



T.C.

BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## **KİTOSANIN FARELERDE BAKIR EMİLİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Veteriner Hekim Sesil EFECAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

VETERİNER HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**Danışman**

**Prof. Dr. Mustafa Numan OĞUZ**

**BURDUR-2020**

T.C.  
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KİTOSANIN FARELERDE BAKIR EMİLİMİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**Veteriner Hekim Sesil EFECAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

VETERİNER HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**Danışman**  
**Prof. Dr. Mustafa Numan OĞUZ**

**BURDUR-2020**

## KABUL ve ONAY

### SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

*Sesil EFECAN* tarafından *Prof. Dr. Mustafa Numan OĞUZ* yönetiminde hazırlanan *"Kitosanın Farelerde Bakır Emilimi Üzerine Etkisi"* başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi  
24/01/2020

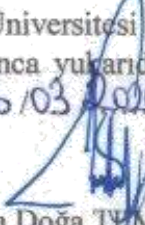
  
Prof. Dr. Fatma KARAKAŞ OĞUZ  
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Başkan

  
Prof. Dr. Mustafa Numan OĞUZ  
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi  
Jüri

  
Prof. Dr. Özcan CENGİZ  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi  
Jüri

## ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 06/03/2020 Tarih ve 11/... sayılı kararı ile kabul /red edilmiştir.

  
Prof. Dr. Mustafa Doğa TİMİZSOY  
Müdür  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimim ve özellikle tez çalışmam süresince her an çok yakın ilgi, destek ve yardımlarını gördüğüm, beni her zaman motive eden danışmanım Sayın Prof. Dr. Mustafa Numan OĞUZ'a tez boyunca yaptığı katkılardan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim sırasında her türlü konuda katkılarını esirgemeyen Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilimdalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Fatma KARAKAŞ OĞUZ'a, öğretim üyeleri Sayın Dr. Öğr. Üyesi K. Emre BUĞDAYCI' ya, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Hıdır GÜMÜŞ, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Eren KUTER'e teşekkür ederim. Tez çalışmam için kitosan temini konusunda yardımcı olan ADAGA Gıda ve Danışmanlık A.Ş.'ne teşekkür ederim. Deneme süresince farelerin bakımında yardımcı olan Veteriner Hekim Zeki EROL'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen her zaman yanımda olan ve evlatları olmaktan gurur duyduğum babam Kemal EFECAN'a, annem Hatice Sueda EFECAN'a çok teşekkür ederim. Yine her zaman desteklerini esirgemeyen abim Süleyman EFECAN'a teşekkür ederim.

## ETİK BEYAN

*“Kitosanın Farelerde Bakır Emilimi Üzerine Etkisi”* başlıklı tez çalışmamdaki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında özgün olduğunu, Prof. Dr. M. Numan OGUZ danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Sesil EFECAN

Tarih: 24.01.2020

İmza: 

## İÇİNDEKİLER

|                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------|-----|
| İÇ KAPAK SAYFASI                                                 | i   |
| KABUL VE ONAY SAYFASI                                            | ii  |
| TEŞEKKÜR                                                         | iii |
| ETİK BEYAN SAYFASI                                               | iv  |
| İÇİNDEKİLER                                                      | v   |
| ŞEKİLLER                                                         | vii |
| TABLolar                                                         | vii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR                                          | ix  |
| TÜRKÇE ÖZET                                                      | x   |
| İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)                                        | xi  |
| 1. GİRİŞ                                                         | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER                                                | 3   |
| 2.1. Kitosanla İlgili Genel Bilgiler                             | 3   |
| 2.2. Bakır                                                       | 5   |
| 2.2.1. Bakırın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri                  | 6   |
| 2.2.2. Bakır Emilimi                                             | 6   |
| 2.2.3. Bakır Dağılımı                                            | 7   |
| 2.3. Karaciğer Fonksiyonları ve Anatomik yapısı                  | 7   |
| 2.3.1. Karaciğer- Bakır İlişkisi                                 | 9   |
| 2.4. Deney Fareleriyle İlgili Bilgiler                           | 9   |
| 2.5. Kitosan ve Bakır Kullanılarak Yapılan Araştırmalar          | 11  |
| 3. GEREÇ ve YÖNTEM                                               | 13  |
| 3.1. Gereç                                                       | 13  |
| 3.1.1. Hayvan Materyali                                          | 13  |
| 3.1.2. Yem ve Su Materyali                                       | 13  |
| 3.2. Yöntem                                                      | 13  |
| 3.2.1. Deneme Düzeni ve Yemleme                                  | 13  |
| 3.2.2. Kafesler, Yemlik ve Suluklar                              | 14  |
| 3.2.3. Canlı Ağırlığın Belirlenmesi                              | 15  |
| 3.2.4. Ham Besin Madde Analizleri                                | 16  |
| 3.2.5. Yem Tüketiminin Belirlenmesi                              | 16  |
| 3.2.6. Su Tüketiminin Belirlenmesi                               | 16  |
| 3.2.7. Örneklerin Alınması ve Analizleri                         | 17  |
| 3.2.7.1. Kan örneklerinin alınması ve kan analizleri             | 17  |
| 3.2.7.2. Karaciğer örneklerinin alınması ve karaciğer analizleri | 18  |
| 3.2.3. İstatistik Analizler                                      | 19  |
| 4. BULGULAR                                                      | 20  |
| 4.1. Yemlerin Besin Madde Analizleri                             | 20  |
| 4.2. Canlı Ağırlık                                               | 20  |
| 4.3. Yem ve Su Tüketimi                                          | 21  |
| 4.4. Kan Analiz Sonuçları                                        | 22  |
| 4.4.1. Bazı Kan Hematoloji Değerleri                             | 22  |
| 4.4.2. Baz Serum Biyokimya Değerleri                             | 24  |
| 4.5. Karaciğer Analizleri                                        | 24  |
| 5. TARTIŞMA                                                      | 25  |

|           |    |
|-----------|----|
| 6. SONUÇ  | 28 |
| KAYNAKLAR | 29 |
| ÖZGEÇMİŞ  | 34 |



## ŞEKİLLER

|            |                                      |    |
|------------|--------------------------------------|----|
| Şekil 2.1. | Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları | 2  |
| Şekil 3.1. | Fare kafesleri                       | 14 |
| Şekil 3.2. | Fare kafesleri                       | 15 |
| Şekil 3.3. | Yemlik ve suluklar                   | 15 |
| Şekil 3.4. | Fare suluğu                          | 17 |
| Şekil 3.5. | Farelerden kan alınması              | 18 |
| Şekil 3.6. | Farelerin karaciğerlerinin alınması  | 18 |
| Şekil 3.7. | Farelerin karaciğerlerinin alınması  | 19 |



## TABLÖLAR

|                   |                                                                    |           |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tablo 2.1.</b> | Kitosanın ana kullanım alanları                                    | <b>4</b>  |
| <b>Tablo 2.2.</b> | Fareler için uygun çevre koşulları ve bazı fizyolojik parametreler | <b>11</b> |
| <b>Tablo 4.1.</b> | Ticari fare yeminin hesaplanan ham besin madde değeri(%)           | <b>20</b> |
| <b>Tablo 4.2.</b> | Ticari fare yeminin mineral analiz sonuçları/ppm                   | <b>20</b> |
| <b>Tablo 4.3.</b> | Farelerin haftalık canlı ağırlık değerleri                         | <b>21</b> |
| <b>Tablo 4.4.</b> | Farelerin günlük yem tüketimi                                      | <b>21</b> |
| <b>Tablo 4.5.</b> | Farelerin günlük su tüketimi                                       | <b>22</b> |
| <b>Tablo 4.6.</b> | Farelerin kan hematolojik analiz değerleri                         | <b>23</b> |
| <b>Tablo 4.7.</b> | Fare kan serum kolesterol ve glukoz analiz değerleri               | <b>24</b> |
| <b>Tablo 4.8.</b> | Bazı karaciğer iz element düzeyleri/ppm                            | <b>24</b> |

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|             |                                       |
|-------------|---------------------------------------|
| <b>ALT</b>  | Alanin Aminotransferaz                |
| <b>AST</b>  | Aspartat aminotransferaz              |
| <b>CA</b>   | Canlı Ağırlık                         |
| <b>CAA</b>  | Canlı Ağırlık Artışı                  |
| <b>GCAA</b> | Günlük Canlı Ağırlık Artışı           |
| <b>GRA</b>  | Granulosit                            |
| <b>GOS</b>  | Galakto oligosakkarit                 |
| <b>EDTA</b> | Etilen Diamin Tetra Asetik Asit       |
| <b>FOS</b>  | Frukto oligosakkarit                  |
| <b>HCB</b>  | Hemoglobin                            |
| <b>HCT</b>  | Hematokrit                            |
| <b>HK</b>   | Ham Kül                               |
| <b>HP</b>   | Ham Protein                           |
| <b>HS</b>   | Ham Selüloz                           |
| <b>HY</b>   | Ham Yağ                               |
| <b>KM</b>   | Kuru Madde                            |
| <b>KOS</b>  | Kitosan Oligosakkarit                 |
| <b>L</b>    | Litre                                 |
| <b>LYM</b>  | Lenfosit                              |
| <b>MCH</b>  | Alyuvar Ortalama Hemoglobin Miktarı   |
| <b>MCHC</b> | Alyuvar Ortalama Hemoglobin Yoğunluğu |
| <b>MCV</b>  | Alyuvar Ortalama Hacmi                |
| <b>MID</b>  | Monosit                               |
| <b>MOS</b>  | Mannan oligosakkarit                  |
| <b>ml</b>   | Mililitre                             |
| <b>Mmol</b> | Milimol                               |
| <b>pH</b>   | Power of Hydrogen                     |
| <b>pK</b>   | Piruvat Kinaz                         |
| <b>RBC</b>  | Kırmızı Kan Hücresi, Alyuvar          |
| <b>WBC</b>  | Lökosit, Beyaz Kan Hücresi, Akyuvar   |
| <b>RDWc</b> | Alyuvarların Dağılım Genişliği        |
| <b>RNA</b>  | Ribonükleik Asit                      |
| <b>YT</b>   | Yem Tüketimi                          |
| <b>YYO</b>  | Yemden Yararlanma Oranı               |

