

Hayvan Beslemede Doğal Koruyucular ve Etki Mekanizmaları

Hasan Hüseyin İPÇAK*, Sema ÖZÜRET MEN, Hülya ÖZELÇAM, Hayrullah Bora ÜNLÜ

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 35100, Bornova, İzmir

*İletişim (correspondence): e-posta: huseyinipcak@gmail.com

Gönderim tarihi (Received): 14 Temmuz 2017; Kabul tarihi (Accepted): 7 Eylül 2017

Öz

Çiftlik hayvanlarının beslenmesinde büyüme uyarıcı olarak kullanılan antibiyotiklerin yasaklanması ile son yıllarda araştırmacılar, antibiyotiklerin kullanımı sırasında yaşanan gelişmeleri sürdürebilmek ve oluşabilecek olumsuzlukları gidermek için alternatif doğal ve güvenilir ürün arayışına girmişlerdir. Nitekim günümüzde hayvansal, bitkisel ve mikrobiyel kökenli olan antimikrobiyel özellik gösteren organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin kullanım potansiyelleri giderek arttığı görülmektedir. Bu doğal koruyucularla ilgili besleme çalışmaları incelendiğinde ise yem katkısı olarak kullanılabilmesi için daha fazla *in vivo* çalışmalarla desteklenmeleri ve minimum etkin konsantrasyonlarının, kendi içlerinde ya da diğer katkılarla sinerjik/antagonistik etkilerinin, antibiyotiklere benzer direnç geliştirme olasılıkları ile ekonomik yararlılıklarının neler olduğu gibi pratikte karşılaşılması muhtemel sorunların tam olarak açığa kavuşturulması gerekmektedir. Bu derlemenin amacı, organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin etki mekanizmaları hakkında tanımlayıcı bilgiler vermek ve bunlarla ilgili şimdiye kadar hayvan beslemede yapılan çalışmaları incelemektir.

Anahtar kelimeler: Organik asit, esansiyel yağ, bakteriyosinler, alternatif, antimikrobiyel

Natural Preservatives and Mechanisms of Action on Animal Nutrition

Abstract

In recent years, the prohibition of antibiotics used as growth promoters in the nutrition of farm animals, has forced researchers to seek alternative natural and sustainable sources. As a matter of fact, the potentials of use of organic acids, essential oils and bacteriocins showing antimicrobial properties which are of animal, plant and microbial origin nowadays are being increased. Where feeding studies on these natural preservatives have been reviewed, in order for use as feed supplements; supported by more *in vivo* studies. and the synergistic / antagonistic effects of the minimum effective concentrations, either within themselves or with other contributions, need to be fully clarified to address possible practical problems such as resistance development possibilities similar to antibiotics and what economic benefits are. The purpose of this review is to provide descriptive information on the mechanisms of action of organic acids, essential oils and bacteriocins and to examine the studies carried out in animal nutrition up to now.

Keywords: Organic acid, essential oil, bacteriocins, alternative, antimicrobial

Giriş

Hayvan beslemede büyüme ve gelişimi etkileyen en önemli unsurlardan biri sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmaların varlığıdır. Uzun yıllar ticari işletmelerde bu mikroorganizmaların kolonizasyonunu engellemek, bağışıklık sistemini güçlendirmek ve performansı iyileştirmek amacıyla yem katkı maddelerinden yararlanılmıştır (Islam et al., 2008). Bu bağlamda 2006 yılına kadar, karma yemlerde kullanılan antibiyotikler, çiftlik hayvanlarının beslenmesinde en çok kullanılan katkı maddesi olmuştur. Ancak zaman içinde patojen mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı çapraz direnç geliştirdiğinin anlaşılması ile antibiyotiklerin büyüme faktörü olarak hayvan beslemede kullanımı AB tarafından yasaklanmıştır (Joerger, 2003; Can ve

Çelik, 2008). AB ülkeleri başta olmak üzere, dünyanın birçok yerinde olduğu gibi ülkemizde de antibiyotik kullanımı konusunda paralel kararlar alınmış ve bunların karma yemlerden çıkarıldığında verimin devamının sağlanabilmesi için doğal, güvenilir ve kalıntı bırakmayan alternatif ürünler araştırılmaya başlanmıştır. Bu bağlamda, organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinler hayvan beslemede kullanımı en çok araştırılan doğal koruyucular olarak karşımıza çıkmaktadır.

Organik asitler ve tuzları, yemlerde küf gelişimini engelleyen, yem ve yem hammaddelerinin depolama sürelerini uzatan, sindirim ve emilime yardımcı olan bileşiklerdir. Bu bileşikler antimikrobiyel etkilerini, mide/bağırsak içeriğini veya ilave edildikleri yemlerin pH'sını düşürerek bazik ortamda yaşayan

