

**T.C.**  
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI**  
**ANABİLİM DALI**

**BILDIRCINLARDA RASYONA İLAVE EDİLEN**  
**GENİSTEİNİN YUMURTA VERİMİ İLE YUMURTA SARISI**  
**GENİSTEİN, DAİDZEİN VE LİPİT PEROKSİDASYON**  
**DÜZEYLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**DOKTORA TEZİ**

**Fatih AKDEMİR**

**ELAZIĞ – 2008**

## ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Emine ÜNSALDI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN

Anabilim Dalı Başkanı V.

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. M. Ali AZMAN

Prof. Dr. Kazım ŞAHİN

Prof. Dr. Talat GÜLER

Doç. Dr. Nurettin GÜLŞEN

Doç. Dr. Nurhan ŞAHİN

## TEŞEKKÜR

Bu araştırmada katkılarından dolayı tez izleme komitesi üyeleri Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet ÇALICIOĞLU'na, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Nurhan ŞAHİN'e ve örneklerin analizinde yardımlarını esirgemeyen Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Mustafa KARATEPE'ye, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Mehmet TUZCU'ya ve Arş. Gör. Cemal ORHAN'a, ayrıca araştırmanın yapılması sırasında Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü bünyesinde gerekli ortamı sağlayan Enstitü Müdürü Sayın Ünal KILINÇ'a ve sağladığı maddi destekten dolayı FÜBAP birimi çalışanlarına teşekkür ederim.

Ayrıca doktora eğitimim süresince her türlü maddi ve manevi destekleriyle bana güç veren başta annem ve babam olmak üzere aileme şükranlarımı sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|                                                   |      |
|---------------------------------------------------|------|
| BAŞLIK SAYFASI.....                               | i    |
| ONAY SAYFASI.....                                 | ii   |
| TEŞEKKÜR.....                                     | iii  |
| İÇİNDEKİLER.....                                  | iv   |
| TABLO LİSTESİ.....                                | vii  |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                | viii |
| KISALTMALAR LİSTESİ.....                          | ix   |
| 1. ÖZET.....                                      | 1    |
| 2. ABSTRACT.....                                  | 2    |
| 3. GİRİŞ.....                                     | 3    |
| 3.1. Genistein .....                              | 4    |
| 3.1.1. Tanım ve Genel Özellikler.....             | 4    |
| 3.1.2. Kimyasal Yapı.....                         | 4    |
| 3.1.3. Kaynakları.....                            | 7    |
| 3.1.4. Kimyasal Sentezi.....                      | 8    |
| 3.1.5. Biyosentezi.....                           | 9    |
| 3.1.6. Biyoyararlılığı.....                       | 10   |
| 3.1.7. Organizmada Depolanması.....               | 17   |
| 3.2. Genisteinin Biyolojik Etkileri.....          | 17   |
| 3.2.1. Östrojenik ve Antiöstrojenik Etkileri..... | 18   |
| 3.2.2. Antioksidan Etkileri .....                 | 19   |
| 3.2.3. Antikarsinojenik Etkileri .....            | 21   |

|            |                                                               |    |
|------------|---------------------------------------------------------------|----|
| 3.2.4.     | Kalp Damar Hastalıkları Üzerine Etkileri.....                 | 22 |
| 3.2.5.     | Kemik Metabolizması Üzerine Etkileri.....                     | 23 |
| 3.2.6.     | Sinir Sistemi Üzerine Etkileri.....                           | 23 |
| 3.2.7.     | Diğer Etkileri.....                                           | 24 |
| 3.3.       | Genisteinin Hayvansal Ürünlere Geçişi.....                    | 25 |
| 4.         | GEREÇ VE YÖNTEM.....                                          | 28 |
| 4.1.       | Gereç.....                                                    | 28 |
| 4.1.1.     | Hayvan Materyali.....                                         | 28 |
| 4.1.2.     | Yem Materyali ve Araştırma Grupları.....                      | 28 |
| 4.2.       | Yöntem.....                                                   | 30 |
| 4.2.1.     | Deneme Yeri.....                                              | 30 |
| 4.2.2.     | Deneme Düzeni.....                                            | 30 |
| 4.2.3.     | Canlı Ağırlık ve Yem Tüketimi.....                            | 31 |
| 4.2.4.     | Yumurta Verimi.....                                           | 31 |
| 4.2.5.     | Yemden Yararlanma Oranı.....                                  | 31 |
| 4.2.6.     | Yumurta Kalitesi.....                                         | 31 |
| 4.2.7.     | Örneklerin Alınması.....                                      | 32 |
| 4.2.7.1.   | Yumurta Sarısı Örneklerinin Alınması.....                     | 32 |
| 4.2.7.2.   | Yem Örneklerinin Alınması.....                                | 32 |
| 4.2.8.     | Laboratuar Analizleri.....                                    | 33 |
| 4.2.8.1.   | Ekstraksiyon Yöntemleri.....                                  | 33 |
| 4.2.8.1.1. | Yem Örneklerinde İzoflavon Ekstraksiyonu .....                | 33 |
| 4.2.8.1.2. | Yumurta Sarısı Örneklerinde İzoflavon Ekstraksiyonu.....      | 33 |
| 4.2.8.1.3. | Yumurta Sarısı Örneklerinde Vitamin A ve E Ekstraksiyonu..... | 34 |

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.8.1.4.Yumurta Sarısı Örneklerinde MDA Ekstraksiyonu.....     | 34 |
| 4.2.8.2. HPLC Cihazında Ölçüm Yöntemleri.....                    | 35 |
| 4.2.8.2.1.Yem Örneklerinde İzoflavon Ölçümü.....                 | 35 |
| 4.2.8.2.2.Yumurta Sarısı Örneklerinde İzoflavon Ölçümü.....      | 37 |
| 4.2.8.2.3.Yumurta Sarısı Örneklerinde Vitamin A ve E Ölçümü..... | 38 |
| 4.2.8.2.4.Yumurta Sarısı Örneklerinde MDA Ölçümü.....            | 40 |
| 4.2.9. İstatistiksel Analizler .....                             | 42 |
| 5. BULGULAR.....                                                 | 43 |
| 6. TARTIŞMA.....                                                 | 47 |
| 7. KAYNAKLAR.....                                                | 52 |
| 8. ÖZGEÇMİŞ.....                                                 | 62 |

## TABLO LİSTESİ

|                 |                                                                                                                              |    |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1:</b> | Bazı Besinlerin Genistein, Daidzein ve Toplam İzoflavon İçerikleri....                                                       | 7  |
| <b>Tablo 2:</b> | Bazal Rasyonun Bileşimi ve Besin Madde İçerikleri.....                                                                       | 29 |
| <b>Tablo 3:</b> | Deneme Düzeni .....                                                                                                          | 30 |
| <b>Tablo 4:</b> | Rasyon Genistein ve Daidzein Düzeyleri .....                                                                                 | 37 |
| <b>Tablo 5:</b> | Rasyona Genistein İlavesinin Performans ve Yumurta Kalitesi Üzerine Etkileri .....                                           | 44 |
| <b>Tablo 6:</b> | Rasyona Genistein İlavesinin Yumurta Sarısı Genistein, Daidzein, Vitamin A, Vitamin E ve MDA Değerleri Üzerine Etkileri..... | 45 |
| <b>Tablo 7:</b> | Yumurta Sarısı İzoflavon, Vitamin ve MDA Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar.....                                         | 46 |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                  |                                                                                  |    |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 1:</b>  | İzoflavonların ve Flavonoidlerin Kimyasal Yapıları .....                         | 5  |
| <b>Şekil 2:</b>  | 17- $\beta$ östradiol, Genistein ve Daidzeinin Kimyasal Yapıları.....            | 6  |
| <b>Şekil 3:</b>  | Deoksibenzoin Yoluyla Genistein Sentezi.....                                     | 8  |
| <b>Şekil 4:</b>  | Kalkon Yoluyla Genistein Sentezi.....                                            | 9  |
| <b>Şekil 5:</b>  | Genisteinin Biyosentezi.....                                                     | 10 |
| <b>Şekil 6:</b>  | Daidzin ve Genistinin Daidzein ve Genisteine Dönüşümü.....                       | 12 |
| <b>Şekil 7:</b>  | Ağız Yoluyla Alınan Genisteinin Emilimi, Dağılımı, Metabolizması ve Atılımı..... | 16 |
| <b>Şekil 8:</b>  | Genistein Standardı Kromatogramı.....                                            | 36 |
| <b>Şekil 9:</b>  | Daidzein Standardı Kromatogramı.....                                             | 36 |
| <b>Şekil 10:</b> | Yem Örneği Genistein ve Daidzein Kromatogramı.....                               | 37 |
| <b>Şekil 11:</b> | Yumurta Sarısı Örneği Genistein ve Daidzein Kromatogramı.....                    | 38 |
| <b>Şekil 12:</b> | A Vitamini Standardı Kromatogramı.....                                           | 39 |
| <b>Şekil 13:</b> | E Vitamini Standardı Kromatogramı.....                                           | 39 |
| <b>Şekil 14:</b> | Yumurta Sarısı Örneği A Vitamini ve E Vitamini Kromatogramı.....                 | 40 |
| <b>Şekil 15:</b> | MDA Standardı Kromatogramı.....                                                  | 41 |
| <b>Şekil 16:</b> | Yumurta Sarısı Örneği MDA Kromatogramı.....                                      | 41 |



## KISALTMALAR LİSTESİ

|                   |                                               |
|-------------------|-----------------------------------------------|
| MDA               | : Malondialdehit                              |
| HPLC              | : Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi        |
| UV                | : Ultra viyole                                |
| LDL               | : Düşük dansiteli lipoprotein                 |
| HDL               | : Yüksek dansiteli lipoprotein                |
| EGCG              | : Epigallocatechin gallate                    |
| TPA               | : Tetradekanoil phorbol acetate               |
| FeCl <sub>2</sub> | : Demir klorür                                |
| 8-OHdG            | : 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin                |
| HL-60             | : İnsan lösemi hücresi                        |
| ENOS              | : Endotelyal nitrik oksit sentetaz            |
| IL-6              | : İnterlökin-6                                |
| AOAC              | : Association of Official Analytical Chemists |
| SAS               | : Statistical Analysis System                 |

## 1. ÖZET

Bu çalışmada, bıldırcınlarda rasyona genistein ilavesinin yumurta verimi, yumurta kalitesi, yumurta sarısı malondialdehit (MDA), vitamin A, E, genistein ve daidzein konsantrasyonları üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırmada, 150 adet 5 haftalık yaşta dişi Japon bıldırcını rasgele seçilerek 3 gruba ayrılmış ve bazal rasyona sırası ile 0, 400 ve 800 mg/kg genistein ilave edilmiştir. Çalışmada 90 gün süreyle hayvanlara 17 saat aydınlık, 7 saat karanlık olacak şekilde aydınlatma programı uygulanmıştır. Yumurta sarısı MDA, vitamin A, E, genistein ve daidzein miktarları yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile ölçülmüştür. MDA ölçümü için ultra viyole (UV) dedektörü ve soyizoflavon ölçümü için floresan dedektörü kullanılmıştır. Rasyona 400 ve 800 mg/kg genistein ilavesi ile bıldırcınlarda yem tüketimi ( $P < 0.0001$ ), yumurta verimi ( $P < 0.0001$ ), yumurta ağırlığı ( $P < 0.0001$ ), Haugh birimi ( $P < 0.0001$ ), kabuk kalınlığı ( $P < 0.0001$ ), kabuk ağırlığı ( $P < 0.0001$ ) ve yemden yararlanma ( $P < 0.0007$ ) değerleri artmıştır. Rasyon genistein miktarının artışına bağlı olarak, yumurta sarısı MDA içeriğinin azaldığı ( $P < 0.0001$ ), ancak yumurta sarısı genistein miktarının ise arttığı tespit edilmiştir ( $P < 0.0001$ ). Öte yandan, rasyona genistein ilavesinin, yumurta sarısı daidzein ( $P < 0.99$ ), vitamin A ( $P < 0.80$ ) ve vitamin E ( $P < 0.14$ ) seviyelerini etkilemediği belirlenmiştir. Yumurta sarısı genistein ve MDA düzeyleri arasında negatif korelasyon ( $r = 0.651$ ,  $P < 0.0001$ ) tespit edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada, rasyona genistein ilavesinin yumurta verimi ve yumurta kalitesini iyileştirdiği, yumurta sarısı genistein miktarını arttırdığı ve yumurta sarısı MDA miktarını düşürdüğü söylenebilir.

**Anahtar kelimeler:** Genistein, Yumurta sarısı, MDA, Japon bıldırcını.

## 2. ABSTRACT

In the present study, we investigated the effects of genistein supplementation on the egg production, egg quality, malondialdehyde (MDA), vitamins A, E, and genistein and daidzein concentrations of egg yolk in quail. One hundred and fifty female Japanese quail (5 wk-old) were assigned randomly to 1 of 3 diets containing 0, 400, and 800 mg genistein per kilogram. The experimental period lasted 90 d with a 17L: 7D light: dark photo schedule. Egg yolk MDA, vitamins, genistein and daidzein concentrations were measured by high performance liquid chromatography using UV detector for MDA and fluorescence detector for soyisoflavones. Dietary genistein supplementation increased feed intake ( $P < 0.0001$ ), egg production ( $P < 0.0001$ ), egg weight ( $P < 0.0001$ ), Haugh unit ( $P < 0.0001$ ), shell thickness ( $P < 0.0001$ ), shell weight ( $P < 0.0001$ ) and improved feed efficiency ( $P < 0.0007$ ) in quail. Egg yolk genistein content was increased ( $P < 0.0001$ ), whereas egg yolk MDA concentration decreased ( $P < 0.0001$ ) as supplemental genistein level increased. However, genistein supplementation did not affect egg yolk daidzein ( $P < 0.99$ ), vitamin A ( $P < 0.80$ ) and vitamin E levels ( $P < 0.14$ ). There was an inverse relationship between egg yolk genistein and MDA concentrations ( $r = 0.651$ ,  $P < 0.0001$ ). Results of the present study indicate that supplementing with dietary genistein improved egg production and egg quality, egg yolk genistein content and decreased egg yolk MDA concentrations in quail.

**Keywords:** Genistein, Egg yolk, MDA, Japanese quail.

### 3. GİRİŞ

Bitkilerin östrojenik aktivitelerinin olduğu ilk kez Emmens tarafından 1941 yılında bildirilmiştir. **“Progöstrojen”** olarak tanımlanan bileşiklerin, hayvanlar tarafından alındıktan sonra endojen östrojene benzer etkiler gösterdikleri belirtilmiştir (48). Daha sonra bu bileşiklere kısaca **“fitoöstrojenler”** adı verilmiştir.

