA AL, ANZON A, RIOS JJ, ALBI T (2002). The isolation and quantification of the components from olive leaf: Hexane extract. *Grasas Y Aceites*, **53**: 419-422.
- 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. *Poultry Science*, **95(3)**: 622-629.
- HAYES JE, STEPANYAN V, ALLEN P, O'GRADY MN, O'BRIEN NM, KERRY JP (2009). The effect of lutein, sesamol, ellagic acid and olive leaf extract on lipid oxidation and oxymyoglobin oxidation in bovine and porcine muscle model systems. *Meat Science*, **83**: 201-208.
- ISO (2005). International Standartards. Determination of Substances Charecterstics of Green and Black Tea. Part 1: Content of Total Polyphenols In Tea - Colorimetric Method Using Folin-Ciocalteu Reagent. Reference Number: ISO 14502-(1).
- IŞIK S (2010). Biyoteknolojik yönden önemli tıbbi bitkiler ve bitkisel ürünlerde kalitenin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi
- JAPON-LUJAN R, LUQUE-RODRIGUEZ JM, LUQUE DE CASTRO MD (2006). Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves, *Journal of Chromatography A*, **1108**: 76-82
- JAPÓN-LUJAN R, LUQUE DE CASTRO MD (2007). Small branches of olive tree: A source of biophenols complementary to olive leaves. *J Agric Food Chem*, **55**: 4584-4588.
- JEMAI H, BOUAZIZ M, FKI I, EL FEKI A, SAYADI S (2008). Hypolipidimic and antioxidant activities of oleuropein and its hydrolysis derivative-rich extracts from chemlali olive leaves. *Chemico-Biological Interactions*, **176(2)**: 88-98.
- JOZEFIAK D, SIP A, RAWSKI M, STEINER T, RUTKOWSKI A (2011). The dose response effects of liquid and lyophilized carnobacterium divergens as7 bacteriocin on the

- nutrient retention and performance of broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences*, **20(3)**: 401-412.
- KANAKIS P, TERMENTZI A, MICHEL T, GIKAS E, HALABALAKI M, SKALTSOUNIS AL (2013). From olive drupes to olive oil. An HPLC-orbitrap-based qualitative and quantitative exploration of olive key metabolites. *Planta Med*, **79**: 1576-1587.
- KESER O, BILAL T (2010). Zeytin sanayi yan ürünlerinin hayvan beslemede kullanımı. *Hayvansal Üretim Dergisi*, **51(1)**: 64-72.
- KOSARAJU SL, D'ATH L, LAWRENCE A (2006). Preparation and characterisation of chitosan microspheres for antioxidant delivery. *Carbohydrate Polymers*, **64**: 163-167.
- LAFKA TI, LAZOU AE, SINANOGLU VJ, LAZOS ES (2013). Phenolic extracts from wild olive leaves and their potential as edible oils antioxidants. *Foods*, **2**: 18-31.
- LE TUTOUR B, GUEDON D (1992). Antioxidative activities of olea europea leaves and related phenolic compounds. *Phytochemistry*, **31**: 1173-1178.
- LEE PS, YIM SG, CHOI Y, VAN ANH HA T, KO S (2012). Physicochemical properties and prolonged release behaviours of chitosan-denatured lactoglobulin microcapsules for potential food applications. *Food Chemistry*, **134**: 992-998.
- LIPPENS M, HUYGHEBAERT G, SCICUTELLA S (2006). The efficacy of microencapsulated, gastro-resistant blends of essential oils and/or organic acids in broiler diets. *European Poultry Conference*, 10-14 September 2006, Verona, Italy.
- LUQUE DE CASTRO MD, JAPON LUJAN R (2006). State-of-the-art and trends in the analysis of oleuropein and derivatives. *Trends in Analytical Chemistry*, **25(5)**: 501-510.
- MADENE A, JACQUOT M, SCHER J, DESOBRY S (2006). Flavour encapsulation and controlled release. *Int. J Food Sc. Tech*, **(41)**: 1-21.
- MAKRIS D, BOSKOUB G, ANDRIKOPOULOS NK (2007). Polyphenolic content and in vitro antioxidant characteristics of wine industry and other agri-food solid waste extracts. *J Food Compost Anal*, **20**: 125-132.
- MALIK NSA, BRADFORD JM (2006). Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in "Arbequina" olives. *Sci Hort*, **110**: 274-278.
- MARKIN D, DUEK L, BERDICEVSKY I (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses*, **46**: 132-136.
- MARSILLO V, LANZA B (1998). Characterisation of an oleuropein degrading strain of lactobacillus plantarum combined effects of compounds present in olive fermenting brines (phenols, glucose and NaCl) on bacterial activity. *J Sci Food Agric*, **76**: 520-524.
- MARKIN D, DUEK L, BERDICEVSKY I (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses*, **46(3-4)**: 132-136.