zararlı mikroorganizmaların gelişimini inhibe etme yoluyla gösterirler (Dibner and Buttin, 2002). İlk kez İsveçli bilim adamı Paracelsus von Hohenheim'in ilaçların etken bileşimini "Quinta essentia" olarak tanımlamasıyla ortaya çıkan esansiyel yağlar ise, mikrobiyel hücre membranları ile etkileşime girebilen ve gram pozitif ya da gram negatif bakterilerin gelişimini engelleyen doğal bileşiklerdir (Bassolé and Juliani, 2012). Günümüzde çiftlik hayvanlarının bağırsak mikroflorası üzerine bıraktığı etkiler doğrultusunda esansiyel yağların antibiyotiklere alternatif olup olmayacağı tartışılmaktadır. Yapılan bir araştırmada esansiyel yağların etkisinin ortamın pH'ına bağlı olarak değişim gösterdiği ve organik asitlerde olduğu gibi düşük pH'da daha kararlı hale gelerek hidrofobisitesinin ve dolayısıyla antimikrobiyel aktivitenin arttığı bildirilmiştir (Cardozo et al., 2005). Varlığı eskiden beri bilinen ancak önemi son yıllarda daha iyi anlaşılan antimikrobiyellerden bir diğeri de bakteriyosinlerdir. Laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen bakteriyosinlerin GRAS (Generally Recognized As Safe) olması, hayvan beslemede güvenle kullanılabilmesini göstermektedir. Bu yüzden, düşük konsantrasyonlarda yemlerde koruyucu ya da büyüme uyarıcı olarak kullanılabilmesi (Parada et al., 2007) ve ticarileşmesi halinde hayvan beslemede geniş bir kullanım alanına sahip olabileceği öngörülmektedir (Bemena et al., 2014).

Antibiyotiğe alternatif olduğu düşünülen organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerle ilgili yürütülen mikrobiyolojik çalışmalarda, bağırsak ve dışkıda kolonileşen *E.coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi türlerin gelişimini engelledikleri saptanmıştır (Friedman, 2002; Marciňáková et al., 2005; Jothi et al., 2012; Menconi et al., 2013). Bu derlemenin amacı, organik asitler, esansiyel yağlar ve bakteriyosinleri tanımlamak, etki mekanizmaları hakkında bilgi vermek ve hayvan beslemede yem katkı maddesi olarak kullanılabilirlik potansiyellerini irdelemektir.

Organik Asitler

Doğada saf halde bulunan veya fermantasyon sonucu açığa çıkan organik asitler; laktik, sitrik, malik asit gibi genellikle karboksil grubuna (-COOH) dahil yağ asitleri ile Ca-format, Ca-propionat gibi tuz formlarından oluşan bileşikleridir. Karma yem sanayide özellikle peletleme aşamasındaki

sıcaklığın etkisiyle, organik asitlerde oluşabilecek bozulmaları önlemek ve etkinliklerini artırmak amacıyla karmalara, doğal organik asitler yerine daha az koku ve uçucu olan tuz formları dahil edilmektedir. Yeme veya suya ilave edilerek kullanılan organik asitler, çözünmeyen kısımları ile antibakteriyel etki göstermektedirler. Bu nedenle, organik asitlerin etkinliği ve gücü ayrışma sabiti olan pKa değerine bağlı olup, bu değer düşüktüçe asidin çözünmemesi miktarı, dolayısıyla antimikrobiyel etkinliği artmaktadır. Kullanılan asidin zincir uzunluğu, doymuşluk derecesi, ortam mikroflorası (rumen veya bağırsak), bakteri türü gibi kimyasal ve çevresel faktörler de organik asitlerin kuvvetli ya da zayıf etki göstermelerine sebep olmaktadır (Ricke, 2003; Theobald, 2015; Mirza et al., 2016). Organik asitler, etki şekillerine göre iki grupta kategorize edilirler. Buna göre, laktik, fumarik, sitrik asidin dahil olduğu I. grup midede pH'yı düşürerek aside karşı duyarlı bakteri popülasyonunu azaltıp indirekt yoldan karakterize olmaktadır. Formik, asetik, propiyonik ve sorbik asidin dahil olduğu II. grup ise, Gram (-) bakterilerin hücre çeperinden içeri girme ve hücre içi pH'yı düşürme suretiyle direk bakteri üzerinde etki göstermektedirler (Papatsiros et al., 2013).

Organik Asitlerin Etki Mekanizması

Organik asitler antimikrobiyel etkinliklerini çözünmeyen lipofilik kısımları ile sergilemekte ve *Salmonella* gibi Gram (-) bakterilerin hücre zarından kolayca geçebilmektedirler. Dolayısıyla asit, kendinden yüksek pH ortamına sahip hedef hücreye girdikten sonra ayrışmaya, H⁺ iyonlarını serbest bırakarak ortamın pH'sını düşürmeye başlamaktadır. Hücre ise düşük pH'da normal aktivite gösterememekte H⁺-ATPaz aracılığıyla fazla protonu çıkarmaya ve hücre içi pH'ı yeniden dengelemeye çalışmaktadır. Bu esnada yüksek düzeyde enerji harcanır ve hücrede asit anyonları birikir. Hücrenin uzun süre organik aside maruz kalması, enerji yetersizliği ve anyon birikimi sonucu ölümüne neden olmaktadır (Lückstädt and Mellor, 2011). Bu etki mekanizmasıyla, mikroorganizma popülasyonunu dengeleme, proteolitik enzim aktivitesini ve yemin sindirimini arttırma, pankreas sekresyonunu düzenleme gibi etkiler göstermektedirler (Papatsiros et al., 2013).

Esansiyel Yağlar

Esansiyel yağlar, aromatik bitkilerin dal, yaprak, çiçek, meyve, kök, kabuk gibi organlarından savunma anında salgıladıkları antibakteriyel, antiviral, antifungusit etkili, hoş kokulu, oda sıcaklığında uçucu ve farklı konsantrasyonlarda 20-60 arası bileşik içerebilen doğal karışımlardır (Bakkali et al., 2008). Düşük pH, sıcaklık ve az O₂ miktarı esansiyel yağların aktivitesini arttırmaktadır (Burt, 2004). Çoğu GRAS olarak tanımlandığı için (Anonymus, 2016) lezzet, koku ve koruyucu olarak gıda, kozmetik gibi endüstriyel alanlarda değerlendirilirken, alternatif tıpta da sıklıkla kullanılmaktadır. Esansiyel yağların hayvan beslemede değerlendirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda ise, yemden yararlanmayı iyileştirici, sindirim enzimlerinin salınımını uyarıcı, mide ve bağırsaklardaki emilimi arttırıcı, antimikrobiyel, antiparazit, antiviral, antioksidan gibi etkilerinin saptandığı ve bu yönleriyle antibiyotiklere alternatif olabileceği bildirilmektedir.