## ÖZET

### Kitosanın Farelerde Bakır Emilimi Üzerine Etkisi

Bu araştırma, deney farelerinin içme suyuna katılan kitosanın karaciğerdeki bakır düzeyine etkisini belirlemek amacıyla yapıldı. Araştırmada hayvan materyali olarak ortalama 6 haftalık, 25-30 g ağırlıkta, 60 adet erkek CD-1 ırkı fare kullanılmıştır. Fareler, kontrol ve 4 deneme grubuna on ikişer tane olacak şekilde rastgele yerleştirilmiştir. Tüm gruplar deneme boyunca *ad libitum* olarak bazal yem tüketmiştir. Kitosan ve/veya inorganik bakır ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  formunda) çözeltileri farelere içme suyuyla *ad libitum* olarak verilmiştir. Kontrol grubuna (K) herhangi bir ilave yapılmamış, 1. deneme grubuna (D1) içme suyuna 60 mg/l kitosan, 2. deneme grubuna (D2) 2 ppm bakır; 3. deneme grubuna (D3) 60 mg/l kitosan + 2 ppm bakır ve 4. deneme grubuna (D4) 60 mg/l kitosan + 4 ppm bakır ilavesi yapılmıştır. Araştırmada gruplara ait yem, su tüketimi, canlı ağırlıkları haftalık olarak ölçülmüş ve canlı ağırlık artışları belirlenmiştir. Deneme sonunda (56. gün) alınan kanlarda bazı hematolojik [ $\text{RBC}(\times 10^6/\text{l})$ ,  $\text{WBC}(\times 10^3/\text{l})$ , MPV(fl), Hgb(g/l), Hct(%), RDWc(%)] parametreler, bazı biyokimyasal (serum kolesterol ve glukoz) değerler ve alınan karaciğerlerde Cu, Fe, Zn, Mn ve Co ölçümleri yapılmıştır. Gruplar arasında RBC, WBC, MPV, Hgb ve Hct değerleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Sadece RDWc değerinde [kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 18,76; 20,03; 18,85; 18,35; 19,06 (%)] gruplar arasında fark bulunmuştur. Serum biyokimyasal analizlerden kolesterol (kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 110,20; 105,46; 167,91; 113,82; 117,81 mg/dl ) ve glukoz (kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 255,65; 283,88; 136,73; 227,17; 245,08 mg/dl) değerlerinde gruplar arasında fark görülmüştür. Farelerin karaciğerlerinde İndüktif olarak eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresi(ICP OES) metoduyla Cu, Fe, Zn, Mn ve Co elementlerin ölçümü yapılmıştır. Cu karaciğer değeri kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 0,0051; 0,0045; 0,0071; 0,0048; 0,0046 ppm, Zn karaciğer değeri kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 0,0130; 0,0165; 0,0215; 0,0165; 0,0161 ppm, Fe karaciğer değeri kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 0,1636; 0,1221; 0,1918; 0,1628 ve 0,1565 ppm değerleri elde edilmiştir. Cu ve Zn değerleri gruplar arasında istatistik olarak önemsiz çıkmıştır. Mn ve Co değeri ölçüm hassasiyetinin altında kalmıştır. Fe değerleri ise D2 grubunda, D1 grubuna kıyasla yüksek, diğer gruplarla benzer bulunmuştur. D1 grubunda farelerin suyuna kitosan ilave edilmesi karaciğer Fe düzeyini azaltmıştır. Farelerin suyuna 60 mg/l kitosan katılmasının karaciğerdeki Cu ve Zn düzeyleri üzerine etkisi görülmezken, Fe düzeyinde azalmaya sebep olmuştur. Ancak bu etkinin suya kitosanla beraber 2 ppm ve 4 ppm Cu katıldığında ortadan kalktığı tespit edilmiştir. Farelerin sularına kitosan ve bakır katılmasıyla ilgili, özellikle kitosanın solusyon halinde içme suyuna katılması şeklinde kullanımının etkileri ile ilgili daha çok çalışma yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakır, Fare, Kan Parametreleri, Karaciğer, Kitosan

## ABSTRACT

### The Effect of Chitosan on Copper Absorption in Mice

This study was carried out to determine the effect of chitosan added to drinking water of experimental mice on copper levels in liver. Sixty male CD-1 rats weighing 25-30 g, with a mean age of 6 weeks, were used as animal material. All groups consumed basal feed *ad libitum* throughout the trial. Chitosan and/or inorganic copper ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) solutions were administered to mice *ad libitum* with drinking water. In the experiment, no additions were made to the water of the control group (K). The experimental groups were planned to add 60 mg / l chitosan (D1), 2 ppm copper (D2), 60 mg / l chitosan + 2 ppm Cu (D3) and 60 mg / l chitosan + 4 ppm Cu (D4) to drinking water. Feed consumption, water consumption and body weights of the groups were measured weekly and body weight gain were calculated. At the end of the 56d experiment, haematologic [ (RBC ( $\times 10^6/\text{l}$ ), WBC ( $\times 10^3/\text{l}$ ), MPV (fl), Hgb (g / l), Hct (%), RDWc (%)], biochemical (serum cholesterol and glucose) parameters in blood samples and Cu, Fe, Zn, Mn and Co measurements in liver were measured. There was no significant difference found between RBC, WBC, MPV, Hgb and Hct values of control and experimental groups. Only RDWc values (18,76; 20,03; 18,85; 18,35; 19,06%, respectively) were found to be different between the groups. Cholesterol and glucose values (110,20; 105,46; 167,91; 113,82; 117,81 mg/dl and 255,65; 283,88; 136,73; 227,17; 245,08 mg/dl respectively) of serum biochemical parameters were found to be different between the groups. Cu, Fe, Zn, Mn and Co elements in the liver were measured by ICP OES method. Liver Cu values (0,0051; 0,0045; 0,0071; 0,0048; 0,0046 ppm, respectively), Zn liver values (0,0130; 0,0165; 0,0215; 0,0165; 0,016ppm, respectively) and Fe liver values (0,1636; 0,1221; 0,1918; 0,1628 and 0,1565ppm, respectively) were obtained in the control and experimental groups. Mn and Co values were found below the measurement accuracy. Cu and Zn values were not statistically significant between the groups. Fe values were higher in D2 group compared to D1 group and similar with other groups. Addition of chitosan into the water of mice in the D1 group decreased the liver Fe level. The addition of 60 mg / l chitosan to the water did not have any effect on Cu and Zn levels in the liver, but decreased Fe levels. However, this effect was found to be eliminated when 2 ppm and 4 ppm Cu were added to the water with chitosan. More studies on the incorporation of chitosan and copper into the water are to be beneficial, in particular, it is thought that more studies will be beneficial on the effects of the use of chitosan in the form of solution in drinking water.

**Keywords:** Copper, Mice, Blood Parameters, Liver, Chitosan

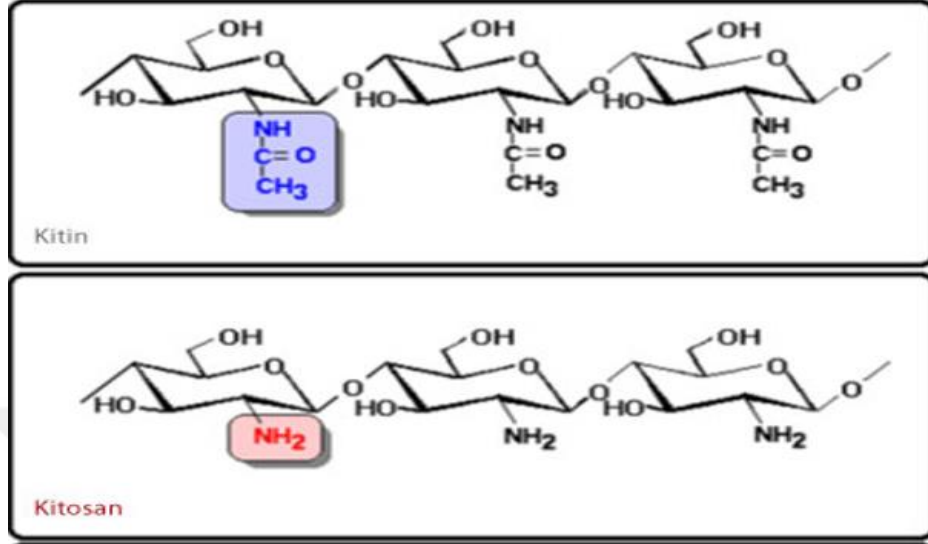
## 1. GİRİŞ

Türkiye de ve hayvancılıkla uğraşan birçok ülke de yem katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotikler, bakteriyel hastalıkları sağaltmak, terapötik ve büyüme destekleyici olarak hayvancılıkta uzun yıllar kullanılmıştır (Keser ve Bilal, 2010). Günümüzde insan ve hayvan sağlığı açısından antibiyotiklere karşı bakteri direnci artması riskinden dolayı hayvancılık sektöründe yem katkı maddesi olarak antibiyotiklerin kullanımı 21 Ocak 2006 tarih 26056 sayılı Resmi Gazete ilanı ile yasaklanmıştır (Keser ve Bilal, 2010; Kılıç, 2004).

Organik ürünlerin tüketiciler tarafından daha fazla tercih edilmesi, bilim insanlarının alternatif yem katkı maddeleriyle ilgili çalışmalar yapmaya yönlendirmiştir. Probiyotikler, prebiyotikler ve enzimler alternatif yem katkı maddelerinden bazılarıdır (Kılıç, 2004). Antibiyotiklerin yerine ortamdan patojenlerin uzaklaştırılması ve bağırsak mikrobiyotasının düzenlenmesine yardım eden, yem katkı maddeleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla oligosakkaritlerin yem katkı maddesi olarak kullanılmasının genel sağlık durumunu iyileştirici etkisi bilinmektedir. Galakto oligosakkarit (GOS), mannan oligosakkarit (MOS) ve frukto oligosakkarit (FOS) gibi belli başlı oligosakkaritlere ek olarak günümüzde kitosan oligosakkaritin (KOS)'de sağlık üzerinde yararlı etkileri olduğu tespit edilmiştir (Keser ve Bilal, 2010).

Kitin ve kitosan yengeçler, karidesler, ıstakozlar ve böcekler gibi eklembacaklıların kabuklarının ana bileşeni, kelebeklerin kanatları ve ayrıca küf ve maya gibi mikroorganizmaların hücre duvarlarında doğal olarak bulunur (Bostan ve ark., 2007; Duman ve Şenel, 2004; Keser ve Bilal, 2010; Koide, 1998; Özdemir, 2014; Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Selülozdan sonra doğada en çok karşılaşılan polisakkarittir (Duman ve Şenel, 2004; Özdemir, 2014; Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Fakat ana zincirinde azot taşıyan biyopolimerler düşünülünce kitin en bol bulunan

biyopolimerdir (Özdemir, 2014). Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları Şekil 1.1.de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Kitin ve kitosanın kimyasal yapıları ( Anonim, 2019)

Karaciğer vücudun en büyük metabolik merkezi olup, karın boşluğunda, diyaframın altında yer alır. Birçok önemli fonksiyonu bulunmakla birlikte temel görevleri; sekresyon, ekskresyon, depo, fagositoz, detoksikasyon, konjugasyon, esterleştirme, metabolizma ve hemopoez'dir. Karaciğer, sindirim ve dolaşım sistemi arasında bulunduğu ve önemli fonksiyonları olduğundan pek çok etkenden zarar görebilmektedir (Sun ve ark., 2001; Wang ve ark., 2005).

Bakır vücutta bağ dokunun, kan ve enzimlerin işleyişinde görev alır. Bakır dışarıdan alınmak zorundadır ve eksikliği bakırca fakir olan arazilerde yetiştirilen yemlere bağlıdır. Bu element beyin, böbrek, kalp, kıl ve yapağıda yüksek konsantrasyonlar da bulunur (Küçükaslan, 2011).

Bu çalışmanın amacı kitosanın minerallerle yakın etkileşime giren bir madde olması sebebiyle farelerin tüketmesi durumunda karaciğer bakır seviyesinde ve bazı kan parametreleri üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kitosanla İlgili Genel Bilgi

Kitosan, ilk kez Bradconnot tarafından 1811 yılında tanımlanmış olan kitinin ( $\beta$ -1,4-poli-N-asetil-D-glukozamin) kısmen veya tamamen deasetilasyonu (Duman and Şenel 2004; Özdemir 2014) ile elde edilen değişik moleküler ağırlıktaki bir heteropolisakkarittir (Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Kitin-kitosan, glikozidik bağlarla bağlanmış glukozamin ve N-asetillenmiş glukozaminden (2-asetilamino-2-deoksi-D glikopiranoz) oluşan biyopolimerlerdir (Koide, 1998). Kitosanın fiziko-kimyasal ve biyolojik özelliklerini bu iki molekülün sayısı ve dizi içerisindeki sırası belirler (Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Kitin ve kitosanın ayrımında kesin bir ölçü bulunmamasına karşın kitosan terimi, genellikle deasetilasyon derecesi %50'den fazla olan 2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranoz ve 2-asetamido-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranozun kopolimerleri için kullanılmaktadır (Özdemir, 2014; Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Çoğu ticari olarak üretilen kitosanın molekül ağırlığı 100-1200 kDa arasında olup yüksek molekül ağırlığı ve 6,8'den yüksek pH değerlerinde çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle pratik kullanımı oldukça sınırlıdır (Keser ve Bilal, 2010). Kitin genel olarak asetillenirken, kitosan büyük ölçüde deasetilleştirilir. Kitin, suda ve asitte çözünmezken, kitosanda suda büyük oranda çözülmez, fakat asit içinde çözünür (Koide, 1998). Kitosanın ana kullanım alanlarıyla ilgili bilgi Tablo 2.1. verilmiştir.