Bitkilerde fenilpropan ve basit fenollerden sentezlenen fitoöstrojenler, kimyasal olarak çok çeşitlilik gösterirler (25). Fitoöstrojenler kimyasal yapılarına göre izoflavonlar, izoflavanlar, flavanonlar, lignanlar, kalkonlar, steroller, stilbenler, makrolitler ve kumestanlar olarak sınıflandırılırlar (39).

İzoflavonlar, üzerinde en çok araştırma yapılan fitoöstrojenler olup (25, 27, 88, 120) bitkilerde aglikon, glikozit, malonil glikozit ve asetil glikozit şeklinde dört temel formda bulunurlar. Genistein (5, 7, 4'-trihidroksi izoflavon), daidzein (7, 4'-dihidroksi izoflavon) ve glisitein (7, 4'-dihidroksi 6-metoksi izoflavon) aglikon formlar olup konjuge yapıda değildirler. Diğer formlar ise, bitkilerde doğal olarak şekerlerle konjuge yapılar halinde bulunan; glikozit (7-O-daidzin, 7-O-genistin, 7-O-glisitin), asetilglikozit (6'-O-asetildaizdin, 6'-O-asetilgenistin, 6'-O-asetilglisitin) ve malonilglikozit (6'-O-malonildaizdin, 6'-O-malonilgenistin, 6'-O-malonilglisitin) formlardır (27, 66, 116). Glikozit formlardan özellikle asetilglikozit ve malonilglikozit, aglikona bağlanan şeker molekülü dışında, asetil veya malonil moleküllerini de içerir (87, 116).

İzoflavonların kimyasal yapısında bulunan fenolik grup östrojenik aktivitenin tanımlanmasında önemli rol oynar (25). İzoflavonlar, bitkilerde

kendiliğinden sentez edildikleri için, intrinsik östrojenler olarak da kabul edilirler (39).

Soyizoflavonların birçoğunun östrojenik etkisinin olmadığı, bu etkiye sahip olanların da östrojenik etkilerinin farklı olduğu saptanmıştır (39). Örneğin, soyada bulunan izoflavonlardan genistein ve daidzein güçlü bir östrojenik etki gösterirken, glisitein ise çok daha zayıf östrojenik etkiye sahiptir (21, 25, 87, 124).

### **3.1. Genistein**

#### **3.1.1. Tanım ve Genel Özellikler**

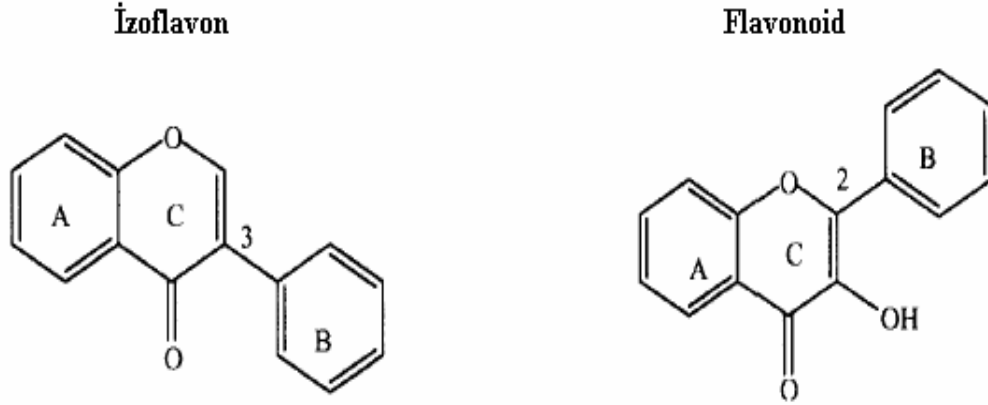
Fitoöstrojenler, endojen olarak sentezlenen ve östrojene benzer etkiler gösterebilen bitkisel kaynaklı kimyasallar olup, başta soya olmak üzere çok sayıda bitkide yüksek miktarlarda bulunur. Son yıllarda güncellik kazanan ve günümüzde de yapılan bilimsel araştırmalar sayesinde, oldukça ön plana çıkan en önemli fitoöstrojenler ise soyada bulunan izoflavonlardır (25).

En önemli soyizoflavonlar; genistein, daidzein ve glisiteindir. Bunlardan genistein ve daidzein, en güçlü östrojenik aktiviteye sahip olan aglikon formdaki soyizoflavonlar olup, hem östrojenik hem de antiöstrojenik özellik gösterir (42, 65).

#### **3.1.2. Kimyasal Yapı**

Soyada bol miktarda bulunan izoflavonların kimyasal yapıları benzen halkasının bağlandığı karbon atomunun farklılığına bağlı olarak diğer flavonoidlerden ayrıcalık gösterir (137). İzoflavonlarda benzen halkası üçüncü

karbon atomuna bağlı iken kendilerine yapısal olarak çok benzeyen flavonoidlerde ise benzen halkası ikinci karbon atomuna bağlıdır (Şekil 1) (122).



**Şekil 1:** İzoflavonların ve Flavonoidlerin Kimyasal Yapıları (122).

Bitkisel kaynaklı ve difenolik yapıda olan genistein ve daidzein, 17- $\beta$  östradiole oldukça benzerlik gösteren en önemli izoflavonlardır (Şekil 2) (65, 119). Kimyasal yapı ve özelliklerine bakıldığında;

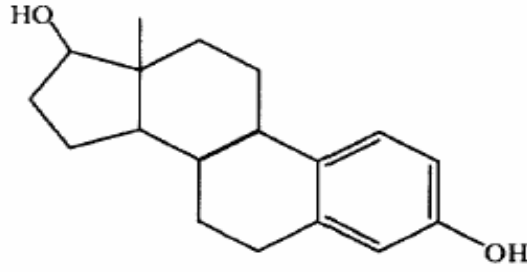
a) 17- $\beta$  östradiol ( $C_{18}H_{24}O_2$ ): Östra-1,3,5(10)-trien-3,17-diol (17- $\beta$ ) yapısında, molekül ağırlığı 272.38 g/mol ve erime noktası 173 °C'dir.

b) Genistein ( $C_{15}H_{10}O_5$ ): 4',5,7-trihidroksi izoflavon yapısında, molekül ağırlığı 270.24 g/mol ve erime noktası 297–298 °C'dir.

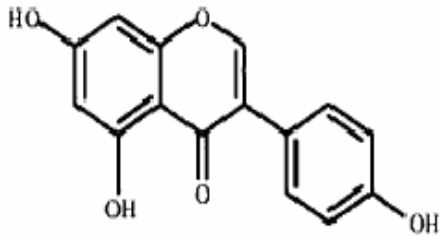
c) Daidzein ( $C_{15}H_{10}O_4$ ): 7,4'-dihidroksi izoflavon yapısında, molekül ağırlığı 254.24 g/mol ve erime noktası 297–298 °C'dir (96).

4'- ve 7- hidroksil grupları arasında bulunan fenolik halka daidzeine, 4'-, 5- ve 7- hidroksil grupları arasında bulunan fenolik halka ise genisteine östrojenik özellik kazandırır (119). Östrojenik özellik kazandıran fenolik halka böylece

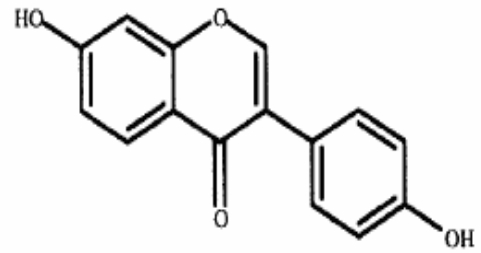
daidzein ve genisteinin östrojen reseptörlerine ve cinsiyet hormon reseptörlerine bağlanmalarına aracılık eder (42). Genistein ve daidzein geriye dönüşümlü olarak reseptörlere bağlanmak için östrojen ve androjen bağlayıcı proteinlerle yarışır. Böylece hedef hücrelere hormon gibi bağlanarak, östrojen ve androjen benzeri etki gösterebilirler (17, 42).



**17-β östradiol**



**Genistein**



**Daidzein**

**Şekil 2:** 17-β östradiol, Genistein ve Daidzeinin Kimyasal Yapıları (65, 119)

### 3.1.3. Kaynakları

İzoflavonların en önemli kaynakları *Leguminosae* familyasından soya fasulyesi ve kuru baklagillerdir (25). En çok kullanılan genistein kaynakları soya protein izolatları, soya unu, soya sütü, soya yoğurdu, tofu ve soya şehriyesidir (27). Çeşitli besinlerin genistein, daidzein ve toplam izoflavon miktarları Tablo-1’de gösterilmektedir (10).

**Tablo 1:** Bazı Besinlerin Genistein, Daidzein ve Toplam İzoflavon İçerikleri (10).

| Besin Maddesi                            | Ortalama Değer mg/100g |          |                  |
|------------------------------------------|------------------------|----------|------------------|
|                                          | Genistein              | Daidzein | Toplam izoflavon |
| Soya peyniri                             | 20.08                  | 11.24    | 31.32            |
| Soya unu, tam yağlı                      | 96.83                  | 71.19    | 177.89           |
| Soya unu, yağsız                         | 71.21                  | 57.47    | 131.19           |
| Soya sütü                                | 6.06                   | 4.45     | 9.65             |
| Soya sosu                                | 0.82                   | 0.93     | 1.64             |
| Soya protein konsantresi, su ekstresi    | 55.59                  | 43.04    | 102.07           |
| Soya protein konsantresi, alkol ekstresi | 5.33                   | 6.83     | 12.47            |
| Soya protein izolatı                     | 59.62                  | 33.59    | 97.43            |
| Soya fasulyesi, Brezilya                 | 64.47                  | 20.16    | 87.63            |
| Soya fasulyesi, Japonya                  | 64.78                  | 34.52    | 118.51           |
| Soya fasulyesi, Kore                     | 72.31                  | 72.68    | 144.99           |
| Soya fasulyesi, Tayvan                   | 31.54                  | 28.21    | 59.75            |
| Tempeh*                                  | 24.85                  | 17.59    | 43.52            |
| Tofu*                                    | 13.90                  | 13.60    | 29.50            |
| Miso*                                    | 24.56                  | 16.13    | 42.55            |
| Natto*                                   | 29.04                  | 21.85    | 58.93            |

\* Uzak doğuda soyadan elde edilen geleneksel yiyeceklerin ticari adları

Farklı bölgelerde yetişen soya fasulyelerinin genistein, daidzein ve toplam izoflavon içeriklerinin birbirinden farklı olması işleme sürecine bağlıdır. Fermente soya ürünleri, izoflavon içeriği bakımından oldukça zengindir. Fermantasyon

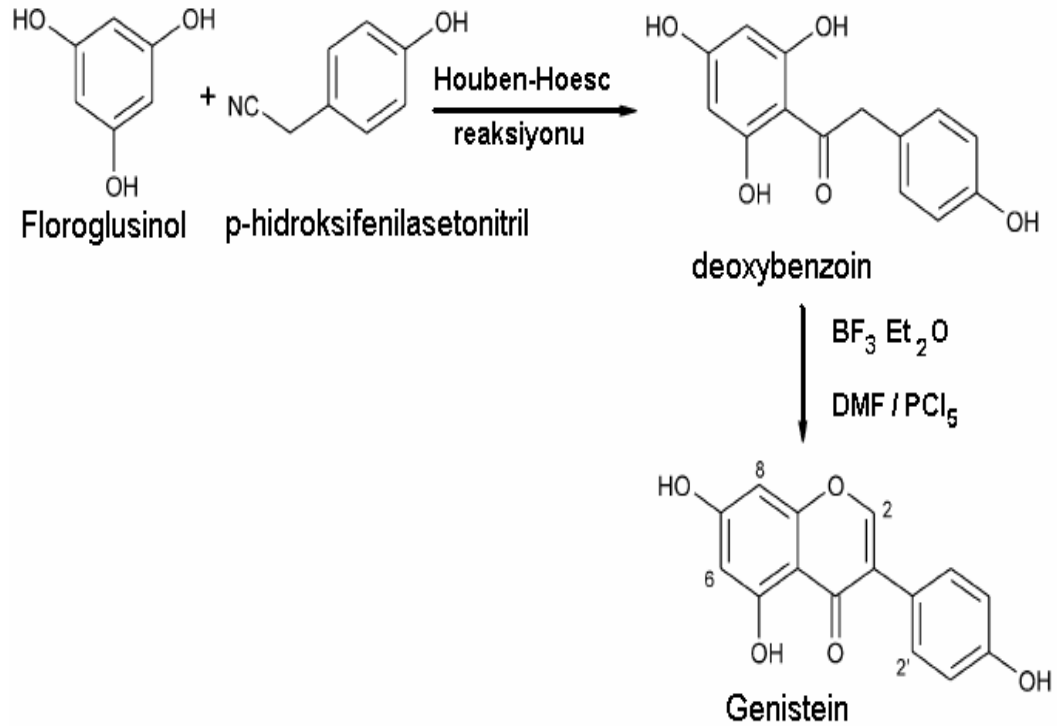


süresince mikroorganizmalar izoflavonların  $\beta$ -glikozit bağıını kopararak, glikozit formları aglikonlara dönüştürür (25).

### 3.1.4. Kimyasal Sentezi

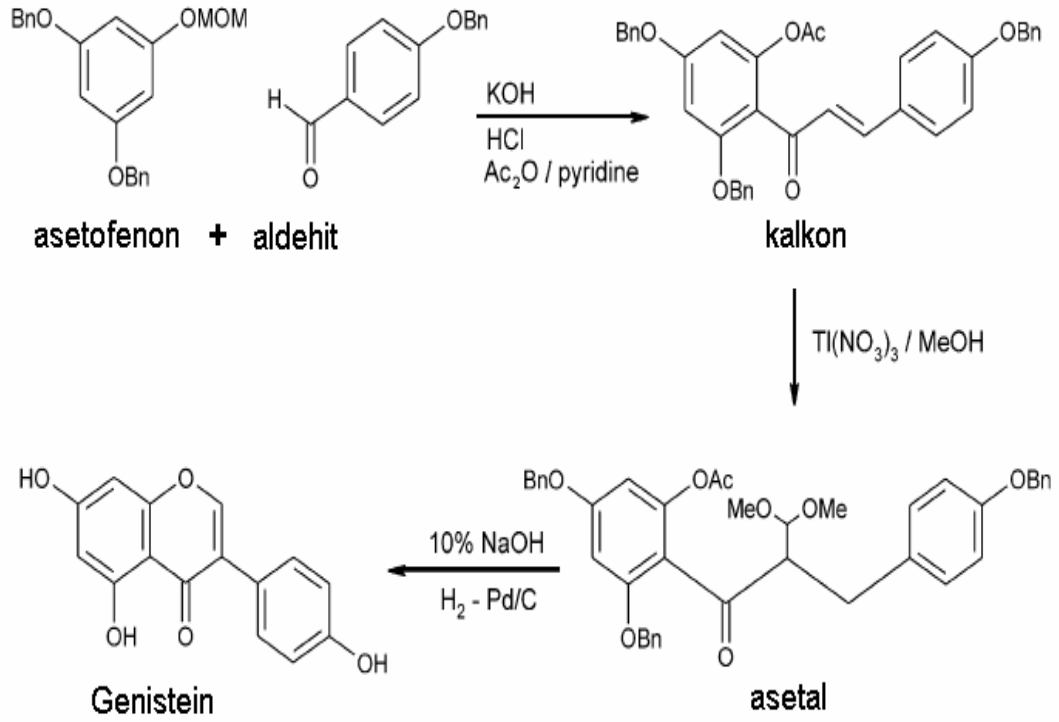
İzoflavonlar doğada dört farklı formda bulunur. Bunlar; aglikon, glikozit, asetil glikozit ve malonil glikozit formlardır (25). Bu farklı formların birbirine dönüşümleri kolay olduğundan sentetik olarak üretimleri yapılmaktadır (42).