Esansiyel Yağların Etki Mekanizması

Esansiyel yağların hedef hücre üzerindeki etkileri, çoğunlukla hücre zarı ve sitoplazmasında meydana getirdikleri değişimlerle ortaya çıkmaktadır. Bu durum, esansiyel yağın antimikrobiyel yıkım gücüne, hidrofobitesine (su geçirmezlik kapasitesi) ve hedef hücrenin yapısına bağlıdır. Esansiyel yağlar, Gram (+) bakterilere kolayca nüfuz ederken, Gram (-) bakterilerin hücre zarındaki yapısal farklılıktan dolayı daha az etki göstermektedir. Bu farklılık; Gram (+) bakterilerin hücre çeperi, hidrofobik moleküllerin hücreye girişini kolaylaştıran peptidoglukan yapıları bir tabakadan oluşması, Gram (-) bakterilerde ise bu zarın ince bir katman halinde bulunması ve etrafı hücreye nüfuzu zorlaştıran lipopolisakkarit yapılı ikinci bir zar ile çevrelenmiş olmasından kaynaklanmaktadır (Bakkali et al., 2008; Paiva et al., 2010; Nazzaro et al., 2013).

Esansiyel yağlarda birden fazla bileşik bulunması, antibakteriyel aktivitelerinin de spesifik bir mekanizmaya bağlı olmadığını düşündürmektedir. Bununla beraber, etki mekanizmasının hücre çeperi ve sitoplazmik zarın yapısını bozma, zar geçirgenliğini artırma ve hücre içi bileşenlerini sızdırma üzerine olduğu gözlenmiştir. Esansiyel yağların hücre zarında geçirgenliği artırdığının ilk

belirtisi ise K⁺ iyonlarının sızıntısı ile görülmektedir. Sitoplazmik enzimlerin aktivasyonunda, ozmotik basıncın ayarlanmasında ve hücre içi pH'nın düzenlenmesinde rol oynayan K⁺ iyonlarının dağılması hücre içinde dengesizliğe yol açmakta, bu durum kısa bir süre tolere edilmesine rağmen, iyon çıkışının devam etmesi ve hücre içinin kontrolsüzce dışarı akmaya başlaması halinde, hücrenin ölümüne neden olmaktadır (Burt, 2004; Saad et al., 2013; Lopez-Romero et al., 2015).

Bakteriyosinler

Bakteriyosinler, bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyel peptidler veya aktif protein parçacıkları olarak tanımlanır. Doğadaki hemen hemen her bakterinin sentezlediği kendine özgü en az bir bakteriyosini bulunmaktadır. Bakteriyosinler dar spektrumlu olup genellikle aynı türden ve kendine yakın komşu bakterilere karşı toksik özellik göstermektedirler. Transport sistemi ve regülasyonu arasındaki farklılardan dolayı, Gram (+) bakterilerce sentezlenen bakteriyosinler, Gram (-) bakterilerce sentezlenenlere göre daha etkilidir (Egan et al., 2016; Riley and Wertz, 2002). Klaenhammer (1993), bakteriyosinleri molekül büyüklüğü, kimyasal yapısı, etki mekanizması ve ısı stabilitesi gibi özelliklerine göre sınıflandırmıştır (Ramu et al., 2015). Çizelge-1'de Gram (+) bakteriyosinlerin sınıflandırılması ve örnekleri verilmiştir.

Gram (-) bakteriler tarafından sentezlenen bakteriyosinler hakkında bilgiler sınırlı olup; bazı kaynaklarda kolisin ve mikrosin şeklinde iki sınıfa ayrıldığı görülmektedir. Mikrosinler, molekül ağırlığı, translasyon sonrası modifikasyona uğraması ve sülfid bağı içermesine göre iki sınıfta toplanır. Sınıf I (B17, C (C7-C51) ve J25) mikrosinleri, plazmidde kodlanan, 5 kDa molekülden daha düşük ağırlığa sahip ve translasyon sonrası modifikasyona uğrayan peptidlerdir. Sınıf II mikrosinleri ise 5-10 kDa molekül ağırlığındaki peptidleri içermekte olup iki alt sınıfa sahiptir. Sınıf IIa (L, V and N) mikrosinleri plazmidde kodlanan ve translasyon sonrası değişim geçirmeyen peptidlerdir. Bu sınıfa ait mikrosinler en çok iki sülfid bağı içermekte olup, bu bağlar peptidin üç boyutlu yapısında belirleyici rol oynamaktadır. Sınıf IIb (E492, M ve H47) mikrosinleri ise, kromozonlar tarafından kodlanan C-terminal modifikasyon taşıyan veya taşımayan doğrusal peptidlerdir (Rebuffat, 2012).