- MARTIN GARCIA AI, MOUMEN A, YANEZ-RUIZ DR, MOLINA-ALCAIDE E (2003). Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two stage olive cake and olive leaves. *Anim Feed Sci Technol*, **107**: 61-74.
- MARTIN GARCIA AI, YANEZ-RUIZ DR, MOUMEN A, MOLINA ALCAIDE E (2006). effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var. *Europaea*) leaf fermentation in continuous fermentors. *Small Ruminant Research*, **61**: 53-61.
- MICOL V, CATURLA N, PEREZ-FONS L, MAS V, PEREZ L, ESTEPA A. (2005). The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antivir. Res.* **66**: 129-136.
- MIRO-CASAS E, COVAS MI, FARRE M, FITO M, ORTUÑO J, WEINBRENNER T, ROSET P, de la TORRE R. (2003). Hydroxytyrosol disposition in humans. *Clin Chem*, **49(6 Pt 1)**: 945-952.
- 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.
- MOLINA-ALCAIDE E, YANEZ-RUIZ D, MOUMEN A, MARTIN-GARCIA I. (2003). Chemical composition and nitrogen availability for goats and sheep of some olive by-products. *Small Rum Res*, **49**: 329-336.
- MOLINA-ALCAIDE E, YANEZ-RUIZ DR (2008). Potential use of olive by-products in ruminant feeding. *Anim Feed Sci Technol*, **147**: 247-264.
- MOURTZINOS I, SALTA F, YANNAKOPOULOU K, CHIOU A, KARATHANOS V T (2007). Encapsulation of olive leaf extract in β -cyclodextrin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55(20)**: 8088-8094.
- NACZK M, SHAHIDI F (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054(1-2)**: 95-111.
- NATSIR MH, HARTUTIK, SJOFJAN O, WIDODO E. (2013). Effect of either powder or encapsulated form of garlic and *Phyllanthus niruri* L. mixture on broiler performances, intestinal characteristics and intestinal microflora. *International Journal of Poultry Science*, **12 (11)**: 676-680.
- NWOGWUGWU CP, PETRUS NE, ETHELBERT OC, LYNDIA OC (2016). Effect of *Vernonia Amygdalina* (Bitter Leaf) extract on growth performance, carcass quality and economics of production of broiler chickens. *International Journal of Agriculture and Earth Science*, **2(1)**: 58-65.
- OMAR SH (2010a). Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Sci Pharm*, **78**: 133-154.
- OMAR SH (2010b). Cardioprotective and neuroprotective roles of oleuropein in olive. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **18**: 111-121.