Genistein sentezinde, deoksibenzoin ve kalkon metotları kullanılmaktadır (15, 42). Deoksibenzoin yolu ile genistein sentezi, 2-hidroksifenilbenzilketonun birinci karbonunun aktif hale getirilerek yoğunlaştırılması esasına dayanır (Şekil 3) (42).



**Şekil 3:** Deoksibenzoin Yoluyla Genistein Sentezi (42)

Genistein sentezi için kullanılan diğer bir metot ise kalkon yoludur. Kalkon, kolay bulunabilen aromatik aldehit ve asetofenonların yoğunlaştırılması ile elde edilir (Şekil 4) (42).

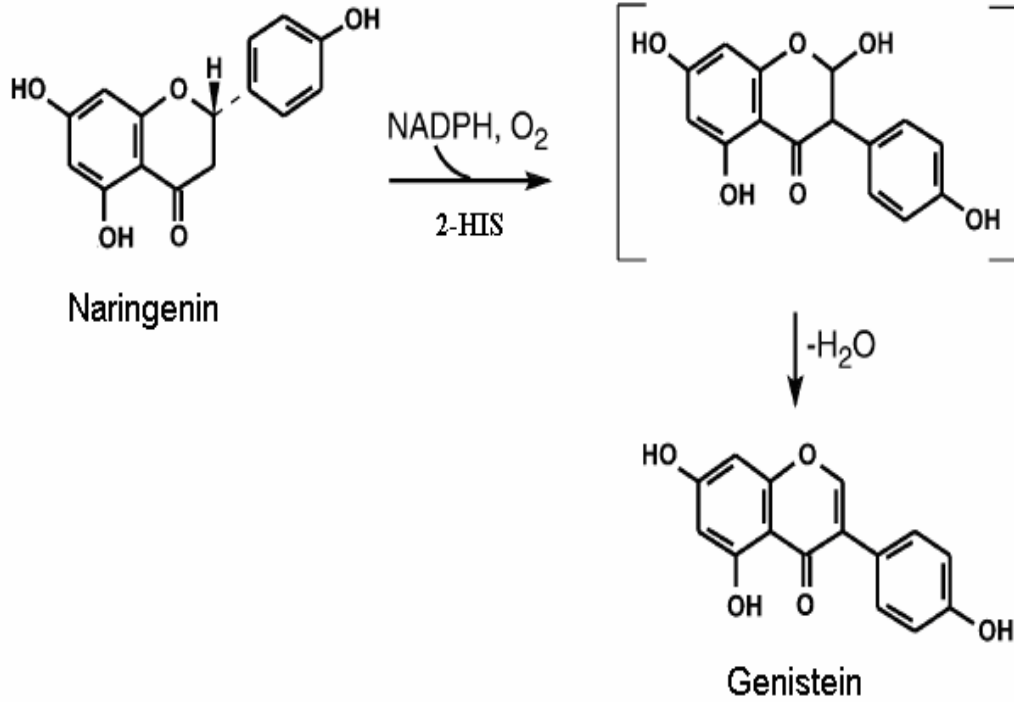


**Şekil 4:** Kalkon Yoluyla Genistein Sentezi (42)

### 3.1.5. Biyosentezi

İzoflavonlar, yapısal olarak kendilerine oldukça benzeyen flavonların biyosentez basamaklarının bir bölümünde şekillenir. Genistein bitkilerde bulunan naringenin adı verilen ara bir flavondan köken alır. Genisteinin oluşması için önce ikinci karbon atomuna bağlı olan hidrojen radikalinin üçüncü karbon atomuna  $\beta$ -halka göçüyle indirgenmesi gerekir. Bu reaksiyonun sonunda ikinci karbon atomunun hidroksilasyonu gerçekleşir. Reaksiyonun gerçekleşmesi için enerji (NADPH) ve oksijene gereksinim duyulur. Ayrıca reaksiyona 2-hidroksi izoflavon

*sentetaz* (2-HIS) olarak da bilinen mikrozomal *sitokrom P<sub>450</sub>* enzimi katalizörlük eder (Şekil 5) (42).



**Şekil 5:** Genisteinin Biyosentezi (42)

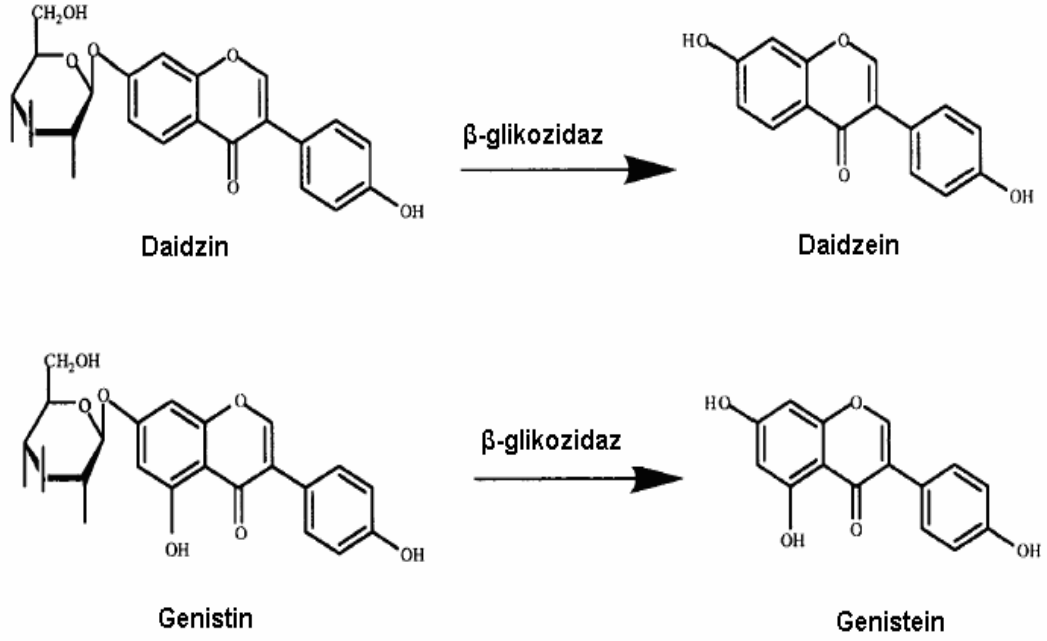
### 3.1.6. Biyoyararlılığı

Soyizoflavonların büyük bir kısmı bitkilerde doğal olarak şekerlerle konjuge halde yani glikozit formda bulunur. Aglikon formdaki soyizoflavon miktarı oldukça düşük düzeylerde. Diyetteki genisteinin biyoyararlılığı; serbest ve konjuge formlarının oranına, glikozitlerin bağırsak bakterileri ya da bağırsak duvarı enzimleri tarafından hidrolizine, karaciğerde bağlanma ve atılım oranları gibi faktörlere bağlıdır (42).

Soyizoflavonların glikozit ve aglikon formları arasındaki etkileşimin ortaya konulması amacıyla insan ve hayvanlarda çok sayıda metabolizma,

sindirir, emilir, dağılır ve atılır denemeleri yapılmıştır (108). Bazı çalışmalarda soyizoflavonların glikozit formlarının alımı durumunda bunların, ince bağırsaklarda veya bağırsak mikroflorasında bulunan  *$\beta$ -glikozidazlar* (40) ya da mide asidi (24) tarafından aglikon formlara dönüştürülmesinden dolayı biyoyararlanımının daha iyi olduğu belirtilse de, direkt olarak alınan aglikon formlarının biyoyararlanımı daha iyidir (69). Bunun yanında her iki formun da aynı biyoyararlanıma sahip olduğunu belirten çalışmalar da mevcuttur. Bu farklı sonuçların yaş, cinsiyet, gıdaların izoflavon içeriği, soya ürünlerindeki farklılıklar veya gıda matrislerindeki yapısal farklılıklar gibi sebeplerden kaynaklandığı bildirilmektedir (108).

Aglikon formların biyoyararlanımının glikozit formlardan çok daha iyi olmasından ötürü bazı gıda işleme veya fermentasyon teknikleriyle soyizoflavon içeren ürünlerdeki glikozit formlar aglikon formlara dönüştürülerek genistein miktarı artırılabilir (108). Daidzin ve genistinin,  *$\beta$ -glikozidaz* enzimi aracılığıyla daidzein ve genisteine dönüşümü Şekil 6'da gösterilmektedir (145).



**Şekil 6:** Daidzin ve Genistin Daidzein ve Genisteine Dönüşümü (145)

İzoflavon formlarının emilimi insanlarda ve hayvanlarda bireysel farklılıklara bağlı olarak değişkenlik gösterir (82). Çünkü bağırsak mikrobiyotasının çeşitliliği, konjuge formların konjuge olmayan aglikon formlara dönüşmesinde etkinlik gösterir. Soya ve yonca izoflavonlarının karışım olarak alınması durumunda bireyler arasındaki farklılıktan dolayı emilim de farklı olmaktadır. Fakat aynı bireyin farklı formları alması durumunda bu farklılık daha az olmaktadır (130). Ayrıca aglikon formlar daha fazla hidrofobik oldukları ve daha küçük molekül ağırlığına sahip oldukları için glikozit formlardan daha hızlı ve daha yüksek miktarlarda emilirler (126). Glikozit ve aglikon formlardan öncelikli olarak genistein, sindirim sisteminden emildikten sonra 1-4 saat içerisinde, plazma ve serumdaki düzeyi en yüksek değere ulaşır (75, 108). Emilimi güç olan glikozit yapıdaki genistin ise, ince bağırsaktaki  $\beta$ -glukozidazlar veya bağırsak mikrobiyotası tarafından genisteine dönüştürülmesiyle

vücutta uğradığı enterohepatik dolaşımdan dolayı, plazmada ikinci yüksek değere ulaşır ki, bu değer öncekinden daha küçüktür (75). Buradan genistin ve genisteinin birlikte alınması durumunda, birinci ve ikinci genistein pikinin görülmesi arasında geçen sürede emilim ve enterohepatik dolaşımdan dolayı, genisteinin uzun bir farmakolojik aktivite gösterdiği sonucu çıkarılabilir (82). Diğer yandan, ratlarda ağız yoluyla 40 mg/ kg CA dozunda verilen genistein ve genistin emilimlerinde önemli farklılıklar görülmüştür. Buna göre, genistein genistinden 4 kat daha hızlı emilmektedir. Genistin geç emilmesinin nedeni emilimden önce jejunum ve ileumda bulunan *β-glikozidaz* enzimi ve kolonda bulunan bakteriler tarafından hidrolizinin gerçekleştirilmesi ve direkt olarak emilen genisteinle kıyaslandığında bunun zaman almasıdır (82).

Diğer yandan, genistin biyoyararlanımının genisteinden daha fazla olduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (8, 82, 125). Bu çalışmalarda, bu durumun nedeninin değişik emilim ve metabolik olaylar olduğu söylenmektedir. Genistin sindirim kanalından direkt olarak emiliminin mümkün olmasının yanı sıra, pasif difüzyon yoluyla ince bağırsak membranlarına geçtiği (8, 125) ve burada lokalize olan sodyuma bağımlı glikoz taşıma sistemi tarafından sistemik dolaşıma katıldığı bildirilmektedir (56, 128). Bu geçiş genistein için de aynı şekilde olmaktadır. Genistin, pasif difüzyonla geçtiği ince bağırsak membranlarından direkt olarak kana geçebilir veya sodyuma bağımlı glikoz taşıyıcı sistem içerisindeki hücresel *β-glikozidazlar* tarafından genisteine dönüştürülerek de kana geçebilir (82).

Andlauer ve ark. (8) ince bağırsaklarda, Steensma ve ark. (125) kalın bağırsaklarda, genistin % 15 düzeyinde genisteine dönüşerek emildiğini

bildirmişlerdir. Buradan da anlaşılabacağı üzere her iki form da hem ince hem de kalın bağırsaklardan % 50'ye yakın bir oranda emilebilmektedir (82).

Plazmadaki toplam genisteinin yaklaşık % 1,1–1,5 kadarını konjuge olmayan genisteinin oluşturduğu, ayrıca soya ve soya ürünlerinin tüketiminden 2 saat sonra en yüksek plazma yoğunluğuna ulaştığı bildirilmektedir (118). Genistein, enjeksiyonla verildikten 24 saat sonra dolaşımdaki toplam genisteinin yaklaşık % 46'sı serbest genistein iken (35), diyetle verildiğinde bu oran % 2'nin altında olmaktadır (53). Ağız yoluyla günlük 16 mg/kg dozda genistein verilen farelerde serumda 1.8 µg/ml, sütte ise sadece 0.04 µg/ml genistein ölçülmüştür (45, 71).

Soya ürünlerinde bulunan izoflavonların % 65'i genistindir (45). Genistin içeren soya ve ürünlerinin bazı işlemlerden geçirilerek bu ürünlerde aglikon formu olan genistein miktarı arttırılabilmektedir. Isı işlemi uygulamasının bu ürünlerdeki genistein miktarını arttırdığı bildirilmektedir (66). Normal pişirme ısısında soya ürünlerindeki toplam izoflavon miktarında azalma olmazken, aglikon formlara dönüşüm ve miktardaki azalma ancak aşırı yükseklikteki ısılarda gerçekleşir (38, 137).