**Tablo 2.1.** Kitosanın ana kullanım alanları (Özdemir, 2014)

| <b>KİTOSANIN KULLANIM ALANLARI</b>   |                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Tarım</b>                         | Tohum kaplama, donma koruyucusu, zamana bağlı olarak besin elementleri ve gübrenin toprağa salınması, su berraklaşması için topaklaştırıcı ( içme suyu ve havuzlarda),                                                                                                          |
| <b>Su ve kirlilik temizliği</b>      | metal iyonların uzaklaştırılması, ekolojik polimer ( sentetik polimerlerin giderimi),                                                                                                                                                                                           |
| <b>Yiyecek ve içecek</b>             | kokunun azaltılması, insan tarafından sindirilemez ( diyet fibrili) lipid bağlayıcı( kolesterol düşürücü), koruyucu, soslar için kalınlaştırıcı ve stabilizatör, meyveler için antibakteriyel, antifungal, koruyucu kaplama, deri nemi korunması, akne tedavisi, saç esnekliği, |
| <b>Kozmetik ve banyo malzemeleri</b> | saçtaki statik elektriğin azaltılması, deri tonu, ağız sağlığı (diş macunu, sakız), immünolojik, antitümör,                                                                                                                                                                     |
| <b>Biyofarmasötikler</b>             | hemostatik, antikuagulant, iyileşme, bakteri dayanımı,                                                                                                                                                                                                                          |

Doğada yaygın ve bol miktarda bulunması, canlılar için toksik etki göstermemesi, mikroorganizmaları inhibe etmesi, biyolojik olarak parçalanabilmesi, biyo-uyumlu olması, kimyasal ve fiziksel özellikleri bakımından diğer birçok

biyopolimerden üstün özellikler göstermesi nedeniyle kitosan başta gıda olmak üzere su, ilaç, kozmetik, ziraat, tıp, kâğıt, tekstil, mikrobiyoloji, immünoloji, biyoteknoloji, gibi birçok alanda kullanım olanağı bulmaktadır (Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Kitosan; antibakteriyel, antifungal, antiviral, anti-kanserojen, antiülser, kandaki kolesterol konsantrasyonunu ve trigliserit düzeyini düşürücü, obezite önleyici özelliklere sahiptir (Bostan ve ark., 2007; Duman ve Şenel, 2004; Keser ve Bilal, 2010; Özdemir, 2014; Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Kitosanın ayrıca doğal bir polimer olarak vücutta parçalanabilmesi, hücrelere bağlanabilme yeteneği, bağ dokusu üzerinde rejeneratif aktivite göstermesi, kanama durdurucu (hemostatik), yara iyileşmesini hızlandırıcı, kemik iyileşmesini hızlandırıcı, bağışıklık sistemi destekleyicisi ve merkezi sinir sistemini baskılayıcı olması diğer biyolojik özellikleridir (Duman ve Şenel, 2004; Yıldırım ve Yıldırım, 2016). Kitosanın herhangi bir toksisitesinin bulunmaması, alerji ve iritasyon yapıcı olmamasının yanı sıra, biyoparçalanabilir ve biyogeçimli olması farmasötik ve medikal alanda önemli bir biyomateryal yapmaktadır (Duman and Şenel, 2004). Bunların dışında, astım, atopik dermatit, arteriyoskleroz, hipertansiyon, maküler dejenerasyon, artrit, diyabet, osteoporoz gibi çeşitli hastalıkların iyileştirilmesine de yardımcı olur (Koide, 1998). Ayrıca gıda kaplama ve yenilebilir film üretiminde, enzim immobilizasyonunda da kullanılmaktadır. Bu amaçla daha çok ambalaj materyalinin bir parçası olarak kullanılarak gıda güvenliği sağlanmakta, kalite ve raf ömrü iyileştirilmektedir (Yıldırım ve Yıldırım, 2016).

## **2.2. Bakır**

Bakır; pek çok hücrel enzim fonksiyon yapabilmesi için gerekli iz elementlerden biri olup hayvan ve bitki dokularında bulunan, insan vücudundaki birçok enzim sistemi için vazgeçilmez bir elementtir (Bulut, 2006; Kabak, 2010; Kubat ve ark., 1996; Rosmarie, 1992; Zietz ve ark., 2003). Bakır, insan ve hayvan vücudunda eser düzeyde bulunur ve hücrel solunumda görev yapan sitokrom C oksidaz, süperoksit dismutaz, tirozinaz ve dopamin beta hidroksilaz gibi bazı metalloenzimlerin yapısına girer (Burtis ve Ashwood, 1999; Kaneko ve ark., 1997).

Gıda maddelerinde bakır yoğunluğu farklılık gösterir. Örneğin, tahıllarda 3- 8 µg/g, sebzelerde 0,3- 3 µg/g, meyvelerde 0,4- 1.5 µg/g, hayvan yemi ve otlarda 8- 10 µg/g, kabuklularda 12- 37 µg/g, karaciğerde 4,5- 6 µg/g ve ette 1 µg/g bakır bulunur (Kaya ve ark., 2002). Gıdaların üretildiği ortama göre içerdiği bakır miktarı farklılık gösterebilir. İçme suyu normalde bakır alımına önemli bir katkı sağlamamakla birlikte tesisatta kullanılan korozyona uğramış bakır borular sudaki bakır miktarını önemli ölçüde artırmaktadır (Gerberdin, 2004; Langner ve Denk, 2004; Tapiero ve ark., 2003; Wijmenga ve Klomp, 2004). Ayrıca alınan gıdalarda bulunan farklı mineral ve bileşikler de bakır emilimini etkilemektedir (Tapiero ve ark., 2003; Kabak, 2010; Kaya ve ark., 2002) Genç hayvanların dokularında yüksek miktarlarda bulunan bakır, hayvan vücudunda 2-3 mg/kg canlı ağırlık (CA) miktarında bulunur (Aksu, 2018).

### **2.2.1. Bakırın Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri**

Bakır bir soymetal olarak sınıflandırılmakta olup hem doğada elemental olarak hem de birçok mineralin parçası olarak bulunur. Moleküler ağırlığı 63,55 g/mol, yoğunluğu 8,94 g/cm<sup>3</sup>, erime noktası 1083 °C ve kaynama noktası da 2595 °C'dir. Bakır nitrik asit ve sıcak sülfürik asit ile çözünür, hidroklorik asit ve amonyakta çok az çözünür, suda ise çözünmez. Bakır vücutta karaciğer, böbrek, dalak, kalp, kas, mide, bağırsak, tırnak ve saç gibi dokularda yaygın bir şekilde bulunur. Bakırın, en yüksek konsantrasyonları karaciğerde olmakla birlikte çeşitli hücrelerde de küçük miktarlarda bulunur. Bakır iyonları hem okside (Cu<sup>+2</sup>) hem de redükte (Cu<sup>+</sup>) halinde bulunabilmektedir (Bulut, 2006; Rosmarie, 1992).

### **2.2.2. Bakır Emilimi**

Bakır alımı için en önemli yol oral yoldur (Kabak, 2010). Bakır, birçok protein için ko-faktördür. İnsan ve hayvanlarda besinlerle alınan bakır, mide ve ince bağırsakta özellikle duodenumdan ve jejunumdan emilir, albümin ve aminoasit histidine bağlanarak karaciğere taşınır (Bissig ve ark., 2005; Burtis ve Ashwood 1999; Das ve Ray, 2006; Ferenci, 2004; Langner ve Denk, 2004; Lutsenko ve ark., 2007; Pena, 1999; Tapiero ve ark., 2003;). Memelilerin aldığı bakırın çoğunu sudan çok yiyecekler

sağlamaktadır. İstiridye, fındık, fıstık, baklagiller, bütün tahıllar ve kurutulmuş meyve gibi yiyecekler bakır yönünden zengin yiyeceklerdir. Doğal suyun da organik maddelere bağlı olmak üzere ortalama 4-10 mg Cu/l konsantrasyona sahip olduğu bildirilmektedir (Bulut, 2006; Gaetke ve Chow, 2003). Bakır mide yoluyla biraz emilir ama asıl emilim yeri duodenumdur. Emilen bakırın bir kısmı transkuprein ve albumin gibi plazma proteinleri taşıyıcıları ile karaciğere, bir kısmı da böbreklere taşınırken geri kalanı özel metal bağlayıcı proteinlerle enterositlerde birikir ve sonra dışkı ile atılır (Bulut, 2006; Hyun ve Filippich, 2004).

### **2.2.3. Bakır Dağılımı**

Bakır karaciğer, böbrek, dalak, kalp, kas, mide, bağırsak, tırnak ve saç gibi çeşitli dokularda yaygın bir şekilde bulunan gerekli bir eser elementtir (Rosmarie, 1992). Vücuttaki total bakır miktarı, 100 mg civarındadır (Das ve Ray, 2006; Ferenci, 2004; Langner ve Denk, 2004). Günlük tavsiye edilen bakır alınımları yeni doğan için 0,4-0,7 mg, çocuklar için 0,7-2,5 mg ve yetişkinlerde 1,5-3,0 mg'dır (Bulut, 2006; Rosmarie, 1992). Dünya sağlık örgütü (WHO), içme suyunda olması gereken bakır miktarının 2 mg/l'yi geçmemesi gerektiğini bildirmiştir (Bulut, 2006; Zietz ve ark., 2003). Yaş, cinsiyet, alınan bakır miktarı ve sağlık durumu bakırın dokulara dağılımının belirlenmesinde etkili olan birkaç kriterdir. Yeni doğan karaciğerinde bakır konsantrasyonu yetişkinlere göre 6-10 kat daha fazladır (Bulut, 2006; Rosmarie, 1992).

### **2.3. Karaciğer Fonksiyonları ve Anatomik Yapısı**

Karaciğer, vücudun birçok sistemiyle ilişkili son derece karmaşık ve önemli fonksiyonları olan, en büyük metabolizma merkezidir. Karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasında önemli görevleri vardır. Karaciğer ayrıca safra salgılanmasında, kandaki besin maddelerinin depolanmasında, kanda bulunan birçok plazma proteininin yapımında, vücuda girmiş ilaçların ve zehirlerin meydana getirdiği toksik etkinin ortadan kaldırılmasında görevleridir (Jungueria ve ark., 1998; Milli ve Hazıroğlu, 1997; Solomon, 1999). Ayrıca karaciğer, kana alınan bakırdan seruloplazminin sentez merkezi ve safra atılımında gerekli olan bakır komplekslerinin üretim merkezi

olmasından dolayı bakır deposu olarak işlev görür (Bulut, 2006; Rosmarie, 1992). Bakırın temel atılım yolu safra sistemidir. Emilmeyen bakırın % 15'i direkt bağırsağa geçerken, emilen bakırın % 80'i safra içinde atılır, % 2-4'ü idrarla atılır. Diğer atılım yolları da tırnaklar ve saçlardır (Bulut, 2006; Rosmarie, 1992).