- ORTEGA-GARCIA F, PERAGÓN J (2010). HPLC analysis of oleuropein, hydroxytyrosol, and tyrosol in stems and roots of *Olea europaea* L. cv. Picual during ripening. *J Sci Food Agric*, **90**: 2295-2300.
- OWEN RW, GIACOSA A, HULL WE, HAUBNER R, WÜRTELE G, SPIEGELHALDER B, BARTSCH H (2000). Olive oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet. Oncol.* **21**: 107-112.
- ÖZDAMAR B (2014). Immobilization of olive leaf extract on chitosan nanoparticles and investigation of their effects on cancer cell lines. İzmir Institute of Technology. Master Thesis.
- ÖZDEMİR A, AZMAN M A (2013). Bildircin karma yemlerine zeytin yaprağı özütü katılmasının verim performansı üzerine etkileri. *F Ü Sağ Bil Vet Derg*, **7(3)**: 141-147.
- ÖZDEMİR BA, ÖZDEMİR Y (2011). Sofralık Zeytin ve Zeytin Yağının Sahip Olduğu Bileşenlerin İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, Ulusal Zeytin Kongresi, Akhisar/Manisa.
- PAIVA MARTINS F, BARBOSA S, PINHEIRO V, MOURAO JL, OUTOR MONTEIRO D (2009). The effect of olive leaves supplementation on the feed digestibility, growth performances of pigs and quality of pork meat. *Meat Science*, **82(4)**: 438-443.
- PARSAEI S, AMINI Z, HOUSHMAND M (2014). Effects of olive leaf on blood metabolites and humoral immunity response of broiler chickens. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, **2(3)**: 741-751.
- PERRI E, RAFFAELLI A, SINDONA G (1999). Quantitation of oleuropein in virgin olive oil by ionspray mass spectrometry-selected reaction monitoring. *J Agric Food Chem*, **47**: 4156-4160.
- PIRGUN, Y (2007). Hatay'da Yetiştirilen Gemlik Hahalı Zeytinlerinin Antioksidan Etkilerinin Belirlenmesi Yüksek Lisans Tezi, Adana Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- RAHMANI HR, SPEER W, MODIRSANEI M (2005). The effect Of Intestinal Ph on Broiler 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).
- RANALLI A,CONTENTO S, LUCERA L, FEBO M, ARCHEGIANI D, FONZO V (2006). Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54(2)**: 434-440.
- ROSS 308 (2016). Broiler Objectives. Erişim Adresi: [http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-308-Broiler-PO-2014-EN.pdf]. Erişim tarihi 10.06.2016.
- RUIZ GUTIERREZ V, MURIANA FJ, GMAESTRO R, GRACIANI E (1995). Oleuropein on lipid and fatty acid composition of rat. *Heart*, **15(1)**: 37-51.
- 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.

- SAENZ C, TAPIA S, CHAVEZ J, ROBERT P (2009). Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chem*, **114**: 616-622.
- SANCHEZ JC, ALSINA MA, HERRLEIN MK, MESTRES C (2007). Interaction between the antibacterial compound, oleuropein, and model membranes. *Colloid Polym. Sci.* **285**: 1351–1360.
- SANTOS DT, MEIRELES MA (2010). Carotenoid pigments encapsulation: fundamentals, techniques and recent trends. *Open Chemical Engineering Journal*, **4(1)**: 42-50.
- SANTOS DT, ALBARELLI JQ, BEPPU MM, MEIRELES MA (2013). Stabilization of anthocyanin extract from jabuticaba skins by encapsulation using supercritical CO₂ as solvent. *Food Research International* **50**: 617–624
- SARI I (2016). Oil-Kutsal Yiyecek Zeytin: İnsanlık Tarihinin En Kutsal Yiyeceği. Net Medya Yayıncılık. NoktaE-Publishing, Antalya, Türkiye.
- SARICA S, TOPTAS S (2014). Effects of dietary oleuropein supplementation on growth performance, serum lipid concentrations and lipid oxidation of japanese quails. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **98(6)**: 1176-1186.
- SARICA S, OZDEMIR D, OZTURK H (2015). The effects of dietary oleuropein and organic selenium supplementation on performance and heat shock protein 70 response of brain in heat-stressed quail. *Italian Journal of Animal Science*, **14(2)**: 226-232.
- SAVOURNIN C, BAGHDIKIAN B, ELIAS R, DARGOURH, KESRAOUI F, BOUKEF K, BALANSARD G (2001). Rapid high performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in *Oleo europaea* leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**: 618-621
- SHAFEY TM, AL-MUFARIJ SI, ALBATSHAN HA (2013a). Effect of feeding olive leaves on the performance, intestinal and carcass characteristics of broiler chickens. *International Journal of Agriculture and Biology*, **15**: 585-589.
- SHAFEY TM, AL-RUQAEI IM, ALMUFARIJ SI (2013b). Effect of feeding olive leaves extract (oleuropein) on the performance nutrient utilization small intestine and carcass characteristics of broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **12(6)**: 740-746.
- SILVA S, GOMES L, LEITAO F, COELHO AV, BOAS LV (2006). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea europaea* l. fruits and leaves. *Food Sci and Tech International*, **12(5)**: 385-396.
- SOLER-RIVAS C, ESPIN JC AND WICHERS HJ (2000). Oleuropein and related compounds. *J Sci Food Agric*, **80**: 1013-1023.
- SOULTOS N, TZIKAS Z, CHRISTAKI E, PAPAGEORGIOU K, STERIS V (2009). The effect of dietary oregano essential oil on microbial growth of rabbit carcasses during refrigerated storage. *Meat Science*, **81(3)**: 474-478.