Çizelge 1. Bakteriyosinlerin sınıflandırılması

Grup	Yapısı	Karakteristiği	Örnek	Kaynak
Sınıf I (Lantibiyotikler) Sınıf Ia ve Sınıf Ib	<ul style="list-style-type: none"> • <5kDa moleküler ağırlıkta, • Globüler peptid, • Sınıf Ib yüksüz veya (-) yüke sahip 	<ul style="list-style-type: none"> • Post translasyonel modifikasyona uğrarlar • Katyonik, hidrofobik, bu yüzden hedef hücrede gözenek oluştururlar. 	Nisin, Mersacidin	Egan et al., 2016; López-Cuellar et al., 2016
Sınıf II Sınıf IIa, Sınıf IIb, Sınıf IIc	<ul style="list-style-type: none"> • Sınıf IIa 3-10 kDa; Sınıf IIb 25-65 kDa moleküler ağırlıkta, • N-terminal dizimi Tyr-Gly-Asn-Gly-Val, • N-terminalinin sonunda S-S bağları ile formüle edilmiş iki sistein vardır, • Isıya dayanıklı 	<ul style="list-style-type: none"> • Bu gruba ait bakteriyosinlerin aktivitesi için iki farklı peptid tamamlayıcı rol oynar. Peptidler bireysel olarak herhangi bir aktivite göstermez. 	Pediocin PA-1, Sakacin P, Leuococin A,	Nes et al., 1996; Martinis et al., 2002
Sınıf III	<ul style="list-style-type: none"> • >30 kDa moleküler ağırlıkta, • Isıya dayanıklı 		Helvecitin J, Helvecitin V-1829, Lactacin A ve B, Acidophilucin A	Riley and Wertz, 2002; Martinis et al., 2002
Sınıf IV	<ul style="list-style-type: none"> • Bu gruba giren bakteriyosinler hakkında bilgi çok sınırlıdır 	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivite için proteinle beraber bir veya daha fazla bileşiğe (lipid, karbonhidrat vb.) ihtiyaç duyarlar 	Leuconocin S, Lactocin 27	Riley and Wertz, 2002

Bakteriyosinlerin Etki Mekanizması

Bakteriyosinler ait oldukları sınıfa göre, hedef hücreye farklı yollarla etki edebilir. Buna göre, I. sınıf bakteriyosinler (lantibiyotikler), hücre zarı boşluklarından giremediklerinden, ABC taşıyıcı tarafından salındıktan sonra çeşitli enzimlerle aktive edilir ve bir taşıyıcı ile multimerik ortak membranlı kompleks oluştururlar (McAuliffe et al., 2001). Bu sınıfa ait bakteriyosinler, hücre çeperini oluşturan peptidoglukanların temel alt taşıyıcısı olan lipid II molekülüne bağlanır ve lipid II ile peptidoglukanın biyosentezini engelleyerek hücre çeperinde gözenekler oluştururlar. Oluşan porlardan hücre içi bileşenleri dışarı akarak hücre lizise uğratılır (Egan et al., 2016). Sınıf II bakteriyosinler ise, hücre zarında kimyasal ve elektriksel bir döngü olan proton motiv güç (PMG) üzerine etki ederler. Pediocin PA-1 ve bovericin gibi bakteriyosinler hücre zarından geçerken depolarizasyona yol açarak hücre ölümüne neden olurlar. Ayrıca hücrenin pH gradientini bozarak ve PMG'nü dağıtarak; çeperde gözenek oluşumu, iyon dengesini bozma, zar geçirgenliğini artırma ve inorganik fosfat yıkımına neden olma gibi etkilere de sahiptirler. Kolisinler, hedef hücrede zar geçirgenliğini artırma, sitoplazmada nükleaz aktivitesi oluşturma ve peptidoglukan sentezini inhibe etme yoluyla etki ederler. III. sınıftaki bakteriyosinler de direkt Gram (+) bakterilerin hücre duvarına etki ederek

hücre ölümüne neden olurlar. Mikrosinler ise truva atı denilen etki mekanizmasına sahiptir. Buna göre, demir siderofor kompleksi hedef hücrenin dış zar reseptörlerince tanımlanarak periplazmik boşluğa alınmaktadır. Böylece hücre içine alınan bakteriyosinler ya önemli enzimlere bağlanır ya da direkt toksik etki gösterir (Riley and Wertz, 2002; Rebuffat, 2012).

Organik Asit, Esansiyel Yağ ve Bakteriyosinlerin Kanatlı ve Ruminantlar Üzerine Etkileri

Günümüzde çoğu entansif işletmede sürdürülebilir hayvancılığın devamı için performansın iyileştirilmesi, bağışıklığın güçlendirilmesi ve sağlığın korunması amacıyla besleme alanında yem katkı maddelerinden yararlanılmaktadır. Çizelge-2'de bazı organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin kanatlılarda kullanımı ile ilgili çalışma sonuçları verilmiştir. Buna göre, söz konusu maddelerin bağırsakta patojenlerin gelişimini engellediği, yararlı bakterileri dominant hale getirdiği, bazı sindirim enzimlerinin salınımını uyararak yemden yararlanmayı iyileştirdiği saptanmıştır; çalışmaların formik, sitrik, asetik asit gibi organik asit; tarçın, kekik, zencefil gibi esansiyel yağ ile pediosin, nisin, divercin gibi laktik asit bakterilerinden sentezlenen bakteriyosinler üzerinde yoğunlaştığı ve yem katkı potansiyellerinin araştırıldığı görülmüştür.