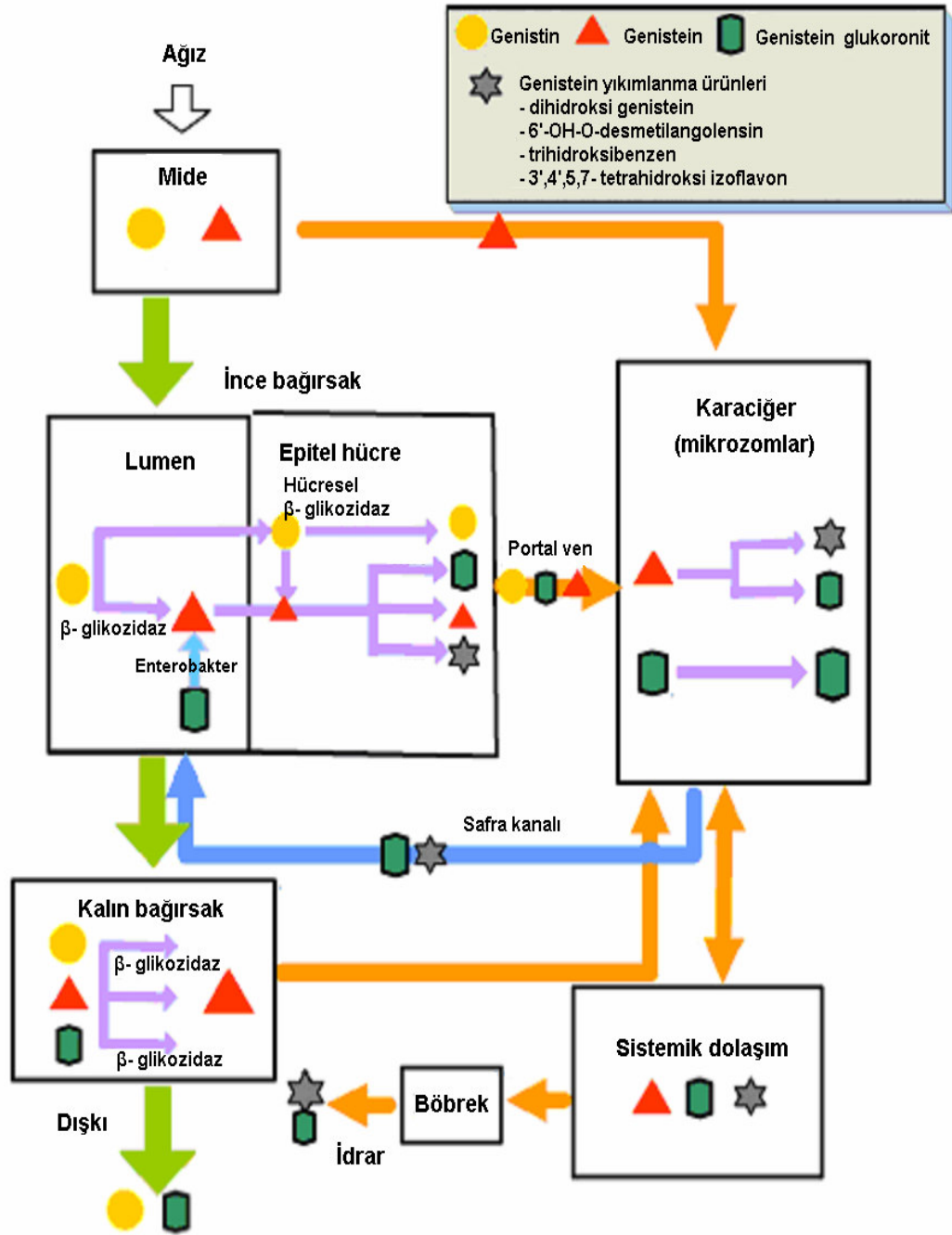
Soya ürünlerindeki daidzein ve glisitein miktarı ısıyla azalırken, genisteinin miktarında azalma gözlenmez, hatta sıcaklığın etkisiyle genistin genisteine dönüşümünden dolayı miktarında artış görülür (66). Optimum sıcaklık derecesinin altındaki sıcaklıklarda sorun olmazken, üstündeki sıcaklıklarda Maillard reaksiyonu ve otoyıkılımdan dolayı genistein miktarında azalma görülür. Soya sütünün 95 °C'de 45 dakika pişirilmesi durumunda genistein miktarında artış görülürken, 120 °C'de bir saat pişirmede ise azalma görülür. Soya sütünde

optimum ısı üzerinde genistein düzeyinde zamanla yavaş bir şekilde azalma görülürken, daha yüksek sıcaklıklarda zamana bağlı olarak yıkımlanma oranı hızlanır (66).

Diğer yandan, soya protein konsantrelerinin hazırlanmasında  *$\beta$ -glukozidaz* enziminin kullanılması durumunda, genistinin genisteine dönüşümünde önemli derecede artış görüldüğü bildirilmektedir. Pandjaitan ve ark. (107) enzim aktivasyonu için gerekli olan optimum şartları (pH 5, 50 °C, 1 saat) sağladıklarında içerisinde enzim bulunmayan örneklerde genistein miktarını 0.845 mg/gr, enzim bulunanlarda ise 1.214 mg/gr olarak bulduklarını belirtmişlerdir.

Daidzein idrarda genisteinden daha fazla bulunurken, plazmada genistein daidzeinden daha fazla bulunmaktadır (88, 142). Bu durumun genisteinin kısmen daha az hidrofilik olmasından kaynaklandığı bildirilmektedir (19, 88). Genistin ve genisteinin biyoyararlanımı Şekil 7’de kısaca özetlenmiştir.





**Şekil 7:** Ağız Yoluyla Alınan Genisteinin Emilimi, Dağılımı, Metabolizması ve Atılımı (82)

### **3.1.7. Organizmada Depolanması**

Çeşitli kimyasalların vücutta, özellikle yağ dokuda birikim gösterdikleri ve enerji dengesinin bozulması durumunda mobilize oldukları bildirilmektedir (135). Tüketilen genisteinin % 50 veya daha fazlasının çeşitli yollarla atıldığı belirtilmekte, fakat geri kalan kısmın nasıl değerlendirildiği konusunda yeterli bilgi bulunmamaktadır (82).

Endojen ve ekzojen östrojenlerin vücuttaki etkinliklerinin belirlenmesine yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır. Genistein gıdalarla birlikte sürekli olarak alındığında normal östrojen aktivitesi gösterebilmektedir. Genistein alınımının engellendiği durumda, birikim yaptığı dokulardan gerekli olduğu durumlarda mobilize olarak östrojenik etkinlik gösterdiği bildirilmektedir (109).

Ratlarda yapılan bir çalışmada (109) ise oral gavajla verilen genisteinin büyük bir kısmının ince bağırsak ve sekumda ölçülmesinin yanında karaciğer, plazma, uterus, ovaryum, vajina, testis, prostat ve prostat sıvısı gibi doku ve organlarda diğer periferik organlardan daha yüksek miktarlarda birikim özelliği gösterdiği tespit edilmiştir.

### **3.2. Genisteinin Biyolojik Etkileri**

İzoflavonlarca zengin diyetle beslenen toplumlarda kardiovasküler hastalıklar, osteoporoz, meme, prostat ve bağırsak kanserleri ile ilgili şikâyetler daha az görülmekte ve postmenopozal kadınlarda östrojen yetersizliğine bağlı belirtiler daha hafif olarak seyretmektedir (12, 83).

### 3.2.1. Östrojenik ve Antiöstrojenik Etkileri

Genisteinin başlıca etkisi, östrojenik ve antiöstrojenik aktivite göstermesidir (21, 42). Genistein endojen östrojene (17- $\beta$  östradiol) yapısal ve işlevsel olarak benzemesinden dolayı, östrojen reseptörlerine kolayca bağlanarak bu etkisini gerçekleştirmektedir (39, 87, 116). Bu bağlanmayı molekülün yapısında bulunan aromatik halka üzerindeki hidroksil grup sağlar (94). Genistein ile östrojen reseptörlerinin etkileşimi, östrojen agonisti veya antagonisti olarak rol oynamasına yol açan mekanizmalar sayesinde olmaktadır (21, 27, 97). Genisteinin bu etkilerini ortamdaki endojen östrojen seviyesine bağlı olarak gerçekleştirdiği (65, 110), dolayısıyla yüksek östrojen varlığında antiöstrojenik, düşük östrojen varlığında ise östrojenik etki gösterdiği düşünülmektedir (93, 95, 136).

Genisteinin,  $\beta$ -östrojen reseptörlerine,  $\alpha$ -östrojen reseptörlerinden daha güçlü bağlandığı ve bağlanma yeteneğinin de 7–30 kat fazla olduğu belirtilmiştir (2, 21, 95). Genisteinin  $\alpha$ -östrojen reseptör ve  $\beta$ -östrojen reseptörlerine ilgisi sırasıyla 145 nM ve 8.4 nM konsantrasyon olarak belirlenmiştir (95). Bu durum genisteinin  $\beta$ -östrojen reseptörlerine bağlanarak etkimesi için gereken konsantrasyonun  $\alpha$ -östrojen reseptörlerinkinden daha az olduğunu göstermektedir.

Genisteinin, östrojenik ve antiöstrojenik aktivitelerinin gerçekleştirilmesinde steroid metabolizmasını etkileyen enzimlerin de önemli olabileceği ileri sürülmüştür (33). İzoflavonlar, *aromataz* enzimini baskılayarak androjenlerin östrojenlere dönüşümünü bloke eder. Genistein, östronu östradiole çeviren *17- $\beta$  östradiol oksidoredüktaz* enzimini baskılayarak bu etkisini gerçekleştirir (33, 98).

İn vivo çalışmalardan elde edilen sonuçlar, genisteinin östrojenik potansiyelinin canlının türüne ve genisteinin verilme yoluna göre de büyük farklılık gösterdiğine işaret etmektedir (39). Genistein ayrıca östrojen reseptörlerine ilgi duyup, vücut için zararlı kimyasallarla yarışarak onların etkilerini önlediği gibi, reproduktif ve diğer sistemler için gerekli olan östrojenik aktiviteyi de sağlar (109).

### 3.2.2. Antioksidan Etkileri

Antioksidanlar, hidrojen atomu vericisi olarak etki gösterirler ve radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürürler. Bu şekilde oluşan antioksidan radikali, oksijen atomu ile aromatik halka üzerindeki eşleşmemiş elektronun yer değiştirmesiyle stabil olur. Bundan dolayı antioksidanlar genellikle fenoliktirler. Fenolik yapıdaki antioksidanlar, serbest radikallerin neden oldukları kanser türlerini başlangıçta durdurur veya tümör gelişimini önlerler (72).

İzoflavonlar içinde genistein, en güçlü antioksidan aktivite gösteren bileşik olup (14, 42, 61, 79), genisteinin bu etkisi yapılan birçok in vitro ve in vivo çalışma ile ortaya konmuştur (26, 43, 67). Genistein, konjuge halka yapısı ve hidroksil grupları sayesinde hidrojen peroksit oluşumunu baskılayarak, nitrik oksit ve peroksit radikallerini doğrudan yok ederek (18, 30, 132), serbest radikalleri stabilize ederek (62, 81, 100) veya antioksidan enzimleri aktive ederek antioksidan etkisini gösterir (26, 43, 140). Ayrıca genistein, süperoksit radikallerine karşı güçlü bir antioksidan enzim olan *süperoksit dismutaz* sentezini de artırır (26).

Yapılan bir çalışmada; diyetle alınan genisteinin düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonuna karşı oluşturulan direnci arttırdığı, bu etkisini direkt veya indirekt olarak gösterebildiği belirtilmektedir (43). LDL oksidasyonu sonucu oluşan lipid peroksidlerin, antioksidan bir enzim olan *paraoksonaz* enziminin aktivitesini baskıladığı ve genisteinin bu enzimin aktivitesini artırarak LDL oksidasyonunu önlediği bildirilmiştir (132, 138).

Toda ve Shirataki (127) yaptıkları araştırmada, reaktif oksijen türlerinin neden olduğu lipid peroksidasyonu ile ilgili dört farklı fitoöstrojenin etkisini incelemiş ve izoflavonların kimyasal yapıları ile antioksidan aktiviteleri arasında önemli bir ilişkinin olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca genisteinin hiperkolesterolemik ratlarda antioksidan etkisi ile koruyucu özellik gösterdiği rapor edilmiştir (9, 132).

Genisteinin antioksidan aktivitesinin, düşük pH (7) ve sıcaklık derecesine (70 °C) göre, yüksek pH (9) ve sıcaklık derecesinde (90 °C) daha düşük olduğu tespit edilmiştir (131). Genisteinin LDL oksidasyonuna karşı antioksidan koruyuculuğu, epigallocatechin gallate (EGCG) ve E vitamininden daha azdır (111).

Hayvanlarda sıcaklık stresi, oksidatif strese neden olur ve in vivo antioksidan savunma sistemini zayıflatır. Genisteinin antioksidan özelliklerinden yola çıkılarak yapılan çalışmalarda, genistein katkısı ile sıcaklık stresi altındaki bıldırcınların oksidatif stresin negatif etkilerine karşı korunabildiği bildirilmiştir (104, 113).

### 3.2.3. Antikarsinojenik Etkileri

Epidemiyolojik çalışmalar, soya tüketimi ile kanser oranı arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (59). Batılı ülkelere göre, bazı Asya ülkelerinde soya tüketiminin fazla olmasından dolayı, bazı kanser türlerinin az olduğu ve tümör hacminin daha küçük olduğu bildirilmiştir (3). Soya ürünlerinde bulunan izoflavonların antikarsinojenik olduğu ve bu ürünlerden genistein ve daidzeinin insan plazma, idrar, dışkı, tükürük, süt veya kist ile prostat sıvılarında bulunduğu tespit edilmiştir (1, 4, 5). İzoflavon içeren diyetleri tüketen insanların kanlarında lipid peroksidasyon markerlerinden F2-izoprostan seviyesinin düşük olduğu görülmüştür (43, 139). İzoflavonlar içerisinde genisteinin en güçlü oksidatif DNA yıkımı inhibitörü olduğu saptanmış olup, bu durum, tetradekanoil phorbol acetate (TPA) ve demir klorür ( $FeCl_2$ ) ile indüklenen insan lösemi hücrelerinde (HL-60) 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) oluşumuyla tespit edilmiştir (58). Hillman ve ark. (64) genisteinin doza bağımlı olarak, kültürlerde prostat kanser hücrelerinde (PCa) büyümeyi inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Genisteinin başta meme ve prostat kanseri olmak üzere, hormona bağımlı kanser türleri ile mide, idrar kesesi, kolon, rektum ve pankreas gibi diğer kanser türlerine karşı koruyucu olabileceği yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (16, 47, 57, 141). Genistein özellikle, tümör oluşumunda ve gelişiminde önemli rol oynayan *DNA topoizomeras I ve II*, *tirozin protein kinaz* ve epitelyal büyüme faktörünü baskılayarak apoptozisi başlatır ve tümörün büyümesi için gerekli olan yeni kılcal damarların oluşumunu inhibe ederek antikarsinojenik etki gösterir (103, 129).