Karaciğer omurgalılarda vücudun en kompleks ve en büyük bezidir (Dursun, 1994; Solomon, 1999) ve, iki veya üç parçalı simetrik olmayan bir organdır (Bulut, 2006; Tanyolaç ve Tanyolaç, 2000). Karın boşluğunda ve midenin sağ üst tarafında (Dursun, 1994; Kılınç ve ark., 1998) diyaframın altında abdominal boşlukta yerleşmiştir (Bulut, 2006; Demirsoy, 1996; Erben, 1985; Fawcett ve Ronald, 2002; Jungueria ve ark., 1998; Solomon, 1999). Karaciğer, koyu kırmızı-kahverengi renkte, sağ ve sol olmak üzere iki loptan, loplarda lobçuk adı verilen parçalara ayrılırlar (Kılınç ve ark., 1998; Kuyucu, 1980). Rengi, içerdiği kan miktarına, türe, canlılığın yaşına ve besi durumuna göre değişir (Bahadır ve Yıldız, 2008). Karaciğer elastikiyeti az olduğundan darbe ve travmaların etkisiyle yırtılabilir (Bulut, 2006; Kuyucu, 1980). Karaciğerin üst yüzü diyafram ile alt yüzü karın organları ile komşudur (Bulut, 2006; Solomon, 1999).

Karaciğer vücudun en büyük metabolik merkezidir. Karbonhidrat, protein ve lipid metabolizmasında önemli görevleri vardır (Bulut, 2006; Milli ve Hazıroğlu, 1997). Karaciğer, vücudun hemen hemen bütün sistemleriyle ilişkili bulunan son derece karmaşık ve önemli fonksiyonları olan bir organdır (Bulut, 2006; Jungueria ve ark., 1998; Solomon, 1999). Karaciğer tarafından yağların sindirimde çok önemli rol oynayan safra, günde 600-1000 ml dolaylarında bağırsağa salgılanır (Bahadır ve Yıldız, 2008; Bulut, 2006). Karaciğer, vitaminler için de en büyük depolanma yeridir (Bulut, 2006). A, D, E, K vitaminlerini depo eder. Kandaki şeker düzeyini ayarlar, fazla glikozu glikojen olarak depo eder. Proteinin parçalanması ile açığa çıkan amonyağın üre halinde atılmasını sağlar Yaşlı alyuvarların parçalanması ile ortaya çıkan demiri depo eder (Kılınç ve ark., 1998).

### 2.3.1. Karaciğer-Bakır İlişkisi

Karaciğer bakır metabolizmasındaki en önemli organdır. Karaciğer bir bakır deposu ve safra atılımında gerekli olan bakır komplekslerinin üretim merkezi olarak işlev görür. Bakırın insandaki yarılanma ömrü yaklaşık dört haftadır (Bulut, 2006; Rosmarie, 1992). Kitosan ve bakırın birlikte medikal amaçlı kullanımını konu alan araştırmalar mevcuttur. Bunlardan bir tanesi Liu ve ark., (2003) hemodiyaliz hastalarının kan üre konsantrasyonunu düşürmek amacıyla, kitosan ve bakır içeren bir membran geliştirilmesi üzerinedir. Diğer bir araştırmada ise Wang ve ark., (2008) nano-kitosan bakır kompleksinin karaciğer kanseri üzerine sağaltıcı etkisinin olduğu ortaya konulmuştur.

### 2.4. Deney Fareleriyle İlgili Genel Bilgi

Fareler, yaş, gebelik veya laktasyon dönemine bakılmaksızın, genellikle benzer tip yemlerle beslenebilir. Yem genellikle pelet şeklinde *ad libitum* olarak verilir. Fareler yemin enerji içeriğine de bağlı olarak günlük ortalama 3-4 g yem (İde, 2003) ve 5-7 ml su tüketirler. Farelere yem olarak hububat taneleri ve bazı bitki tohumlarının ezme ve kırmaları verildiği gibi genellikle de pelet (çapı 12-16 mm) yem tercih edilir (Saruhan ve Dereli, 2016). Yemlikte pelet yem az kaldığı zaman, fareler yemi kemirmekte güçlük çekerler, bunun için yemlikler mutlaka düzenli olarak doldurulmalıdır (İde, 2003). Fareler, mikrobiyel sindirim ve kaprofaji (Saruhan ve Dereli, 2016) (hayvanların kendi dışkısını yemesi) yoluyla besin maddelerinden indirek olarak faydalanırlar (İde, 2003). Fareler kaprofajiden dolayı B grubu ve K vitaminine ihtiyaç duymazlar (Saruhan ve Dereli, 2016). Farelerin suları sık olarak değiştirilir ve tükettikleri su miktarı yemlerindeki su miktarına ve çevresel şartlara göre değişir. Su, şişeler veya otomatik sulama sistemleriyle verilebilir (İde, 2003).

Fareler doğal yaşamlarında sosyal statü içerisinde gruplar halinde yaşarlar. Fareler kapakları sıkıca kapatılabilen, saydam, sert plastik kafeslerde barındırılırlar (İde, 2003; Saruhan ve Dereli, 2016). Erkek fareler bir arada barındırıldıklarında saldırgan davranışlar sergileyebilirler. Saldırganlık aynı zamanda farenin soyuna, her

fare için kullanılabilen kafesteki boş alana ve kafesteki eşyalara da bağlıdır (İde, 2003). Erkek fareler süten kesilince bir arada barındırılır ise saldırganlıkları minimuma indirilebilir (İde, 2003; Saruhan ve Dereli, 2016). Bireysel olarak barındırılan fareler grup içine konulduğunda, grupta barındırılanlara oranla daha fazla saldırganlık gösterirler (İde, 2003). Grup barındırılması yapılıyor ise bir kafesin içerisine 30'dan fazla fare konulmaması gerekir. Fazla sayıda farenin bir arada barındırılması, vücut ısısının aşırı yükselmesi (hipertermi) ve oksijen yetersizliği (hipoksi) sonucu farelerin ölümüne sebep olabilir. Kafeslerde altlık materyali olarak genellikle talaş kullanılır. Kağıt parçaları ve pamukta kullanılabilir (İde, 2003; Saruhan ve Dereli, 2016).

Fareler noktürnal (gece aktif) hayvanlardır. Bu nedenle doğal gece/gündüz döngüsü bu hayvanların normal fizyolojik davranışları için çok önemlidir. Fareler; 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü olan, iyi havalandırılmış, %40-%60 rölatif nem oranına ve 20-24 °C ortam sıcaklığına sahip odalarda barındırılmalıdır. Bu değerler dışındaki hallerde fareler strese girerler ve hastalıklara karşı duyarlı hale gelirler. Fareler, seslere karşı çok hassastırlar (Saruhan ve Dereli, 2016). Ani gürültülere karşı yoğun tepkiler verirler. Bu nedenle farelerin barındırıldığı odaların gürültüden ve titreşim yaratacak cihazlardan uzak olması sağlanmalıdır. Farelerin gebelik süresi 19-21 gündür. Fare yavruları gözleri açılmamış ve tüysüz olarak dünyaya gelir. Yavrular 21 günlükken süten kesilir. Dişiler ve erkekler pubertase 50-60 günlük yaşta girerler (Saruhan ve Dereli, 2016). Fareler için uygun çevre koşulları ve bazı fizyolojik parametrelerle ilgili bilgi Tablo 2.2. de verilmiştir.

Farelerde yemde bulunması tavsiye edilen mineral madde miktarları olarak, Cu değeri 6 (mg/kg), Fe değeri 25 (mg/kg) ve Ca değeri 10 (mg/kg) dır (Clarke ve ark., 1977; İde, 2003).

**Tablo 2.2.** Fareler için uygun çevre koşulları ve bazı fizyolojik parametreler (İde, 2003).

|                                                                           | Değerler |
|---------------------------------------------------------------------------|----------|
| Çevre koşulları                                                           |          |
| Sıcaklık (°C)                                                             | 20-24    |
| Rölatif nem oranı (%)                                                     | 50-60    |
| Havalandırma( m <sup>3</sup> / saat)                                      | 15       |
| Gündüz/gece (saat)                                                        | 14/10    |
| En düşük kafes alanı (grup halinde barındırma (cm <sup>2</sup> /yetişkin) | 80       |
| En düşük kafes yüksekliği (cm)                                            | 15       |
| Genel fizyolojik parametreler                                             |          |
| Erişkin vücut ağırlığı [erkek(g) ]                                        | 20-40    |
| Su tüketimi (ml/100g/gün)                                                 | 15       |
| Kan parametreleri                                                         |          |
| Kan hacmi (ml/kg)                                                         | 76-80    |
| Hemoglobin(g/100ml)*                                                      | 10-17    |
| Hemotokrit(%)                                                             | 39-49    |
| Lökosit (×1000/mm <sup>3</sup> )                                          | 5-12     |
| Glikoz** (mg/100öl)(1)                                                    | 124-262  |

Stres durumunda bu değer normalin 2 katına kadar yükselebilir

\*mmol/l hemoglobin:g/100ml×0.62

\*\*mmol/l glikoz:mg/100ml×0.0556

## 2.5. Kitosan ve Bakır Kullanılarak Yapılan Araştırmalar

Zeng ve ark., (2008) yürüttükleri bir araştırmada farelerin yemelerine farklı molekül ağırlıklı ve deasetilasyon derecesine sahip diyet tipi kitosan örnekleri (yüksek, orta ve düşük molekül ağırlıklı kitosan tipleri) % 1.05 seviyesinde katılarak 90 gün boyunca bu yemler ile beslenmiştir. HCS, COS ve WSC'nin karaciğerdeki Fe, Zn ve

Cu seviyesi üzerine anlamlı bir etkisi olmadığını bu nedenle kitosanın diyetle katılmasının farelerde Fe, Zn ve Cu seviyesini düşürmediğini bildirmişlerdir.

Morohashi ve ark., (1998) ratlarda fruktooligosakkaritle beslemenin bağırsakta kalsiyum emilimine etkisini araştırmıştır. FOS ile beslenen ratlarda hem gerçek hem belirgin kalsiyum emilimi bağırsakta ve idrarda önemli ölçüde fazla bulmuşlar. Bu araştırma sonucunda FOS'la beslenen ratlarda kalsiyum emiliminin artması ve kemik kalsifikasyonunun iyileştiğini bildirmişlerdir. Chonan ve ark., (1996) yüksek kalsiyum ve fosfor içerikli diyetle beslenen ratlarda GOS'un magnezyum emilimine, böbrek ve kalpteki kalsifikasyon üzerine etkisi değerlendirmişler, diyetle GOS ilavesinin Mg emilimini, serum ve femur Mg konsantrasyonunu arttırdığı, böbrek ve kalpteki Ca birikimini azalttığını bildirmişlerdir. Laktoz veya laktuloz içeren diyetle beslenen ratların ileal pH' daki düşüşe paralel olarak magnezyum emilimi üzerindeki etkilerini değerlendiren Heijnen ve ark., (1993) laktulozun laktoza kıyasla ileum pH'ını daha fazla düşürdüğünü, laktozun Mg emilimini, laktulozun ise Ca ve P emilimini önemli ölçüde arttırdığını, lümen pH'ındaki azalmanın Mg çözülümü üzerine Ca ve P çözülümüne kıyasla daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Gaetke ve Chow (2003), yaptıkları çalışmanın sonucunda bakırın gerekli bir mineral olduğunu ve bakırın yüksek konsantrasyonlarının lipid, protein ve DNA'da oksidatif hasara neden olarak nörodejeneratif bozukluklara sebep olduğunu, diğer taraftan bakırın, optimal antioksidan savunma için de gerekli olduğunu ve bakır eksikliğinin vücudun oksidatif stresle baş etme yeteneğini azalttığını bildirmişlerdir. Bakır eksikliğinde depigmentasyon, kemik problemleri, omurilik felçleri ve ataksi, kalp bozuklukları, bağ doku anormallikleri ve anemi gibi çeşitli bozukluklar meydana gelir. Bakır toksisitesi, etkilenen hayvan için ciddi sorunlar taşısa da bakır eksikliği yaygın olarak zehirlenmelerden sonra görülür. Hastalıkların tümü karaciğerde bakır depolama bölümünü etkilemektedir (Bulut 2006; Keen ve ark., 1981).