Çizelge 2. Organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin kanatlıların performans ve immün sistemleri üzerine etkileri

	Etken Madde	Doz	Bulgular	Kaynak
ORGANİK ASİTLER	Formik asit + propiyonik asit + amonyum tuzları	% 0.5, 1 veya 1.5	Yumurtacı tavuklarda muamele grupları kontrole kıyasla yumurta üretimini arttırmış ve doz artışına bağlı olarak sadece %1 ve %1.5 ilaveli gruplarda kandaki albümin, ALT (alanin aminotransferaz) seviyesini düşürmüştür.	Yesilbag ve Çolpan, 2006
	Sitrik asit, asetik asit tek veya kombinasyonları	% 0.5	Etlik piliç karma yemlerine sitrik asit ilavesinin 0-5 haftalık periyot sonunda kontrole kıyasla canlı ağırlık artışını arttırdığı, yemden yararlanmayı iyileştirdiğini, fakat karkas özellikleri bakımından gruplar arasında fark olmadığını saptamışlardır.	Islam et al., 2008
	Asetik asit veya sitrik asit	% 0.25	Sitrik asit etlik piliçlerde yem tüketimini azaltmış, hem sitrik hem de asetik asit toplam ölüm oranını düşürmüştür.	Kopecký et al., 2012
	Asetik asit + sitrik asit + propiyonik asit karışımı	% 0.031 veya % 0.062	Dozla beraber hem yemde hem de dışkıdaki <i>Salmonella Typhimurium</i> 'un gelişimi üzerine negatif etkisi artmıştır.	Menconi et al., 2013
ESANSİYEL YAĞLAR	Tarçın, kekik yağı ve kombinasyonları		Tarçın ve kekik yağının <i>E.coli</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>S.enterica</i> bakterilerini; kombinasyonlarının ise <i>C.jejuni</i> gelişimini engelledikleri bildirilmiştir.	Friedman et al., 2002
	Organik asit (formik + laktik + sitrik asit), Probiyotik (<i>Lactobacillus</i> + <i>Bifidobacterium</i> + <i>Enterococcus</i>) ve esansiyel yağ karışımı (kekik + defne + adaçayı + mersin)	Organik asit 2.5g/kg, Probiyotik 1 g/kg, Esansiyel yağ karışımı 36 veya 48 mg/kg	Etlik piliç karma yemlerine ilave edilen esansiyel yağ karışımı, organik asit ve probiyotikler, performans ve karkas özelliklerini benzer şekilde etkilemiştir.	Alçıçek et al., 2004
	Biberiye ve kekik (Oregano) uçucu yağı tek veya çeşitli kombinasyonları	0.15 veya 0.30 g/kg	Omega-3 yağ asitlerince zenginleştirilmiş karma yemlere kekik-biberiye uçucu yağlarının kombine halinde kullanımı, tek kullanımlarına veya α -tokoferol asetat ilavesine göre et lipid oksidasyonunu önlemede daha etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca denemede kullanılan esansiyel yağlar arasında sinerjik etkinin olabileceği bildirilmiştir.	Basmacıoğlu et al., 2004
	Capsaicin (19.8 g/kg) + Cinnemaldehide (29.7 g/kg) + Carvacrol (49.5 g/kg)	100 mg/kg	Etlik piliçlerde ince bağırsakta <i>E.coli</i> , <i>C.perfringens</i> sayısını azaltmış, fungus ve <i>Lactobacillus</i> spp. sayısını artırmıştır. Ayrıca pankreas ve ince bağırsak duvarında lipaz aktivitesini artırmıştır.	Jamroz et al., 2005
	Carvacrol + Thymol (1:1)	200 mg/l	Muameleden 6 saat sonra <i>E.coli</i> bakteri kültüründe kolonilerin tamamı ölmüştür.	Xu et al., 2008
	Kişniş yağı	% 1	Yaz ayında karma yeme ilavesi etlik piliçlerde yem tüketimini artırmış, kanda kolesterol ve glikoz seviyelerini düşürmüştür.	Al-Mashhadani et al., 2011
	Kekik yağı, sarımsak yağı ve karışımları	300 mg/kg	Etlik piliçlerde karkas özelliklerini, göğüs ve but etlerinin kimyasal kompozisyonunu etkilemediği, MDA değerleri bakımından gruplar arasında fark olmadığını, ancak bazı duyuşsal özellikleri (koku, tat, genel görünüş) iyileştirdiğini ve bu esansiyel yağların veya kombinasyonlarının ticari olarak kullanım potansiyeli taşıdığını bildirmişlerdir.	Kırkpınar et al., 2014
BAKTERİYOSİNLER	<i>Pediococcus acidilactice</i> *	10 ⁹ kob/kg	Etlik piliçlerde serum lipitleri (kolesterol ve trigliserid) ve beyaz kan hücresi düşmüş, karkas randımanı artmıştır.	Chafai et al., 2007
	PediocinA sentezleyen <i>Pediococcus pentasacaus</i> kültürü	80 AU/g	Etlik piliçlerde <i>C.perfringens</i> 'e karşı bağışıklık sağlanmış ve performansı iyileştirmiştir.	Grilli et al., 2009
	<i>Lactobacillus</i> VJ15, <i>Lactobacillus</i> VJ32		Etlik piliçlerde canlı ağırlığı iyileştirmiş ve bağırsakta <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomona</i> spp., <i>E.coli</i> , <i>Bacillus</i> spp., <i>Salmonella</i> spp. gelişimini engellediğini bildirmişlerdir.	Jothi et al., 2012
	Divercin AS7	200 AU/g (0.2g/kg)	Etlik piliçlerde performans, bağırsak histomorfolojisi üzerine etkili bulunmuş; <i>C.perfringens</i> 'e karşı bağışıklık sağlamış ve <i>Salmonella</i> spp., <i>C.jejuni</i> , <i>Shigella flexneri</i> gelişimini engellemiştir.	Józefiak et al., 2012;

*Bakteriyosini sentezleyen bakterinin adı

Çizelge-3'te bazı organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin ruminantlarda kullanımı ile ilgili çalışma sonuçları verilmiştir. Buna göre, bu maddelerin kaba yem ve silajlarda iyi bir koruyucu olabileceği, selülozun sindirimine yardımcı olduğu ve CH₄ gazı üretimini azalttığı, buzağılarda rumen

gelişimini teşvik ettiği, rumen mikroflorasını ve yemden yararlanmayı iyileştirdiği görülmüştür. Ayrıca mastitise karşı koruyucu etkili olup antibiyotik yerine tedavi amaçlı kullanılacakları bildirilmiştir (Nascimento et al., 2005; Saraiva et al., 2014).