Neonatal ve puberte öncesi dönemlerde genistein enjeksiyonunun meme tümörü gelişimini baskıladığı bildirilmiştir (84). Hilakivi-Clarke ve ark. (63), puberte öncesi dönemde genisteinin meme tümörü gelişimini azalttığını bildirmişlerdir. İnsanlarda meme kanseri oluşma sıklığındaki azalma ile izoflavondan zengin soyaya dayalı diyet ile beslenme arasında negatif korelasyon mevcuttur. Singapur'da 420 sağlıklı ve 200 meme kanserli kadında yapılan epidemiyolojik bir çalışmada, soya tüketimi ile kanser riskinin azalması arasında direkt bir ilişki bulunmuştur (85).

#### **3.2.4. Kalp Damar Hastalıkları Üzerine Etkileri**

Epidemiyolojik çalışma sonuçlarına göre, diyetle yüksek düzeyde genistein tüketen Japon kadınlarında, kalp hastalıkları insidensi düşüktür. Genisteinin vücut lipid profilini düzenleyici (41), LDL oksidasyonunu önleyici (139), endotel fonksiyonları geliştirici etkileri (95) ile kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu olabileceği bildirilmektedir (32).

Günlük 47 gr soya tüketiminin, plazma LDL kolesterol düzeyini % 12.9, trigliserit düzeyini yaklaşık % 10 oranında düşürdüğü, diğer yandan HDL kolesterol düzeyini ise % 2 oranında arttırdığı bildirilmektedir (32). ABD Besin ve İlaç Örgütü (USFDA) doymuş yağ ve kolesterol yönünden sınırlandırılmış diyetle birlikte, günde 25 gr soya proteini tüketiminin kalp hastalığı riskini azaltabileceğini kabul etmiştir (32).

### 3.2.5. Kemik Metabolizması Üzerine Etkileri

Genistein, osteoporozisin önlenmesinde önemli rolü olan östrojen benzeri bir moleküldür. Kemiklerde bulunan osteoblast, osteoklast ve osteosit gibi hücrelerde hem  $\alpha$ -östrojen reseptörleri hem de  $\beta$ -östrojen reseptörleri bulunmakta ve bunlar kemik bütünlüğünü korumak için görev yapabilmektedirler. Fizyolojik konsantrasyonlarda genistein; osteoblastlardan köken alan hücrelerde interlökin (IL-6) üretimini baskılar ve osteoklast üretimini azaltan bir protein olan osteoprotegerin üretimini artırır (29, 134). Genistein, osteoblastlarda endotelial nitrik oksit sentetaz (eNOS) etkisiyle kemik metabolizmasını düzenler (95). Genistein; hayvanlarda osteoblast benzeri hücrelerin farklılaşması, çoğalması ve kollajen sentezini artırırken (31, 92) osteoklastlardaki intrasellüler kalsiyum yoğunluğunu azaltır (54, 73).

Genisteinin kemiklerde uygun mineralizasyonu sağlamada etkin olduğu ve kalsiyum (Ca) emilimini arttırdığı bildirilmiştir (49, 60, 80). Ayrıca, Şahin ve ark. (113) yaptıkları bir çalışmada, rasyona genistein ilavesi ile bıldırcınlarda, kemik mineralizasyonunda artış olduğunu bildirmişlerdir. Genisteinin bu yararlı etkisinin osteoblastlarda sitokin üretime aracılık ederek, osteoklastogenezisi baskılamasıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (92).

### 3.2.6. Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

17- $\beta$  östradiolün, östrojen reseptörleri ile ilişkili olarak beyindeki sinir hücrelerini koruduğu bilinmektedir (86). Östrojen, çekirdek içi ve dışındaki östrojen reseptörlerinde gen transkripsiyonu ve ikincil mesaj sistemleri ile beyin fonksiyonlarını düzenleyebilmektedir. Genisteinin östrojenik aktivitesi nedeniyle



benzer bir etkileşim göstereceği düşünülmektedir. Bitkisel bir östrojen olan genisteinin, sinir hücrelerinin büyümesi, canlı kalması ve farklılaşması üzerine, östrojen reseptörleri ile etkileşme ve antioksidan özellikleri sayesinde etkili olabileceği bildirilmektedir (89, 123). Birçok çalışma, genisteinin in vivo ve in vitro olarak sinir hücrelerini koruduğunu ortaya koymaktadır (86, 89, 123). Genistein, serbest radikallere maruz kalarak hasara uğramış sinirlerde, antioksidan etkinlik göstermektedir (86).

### 3.2.7. Diğer Etkileri

Genistein reproduktif sistemin gelişimini etkileyebilir, immun yanıtı değiştirebilir veya gecikmiş tip hipersensitif yanıt ile *tiroid peroksidazı* azaltabilir. Ayrıca genisteinin mikromolar düzeyindeki konsantrasyonları, vücutta çeşitli iyon kanalları ve membran proteinlerinin fonksiyonlarını değiştirebilir (92).

Genistein ve daidzein, vücutta meydana gelebilecek DNA mutasyonunu da önleyebilmektedir (6, 34, 50, 76, 103).

Genisteinin böbrek, diyabet ve obezite hastalıklarına karşı koruyucu olabileceği ifade edilmektedir (79). Hayvan denemelerinde genisteinin serum insülin düzeyini ve rezistansını düşürdüğü, diyabetli ve diyabetsiz insanlarda soya proteinlerinin, hiperglisemiyi orta düzeye indirdiği ve vücut ağırlığı, hiperlipidemi, ve hiperinsülinemiyi düşürerek obezite ve diyabet üzerine yararlı etkileri bildirilmiştir (20). Genisteinin, östrojenik özelliğinden bağımsız olarak iyot yetersizliğinde tiroid üzerine antitiroidal etkisi olduğu ve *tiroid peroksidaz* enziminin etkisini baskılayabildiği belirtilmiştir (44).

Hiperkolesterolemik farelerde Genistein, *asetilkolin estera*z aktivitesini baskılayarak kolinerjik sinapslarda asetil kolinin daha aktif olarak görev yapmasına yardımcı olur. Böylece öğrenme ve hafızanın iyileşmesi ve uzun süre sürdürülmesi söz konusu olmaktadır. Nörotransmitterler üzerine olan bu etkileri ile kan lipid seviyelerini düşürücü etkileri ile birlikte düşünülerek hafıza ve öğrenme üzerine olan etkileri değerlendirilmelidir (90).

Pek çok izoflavonun geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi ortaya konmuştur. Antimikrobiyal izoflavonlar; fitoantisipinler ve fitoaleksin olarak sınıflandırılabilir. Genistein fonksiyon olarak hem fitoantisipin hem de fitoaleksin özelliğindedir (42). Bugüne kadar yapılan çalışmalar neticesinde genisteinin güvenli ve toksik dozları kesin olarak tespit edilememiştir (108).

### **3.3. Genisteinin Hayvansal Ürünlere Geçışı**

Genistein ve daidzeinin sahip oldukları östrojenik, antiöstrojenik, antioksidan, antikarsinojen gibi özelliklerinin anlaşılması üzerine, batılı ülkelerde, yapılarında yüksek miktarlarda bu bitkisel östrojenleri içeren soya ve soyaya dayalı beslenmeye yönelik görülmüştür (28, 88). Fakat ABD gibi gelişmiş bir ülkede dahi henüz alışlagelmiş gıdalardan vazgeçip soyalı gıdaların tüketilmesine yönelik girişimler sınırlıdır (88, 91).

Soya sahip olduğu besleyici değerin yüksek olmasından dolayı özellikle kanatlı rasyonlarına yüksek miktarlarda katılmaktadır (7). Böylece yemdeki soyayla birlikte alınan izoflavonların hayvansal ürünlere geçışı veya bu ürünlere birikimi söz konusu olabilmektedir (88). Yumurtacı tavukların rasyonlarına yapılan çeşitli katkılarla, yumurtaya geçen yağ asidi, vitamin ve minerallerin

insanlar tarafından bu yumurtaların tüketilmesiyle alınması mümkün olmaktadır (55, 88). Bundan dolayı, yumurtalar izoflavon taşıyıcısı olarak kullanılarak beslenme alışkanlığını köklü olarak değiştirmeksizin, insanlar tarafından soyizoflavonların hayvansal gıdalarla alınması sağlanabilir.

Aynı zamanda izoflavonların plazma kolesterolünü ve LDL'nin oksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir (78, 88). Tavuk yemlerindeki yüksek izoflavon içeriğinin direk olarak et ve yumurtadaki kolesterolü azaltabileceği bildirilmiştir (68, 105, 115, 121). Böylece yüksek kolesterol içeriğinden dolayı insanlar tarafından fazla tüketilmesi önerilmeyen et ve yumurta gibi hayvansal ürünlerin tüketimi arttırılabilir (114, 115). Soyizoflavonların ete geçişi veya ette birikimi konusunda henüz bir çalışma olmamasına rağmen, yumurtaya geçişinin gösterildiği sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Saitoh ve ark. (115) yaptıkları bir çalışmada, genisteinin yumurtaya geçtiğini bildirmişlerdir. İzoflavonların yumurtaya geçişi deneme grubunda 6. günde 33.26 µg/100g ve 12. günde 65.29 µg/100g olarak belirlenmiştir. Kontrol grubunda yumurtadaki izoflavon miktarı 3 µg/100g olarak tespit edilmiş ve 18 günlük çalışma boyunca değişiklik göstermemiştir (115).

Antioksidan ve antikarsinogenik etkili olmasından dolayı, izoflavonların hayvansal ürünlere geçiş oranlarının belirlenmesi ve bu ürünlerin insanlar tarafından tüketiminin teşviki büyük önem taşımaktadır.

Bu literatür bilgilerinin ışığı altında bu araştırmanın amacı genisteinin:

1. Yumurta sarısına geçiş oranının belirlenmesi,
2. Yumurta sarısı MDA, E vitamini ve A vitamini düzeyleri üzerine etkileri,
3. Yumurta verimi üzerine etkisi,

4. Kalsiyum ve D vitamininin emilimini arttıran genisteinin, yumurta kalitesi üzerine olan etkisi,
5. Rasyona ilave edilen genistein dozlarının herhangi bir toksik etkisinin olup olmadığının belirlemesidir.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Gereç

#### 4.1.1. Hayvan Materyali

Çalışmada, Elazığ'daki ticari bir firmadan (İmsanay Kanatlı Ürün. ve Tic. A.Ş.) temin edilen 5 haftalık yaşta 150 adet dişi Japon bildiricini (*Coturnix coturnix japonica*) kullanılmıştır.

#### 4.1.2. Yem Materyali ve Araştırma Grupları

Deneme gruplarını bazal rasyona ilave edilen genistein düzeyleri oluşturmuştur. Buna göre bazal rasyonla beslenen ve genistein ilave edilmeyen grup 0, bazal rasyona 400 mg/kg genistein ilave edilen grup 400 ve 800 mg/kg genistein ilave edilen grup ise 800 grubunu oluşturmuştur. Bazal rasyonun bileşimi ve besin madde içeriği Tablo 2'de verilmiştir. Çalışmada, genistein kaynağı olarak DSM (İstanbul) firmasından temin edilen ve % 98 düzeyinde aglikon formunda genistein içeren **Bonistein<sup>TM</sup>** kullanılmıştır.

**Tablo 2:** Bazal Rasyonun Bileşimi ve Besin Madde İçerikleri

| <b>Ham Maddeler</b>       | <b>%</b> |
|---------------------------|----------|
| Mısır                     | 60.00    |
| Soya Küspesi              | 27.15    |
| Mısır Yağı                | 2.00     |
| Mermer Tozu               | 8.82     |
| Dikalsiyum Fosfat         | 1.30     |
| Vitamin-Mineral Premiks * | 0.25     |
| Tuz                       | 0.35     |
| DL-Metiyonin              | 0.13     |
| <b>Kimyasal Analizler</b> |          |
| Ham Protein, %            | 18       |
| Metabolik E, kcal/kg**    | 2750     |

\***Vitamin-Mineral karmasının her 2500 gr'ında;** 12000000 IU Vitamin A, 2400000 IU Vitamin D3, 30000 mg Vitamin E, 2500 mg Vitamin K3, 3000 mg Vitamin B<sub>1</sub>, 7000 mg Vitamin B<sub>2</sub>, 40000 mg Niasin, 8000 mg Kalsiyum-D Pantotamat, 4000 mg Vitamin B<sub>6</sub>, 15 mg Vitamin B<sub>12</sub>, 50000 mg Vitamin C, 1000 mg Folik asit, 45 mg D-Biotin, 125000 mg Kolin klorid, 80000 mg Manganez, 30000 mg Demir, 60000 mg Çinko, 5000 mg Bakır, 100 mg Kobalt, 400 mg İyot ve 150 mg Selenyum bulunmaktadır.

\*\***Hesap yoluyla bulunmuştur.**

## 4.2. Yöntem

### 4.2.1. Deneme Yeri

Araştırma, Elazığ Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü'nde bulunan kanatlı besleme ünitesinde yürütülmüştür.

### 4.2.2. Deneme Düzeni

Hayvanların ortama adaptasyonlarını sağlamak amacıyla çalışma başlamadan önce iki hafta boyunca bazal rasyonla beslenmeleri sağlanmıştır. Bu iki haftanın sonunda her grupta 50'şer adet dişi bıldırcın olacak şekilde hayvanlar rastgele seçilerek tartılmış ve Tablo 3'te verildiği gibi deneme grupları oluşturulmuştur.

**Tablo 3:** Deneme Düzeni (n=50)

| Gruplar | Genistein Düzeyi | Veriliş yolu | Verilme sıklığı | Süresi |
|---------|------------------|--------------|-----------------|--------|
| 0       | -                | Rasyonla     | Ad libitum      | 3 ay   |
| 400     | 400 mg/kg        | Rasyonla     | Ad libitum      | 3 ay   |
| 800     | 800 mg/kg        | Rasyonla     | Ad libitum      | 3 ay   |

Hayvanların barındırıldığı deneme ünitelerinde sıcaklık  $22 \pm 2$  °C'ye ayarlanmış ve aydınlatma programı; 17 saat aydınlık, 7 saat karanlık olacak şekilde düzenlenmiştir. Hayvanların önünde devamlı olarak yem ve taze su bulundurulmuş ve çalışma 90 gün sürdürülmüştür.

#### **4.2.3. Canlı Ağırlık ve Yem Tüketimi**

Hayvanların başlangıç ve bitiş canlı ağırlıkları, çalışmanın başında ve sonunda tartılarak tespit edilmiştir. Hayvanların yem tüketimleri; bir hafta boyunca verilen toplam yemden yemliklerde kalan yem miktarının çıkarılmasıyla bulunmuş, hayvan başına günlük ortalama yem tüketimleri ise grubun her hafta tükettiği yem miktarının, gün sayısı ile o gruba ait hayvan sayısına bölünmesiyle hesaplanmıştır. Hafta içerisinde ölen hayvan olduğu takdirde bu durum göz önüne alınarak yem tüketimi bulunmuştur.