Bu araştırmanın amacı farelerin sularına farklı miktarlarda kitosan ve bakır ilavesinin karaciğer Cu seviyesine aynı zamanda karaciğerdeki Fe, Zn, Mn ve Co seviyelerine ve bazı kan parametreleri (hematolojik parametrelerden RBC, WBC, MPV, Hgb, Hct, biyokimyasal parametrelerden serum kolesterol ve glukoz) üzerine etkilerini incelemektir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Gereç**

##### **3.1.1. Hayvan Materyali**

Çalışmada yaklaşık ortalama 30 g ağırlığında ortalama 6 haftalık yaşta, sağlıklı 60 adet erkek Swiss albino CD-1 fare kullanıldı. Deneme 56 gün sürdürülmüştür. Denemede kullanılan fareler Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkez'inden temin edilmiştir. Deneysel çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi Laboratuvarı'nda, MAKÜ-HADYEK (Burdur Mehmet Akif Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu) 10.04.2019 tarih ve 506 sayılı izniyle gerçekleştirildi.

##### **3.1.2. Yem ve Su Materyali**

Farelere verilen ticari yem 16mm çapında, 24-41(30) mm uzunluğundadır. Yemler haftalık olarak tartılarak verilmiştir. Fareler 22-24 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlıkta kalacak şekilde Tip-1 kafeslerde barındırıldı. Farelere çalışma süresince standart fare yemi *ad libitum* olarak verilmiştir.

#### **3.2. Yöntem**

##### **3.2.1. Deneme Düzeni ve Yemleme**

Denemede ortalama 6 haftalık yaşta, yaklaşık 30 gr ağırlığında 60 fare kullanılmıştır. Deneme, 12 şer fare olmak üzere 5 grup şeklinde yürütülmüştür.

Araştırma gruplarındaki farelerin beslenmesinde aynı yem kullanılmış fakat sularına farklı miktarlarda bakır ve kitosan ilavesi yapılmıştır. Bir kontrol ve 4 denemeden oluşan araştırmada, kontrol grubu farelerine katkısız içme suyu verildi. Deneme 1 grubunda suyuna 60 mg/L miktarda kitosan, deneme 2 grubunun suyuna 2

ppm inorganik bakır (bakır sülfat formunda), deneme 3 grubunun suyuna 2 ppm miktarda bakır içeren kitosan kompleksi (60 mg/l kitosan), deneme 4 grubunun suyuna 4 ppm bakır içeren kitosan kompleksi (60 mg/l kitosan) uygulandı. Yem ve su hayvanlara *ad libitum* verilmiştir.

Hayvanlar grup yemlemesine tabi tutulmuştur. Yem hayvanlara tartılarak verilmiş, kalan miktarları haftalık tartımlarla belirlenmiştir. Su tüketimleri mezürle ölçülerek benzer şekilde hesaplanmıştır. Her bir fare araştırma başlangıcında ve haftalık olarak, (sabah saat 9-10 arasında) tartılarak canlı ağırlıkları tespit edilmiştir. Haftalar arası farktan canlı ağırlık artışı hesaplanmıştır.

### 3.2.2. Kafesler, Yemlik ve Suluklar

Fareler, 59×38×20 cm'den oluşan fare deneme kafeslerinde barındırılmıştır. Suluklar 500 ml'lik fare suluklarıdır. Araştırma süresince kontrol ve deneme gruplarının yem ve suları hayvanlara tartılarak verilmiştir. Farelerin orijinal polietilen fare-rat kafeslerinde bakım ve beslenmeye tabi tutulmuştur. Kitosan ADAGA Gıda ve Danışmanlık A.Ş.'den temin edilmiştir. Altlık ve suluk temizlikleri ise haftalık olarak gerçekleştirildi. Farelerin barındırıldığı kafesler ve suluklar Şekil 3.1.; Şekil 3.2. ve Şekil 3.3.'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Fare kafesleri



**Şekil 3.2.** Fare kafesleri



**Şekil 3.3.** Yemlik ve suluklar

### 3.2.3. Canlı Ağırlığın Belirlenmesi

Alıştırma başında ve deneme süresince haftada bir kez aynı gün aynı saatte olmak üzere tüm fareler tartıldı. Tartımlar arasındaki farktan canlı ağırlık artışları hesaplandı. Tartımlarda  $\pm 0,5$  gram hassas terazi (Desis, ETS Elektronik Tartı Sis. San. Ve Tic. Ltd. Şti., Model:ATW) kullanılmıştır.

#### 3.2.4. Ham Besin Madde Analizleri

Çalışmada kullanılan ticari fare yeminin kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY) ve ham kül (HK) analizleri AOAC (2003)' de bildirilen metotlara göre, ham selüloz (HS) analizi Crampton ve Maynard (1938)'a göre Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda, Cu, Zn, Fe, Mn ve Co analizleri ise EPA 6010c metoduna uygun olarak Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezinde İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma - Optik Emisyon Spektroskopi (ICP-OES) cihazı kullanılarak yapılmıştır. (Perkin Elmer OPTIMA 5300 DV, California, ABD)

#### 3.2.5. Yem Tüketiminin Belirlenmesi

Deneme gruplarının hepsinin kafes yemliklerine teraziyle tartılarak konulan yemler deneme boyunca *ad libitum* sunulmuştur. Haftalık olarak aynı gün ve saatte tüm grupların yemliklerinde kalan yem  $\pm 0,5$  gram hassas terazi ile tartılmıştır. Yemliklerde kalan yem, toplam verilen yem miktarından çıkarılarak grupların haftalık yem tüketimi belirlenmiştir. Deneme süresince haftalık tüketilen yem miktarları, fare ve gün sayısına bölünerek farelerin günlük yem tüketimleri (GYT) hesaplanmıştır.

#### 3.2.6. Su Tüketiminin Belirlenmesi

Kontrol ve deneme gruplarına içme suları, hepsi bir örnek olan suluklarına cam mezürle ölçülerek konulmuştur ve deneme boyunca kontrol edilerek dolu tutulmuştur. Haftalık olarak aynı gün ve saatte tüm grupların suluklarında kalan su cam mezürle ölçülmüştür. Suluklarda kalan su toplam verilen su miktarından çıkartılarak grupların haftalık su tüketimi belirlenmiştir. Haftalık su tüketimleri gün (7) ve gruptaki fare sayısına (12) bölünerek günlük bireysel ortalama su tüketimi bulunmuştur. Şekil 3.4.'de deneme süresince kullanılan fare sulukları gösterilmiştir.



**Şekil 3.4.** Fare suluğu

### **3.2.7. Örneklerin Alınması ve Analizler**

#### **3.2.7.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Kan Analizleri**

Denemenin sonunda gruptaki fareler, grup içi rastgele ikişerli olarak eşleştirilerek kalplerinden antikoagulan içeren ve içermeyen tüplere kanları alınmıştır. Alınan kan örneklerinde hematolojik parametrelerden [(RBC( $\times 10^6$ /l), WBC( $\times 10^3$ /l), MPV(fl), Hb(g/l), Htc(%)) analizleri fotometrik yöntemle Abacus Junior Vet Hematology Analyzer cihazı (Diatron, Budapest, Hungary) kullanılarak yapılmıştır. Araştırmada kan serumunda kolesterol ve glikoz analizleri Gesan Chem 200 otoanalizator cihazı (Gesam, Mazara, Italy) kullanılarak Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi Laboratuvar'ında yapılmıştır.



**Şekil 3.5.** Farelerden kan alınması

### **3.2.7.2. Karaciğer Örneklerinin Alınması ve Karaciğer Analizleri**

Kan analizleri için eşleştirilmiş olan fareler, kanı alındıktan sonra anestezi uygulanarak ötenazi yapılmıştır. Yine ikişerli grup halinde karaciğerleri alınıp bir numune haline getirilmiştir. . Karaciğerler, analiz yapılana kadar -20°C'deki derin dondurucuda bekletilmiştir. Mineral analizinde kullanılan İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma - Optik Emisyon Spektroskopi (ICP-OES) (Perkin Elmer OPTIMA 5300 DV, California, ABD) cihazıdır. Yapılan element analizlerinde Cu elementi 327,393 nm, Zn elementi 206,200 nm, Fe elementi 238,204 nm, Mn elementi 257,610 nm ve Co elementi 228,616 nm dalga boylarında okunmuştur.



**Şekil 3.6.** Farelerin karaciğerlerinin alınması



**Şekil 3.7.** Farenin karaciğerinin alınması

### **3.3.3. İstatiksel Analizler**

Gruplara ait istatistik hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılığın önemliliği için Tek yönlü varyans analizi, gruplar arasındaki farkın önemliliğinin kontrolü için Tukey testi uygulanmıştır. Denemede elde edilen veriler SPSS istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar % 5 hata payı ile incelenmiştir. İstatistik analizler için IBM SPSS Statistics 22 (Ekonomi Analiz, InstallShield wizard) paket programından yararlanılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Yemlerin Besin Madde Analizleri

Denemede kullanılan ticari fare yeminin, kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham kül (HK), ham selüloz (HS) analiz sonuçları Tablo 4.1.' de, Cu, Fe, Zn, Mn ve Co element analizleri sonuçları da Tablo 4.2.' de verilmiştir. Farelere verilen suda Cu, Fe, Zn, Mn ve Co analizleri de yapılmıştır fakat mineral düzeyleri ölçüm yapılan cihazın hassasiyetinden daha düşük olduğu için sonuç bulunamamıştır.

**Tablo 4.1.** Ticari fare yeminin hesaplanan ham besin madde değeri (%)

|                  | <b>KM</b> | <b>HP</b> | <b>HY</b> | <b>HS</b> | <b>HK</b> |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Fare yemi</b> | 93,30     | 21,68     | 7,27      | 4,73      | 6,33      |

**Tablo 4.2.** Ticari fare yeminin mineral analiz sonuçları/ ppm

|                  | <b>Cu</b> | <b>Fe</b> | <b>Zn</b> | <b>Mn</b> | <b>Co</b> |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Fare yemi</b> | 0,013     | 0,143     | 0,048     | <0,006*   | <0,006*   |

\*:Ölçüm hassasiyeti altı

### 4.2. Canlı Ağırlık

Yapılan deneme sonucunda farelerin canlı ağırlıkları Tablo 4.3.'de verilmiştir. Rastgele oluşturulan deneme grupları değerlendirildiğinde D2 grubu en yüksek, D1 grubu en düşük CA'lara sahip gruplar olduğu belirlenmiştir.