Çizelge 3. Organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin ruminantların performans ve immün sistemleri üzerine etkileri

	Etken Madde	Doz	Bulgular	Kaynak
ORGANİK ASİTLER	Formik asit	% 0.5	Kontrol grubuna göre NDF ve ADF içeriğini azaltmış ve mısır silajındaki asetik asit miktarını arttırmıştır.	Baytok ve Aksu, 2005
	İçerisinde benzoik ve propiyonik asit bulunan ticari bir organik asit karışımı	4 ml/kg-1	Karamba, yonca silajlarında maya ve fungus gelişimini engellemiş, laktik asidi artırmış, bütirik asidi düşürmüştür.	Selwet, 2006
	Sodyum bütirat	3, 5 veya 7 g/günlük	Buzağılarda rumen papilla uzunluğunu arttırmaya meyilli bulunmuştur.	Kato et al., 2011
	Sitrik asit +fosforik asit+laktik asit+bakır sülfat	0.5-1.0-1.5 ml/l su	Süt sığırlarında yem tüketimini arttırmış, süt kompozisyonunu iyileştirmiş ve sütte somatik hücre sayısını düşürmüştür.	Ali et al., 2013
ESANSİYEL YAĞLAR	Eugenol	0.3, 3, 30, 300 mg/L	Bitki ekstraktlarının ruminal fermantasyon üzerindeki etkilerinin rumen pH sına bağlı olarak değiştiği ve pH 7 e göre pH 5.5 te daha etkili oldukları bildirilmiştir.	Cardozo et al., 2005
	Carvacrol, cinnemaldehide	0.2 g/kg	Kullanılan etkilil maddelerin arpa veya mısır ağırlıklı rasyonlarla beslenen kuzularda rumen toplam uçucu yağ oranını arttırmaya meyilli olduğu fakat performans, karkas özellikleri ve et kalitesi üzerine etkilerinin olmadığı saptanmıştır.	Chaves et al., 2008
	Karanfil yağı	% 12.5, 25, 50	Tavuk, sığır ve domuz dışkısından izole edilen <i>E.coli</i> nin gelişimini negatif etkilediği gözlenmiştir. En iyi etki % 50 ilaveli grupta görülmüştür.	Poeloengan and Noor, 2009
	Anason, sedir ağacı, tarçın, okaliptüs ve çay ağacı yağı	125, 250, 500 mg/l	<i>In vitro</i> koşullarda kontrole göre, tüm yağlarda doza bağlı olmaksızın C18: 0 ve trans C18: 1 düzeylerini düşürdüğü, UYA asitleri üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca doza bağlı olmaksızın tüm yağlarda NH ₃ -N' u kontrole göre daha yüksek olduğu görülmüştür.	Gunal et al., 2014
BAKTERİYOSİNLER	<i>Enterococcus faecium</i> EF9296*		Silajda <i>Listeri spp.</i> 'nin gelişimini engellediği ve silaj katkısı olabileceği bildirilmiştir.	Marcináková et al., 2005
	<i>S. simulans</i> 3299*		Sığırlarda mastitisin önlenmesinde veya tedavisinde kullanılabilme potansiyeli olduğunu belirtmişlerdir.	Nascimento et al., 2005
	Nisin	2 mg/l	<i>In vitro</i> NH ₃ -N konsantrasyonunu düşürmüş, ruminal NH ₃ üretimini azaltmış ve N un yararlılığını arttırmıştır.	Oeztuerk et al., 2010
	Nisin Z		Mastitisli sığırlardan izole edilen <i>Staphylococcus aureus</i> suşlarının ve bazı patojenlerin gelişimini engellediğini bildirmişlerdir.	Saraiva et al., 2014

*Bakteriyosini sentezleyen bakterinin adı

Sonuç

Organik asit, esansiyel yağ ve bakteriyosinlerin kanatlı ve ruminantların beslenmesinde kullanımına yönelik araştırmalar her geçen gün artmaktadır. Yapılan çalışmalarda her üç katkı maddesinin de genellikle organizmada büyüme ve gelişmeyi uyarma, bağırsak mikroflorasını geliştirme, yemden yararlanmayı iyileştirme gibi performans ve immün sistem üzerine pozitif etkilerinin olduğu saptanmış fakat bu bileşiklerle ilgili standardizasyonun olmaması bunların pratikte kullanımında bazı sorunlarla karşılaşılmasına neden olmuştur. Diğer yandan, söz konusu bu üç bileşiğin de antimikrobiyel gücünün hücreyi deforme etme ya da direkt öldürme üzerinde etkili olduğu ancak hücreye girişleri ile hücre fonksiyonunu bozma yollarında bazı farklılıkların bulunduğu söylenebilir. Sonuç olarak, bu bileşiklerin etki mekanizmalarının daha iyi açıklanmasıyla gerek hayvan beslemede gerekse hayvansal ürünlerin işlenmesinde antibiyotiklere alternatif olabileceği öngörülmektedir. Ayrıca kanatlı ve ruminantlarda performans iyileştirici, bağışıklık sistemini destekleyici en etkin konsantrasyonların belirlenmesi ve yine canlılar üzerinde direnç geliştirme olasılıkları ile kalıntı bırakma risklerinin saptanması için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