- STEINER T, MANNER K, ZENTEK J (2014). Phytogenic Feed Additives Improve Digestibility and Growth Performance In Broilers. In 13 Boku-Symposium Tierernährung.
- STIPLER 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 pharmacopeia with respect to their use in vitro dissolution testing. *Dissolution Technologies*, dx.doi.org/10.14227/DT110204P6.
- SVIHUS, B (2014). Function of the digestive system. *Appl Poult Res*, **23**: 306–314.
- TARLADGIS BG, WATTS BM, YOUNATHAN MT, DUGAN I (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *J Am Oil Chem Soc*, **37**: 44-48.
- TAYOUB G, SULAIMAN H, HASSAN AH, ALORFI M. (2012). Determination of oleuropein in leaves and fruits of some Syrian olive varieties. *Int. J. Med. Arom. Plants* **2**: 428-433.
- TOPTAS S (2010). Etlik Bildircin Karma Yemlerine, Doğal Antioksidan olarak Zeytin Yaprağı Ekstraktı İlavesinin Besi Performansı Etin Yağ Asidi Bileşimi ve Lipid Oksidasyonu Üzerine Etkileri Yüksek Lisans Tezi, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- TRIPOLI E, GIAMMANCO M, TABACCHI G, DI MAJO D, GIAMMANCO S, LA GUARDIA M (2005). The phenolic composition of olive oil: structure, biological activity, and beneficial effects on human health. *Nutr. Res. Rev.* **18**: 98–112.
- TSE (1991). Hayvan Yemleri-Metabolik (çevrilebilir) Enerji Tayini (Kimyasal Metod). TSE No:9610. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TSE (1997). Tavuk gövde eti-parçalama, ambalajlama, taşıma ve muhafaza kuralları. TSE No: 5890. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TUCK KL, HAYBALL PJ (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *J. Nut. Biochem.*, **13**:636-644.
- TUIK (2016). Türkiye İstatistik Kurumu. ErişimAdresi: [<http://www.tuik.gov.tr>]. Erişim Tarihi: 15.02.2017.
- TURAN E. (2005). Sarı Ulak Tarsus Zeytin ve Siyah Çaydan Elde Edilen Fenol Ekstraktlarının Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- TURK CST, HASCICEK C, GONUL N (2006). Kolona hedeflenen ilaç taşıyıcı sistemler. *Ankara Ecz Fak Derg*, **35(2)**: 125-148.
- TÜRKÖZ G, BAYDAR T, SÖZBİLEN M, HIŞIL Y (2008). Oleuropein ve Ekstraksiyon Yöntemleri. I. Ulusal Öğrenci Kongresi. 17-18 Mayıs, Balıkesir.
- TÜİK (2016). Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim: <http://www.tuik.gov.tr> Erişim Tarihi: 15.02.2017.

- ÜNSAL A (2000). Ölmez Ağacın Peşinde. Yapı Kredi Yayınları, **1872**: 12-35.
- VARMAGHANY S, RAHIMI S, TORSHIZI KARIMI MA, LOTFOLLAHIAN H, HASSANZADEH M (2013). Effect of olive leaves on ascites incidence, hematological parameters and growth performance in broilers reared under standard and cold temperature conditions. *Animal Feed Science and Technology*, **185**: 60-69.
- VISIOLI F, BELLOMO G, MONTEDORO G, GALLI C (1995). Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis*. **117(1)**: 25-32.
- VISIOLI F, BELLOSTA S, GALLI C (1998). Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci*. **62**: 541-546.
- VISOLI F, GALLI C (1994). Oleuropein protects LDL from oxidation. *Life Sci*, **55(24)**: 1965-1971.
- VISIOLI F, POLI A, GALLI C (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med. Res. Rev*, **22**: 65-75.
- VOS P, FAAS MM, SPASOJEVIC M, SIKKEMA J (2010). Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food. *International Dairy Journal* **20(4)**: 292-302.
- 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, Turkey
- WANASUNDARA UN, SHAHIDI F, AMAROWICZZ R (1998). Effect of processing on constituents and oxidative stability of marine oils. *Journal of Food Lipids*, **5(1)**: 29-41.
- 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.
- WINKELHAUSEN E, POSPIECH R, LAUFENBERG G (2005). Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace bull. *Chem. Techn Macedonia*, **24(1)**: 41-46.
- YONSEL Ş, BATUM M. (2016). Tavuk sidirim sistemi invitro simulasyonu ile ticari yem katkı enzimlerinin incelenmesi. Erişim: www.simbiyotek.com. Erişim tarihi: 01.01.2017
- YOO S, SONG Y, CHANG PL, LEE H G (2006). Microencapsulation of 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. *Poultry Science*, **94(11)**: 2821-2830.