Araştırmanın 8. haftasında sadece bakır ilave edilen (D2) grubun canlı ağırlığı, kontrol grubundan (K) önemli derecede geri kalmıştır ( $P<0,05$ ). Ortalama canlı ağırlık değerlerine bakıldığında D3 grubunun K grubuyla benzer canlı ağırlıkta olduğu, en düşük canlı ağırlığın sadece kitosan tüketen D1 grubunda olduğu, deneme suyuna kitosanla birlikte 2 kat Cu ilavesinin canlı ağırlığı sadece Cu ilavesine kıyasla önemli

derecede düşürdüğü görülmüştür. Başlangıç haftasında CA'larının farklı olması deneme gruplarının rastgele seçilen hayvanlardan oluşturulmuş olmasından ötürüdür.

Deneme sonunda gruplar arasında canlı ağırlık farkları kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 5,62; 7,5; 1,71; 5,5 ve 7,92 g olarak hesaplanmıştır.

**Tablo 4.3.** Farelerin haftalık canlı ağırlık değerleri/g

| Hafta  | K                        | D1                       | D2                       | D3                        | D4                       | P    |
|--------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|------|
| Deneme |                          |                          |                          |                           |                          |      |
| Başı   | 30,79±1,19 <sup>ab</sup> | 26,20±0,87 <sup>c</sup>  | 31,41±0,61 <sup>a</sup>  | 30,08±1,15 <sup>abc</sup> | 26,45±1,44 <sup>bc</sup> | 0,01 |
| 1.     | 31,70±1,27 <sup>a</sup>  | 28,16±0,91 <sup>ab</sup> | 31,91±0,57 <sup>b</sup>  | 31,12±1,03 <sup>ab</sup>  | 27,70±1,36 <sup>ab</sup> | 0,01 |
| 2.     | 33,62±1,14               | 30,62±0,91               | 32,33±0,47               | 33,16±0,55                | 30,37±1,23               | 0,07 |
| 3.     | 33,70±1,02               | 30,79±0,72               | 32,04±0,54               | 33,16±0,90                | 31,20±0,93               | 0,08 |
| 4.     | 34,91±0,99               | 32,41±0,58               | 33,58±0,60               | 34,20±0,93                | 33,29±0,79               | 0,24 |
| 5.     | 35,20±0,97               | 32,50±0,73               | 33,75±0,56               | 34,29±0,82                | 33,45±0,75               | 0,17 |
| 6.     | 34,95±0,86               | 33,08±0,65               | 33,45±0,61               | 34,58±0,77                | 33,75±0,85               | 0,38 |
| 7.     | 36,08±0,96               | 33,75±0,64               | 33,08±0,40               | 35,04±0,81                | 34,33±0,73               | 0,05 |
| 8.     | 36,41±0,97 <sup>a</sup>  | 33,70±0,66 <sup>ab</sup> | 33,12±0,40 <sup>b</sup>  | 35,58±0,82 <sup>ab</sup>  | 34,37±0,77 <sup>ab</sup> | 0,02 |
| ortca  | 34,15±0,41 <sup>a</sup>  | 31,25±0,22 <sup>d</sup>  | 32,74±0,23 <sup>bc</sup> | 33,47±0,32 <sup>ab</sup>  | 31,66±0,31 <sup>cd</sup> | 0,01 |

n =12, K= kontrol, D1=60mg/l kitosan, D2= 2ppm Cu, D3=kitosan+ 2ppm Cu, D4=kitosan+ 4ppm Cu.

#### 4.3. Yem ve Su Tüketimi

Deney farelerinin deneme süresince tükettikleri yem miktarları Tablo 4.4.'de, su tüketimleri Tablo 4.5.'de verilmiştir. Sekizinci hafta yem tüketimine bakıldığında D2 grubunun yem tüketimi diğer gruplara kıyasla rakamsal olarak düşük olduğu görülmektedir.

**Tablo 4.4.** Farelerin günlük yem tüketimi g/ gün,fare

| Hafta | K    | D1   | D2   | D3   | D4   |
|-------|------|------|------|------|------|
| 1.    | 7,05 | 6,98 | 7,05 | 7,35 | 7,37 |
| 2.    | 6,96 | 6,51 | 7,14 | 7,20 | 7,17 |
| 3.    | 6,58 | 5,82 | 6,93 | 7,15 | 7,30 |
| 4.    | 5,73 | 4,75 | 6,23 | 5,64 | 6,23 |
| 5.    | 6,85 | 5,98 | 6,97 | 7,21 | 7,29 |
| 6.    | 7,51 | 4,75 | 7,02 | 7,79 | 7,73 |
| 7.    | 7,64 | 6,47 | 6,65 | 7,14 | 7,17 |
| 8.    | 5,83 | 5,72 | 5,63 | 6,44 | 5,97 |
| ort.  | 6,76 | 5,87 | 6,69 | 6,99 | 7,02 |

K= kontrol, D1=60mg/l kitosan, D2= 2ppm Cu, D3=kitosan+ 2ppm Cu, D4=kitosan+ 4ppm Cu.

**Tablo 4.5.** Farelerin günlük su tüketimi ml/gün,fare

| Hafta | K     | D1    | D2   | D3   | D4   |
|-------|-------|-------|------|------|------|
| 1.    | 10,28 | 10,95 | 8,57 | 9,58 | 7,85 |
| 2.    | 6,25  | 4,76  | 5,69 | 6,66 | 4,89 |
| 3.    | 6,72  | 5,23  | 6,84 | 7,14 | 6,60 |
| 4.    | 6,72  | 5,44  | 5,66 | 6,70 | 5,41 |
| 5.    | 7,61  | 7,44  | 7,02 | 7,85 | 7,67 |
| 6.    | 7,08  | 6,54  | 5    | 6,30 | 5,29 |
| 7.    | 8,33  | 5,53  | 4,94 | 6,36 | 5,59 |
| 8.    | 6,07  | 4,58  | 4,52 | 5,17 | 4,88 |
| ort.  | 7,38  | 6,31  | 6,03 | 6,97 | 6,02 |

K= kontrol, D1=60mg/l kitosan, D2= 2ppm Cu, D3=kitosan+ 2ppm Cu, D4=kitosan+ 4ppm Cu.

#### 4.4. Kan Analiz Sonuçları

##### 4.4.1. Bazı Kan Hematoloji Değerler

Hematolojik parametrelerle ilgili analiz sonuçları Tablo 4.6.'de verilmiştir. Farelerden 56. günde alınan kanlardan yapılan hematolojik analiz sonucunda gruplar arasında sadece RDWc, D1 ve D3 grupları arasında fark bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Diğer kan parametrelerinde gruplar arasında fark gözlenmemiştir.

**Tablo 4.6.** Farelerin kan hematolojik analiz değerleri ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )

| Biyolojik Analizler | K                              | D1                            | D2                             | D3                            | D4                             | P     |
|---------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------|
| WBC                 | 3,10 $\pm$ 0,39                | 2,65 $\pm$ 0,22               | 3,25 $\pm$ 0,45                | 2,64 $\pm$ 0,28               | 2,24 $\pm$ 0,26                | 0,25  |
| LYM                 | 1,84 $\pm$ 0,21                | 1,52 $\pm$ 0,14               | 1,96 $\pm$ 0,25                | 1,45 $\pm$ 0,21               | 1,18 $\pm$ 0,18                | 0,08  |
| MID                 | 0,12 $\pm$ 0,04                | 0,06 $\pm$ 0,02               | 0,09 $\pm$ 0,05                | 0,13 $\pm$ 0,03               | 0,09 $\pm$ 0,03                | 0,75  |
| GRA                 | 1,13 $\pm$ 0,19                | 1,05 $\pm$ 0,16               | 1,19 $\pm$ 0,30                | 1,06 $\pm$ 0,17               | 0,96 $\pm$ 0,14                | 0,94  |
| LY %                | 60,13 $\pm$ 3,06               | 58,01 $\pm$ 3,83              | 62,28 $\pm$ 5,16               | 55,00 $\pm$ 5,33              | 52,88 $\pm$ 5,14               | 0,61  |
| MI                  | 3,73 $\pm$ 0,99                | 2,98 $\pm$ 1,13               | 2,55 $\pm$ 1,23                | 4,13 $\pm$ 0,83               | 4,45 $\pm$ 1,29                | 0,59  |
| GR %                | 36,15 $\pm$ 2,59               | 39,03 $\pm$ 4,07              | 35,20 $\pm$ 4,21               | 40,26 $\pm$ 5,03              | 42,65 $\pm$ 5,30               | 0,74  |
| RBC                 | 7,15 $\pm$ 0,36                | 7,36 $\pm$ 0,13               | 7,43 $\pm$ 0,23                | 7,56 $\pm$ 0,23               | 7,61 $\pm$ 0,11                | 0,66  |
| HGB                 | 10,58 $\pm$ 0,54               | 11,13 $\pm$ 0,21              | 11,23 $\pm$ 0,34               | 11,26 $\pm$ 0,35              | 11,20 $\pm$ 0,20               | 0,63  |
| HCT                 | 39,55 $\pm$ 1,99               | 42,31 $\pm$ 1,39              | 42,69 $\pm$ 1,97               | 41,31 $\pm$ 1,32              | 41,57 $\pm$ 0,85               | 0,66  |
| MCV                 | 55,33 $\pm$ 1,35               | 57,50 $\pm$ 1,08              | 57,50 $\pm$ 1,54               | 54,50 $\pm$ 0,34              | 54,83 $\pm$ 1,37               | 0,25  |
| MCH                 | 14,76 $\pm$ 0,18               | 15,13 $\pm$ 0,04              | 15,10 $\pm$ 0,16               | 14,91 $\pm$ 0,3               | 14,70 $\pm$ 0,15               | 0,12  |
| MCHC                | 26,71 $\pm$ 0,39               | 26,40 $\pm$ 0,48              | 26,43 $\pm$ 0,59               | 27,31 $\pm$ 0,15              | 26,95 $\pm$ 0,45               | 0,57  |
| RDWc                | 18,76 $\pm$ 0,43 <sup>ab</sup> | 20,03 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup> | 18,85 $\pm$ 0,38 <sup>ab</sup> | 18,35 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup> | 19,06 $\pm$ 0,22 <sup>ab</sup> | 0,04* |
| PLT                 | 717,00 $\pm$ 60,31             | 869,66 $\pm$ 46,17            | 738,16 $\pm$ 82,14             | 924,16 $\pm$ 31,28            | 866,00 $\pm$ 49,56             | 0,06  |
| PCT                 | 0,53 $\pm$ 0,05                | 0,65 $\pm$ 0,03               | 0,57 $\pm$ 0,06                | 0,69 $\pm$ 0,02               | 0,62 $\pm$ 0,03                | 0,17  |
| MPV                 | 7,45 $\pm$ 0,21                | 7,43 $\pm$ 0,12               | 7,73 $\pm$ 0,29                | 7,51 $\pm$ 0,10               | 7,25 $\pm$ 0,11                | 0,50  |
| PDWc                | 31,11 $\pm$ 0,23               | 31,18 $\pm$ 0,30              | 32,15 $\pm$ 0,59               | 31,18 $\pm$ 0,30              | 31,35 $\pm$ 0,39               | 0,31  |

n=6, K= kontrol, D1=60mg/l kitosan, D2= 2ppm Cu, D3=kitosan+ 2ppm Cu, D4=kitosan+ 4ppm Cu.

#### 4.4.2. Bazı Serum Biyokimya Değerleri

Serum biyokimyasal analiz değerleri Tablo 4.7.'de verilmiştir. Glukoz değeri, D1 grubunun değeri en yüksek çıkarken, D2 grubunun değeri en düşük çıkmıştır. Kolesterol değerinde ise D2 grubunun değeri en yüksekken, D1 grubunun değeri en düşük çıkmıştır.