#### **4.2.4. Yumurta Verimi**

Çalışma başlangıcından itibaren yumurtalar günlük olarak her gün aynı saatte toplanıp sayılarak yumurta verimi belirlenmiştir. Yumurta verimi; yumurta sayısının o günkü bıldırcın sayısına bölünmesiyle elde edilmiştir.

#### **4.2.5. Yemden Yararlanma Oranı**

Hayvanların günlük tükettikleri yem miktarı, ortalama yumurta ağırlığına bölünerek yemden yararlanma oranı kg yem : kg yumurta olarak hesaplanmıştır. Yumurta ağırlığı ise bütün yumurtalar haftalık olarak tartılıp, yumurta sayısına bölünerek ortalama yumurta ağırlıkları tespit edilmiştir.

#### **4.2.6. Yumurta Kalitesi**

Çalışma sonunda toplanan yumurtalar bir gün oda sıcaklığında (20-22 °C) bekletilmiş ve daha sonra yumurta ağırlığı, kabuk ağırlığı, kabuk kalınlığı ve Haugh birimi ( $100 \times \log (H - 1,7 \times P^{0.37} + 7,57)$ ) (H; yumurta akı yüksekliği, mm, P; yumurta ağırlığı, gr ) değerleri ölçülmüştür.



Yumurtaların ve yumurta kabuklarının tartımları için Denver marka (Germany), 0.01g hassasiyetinde elektronik terazi, yumurta albümin yüksekliğinin belirlenmesi için Mau marka (Poland), 0.01 mm hassasiyetinde kumpas, yumurta kabuk kalınlığının tespiti için ise Mitutoyo marka (Japan), 0.01 mm hassasiyetinde mikrometre kullanılmıştır.

Yumurta kabukları 24 saat kurumaya bırakıldı ve bu sürenin sonunda kuruyan kabuklar tartılarak kabuk ağırlıkları belirlenmiştir. Kabukların tartım işleminden sonra mikrometre ile kabuk kalınlığının ölçümleri yapılmıştır. Kabuk kalınlığı, üç farklı kısmın (sivri uç, küt uç ve yan kısım) ölçülerek ortalamasının bulunmasıyla belirlenmiştir.

#### **4.2.7. Örneklerin Alınması**

##### **4.2.7.1. Yumurta Sarısı Örneklerinin Alınması**

Yumurta sarısı analizleri için çalışmanın son 3 gününde bütün yumurtalar toplanmış ve her grupta toplam 6 örnek olacak şekilde 4'er adet yumurta kırılıp sarıları alınarak homojen bir karışım elde edildikten sonra bir örnek haline getirilmiştir. Bu örnekler, örnek saklama şişelerine doldurulduktan sonra analizler için -70 °C'de depolanmıştır.

##### **4.2.7.2. Yem Örneklerinin Alınması**

Yem örneklerinde ham protein, genistein ve daidzein analizleri için her gruptan ortalama 100'er gr yem örneği alınarak analizler yapılınca kadar -70 °C'de depolanmıştır.

#### **4.2.8. Laboratuvar Analizleri**

Laboratuvar analizleri, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Yem Analizi ve HPLC laboratuvarlarında yapılmıştır.

##### **4.2.8.1. Ekstraksiyon Yöntemleri**

###### **4.2.8.1.1. Yem Örneklerinde İzoflavon Ekstraksiyonu**

Yem izoflavon ekstraksiyonu, Lin ve ark. (88) tarafından geliştirilen metoda göre yapılmıştır. Buna göre yem örnekleri ilk önce toz haline gelinceye kadar laboratuvar değirmeninde öğütülmüştür. Bir birim örnek (1 gr yem) alınıp, üzerine dört birim (4 ml) % 80'lik metanol solüsyonu eklenmiştir. İyi bir izoflavon ekstraksiyonu için bu karışım oda sıcaklığında 2 saat vorteksle (IKA, Genius 3, Almanya) karıştırıldıktan sonra vakumlu Büşner hunisi (Buchner Funnel, İtalya) yardımıyla filtre kağıdı (110 mm, Whatman No. 41, İngiltere) ile süzölmüştür. Elde edilen filtrat içerisindeki metanol ve su 40 °C'lik su banyosu bulunan bir evaporatör yardımıyla uçurularak ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır.

###### **4.2.8.1.2. Yumurta Sarısı Örneklerinde İzoflavon Ekstraksiyonu**

Lin ve ark. (88) tarafından geliştirilen ekstraksiyon metoduna göre yumurta sarısında izoflavon ekstraksiyonu yapılmıştır. Dondurulmuş yumurta sarısı örnekleri, oda sıcaklığında çözöüröldükten sonra iyice homojenize edilmiştir. Bu örneklerden 1 gr tartılıp 50 ml'lik santrifüj tüpüne bırakılmış ve üzerine 4 ml % 80'lik metanol solüsyonu eklenmiştir. Yüksek düzeyde izoflavon ekstraksiyonu için karışım oda sıcaklığında 2 saat vorteksle karıştırılmıştır. Sonra,

örnek 33,6 g'de, 10 °C'de, 10 dakika süreyle soğutmalı santrifüj cihazı ile santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant kısım alınıp içerisindeki metanol ve su uçurulmuştur.

#### **4.2.8.1.3. Yumurta Sarısı Örneklerinde Vitamin A ve E Ekstraksiyonu**

Yumurta sarısında vitamin ekstraksiyonu Franchini ve ark. (51)'na göre yapılmıştır. Yumurta sarısı örneğinden 0,5 gr tartılıp cam tüp içerisine bırakılmıştır. Üzerine 7.5 ml potasyum hidroksit (KOH, % 85, Merck) ve 7.5 ml etil alkol ( $C_2H_5OH$ , % 99.8, Riedel) karışımından oluşan solüsyon eklendikten sonra oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilmiştir. Üzerine 10 ml hekzan ( $C_6H_{14}$ , % 95, Riedel) ve 10 ml monopotasyumfosfat ( $KH_2PO_4$ , Merck) eklenerek 5 dakika vorteksle iyice karıştırılmıştır. Ardından 5000 devir/dakika santrifüj ile 10 dakika santrifüj edilmiştir. Homojenatın üzerinde biriken hekzan fazı alınarak, 5 ml'lik cam tüpe aktarılmış ve azot gazı altında uçurulduktan sonra ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır.

#### **4.2.8.1.4. Yumurta Sarısı Örneklerinde MDA Ekstraksiyonu**

Yumurta sarısında MDA ekstraksiyonu Karatas ve ark. (77) tarafından uygulanan metoda göre küçük değişikliklerle yapılmıştır. Yumurta sarısı örneğinden 0,3 gr tartılıp 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpün içerisine konarak üzerine 0,3 ml perklorik asit ( $HClO_4$ , % 70, Merck) eklenmiştir. Vorteksle iyice karıştırıldıktan sonra 5000 devir/dakika 10 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından homojenatın üzerinde biriken süpernatant kısım alınarak ekstraksiyon işlemi tamamlanmıştır.

#### **4.2.8.2. HPLC Cihazında Ölçüm Yöntemleri**

Yem örneklerinde izoflavon ve yumurta sarısı örneklerinde izoflavon, vitamin ve lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA ölçümleri floresan dedektör (RF-10AXL), UV-VIS dedektör (SPD-20A), pompa (LC-20AD), autosampler (SIL-20A) ve kolon fırını (CTO-10ASVP) ünitelerine sahip olan yüksek performanslı sıvı kromatografi (High Performance Liquid chromatography, HPLC) cihazında (Shimadzu, Japonya) yapılmıştır.

##### **4.2.8.2.1. Yem Örneklerinde İzoflavon Ölçümü**

İzoflavon ölçümlerinde genistein (% 98, Sigma-Aldrich, Çin) ve daidzein (% 98, Sigma-Aldrich, İsrail) standartları kullanılmıştır. Yem örneklerindeki izoflavonlar HPLC cihazında ters-faz ayrıştırma tekniği ile C<sub>18</sub> kolonla (ODS-3, 4,6 x 250 mm ve 5µm partikül büyüklüğü) linear gradient uygulanarak ölçülmüştür. Linear gradienti oluşturan mobil faz solüsyonları;

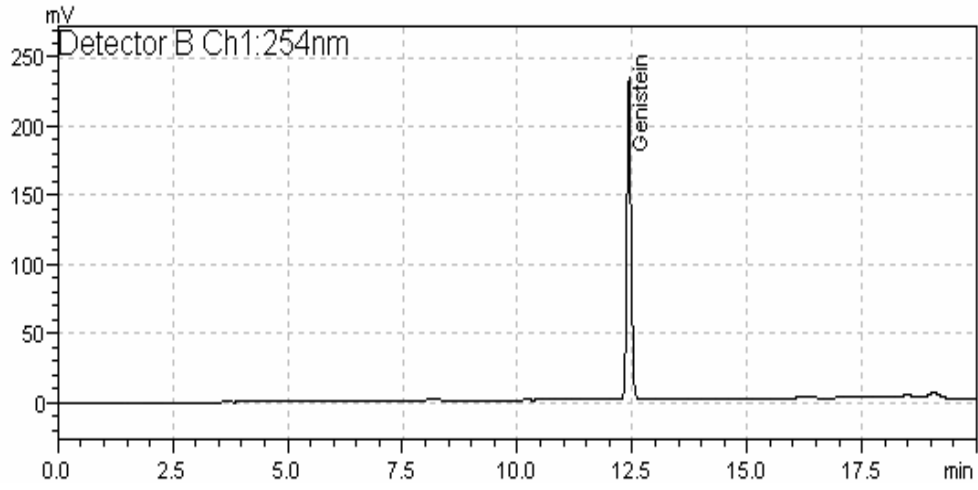
A: % 0,1 asetik asit, % 5 asetonytril ve % 94,9 distile su,

B: %0,1 asetik asit ve % 99,9 asetonytril

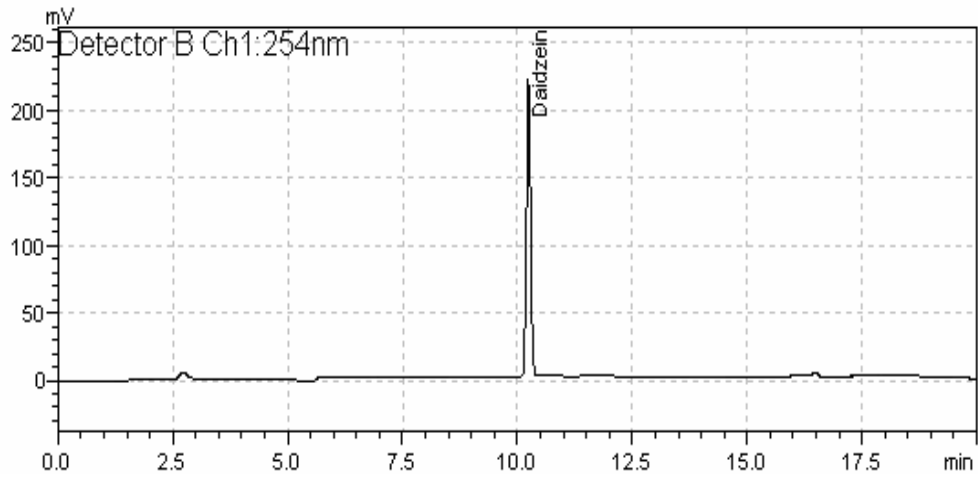
şeklinde iki ayrı mobil faz hazırlanmıştır.

Ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrakt 1 ml % 16'lık asetonytril solüsyonuyla tekrar çözündürülüp 50 µL sisteme enjekte edildikten sonra floresan dedektörde 254 nm'de okutulmuştur. Ölçüm esnasında uygulanan linear gradient; 0. dakikada % 90 A solüsyonu ve % 10 B solüsyonu ile başlayıp 10. dakikaya gelinceye kadar A solüsyonu % 86'ya, B solüsyonu % 14'e, daha sonra 12. dakikaya gelinceye kadar A solüsyonu % 80'e, B solüsyonu % 20'ye ulaşarak 20. dakikaya kadar böyle devam edip 30. dakikanın sonunda A solüsyonu % 30'a, B

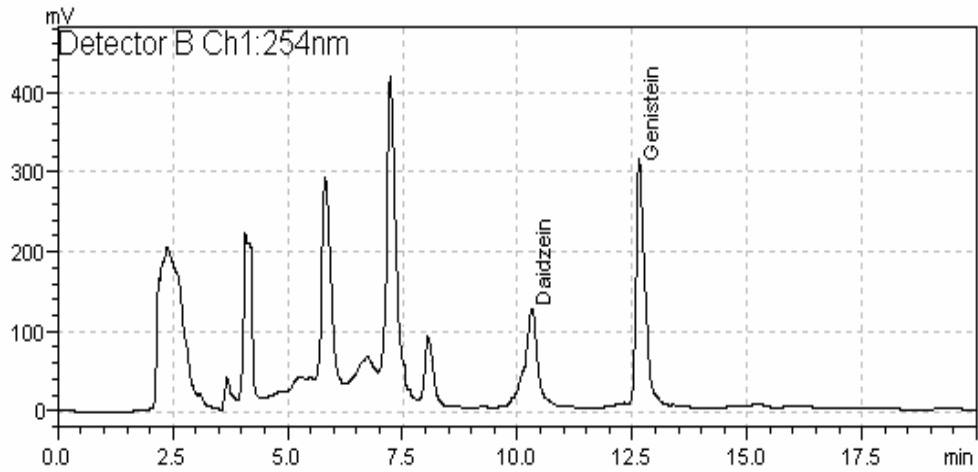
solüsyonu % 70'e ulaşıp 33. dakikaya kadar böyle devam ederek 34. dakikada başlangıçtaki A ve B solüsyon oranlarına (% 90 A solüsyonu ve % 10 B solüsyonu) dönecek şekilde programlanmıştır. Analiz boyunca cihazın kolon fırını sıcaklığı 40 °C'de sabit tutulup mobil faz akış hızı 1 ml/dakika olarak ayarlanmıştır. (88).



**Şekil 8:** Genistein Standardı Kromatogramı



**Şekil 9:** Daidzein Standardı Kromatogramı



**Şekil 10:** Yem Örneği Genistein ve Daidzein Kromatogramı

Rasyonun ham protein düzeyi AOAC'de (11) bildirilen analiz metoduna göre tespit edilmiş, Metabolik Enerji değeri ise hesap yoluyla bulunmuştur. Ayrıca her üç grubun yemlerinde genistein ve daidzein düzeyleri HPLC'de ölçülmüştür (Tablo 4).