ZOIDOU E, MELLIYOU E, GIKAS E, TSARBOPOULOS A, MAGIATIS P, SKALTSOUNIS AL (2010). Identification of Throuba Thassos, a traditional Greek table olive variety, as a nutritional rich source of oleuropein. *J Agric Food Chem*, **58**: 46-50.



EKLER

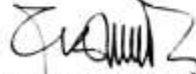
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ : 26/10/2016
TOPLANTI NO : 2016-21
DOSYA NO : 2016-126
KARAR NO : 2016-21-179

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr.Seher Küçükersan'ın yaptığı, araştırmacı olarak Vet.Hek.Najwa Omar Haiba'nın katıldığı "Aljinat ve Kitosan ile Kaplanan Zeytin Yaprağı Ekstratının Broylerde Performans, Antioksidan Kapasite ve Bağırsak Histomorfolojik Parametreler Üzerine Etkisinin Araştırılması" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiş olup, söz konusu çalışmanın 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"ne göre aşağıda belirtilen kapsamda yapılmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Hayvan Türü :Etlik Civeiv
Hayvan Sayısı :96
Geçerlilik Süresi :01/11/2016-01/11/2017

ASLININ AYNIDIR
26/10/2016



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

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı : Najwa
Soyadı : OMAR HAIABA
Doğum Yeri ve Tarihi : Libya / 15.10.1985
Uyruğu : Libya
Medeni Durumu : Bekar
İletişim Adresi ve Telefonu : A.Ü. Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı 06110-Dışkapı/ Ankara

II-Eğitimi: Omar Muhtar University Veterinary Medicine – Libya / Lisans

II- Ünvanları

III- Mesleki Deneyim

IV- Akademik Çalışmalar

1. Yayınlar

1. **HAIBA NO**, GÜMÜŞ E, KÜÇÜKERSAN S. (2017). Pelet Yem Kalitesini Etkileyen Faktörler. Yem Magazin (Basımda).

2. Uluslararası Kongreler

1. KÜÇÜKERSAN S, YALÇIN S, **HAIBA NO**, DİLBER F, PİRPAHAHİ M (2016). Gliserol İlavesinin Süt İneği Karma Yemlerinde Pelet Kalitesi ve Dayanıklılığı Üzerine Etkisi. 1. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi, 28 Eylül - 01 Ekim 2016, Antalya/TÜRKİYE (Poster Sunum).

2. **HAIBA NO**, KÜÇÜKERSAN S (2016). Pelet Yem Kalitesine Etki Eden Faktörler. 1. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi, 28 Eylül - 01 Ekim 2016, Antalya/TÜRKİYE (Poster Sunum)

3. KÜÇÜKERSAN S, YALÇIN S, GEBEŞ ES, SIZMAZ Ö, AYDIN Ö, **HAIBA NO**, PİRPAHAHİ M (2017). Altlık Materyalinin Broyler Performansı, Kesim Özellikleri ve Kümes Amonyak Düzeyleri Üzerine Etkileri. Uluslararası 4. Beyaz Et Kongresi, 26-30 Nisan 2017 Antalya-Türkiye (Poster).

3. Projeler:

1. KÜÇÜKERSAN, S., **HAIBA**, N.O., DİLBER, F. Gliserol İlavesinin Süt İneği Karma Yemlerinde Pelet Kalitesi ve Dayanıklılığı Üzerine Etkisi BAP (15H0239004) no'lu proje (30.04.2015 - 30.04.2016).

V- Bilimsel Etkinlikler

Seminer:

Pelet Yem Kalitesini Etkileyen Faktörler.