**Tablo 4.7.** Fare kan serum kolesterol ve glukoz analiz değerleri ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )

|            | K                               | D1                              | D2                              | D3                               | D4                               | P    |
|------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|------|
| Glukoz     | 255,65 $\pm$ 28,06 <sup>a</sup> | 283,88 $\pm$ 35,28 <sup>a</sup> | 136,73 $\pm$ 16,37 <sup>b</sup> | 227,17 $\pm$ 31,72 <sup>ab</sup> | 245,08 $\pm$ 27,50 <sup>ab</sup> | 0,01 |
| Kolesterol | 110,20 $\pm$ 2,91 <sup>ab</sup> | 105,46 $\pm$ 3,55 <sup>b</sup>  | 167,91 $\pm$ 29,63 <sup>a</sup> | 113,82 $\pm$ 4,61 <sup>ab</sup>  | 117,81 $\pm$ 7,10 <sup>ab</sup>  | 0,02 |

n=6, K= kontrol, D1=60mg/l kitosan, D2= 2ppm Cu, D3=kitosan+ 2ppm Cu, D4=kitosan+ 4ppm Cu.

#### 4.5. Karaciğer Analizleri

Deneme sonunda alınan farelerin karaciğerlerinde ICP OES metoduyla Cu, Fe, Zn, Mn ve Co elementlerin ölçümü yapılmıştır. Mn ve Co değeri ölçüm hassasiyetinin altında kalmıştır. Cu ve Zn değerleri gruplar arasında istatistik olarak önemsiz çıkmıştır. Fe değerleri ise D2 grubunun değeri, D1 grubuna kıyasla yüksek, diğer gruplarla benzer bulunmuştur. D1 grubunda farelerin suyuna kitosan ilave edilmesi karaciğer Fe düzeyini azaltmıştır. Bazı karaciğer iz element düzeyleri Tablo 4.8.' da verilmiştir.

**Tablo 4.8.** Bazı karaciğer iz element düzeyleri /ppm

|    | K                                 | D1                               | D2                               | D3                                | D4                                | P     |
|----|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|
| Cu | 0,0051 $\pm$ 0,0003               | 0,0045 $\pm$ 0,0004              | 0,0071 $\pm$ 0,0022              | 0,0048 $\pm$ 0,0001               | 0,0046 $\pm$ 0,0002               | 0,351 |
| Zn | 0,0130 $\pm$ 0,0009               | 0,0165 $\pm$ 0,0015              | 0,0215 $\pm$ 0,003               | 0,0165 $\pm$ 0,0007               | 0,0161 $\pm$ 0,0010               | 0,056 |
| Fe | 0,1636 $\pm$ 0,0123 <sup>ab</sup> | 0,1221 $\pm$ 0,0077 <sup>b</sup> | 0,1918 $\pm$ 0,0065 <sup>a</sup> | 0,1628 $\pm$ 0,0084 <sup>ab</sup> | 0,1565 $\pm$ 0,0261 <sup>ab</sup> | 0,035 |

n=6, K= kontrol, D1=60mg/l kitosan, D2= 2ppm Cu, D3=kitosan+ 2ppm Cu, D4=kitosan+ 4ppm Cu.

## 5. TARTIŞMA

Deneme süresince GYT kontrol ve deneme gruplarında sırasıyla 6,76 ; 5,87 ; 6,69 ; 6,99 ve 7,02 g olarak hesaplanmıştır ( Tablo 4.4.). Rakamsal olarak ortalama yem tüketiminin en yüksek olduğu grup D4, en düşük olduğu grup D1 olduğu belirlenmiştir. Yem tüketimini suyuna sadece kitosan katılan gruba kıyasla, kitosan ve 4 ppm bakır katılan grupta %19,59 artmıştır. Bu çalışmada grup yemlemesi yapıldığı için istatistiksel analiz yapılamadığından yemden yararlanma oranı açısından gruplar arasında farklılık olup olmadığı değerlendirilememiştir.

Zanetti ve ark., (1991), etlik piliç rasyalarına 5, 10 ve 20 mg/kg Cu katarak yaptıkları çalışmada, yem tüketimi bakımından gruplar arasında farklılık tespit edilmezken; Miles ve ark., (1998), etlik piliç rasyonlarına 0, 150, 300 ve 450 ppm düzeyinde Cu katarak yaptıkları çalışmada, bakır düzeyi arttıkça yem tüketiminin önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise Zannetti ve Miles'in çalışmalarının aksine suya bakır katılması rakamsal olarak yem tüketimini arttırmıştır.

Deneme sonunda alınan kanların bazı hematolojik değerleri Tablo 4.6.'da verilmiştir. Yapılan kan analizlerinden sadece RDWc değerinde gruplar arasındaki önemlilik bulunmuştur. RDWc alyuvarların hacim değişkenliklerini ölçer. Alyuvarların hacminin birbirinden çok farklı olması RDWc yüksekliği demektir. RDWc değerinin yüksek olmasının birçok nedeni vardır. Bunlardan bir de demir eksikliğidir. Bu çalışmada RDWc değeri sonuçları ile karaciğer Fe değerleri sonuçları paraleldir. RDWc değeri dışında kan parametrelerinde gruplar arasında fark gözlenmemiştir.

Deneme sonunda alınan kanda, serum biyokimyasal analizden glikoz ve kolesterol değerleri Tablo 4.7.'de verilmiştir. Denememizde suyuna sadece 2ppm bakır ilave edilen grupta kolesterol düzeyi kontrol grubu ve diğer gruplara oranla daha yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızın bulgularıyla uyumlu olarak, Lim ve ark., (2006) broiler rasyonlarına bakır (Cu) şelat katkısının (metiyonin, kitosan ve maya) karaciğerdeki Cu içeriğinin Met-Cu grubunda en yüksek seviyede olduğu (39,0 mg/kg) bulunmuştur. Cu

şelatı ilavesinin, toplam kolesterol seviyesini azaltma eğiliminde olduğunu bulmuşlardır.

Çalışmamızın bulgularından farklı olarak, Azman ve ark.,(2005) yaptığı araştırmada etlik piliç rasyonlarına iki farklı düzeyde (125 ve 250 ppm) katılan bakır sülfatın ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) kolesterol değerinde gruplar arasında farklılık oluşturmadığını belirtmişlerdir.

Hayashi ve ark., (2002) diyabetik farelerde yaptığı çalışmada düşük molekül ağırlıklı (LMW) kitosanın, erkek ICR farelerinde düşük dozda (100 mg / kg, i.p.) uygulanmasının, kan glikozu, aşırı su içme ve poliüriyi azaltıcı etkide olduğunu bildirmişlerdir. Bu bulgular çalışmamızın kan glikozu ve su tüketimi değerleriyle farklılık göstermektedir.

Sitasawad ve ark., (2000) STZ-diyabetik farelere (IDDM) Bakır sülfat takviyesinin etkilerini araştırmışlardır. Bakır sülfat verilen grubun, kan glikoz seviyelerinin diğer grup/gruplara göre önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Bu bulgular çalışmamızdaki bulgular ile uyum göstermektedir.

Deneme sonunda alınan karaciğerlerde Cu, Fe, Zn, Mn ve Co elementlerin ölçümü yapılmıştır. Analiz sonuçları Tablo 4.8. 'de verilmiştir. Mn ve Co değeri ölçüm hassasiyetinin altında kaldığı için ölçümü yapılamamıştır. Cu ve Zn değerleri gruplar arasında istatistik olarak önemsiz çıkmıştır. Fe değerleri ise D2 grubunun değeri (0,1918 ppm), D1 grubuna kıyasla yüksek (0,1221 ppm), diğer gruplar benzer bulunmuştur. D1 grubunda farelerin suyuna kitosan ilave edilmesi karaciğer Fe düzeyini azaltmıştır.

Zeng ve ark., (2008) yürüttükleri bir araştırmada farelerin yemelerine farklı molekül ağırlıklı ve deasetilasyon derecesine sahip diyet tipi kitosan örnekleri (yüksek, orta ve düşük molekül ağırlıklı kitosan tipleri) % 1.05 seviyesinde katılarak 90 gün boyunca bu yemler ile beslenmiştir. Test edilen farelerde orta molekül ağırlıklı kitosan böbrek ve karaciğerde Fe (karaciğer:167,7; böbrek:151,5  $\mu\text{g/g}$ ), Zn (karaciğer:54,81; böbrek:25,59  $\mu\text{g/g}$ ) ve Cu (karaciğer:5,44; böbrek:4,90  $\mu\text{g/g}$ ) seviyesini anlamlı olarak arttırmış, ancak karaciğerde, dalakta, ve kalpte Fe, Zn ve Cu düzeyleri üzerinde diğer kitosan numunelerinin bir etkisi olmamıştır. Bu nedenle, kitosanın yeme katılmasının farelerde Fe, Zn ve Cu seviyesini etkilemediği sonucuna varıldığı

bildirilmiştir. Wang ve ark., (2014) oral olarak uygulanan hidroksipropil kitosanın farelerde demir, bakır, çinko ve kalsiyum düzeyleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Kitosan numunesi (HPCS)'nin, test edilen farelerin karaciğerlerinde ve kalplerinde Fe, Cu, Zn ve Ca seviyeleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Bu bulgular çalışmamızın bulgularıyla farklılık göstermektedir.

Farelerin sularına değişik oranlarda katılan kitosan ve bakırın deneme grupları arasında karaciğerdeki bazı değerler, bazı kan parametreleri, canlı ağırlık, yem tüketimi ve su tüketimi üzerine etkilerini tespit etmek üzere yapılan bu çalışmada, canlı ağırlık, yem tüketimi, su tüketimi, RDWc değeri dışında hematoloji değerleri, karaciğer Cu ve Zn değeri istatistik anlamda önemlilik bulunmamıştır. Ancak RDWc değeri, kan glikozu, kolesterol ve karaciğer Fe değerinin gruplar arasında istatistik anlamda önemli derecede farklı olduğu bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak farelerin sularına 60 mg/l dozunda kitosan ve 2-4 ppm bakır katılmasının, karaciğerdeki Cu ve Zn düzeyleri üzerine etkisi görülmezken, Fe düzeyinde azalmaya sebep olmuş ancak bu etki kitosanla beraber 2ppm ve 4ppm Cu verildiğinde ortadan kalkmış olduğu tespit edilmiştir. Özellikle kitosanın solusyon halinde içme suyuna katılması şeklinde kullanımının etkileri ile ilgili daha çok çalışma yapılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Anonim (2019).** *Kitin ve Kitosan Nedir?.* <http://www.adaga.com.tr/kitin-ve-kitosan-nedir/> (Erişim tarihi:17.10.2019)
- Aksu E (2018).** *Kahramanmaraş merkez ilçelerindeki koyunlarda demir , bakır ve çinko kahramanmaraş merkez ilçelerindeki.* Harran Üniversitesi,Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- AOAC (2000).** *Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists.* 17. Baskı, Gaithersburg: MD, USA. Methods
- Azman MA, Yılmaz M (2005).** Etlik piliç rasyonlarına katılan bakır sulfat'ın performans ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *Doğu Anadolu bölgesi Araştırmaları*, **4**, 23-26.
- Bahadır A,Yıldız H (2008).** *Veteriner Anatomi.* 2. Baskı, İstanbul: Bilge Yayıncılık Eğitim Sağlık Hizmetleri Anonim Şirketi, s:241.
- Bissig KB, Honer M, Zimmermann K, Summer, KH, Solioz M(2005).** Whole animal copper flux assessed by positron emission tomography in the long–evans cinnamon rat a feasibility study. *Biometals*, **18**, 83–88.
- Bostan K, Aldemir T, Aydın A (2007).** Chitosan and its antimicrobial activity. *Türk Mikrobiyol Cem. Derg.* **37(2)**, 118–27.
- Bulut M (2006).** *Erişkin fare karaciğeri üzerine bakır asetatın histopatolojik etkisinin araştırılması.* Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Chonan O, Matsumoto K, Matanuki M (1995).** Effect of galactooligosaccharides on calcium absorption and preventing bone loss in ovariectomized rats. *Biosci. Biotech. Biochem.*,**59**,236-239.
- Chonan O, Takahashi R, Yasui H, Watanuki M (1996).** Effects of  $\beta$  1  $\rightarrow$  4 linked galactooligosaccharides on use of magnesium and calcification of the kidney and heart in rats fed excess dietary phosphorus and calcium. *Biosci. Biotech. Biochem.*,**60**, 1735-1737.
- Clarke HE, Coaes ME, Eva JK, Ford DJ, Milner CK, O'Donoghue PN, Scott PP, Ward RJ (1977).** Dietary standards for laboratory animals: report of the laboratory animals centre diets advisory committee. *Laboratory Animals*,**11**, 1–28.
- Das S K, Ray K (2006).** Wilson's disease: an update. *Nat Clin Pract Neurol*, **2(9)**,482-493.
- Demirsoy A (1996).** *Yaşamın Temel Kuralları. Genel Biyoloji.* 7. Baskı, Ankara: Meteksan Matbaacılık ve Teknik Sanayi Anonim Şirketi, s:91- 93.
- Duman SS, Şenel S (2004).** Kitosan ve veteriner alandaki uygulamaları. *Veteriner*