**Tablo 4:** Rasyon Genistein ve Daidzein Düzeyleri, mg/100g

| Yemde Ölçülen İzoflavonlar | 0     | 400    | 800    |
|----------------------------|-------|--------|--------|
| Genistein                  | 6,910 | 33,086 | 66,102 |
| Daidzein                   | 5,212 | 5,209  | 5,210  |

#### 4.2.8.2.2. Yumurta Sarısı Örneklerinde İzoflavon Ölçümü

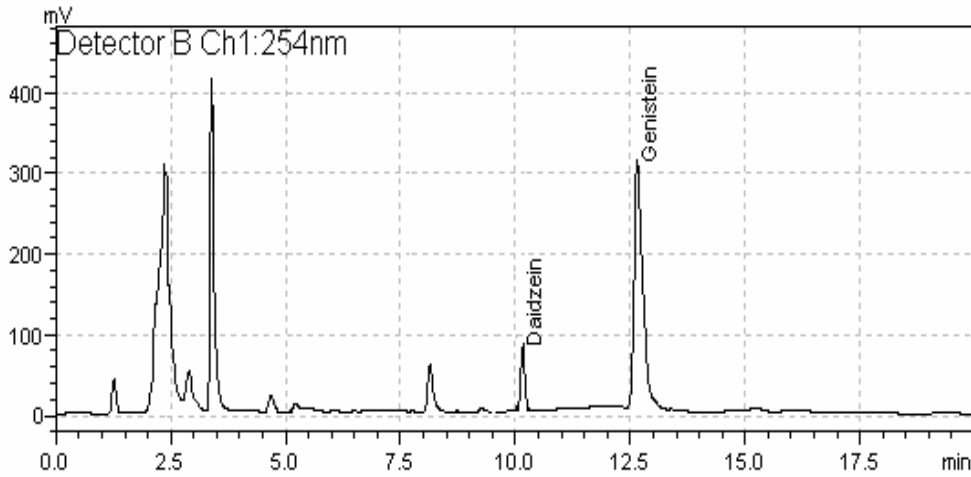
Yumurta sarısındaki izoflavonlar HPLC'de ters-faz ayırıştırma tekniği ile C<sub>18</sub> kolonla (ODS-3, 5µm, 4,6 x 250 mm) linear gradient uygulanarak ölçülmüştür. Linear gradienti oluşturan mobil faz solüsyonları;

A: % 0,1 asetik asit, % 5 asetonyitril ve % 94,9 distile su,

B: %0,1 asetik asit ve % 99,9 asetonitril

şeklinde hazırlanmıştır.

Ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstrakt 1 ml % 16'lık asetonitril solüsyonuyla tekrar çözündürülüp 50 µL sisteme enjekte edildikten sonra UV dedektörde 254 nm'de okutulmuştur. Ölçüm esnasında uygulanan linear gradient; 0. dakikada % 84 A solüsyonu ve % 16 B solüsyonu ile başlayıp 15. dakikaya gelinceye kadar A solüsyonu % 30'a, B solüsyonu % 70'e ulaşarak 18. dakikaya kadar böyle devam edip 20. dakikanın sonunda tekrar başlangıçtaki A ve B solüsyon oranlarına (% 84 A solüsyonu ve % 16 B solüsyonu ) dönecek şekilde programlanmıştır. Analiz boyunca cihazın kolon fırını sıcaklığı 40 °C'de sabit tutulup mobil faz akış hızı 1 ml/dakika olarak ayarlanmıştır (88).

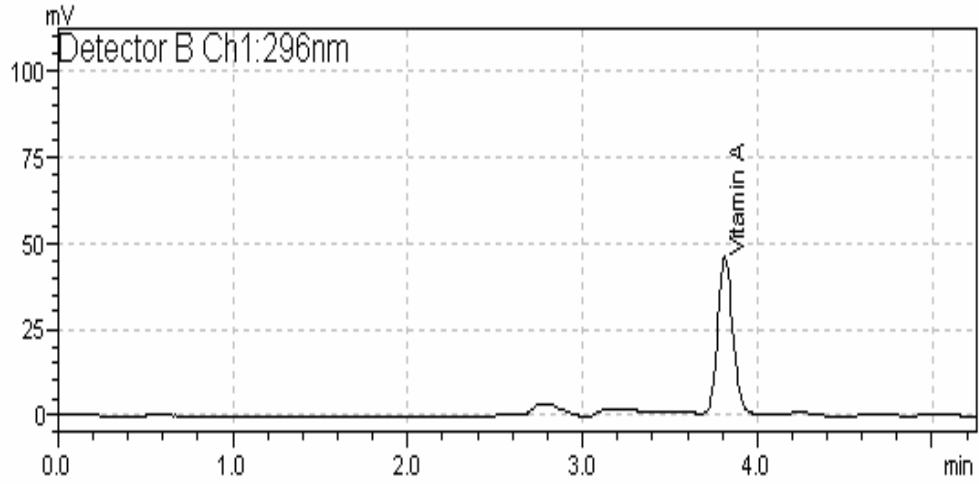


**Şekil 11:** Yumurta Sarısı Örneği Genistein ve Daidzein Kromatogramı

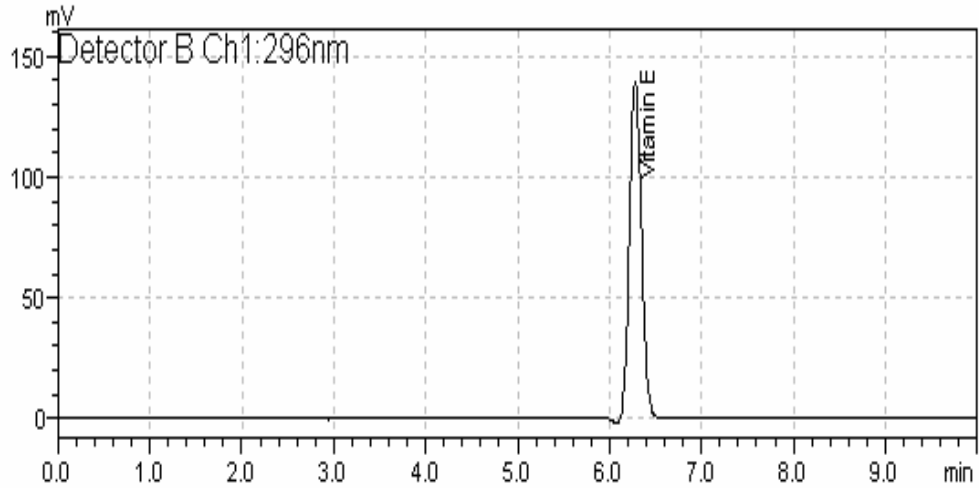
#### 4.2.8.2.3. Yumurta Sarısı Örneklerinde Vitamin A ve E Ölçümü

Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen ekstraktın üzerine 0,1 ml etanol ( $C_2H_5OH$ , % 99.8, Riedel) eklenip tüp iyice karıştırılmıştır. Sonra elde edilen örnek vial konulup HPLC cihazında  $C_{18}$  kolon (ODS-3, 5µm, 4,6 x 250 mm)

kullanılarak UV dedektörde A ve E vitamini 296 nm dalga boyunda okutulmuştur. Kolon fırını sıcaklığı 30 °C olarak ayarlanmıştır. Analizde kullanılan mobil faz metanol-su (%97:3), enjeksiyon miktarı 10 µl ve akış hızı 1,5 ml/dakika olarak ayarlanmıştır (51).

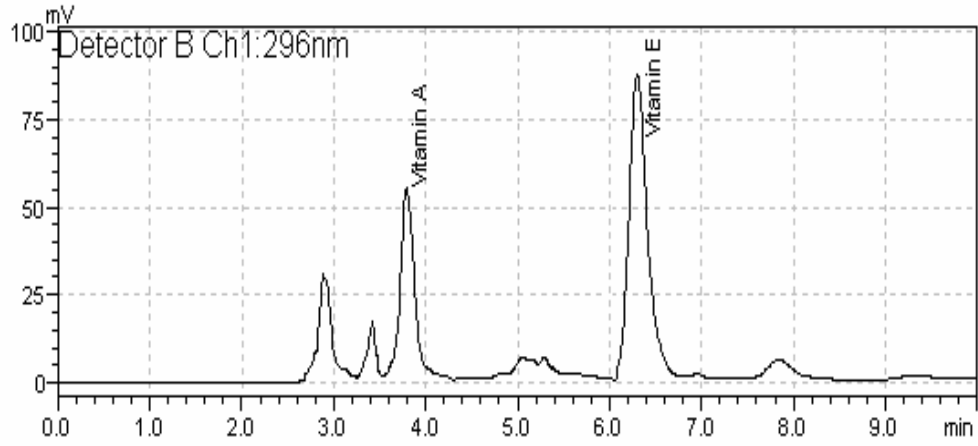


**Şekil 12:** A Vitamini Standardı Kromatogramı



**Şekil 13:** E Vitamini Standardı Kromatogramı

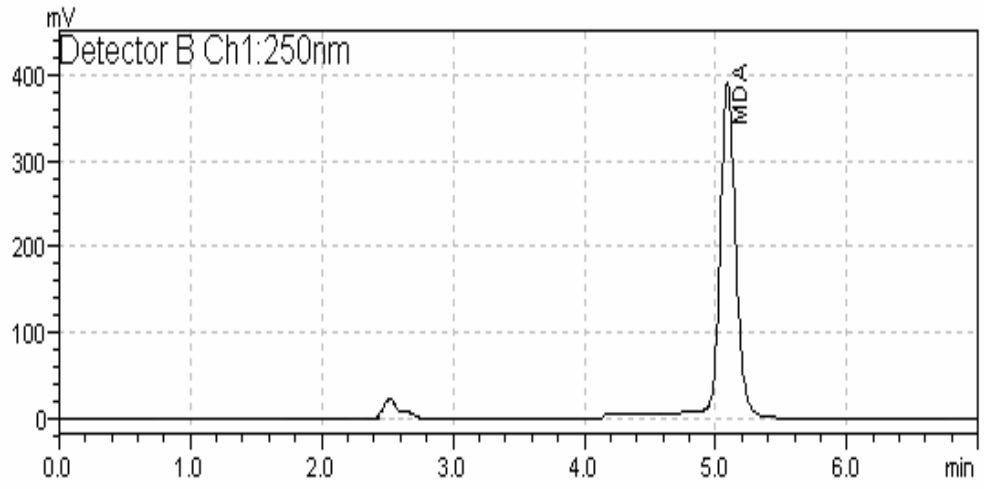




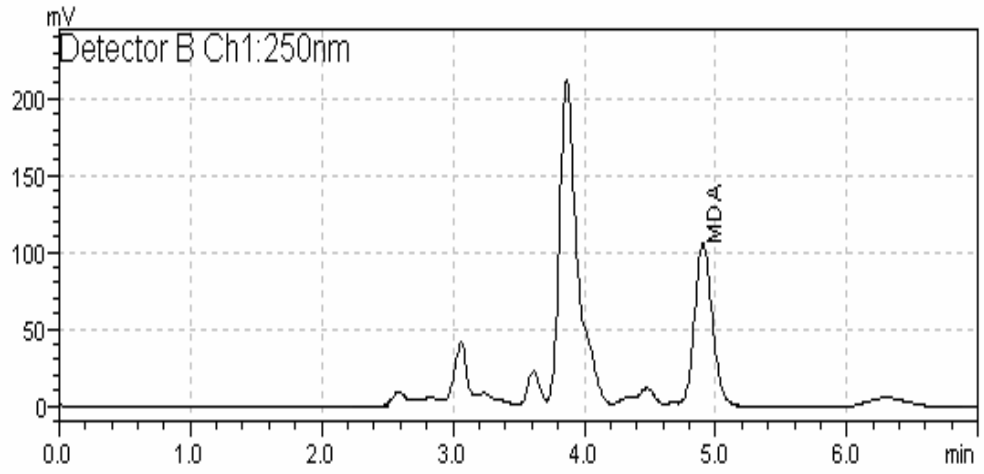
**Şekil 14:** Yumurta Sarısı Örneği A Vitamini ve E Vitamini Kromatogramı

#### **4.2.8.2.4. Yumurta Sarısı Örneklerinde MDA Ölçümü**

Hazırlanan örnekler viallere konulup HPLC cihazında C<sub>18</sub> kolon (ODS-3, 5µm, 4,6 x 250 mm) kullanılarak UV dedektörde 250 nm dalga boyunda okutulmuştur. Analizde kullanılan mobil faz 30 mM'lık Monopotasylumfosfat-Metanol (%65:35), enjeksiyon miktarı 20 µl ve akış hızı 1,5 ml/dakika olarak ayarlanmıştır (77).



**Şekil 15:** MDA Standardı Kromatogramı



**Şekil 16:** Yumurta Sarısı Örneği MDA Kromatogramı

#### 4.2.9. İstatistiksel Analizler

Veriler, SAS (117) paket programında PROC MIXED prosedürü kullanılarak tek yönlü ANOVA ile değerlendirilmiştir. Rasyona genistein katkısının performans, yumurta kalitesi ve yumurta sarısı genistein, daidzein, A vitamini, E vitamini ve MDA düzeyleri üzerine olan etkilerinin belirlendiği linear model;  $y_{ij} = \mu + G_i + e_j$  şeklinde oluşturulmuştur. Burada  $y$  = değişken yanıtı,  $\mu$  = popülasyon ortalaması,  $G$  = genistein katkısı ve  $e$  = hata N'dir. Bu model aynı zamanda genistein katkısının etkilerini ve genistein katkısındaki artışla değişken yanıtındaki değişiklikleri belirlemek için ortogonal ve polinomial karşılaştırmaları da içermektedir. Yumurta sarısı genistein, daidzein, A vitamini, E vitamini ve MDA değerleri arasındaki korelasyonlar CORR prosedürü (117) kullanılarak belirlenmiştir. Bu değerler arasındaki matematiksel ilişki ise, REG prosedürü (117) kullanılarak bulunmuştur. İstatistiksel önemlilik olasılık değerlerinin 0.05'ten küçük olan değerler için tanımlanmıştır.

## 5. BULGULAR

Tablo 5'te görüleceği üzere, rasyona genistein ilavesi bıldırcınların bitiş canlı ağırlık değerlerini etkilememiştir. Rasyona genistein ilavesi ile yem tüketimi linear olarak artış göstermiştir ( $P < 0.0001$ ). Günlük ortalama yem tüketimi kontrol grubunda 29.50 g, 400 grubunda 31.55 g ve 800 grubunda ise 32.40 g olarak bulunmuştur.