- Alçiçek A., Bozkurt M., Çabuk M., 2004. The effect of a mixture of herbal essential oils, an organic acid or a probiotic on broiler performance. South African J of Anim Sci, 34 (4) 217-222.
- Al-Mashhadani, E.H., Al-Jaff, F.K., Hamodi, S.J., Al-Mashhadani, H.E. 2011. Effect of different levels of coriander oil on broiler performance and some physiological traits under summer condition, Pakistan J of Nutr, 10 (1): 10-14.
- Anonymous, 2016. Essential oils considered generally safe by FDA – GRAS. <http://www.biosourcenaturals.com/pure-essential-oils/essential-oils-considered-safe-by-the-fda/> (21.06.2017)
- Ali, A., Sarzamin, Khan S., Mobashar, M., Inam, M., Ahmed, I., Khan, N.A., Ali, M., Khan, H. 2013. Effect of different levels of organic acids supplementation on feed intake, milk yield and milk composition of dairy cows during thermal stress. Greener J. Agri. Sci. Vol. 3 (11). 762-768.

- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils. Food and Chemical Toxicology. 46 (2): 446-475.
- Basmacıoğlu, H., Tokuşoğlu Ö. and Ergül. M., 2004. The effect of oregano and rosemary essential oils or α -tocopheryl acetate on performance and lipid oxidation of meat enriched with n-3 PUFA's in broilers. S. Afr. J. Anim. Sci. 34: 197-210.
- Bassolé, I.H.N., Juliani, H.R. 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties, Molecules. 17: 3989-4006.
- Baytok , E., Aksu, T. 2005. The effects of formic acid, molasses and inoculant as silage additives on corn silage composition and ruminal fermentation characteristics in sheep. Turk J Vet Anim Sci. 29: 469-474.
- Bemena, L.D., Mohamed, L.A., Fernandes, A.M., Lee B.L. 2014. Applications of bacteriocins in food, livestock health and medicine. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci. 3(12): 924-949.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties an potential application in foods, a review, Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
- Can, H.Y., Çelik, T.H., 2008. Kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotik kullanımı ve kalıntı riski. Vet. Hekim Der. Derg., 79(4): 35-40.
- Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different ph on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. J. Anim. Sci., 83: 2572-2579.
- Chafai, S., Ibrir, F., Alloui, N., Nouicer, F., 2007. Effects of *Pediococcus acidilactici* feed supplementation on broiler chicken performances, immunity and health, 16th Eur. Symp. Poult. Nutr., August 2007, .. Strasbourg (France), 281-284.
- Chaves, A.V., Stanford, K., Gibson, L.L., McAllister, T.A., Benchaar, C. 2008. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. Anim. Feed Sci. Technol. 145 (1-4): 396-408.
- Dibner, J.J., Buttin, P. 2002. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism, J.Appl.Poult.Res., 11:453-463.
- Egan, K., Field, D., Rea M.C., Ross, R.P., Hill, C., Cotter, P.D. 2016. Bacteriocins: novel solutions to age old

- spore-related problems? *Frontiers in Microbiology*. 7:461
- Friedman, M. Henika, P.R., Mandrell, R. E. 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against campylobacter jejuni, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *J of Food Protection*. 65(10): 1545–1560.
- Grilli, E., Messina, M.R., Catelli, E., Morlacchini, M., Piva, A. 2009. Pediocin A improves growth performance of broilers challenged with *Clostridium perfringens*. *Poultry Sci*. 88: 2152–2158.
- Gunal, M., Ishlak, A., AbuGhazaleh, A., A., Khattab, W. 2014. Essential oils effect on rumen fermentation and biohydrogenation under in vitro conditions, *Czech J. Anim. Sci.*, 59, (10): 450–459.
- Islam, M.Z., Khandaker¹, Z.H., Chowdhury, S.D., Islam, K.M.S. 2008. Effect of citric acid and acetic acid on the performance of broilers. *J. Bangladesh Agril. Univ*. 6(2): 315–320.
- Jamroz, D. Wiliczekiewicz, A. Wertelecki, T. Orda, J., Skorupinska, J. 2005. Use of active substances of plant origin in chicken diets based on maize and locally grown cereals. *Br. Poult. Sci*. 46: 485-493.
- Józefiak, D., Sip, A., Rutkowski, A., Rawski, M., Kaczmarek, S., Wołuń-Cholewa, M., Engberg, R.M., Højberg, O. 2012. Lyophilized Carnobacterium divergens AS7 bacteriocin preparation improves performance of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Poultry Sci*. 91: 1899–1907
- Joerger, R.D. 2003. Alternatives to Antibiotics: Bacteriocins, Antimicrobial Peptides and Bacteriophages. *Poultry Sci.*, 82: 640–647.
- Jothi, V.V., Anandapandian, K.T.K., Shankar, T. 2012. Bacteriocin production by probiotic bacteria from curd and its field application to poultry. *Arch. Appl. Sci. Res.*, 4 (1): 336-347.
- Kato, S.I., Sato, K., Chida, H., Roh, S.G., Ohwada, S., Sato, S., Guilloteau, P., Katoh, K. 2011. Effects of Na-butyrate supplementation in milk formula on plasma concentrations of GH and insulin, and on rumen papilla development in calves. *J of Endocrinology*. 211: 241–248.
- Kırkpınar, F., Ünlü, H.B., Serdaroglu, M., Turp, G.Y., 2014. Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, colour, pH and sensory quality of broiler meat. *Br Poult Sci*. 55: 157–166.
- Klaenhammer, T.R. 1993. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol Rev*. 12: 39–85.
- Kopecký, J., Hrnčár, C., Weis, J. 2012. Effect of organic acids supplement on performance of broiler chickens . *Scientific Papers: Anim. Sci. Biotechnol*. 45 (1): 51-54.
- Lopez-Romero, J.C., González-Ríos, H., Borges, A., Simões, M. 2015. Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Vol*. 2015.9p.
- López-Cuellar, M. R., Rodríguez-Hernández, A. I., Charvarría-Hernández, N., 2016. LAB bacteriocin applications in the last decade, *Biotechnology&Biotechnological Equipment*, 30:6,1039-1050.
- Lückstädt, C., Mellor, S., 2011. The use of organic acids in animal nutrition, with special focus on dietary potassium diformate under European and Austral-Asian conditions. *Recent Advances in Animal Nutrition – Australia* 18: 123-130.
- Marciňáková, M., Simonová, M., Strompfová, V., Lauková, A. 2005. Occurrence of structural enterocin genes among silage enterococci. *Bull Vet Inst Pulawy*. 49: 387-391.
- Martinis, E.C.P., Alves, V.F., Franco, B.D.G.M. 2002. Fundamentals and perspectives fort he use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products, *Food Reviews International*, 18:2-3, 191-208.
- McAuliffe, O., Ross, R.P., Hill C. 2001. Lantibiotics: structure, biosynthesis and mode of action. *FEMS Microbiol. Rev*. 25: 285-308.
- Menconi, A., Reginatto, A.R., Londero, A., Pumford, N.R., Morgan, M., Hargis, B.M., Tellez G. 2013. Effect of organic acids on *Salmonella typhimurium* infection in broiler chickens. *International Poultry Sci*. 12 (2): 72-75.
- Mirza, M.W., Rehman, Z.U., Mukhtar, N. 2016. Use of Organic Acids as Potential Feed Additives in Poultry Production. *J. World's Poult. Res*. 6(3): 105-116.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Martino, L., Coppola, R., Feoi V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*. 6: 1451-1474.