*Cerrahi Dergisi*,**10**, 62-72.

**Dursun N (1994).** *Veteriner Anatomi II*. 1. Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s:63-69.

**Erbengi T (1985).** *Histoloji* 2.1. Basım, İstanbul: Beta Basım Yayın Ananım Şirketi, s: 98-111.

**Fawcett DW, Ronald JP (2002).** *Concise Histology*. 2. Baskı, A Hodder Arnold Publication, Newyork, s:679-680.

**Ferenci P (2004).** Pathophysiology and clinical features of wilson disease. *Me- Tab Brain Dis.* **19(3-4)**, 229-39.

**Gaetke LM, Chow CK (2003).** Copper toxicity, oxidative streses, and antioxidant nutrients. *Toxicology*, **189**, 147-163.

**Gerberdin LJ (2004).** *Toxicological profile for copper*. U.S. Department Of Health And Human Services, Atlanta, Georgia.

**Hayashi K, Ito M (2002).** Antidiabetic action of low molecular weight chitosan in genetically obese diabetic KK-Ay mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **25(2)**, 188–192.

**Heijnen MP, Brink J, Lemmens G, Beynen A (1993).** Ileal ph and apparent absorption of magnesium in rats fed on diets containing either lactose or lactulose. *British Journal of Nutrition*,**70**, 747-756.

**Hyun C, Filippich LJ (2004).** Inherited copper toxicosis with emphasis on copper toxicosis in bedlington terriers. *J. Anim. Sci.*, **43**, 39-64.

**İde T (2003).** *Principles of Laboratory Animal Science*. Editör: L.F.M. van Zutphen, V. Baumans A.C. Beynen, Ankara: Özkan Matbaacılık LTD. ŞTİ.,19-31.

**Jungueria CL, Carneiro J, Kelley RO (1998).** *Basic Histology*. İstanbul:Barış Kitabevi, 307-322.

**Kabak BY (2010).** *Ratlarda deneysel bakır zehirlenmesinde patolojik ve immunohistokimyasal çalışmalar*. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

**Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss LM (1997).** Clinical biochemistry of domestic animals. *Can. Vet. J.*, **39**, 36-37.

**Kara C, Cihan H, Temizel M, Catik S, Meral Y, Orman A, Yilbar A, Gencoglu H (2015).** Effects of supplemental mannanoligosaccharides on growth performance, faecal characteristics and health in dairy calves. *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, **28(11)**, 1599–1605.

**Kashimura J, Kimura M, Itokawa Y (1996a).** The effects of isomaltulose-based oligomers feeding and calcium deficiency on mineral retention in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*,**42**, 69-76.

**Kashimura J, Kimura M, Itokawa Y (1996b).** The effects of Isomaltulose , isomalt , and isomaltulose-based oligomers on mineral absorption and retention. *Biological Trace Element Research*, **54**, 239-250.

**Kaya S, Pirinçci İ, Bilgili A (2002).** *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*. 2.Baskı, Ankara: Medisan Yayınevi, s:45-47.

**Keen CL, Lonnerdal B, Fisher GL (1981).** Age-related variations in hepatic iron, copper, zinc and selenium concentrations in beagles. *J. Vet Res.*, **42(11)**, 1884-1887.

**Keser O, Bilal T (2010).** Kitosan oligosakkaritin hayvan beslenmede kullanımı 11-antiolsidan, antimikrobiyal ve diğer etkileri.*Lalahan Hay. Araşt. Enst. Derg.*, **50(1)**, 41-52.

**Kılıç D (2004).** Antibiyotik kullanımı ve direnç. *Flora*, **9(1)**, 29–36.

**Kılınç F, Çakır İ, Erkut F, Ersoy A, Acet M (1998).** *Anatomi- Fizyoloji*. 1. Baskı, Kütahya:176-177.

**Koide SS (1998).** Chitin -chitosan: properties, benefits and risks. *Nutrition Research* **18(6)**, 1091–1101.

**Kubat WD, Josph BS, Prohaska R (1996).** Copper Status and Ascorbic Acid Concentrations in Rats. *Nutrition Research*, **16(2)**, 237-243.

**Küçükaslan İ (2011).** İz elementler ve ineklerde reproduktif açıdan önemi. *Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **1(4)**, 26–35.

**Langner C, Denk H (2004).** Wilson disease. *Virchows Arch.* **445(2)**, 111-118.

**Lim HS, Paik KI, Sohn TI, Kim WY (2006).** Effects of supplementary copper chelates in the form of methionine, chitosan and yeast on the performance of broilers. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **19(9)**, 1322–1327.

**Liu J, Chen X, Shao Z, Zhou P (2003).** Preparation and characterization of chitosan / Cu ( II ) affinity membrane for urea adsorption. *J. Appl. Polym. Sci.*, **90**, 1108-1112.

**Lopez HW, Coudray C, Demigne C, Remesy C (2000).** Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. *J. Nutr. Biochem.*, **11**, 500–508.

**Lutsenko S, Barnes NL, Bartee MY, Dmitriev OY (2007).** Function and regulation of human copper-transporting ATPases. *Physiological Reviews*, **87**, 1011–1046.

**Miles RD, O'keefe SF, Henry PR, Ammerman CB, Luo XG (1998).** The effect of dietary supplementation with copper sulfate or tribasic copper chloride on broiler performance , *Poultry Science*, **77**, 416–425.

**Milli HÜ, Hazıroğlu R (1997).** *Veteriner Patoloji*. Ankara: Medipres yayınevi, s: 143.

**Morohashi T, Sano T, Ohta A, Yamada S (1998).** True calcium absorption in the intestine is enhanced by fructooligosaccharide feeding in rats. *American Society for Nutritional Sciences*, **98**, 1815–1818.

**Özdemir Z (2014).** Kitin; kitosanın fonksiyonel özellikleri ve kullanım alanları. *Türkiye İkmıya Derneđi*, 104-117.

**Pena MMO (1999).** A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution. *J. Nutr.*, **129**, 1251-1260.

**Poonam P, Agrawal IS (2001).** Nutrient utilization and growth response in crossbred calves fed antibiotic and probiotic supplemented diets. *Indian J. Anim. Nutr.*, **18** (1), 15–18 .

**Saruhan GB, Dereli S (2016).** Deney hayvanlarının beslenme, barınma ve üremesi.” *Dicle Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **1**(3), 16–21.

**Sitasawad S, Deshpande M, Katdare M, Tirth S, Parab P (2001).** Beneficial effect of supplementation with copper sulfate on STZ-diabetic mice (IDDM). *Diabetes Research and Clinical Practice*, **52**(2), 77–84.

**Solomon EP (1999).** *İnsan Anatomisi ve Fizyolojisine Giriş*. 2. Baskı, İstanbul: Birol Basın Yayın Dağıtım ve Ticaret Ltd. Şti., 218-222.

**Sun F, Hamagawa E, Tsutsui C (2001).** Evalutaion of oxidative stres durinh apoptosis and necrosis caused by carbon tetrachloride in rat liver. *Biochimica at Biophysica Acta*, **1535**(2), 186–191.

**Tanyolaç J, Tanyolaç T (2000).** *Genel Zooloji*. 6. Baskı, Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, s: 412.

**Tapiero H, Townsend DM, Tew KD (2003).** Trace elements in human physiology and pathology. copper, *Biomed Pharmacother*, **57**(9), 386–398.

**Wang H, Weit W, Wang NP (2005).** Melatonin ameliorates carbon tetracholoride-induced hepatic fibrogenesis in rats via inhibition of oxidative stress. *Life Science*, **77**, 1902-1915.

**Wang RM, He NP, Song PF, He YF, Ding L, Lei ZQ (2008).** Preparation of nano-chitosan schiff-base copper complexes and their anticancer activity. *Polym. Adv. Technol.*, **20**, 956–964.

**Wang Z, Yan Y, Jiang Y, Li W, Hu X, Fu B (2014).** Effect of orally administered hydroxypropyl chitosan on the levels of iron, copper, zinc and calcium in mice. *Int. J. Biol. Macromol.*, **64**, 25–29.

**Wijmenga C, Klomp LWJ (2004).** Molecular regulation of copper excretion in the liver. *Proc. Nutr. Soc.*, **63**, 31–39.

**Yıldırım Z, Öncül N, Yıldırım M (2016).** Kitosan ve antimikrobiyal özellikleri.

*NGÜ Müh. Bilim. Derg.*, **5(1)**, 19–36.

**Zanetti MA, Henry PR, Ammerman CB, Miles RD (1991).** Estimation of the relative bioavailability of copper sources in chicks fed on conventional dietary amounts. *Br. Poult. Sci.*, **32**, 583–588.

**Zeng L, Qin C, He G, Wang W, Li W, Xu D (2008).** Effect of dietary chitosans on trace iron, copper and zinc in mice. *Carbohydrate Polymers*, **74(2)**, 279–82.

**Zietz, BP, Dieter HH, Lakomek M, Schneider H, Gaedtke BK, Dunkelberg H (2003).** Epidemiological investigation on chronic copper toxicity to children exposed via the public drinking water supply. *Sci. Total Environ.*, **302**, 127-144.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Sasil EFECAN  
Doğum Yeri ve Yılı : Van/ 30.07.1992  
Medeni Hali : Bekar  
Yabancı Dili : İngilizce  
Uyruğu : T.C.  
İletişim Adresi : Bozkurt Mah. Toki Evleri /  
Burdur



### Eğitim Durumu ( Kurum ve Yıl)

Lisans : Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi (2010-2016)

Yüksek Lisans: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,  
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı (2016-Devam ediyor )

### Çalıştığı Kurum/ Kurumlar ve Yıl( Mesleki Deneyim):

1. Tefenni Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi (2019-2020)
2. Gençlik ve Spor Bakanlığı Gençlik Lideri 2019- Devam ediyor.