- Nascimento, J. N., Fagundes, P. C., Paiva Brito, M. A. V., Santos, K. R. N., Freire Bastos, M. C., 2005. Production of bacteriocins by coagulase-negative staphylococci involved in bovine mastitis, *Veterinary Microbiology*, 106, 61-71.
- Nes, F. I., Diep, D. B, Håvarstein, L.S., Brurberg, M., B., Eijsink, V., Holo, H., 1996. Biosynthesis of bacteriocin in lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, 70: 113-128.
- Oeztuerk, H.; Emre, B.; Sagmanligil, V.; Piskin, I.; Fidanci, U. R. and Pekcan, M. 2010. Effects of nisin and propolis on ruminal fermentation *in vitro*. *J of Anim. Vet. Advances* 9: 2752-2758.
- Paiva, P.M.G., Gomes, F.S., Napoleão, T.H., Sá, R.A., Correia, M.T.S., Coelho, L.C.B.B. 2010. Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants. *Current Research, Technology and Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. 396-406.
- Papatsiros. V.G., Katsoulos, P.D., Koutoulis, K.C., Karatzia, M., Dedousi, A., Christodouloupoulos, G. 2013. Alternatives to antibiotics for farm animals. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. April, 2013.
- Parada, J.L., Caron, C.R., Medeiros, A.B.P., Soccol, C.R. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian Archiv. Biol. Technol.* 50 (3): 521-542.
- Poeloengan, M., Noor, S.M. 2009. The effect of clove stem oil (*Oleum caryophylli*) on the growth of *Escherichia coli* isolated from chicken, cattle and pig. *J.Indonesian Trop.Anim.Agric.* 34(4): 279-283.
- Ramu, R., Shirahattia, P.S., Devia, A.T., Prasad, A., Kumuda J., Lochana, M.S., Zameer, F., Dhananjaya, B.L., Nagendra, P.M.N. 2015. Bacteriocins and their applications in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Rebuffat, S. 2012. Microcins in action: amazing defence strategies of Enterobacteria. *Biochemical Society Transactions*. 40 (6): 1456-1462.
- Ricke, S.C. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Sci.* 82: 632–639.
- Riley, M.A., Wertz, J.E., 2002. Bacteriocins: evolution, ecology and application. *Annu. Rev. Microbiol.* 56: 117–37.
- Saad, N., Muller, C.D., Lobstein, A. 2013. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour Fragr. J.* 28: 269–279.
- Saraiva, M.A.F., Nes, I. F., Baracat-Pereira, M.C., de Queiroz, M.V., Mantovani, H.C., de Moraes, C.A. 2014. Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* PD6.9. *J of Microbiol. and Antimicrobials.* 6(5): 79-87.
- Selwet, M. 2006. Effect of organic acids and bacterial-enzymatic preparations on the number of fungal populations and silage aerobic stability. *Bull Vet Inst Pulawy.* 50: 215-220.
- Theobald, P. 2015. Principles of using organic acids in animal nutrition. https://www.dsm.com/content/dam/dsm/anh/en_US/documents/Principles_of_using_organic_acids_in_animal_nutrition.pdf (29.06.2017)
- Xu, J., Zhou F., Ji, B.P., Pei, R.S., Xu, N. 2008. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. *Letters in Appl. Microbiol.* 47: 174–179.
- Yesilbag, D., Çolpan, I. 2006. Effects of organic acid supplemented diets on growth performance, egg production and quality and on serum parameters in laying hens. *Revue Méd. Vét.*, 157 (5): 280-284.