Günlük ortalama yumurta verimleri rasyona genistein ilave edilmeyen grupta % 81.91, 400 mg/kg genistein ilave edilen grupta % 89 ve 800 mg/kg genistein ilave edilen grupta ise % 92.66 olarak belirlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak linear bir artış gözlenmiştir ( $P < 0.0001$ , Tablo 5).

Kontrol grubunda yumurta ağırlığı 11.38 g, rasyona 400 mg/kg genistein ilave edilen grupta 12.28 g ve rasyona 800 mg/kg genistein ilave edilen grupta ise 12.75 g olarak bulunmuştur. Kontrol ve deneme gruplarının yumurta verimleri arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P < 0.0001$ , Tablo 5).

Rasyona genistein ilavesi ile yemden yararlanma oranlarında iyileşme tespit edilmiş ( $P < 0.003$ ) ve gruplarda sırasıyla 2.60, 2.57 ve 2.54 olarak bulunmuştur (Tablo 5).

Rasyona genistein ilavesi, Haugh birimi ( $P < 0.0001$ ), yumurta kabuk kalınlığı ( $P < 0.0001$ ) ve kabuk ağırlığını ( $P < 0.0001$ ) da linear olarak artırmıştır. Gruplarda sırası ile Haugh birimi 77.41, 88.25, 92.83, kabuk kalınlığı 0.20 mm, 0.23 mm, 0.28 mm, Kabuk ağırlığı da 1.32 gr, 1.40 gr ve 1.48 gr olarak tespit edilmiştir (Tablo 5).

**Tablo 5:** Rasyona Genistein İlavesinin Performans ve Yumurta Kalitesi Üzerine Etkileri

| Parametreler           | Rasyon Genistein |       |       |        | Önemlilik, $P > F$ |        |       |
|------------------------|------------------|-------|-------|--------|--------------------|--------|-------|
|                        | düzeyi, mg/kg    |       |       | SEM    | S                  | L      | Q     |
|                        | 0                | 400   | 800   |        |                    |        |       |
| Bitiş CA, gr           | 186              | 188   | 187   | 2.200  | 0.233              | 0.823  | 0.92  |
| Yem tüketimi, gr/gün   | 29.50            | 31.55 | 32.40 | 0.283  | 0.0001             | 0.0001 | 0.06  |
| Yumurta verimi, %      | 81.91            | 89.00 | 92.66 | 0.761  | 0.0001             | 0.0001 | 0.07  |
| Yumurta ağırlığı, gr   | 11.38            | 12.28 | 12.75 | 0.049  | 0.0001             | 0.0001 | 0.88  |
| Yemden yararlanma      | 2.60             | 2.57  | 2.54  | 0.0004 | 0.003              | 0.0007 | 0.995 |
| Haugh birim            | 77.41            | 88.25 | 92.83 | 0.84   | 0.0001             | 0.0001 | 0.005 |
| Y. Kabuk kalınlığı, mm | 0.20             | 0.23  | 0.28  | 0.006  | 0.0001             | 0.0001 | 0.347 |
| Y. Kabuk ağırlığı, gr  | 1.32             | 1.40  | 1.48  | 0.011  | 0.0001             | 0.0001 | 1.000 |

SEM: Standart hata, S: Önemlilik, L: Linear, Q: Quadratik

Rasyona genistein ilavesi, yumurta sarısı genistein düzeyini ( $P < 0.0001$ ) artırırken, yumurta sarısı MDA düzeyini ( $P < 0.0001$ ) düşürmüştür (Tablo 6). Bununla birlikte rasyona genistein ilavesi; yumurta sarısı daidzein (0.127, 0.125, 0.127 mg/kg), A vitamini (4.77, 5.28, 5.13 mg/kg) ve E vitamini (10.31, 11.85, 13.62 mg/kg ) düzeylerini etkilememiştir (Tablo 6). Yumurta sarısı genistein değerleri kontrol grubunda 0.58 mg/kg, 400 grubunda 0.82 mg/kg ve 800 grubunda ise 1.47 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Yumurta sarısındaki lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA değerleri ise kontrol grubunda 0.093 mg/kg, 400 grubunda 0.081 mg/kg ve 800 grubunda ise 0.073 mg/kg olarak bulunmuştur (Tablo 6).

**Tablo 6:** Rasyona Genistein İlavesinin Yumurta Sarısı Genistein, Daidzein, Vitamin A, Vitamin E ve MDA Değerleri Üzerine Etkileri

| Yumurta sarısı<br>Parametreleri | Rasyon Genistein düzeyi,<br>mg/kg |       |       |      | Önemlilik, $P > F$ |        |      |
|---------------------------------|-----------------------------------|-------|-------|------|--------------------|--------|------|
|                                 | 0                                 | 400   | 800   | SEM  | S                  | L      | Q    |
| Genistein, mg/kg                | 0.58                              | 0.82  | 1.47  | 0.08 | 0.0001             | 0.0001 | 0.05 |
| Daidzein, mg/kg                 | 0.127                             | 0.125 | 0.127 | 0.03 | 0.9993             | 0.99   | 0.97 |
| Vitamin A, mg/kg                | 4.77                              | 5.28  | 5.13  | 0.56 | 0.8051             | 0.65   | 0.63 |
| Vitamin E, mg/kg                | 10.31                             | 11.85 | 13.62 | 1.15 | 0.1464             | 0.05   | 0.93 |
| MDA, mg/kg                      | 0.093                             | 0.081 | 0.073 | 0.00 | 0.0001             | 0.0001 | 0.32 |

SEM: Standart hata, S: Önemlilik, L: Linear, Q: Quadratik

Yumurta sarısı genistein içeriği ile yumurta sarısı MDA içeriği ( $r = 0.651$ ) arasında negatif; yumurta sarısı genistein düzeyi ile yumurta sarısı vitamin A ( $r = 0.150$ ) ve vitamin E ( $r = 0.230$ ) düzeyi arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir ( $P < 0.0001$ , Tablo 7). Diğer yandan yumurta sarısı daidzein içeriği ile yumurta sarısı vitamin A içeriği ( $r = 0.064$ ) arasında negatif korelasyon bulunmaktadır (Tablo 7). Yumurta sarısı vitamin A içeriği ile yumurta sarısı MDA içeriği ( $r = 0.098$ ) ve yumurta sarısı vitamin E içeriği ile yumurta sarısı MDA içeriği ( $r = 0.331$ ) arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir ( $P < 0.0001$ , Tablo 7).

**Tablo 7:** Yumurta Sarısı İzoflavon, Vitamin ve MDA Parametreleri Arasındaki Korelasyonlar (r)<sup>1</sup>

| <b>Parametreler</b>                        | <b>(1)</b> | <b>(2)</b> | <b>(3)</b> | <b>(4)</b> | <b>(5)</b> |
|--------------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Yumurta sarısı genistein düzeyi, mg/kg (1) | 1.000      | -0.009     | 0.150      | 0.230      | -0.651     |
| Yumurta sarısı daidzein düzeyi, mg/kg (2)  |            | 1.000      | -0.064     | 0.392      | 0.054      |
| Yumurta sarısı vitamin A düzeyi, mg/kg (3) |            |            | 1.000      | 0.104      | -0.098     |
| Yumurta sarısı vitamin E düzeyi, mg/kg (4) |            |            |            | 1.000      | -0.331     |
| Yumurta sarısı MDA düzeyi, mg/kg (5)       |            |            |            |            | 1.000      |

<sup>1</sup> Bütün değerler için  $P < 0.0001$

## 6. TARTIŞMA

Soyizoflavonlar güçlü ve değişik biyolojik aktivitelere sahiptirler. Özellikle soyada bol miktarda bulunan (120) soyizoflavonların en önemlileri genistein ve daidzein olup güçlü östrojenik ve antiöstrojenik aktivite gösterirler (65, 70). Soyizoflavonlar, antioksidan (26), antiproliferatif (141), kardiyovasküler hastalık riskini azaltma (32, 139), başta meme ve prostat kanseri olmak üzere hormona bağlı kanser türleri ile mide, idrar kesesi, kolon, rektum ve pankreas kanseri gibi diğer kanser türlerine karşı koruma (57, 141), kemik mineralizasyonunu arttırma (80, 113) ve kemik sağlığını koruma (95) gibi etkilere sahiptirler. Bu çalışmada, genisteinin rasyona ilavesi ile yem tüketimi, yumurta verimi, yumurta ağırlığı, Haugh birimi, kabuk kalınlığı ve kabuk ağırlığı değerlerinde önemli artış ve yemden yararlanmada da iyileşme tespit edilmiştir. Lin ve ark. (88) bıldırcınlarda rasyona genistein ilave ederek yaptıkları kısa süreli çalışmada yumurta veriminde herhangi bir farklılık görmediklerini bildirmektedirler. Oysaki soyizoflavonların, özellikle antioksidan etkilerinden dolayı verimi arttırdıkları yapılan benzer çalışmalarda tespit edilmiştir (113, 115). Nitekim Zhao ve ark. (143, 144) ile Ni ve ark. (102), Shaoxing ördeklerinde ve yumurtacı tavuklarda yaptıkları çalışmalarda, izoflavonlardan olan ve yeme ilave edilen daidzeinin yumurta veriminde ve yumurta kalitesinde artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Bu bilgiler çalışmamızın sonuçları ile paralellik göstermektedir. Önderci ve ark. (104) yaptıkları çalışmada, stres koşullarında barındırılan hayvanlarda diyetle genistein ilavesi ile yem tüketimi, canlı ağırlık artışı ve yemden yararlanmanın arttığını tespit etmişlerdir. Yumurta kabuk



kalınlığı ve kabuk ağırlığındaki artışlar izoflavonların Ca ve vitamin D'nin emilimini arttırmalarına bağlanabilir. Nitekim yapılan pek çok çalışmada izoflavonların Ca ve D vitamininin emilimini arttırdığı belirtilmiştir (13, 49, 60, 80, 113). Cotter ve ark. (36) ise genistein ve daidzeinin insanlarda bağırsak epitellerinde D vitamini reseptörlerinin sayısını arttırdığını ve böylece Ca emilimini arttırdığını bildirmişlerdir. Ni ve ark. (102) yaptıkları çalışmada, daidzein ilavesi ile yumurta kabuk kalınlığının arttığını, kırık yumurta oranının azaldığını, bunun da daidzeinin bağırsaklardan Ca emilimini arttırmasından kaynaklandığını vurgulamışlardır. Ayrıca, Sahin ve ark. (113) bildiricilerde rasyona 200, 400, 800 mg/kg düzeyinde genistein ilave ettikleri bir çalışmada, genisteinin Ca, P, Zn gibi bazı minerallerin atılımını azalttığını tespit etmişlerdir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda tavukların yemine ilave edilen likopen, yağ asitleri, iz mineraller ve vitaminler gibi bazı spesifik maddelerin yumurta sarısına geçtiği bildirilmektedir (22, 23, 37, 52, 74, 99, 101, 106, 112, 133). Bu çalışmada, diyetle genistein ilavesi ile yumurta sarısı genistein düzeyleri linear olarak artış göstermiş ancak yumurta sarısı daidzein düzeylerinde herhangi bir farklılık tespit edilmemiştir. Öte yandan, genistein ilavesi ile yumurta sarısı vitamin A ve vitamin E düzeylerinde gruplar arasında farklılık tespit edilmemiştir. Araştırma bulgularımızla paralel olarak, Lin ve ark. (88)'da genisteinin yumurta sarısına geçtiğini tespit etmişlerdir. Yine, Saitoh ve ark. (115), yumurtacı tavuklarda 18 günlük bir çalışmada, 368.7 mg/kg düzeyinde toplam izoflavon (8 mg/kg daidzein ve 10 mg/kg genistein) içeren rasyonla beslenen hayvanlardan elde edilen yumurta sarılarında toplam 0,03 mg/kg izoflavon tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar rasyon izoflavon düzeyini 1240.1 mg/kg'a (353 mg/kg daidzein ve

476.9 mg/kg genistein) çıkararak yaptıkları diğer bir denemede ise yumurta sarısı toplam izoflavon düzeyini 0,65 mg/kg olarak belirlemişlerdir. Lin ve ark. (88) yumurtacı Japon bıldırcınlarında 15 gün süren çalışmada, 5 gün boyunca 100 mg genistein, 50 mg genistein ve 80 mg genistin (50 mg genisteinin ekivalant dozu) içeren yemlerle beslenen bıldırcınların yumurta sarısı izoflavon düzeylerini belirlemişler ve kontrol grubu da dâhil olmak üzere bütün grupların yumurta sarılarında genistein tespit etmişlerdir. Rasyona genistein ilavesinden sonra 3. günden itibaren yumurta sarısındaki genistein miktarı tedrici olarak artış göstermiş ve uygulama bittikten 1–2 gün sonra da en yüksek genistein düzeyi belirlenmiştir. Daha sonra genistein düzeyinde tedrici olarak azalma başlamış ve 10. günden sonra normal seviyesine düşmüştür. Bu durum genisteinin sadece yumurtaya geçmediğini, aynı zamanda foliküllerin gelişmesi esnasında yumurta sarısında birikim gösterdiğini ve yumurtanın oluşumu esnasında yumurta sarısında genisteinin depolanmasıyla ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Çalışmanın 7. gününde 50 mg genistein grubunda  $1.6 \pm 0.2$  µg/yumurta sarısı genistein ölçülürken 80 mg genistin grubunda  $0.5 \pm 0.2$  µg/yumurta sarısı genistein değeri ölçülmüş; 100 mg genistein grubunda ise 6. günde  $2.4 \pm 0.2$  µg/yumurta sarısı genistein değeri ölçülmüştür. Kontrol grubunda ise yaklaşık  $0.2 \pm 0.1$  µg/yumurta sarısı genistein ölçülmüş ve bütün çalışma boyunca bu miktar değişmemiştir. Burada, rasyona ilave edilen genistein miktarındaki artışa bağlı olarak genisteinin yumurtaya geçiş oranının da arttığı görülmektedir. Bu bulgular, araştırma bulgularımızı desteklemektedir. Lin ve ark. (88) yaptıkları çalışmada, yumurta sarısında genisteinden başka izoflavon ölçemediklerini belirtmelerine rağmen çalışmamızda yumurta sarısında daidzein de tespit edilmiştir. Saitoh ve ark. (114)

soya içerikli ve izoflavonca zengin yemle besledikleri tavukların yumurta sarısı örneklerinde aglikon formların yani genistein, daidzein ve glisiteinin varlığını ayrı ayrı ortaya koymuşlardır. Bu bulgular araştırmamızı destekler niteliktedir.

Genistein, kuvvetli bir antioksidan etkiye sahiptir. Bu etkisini hidrojen peroksit oluşumunu baskılayarak, nitrik oksit ve peroksit radikalleri doğrudan yok ederek (18), serbest radikaller ile ilişkili olaylarda hidrojenasyon veya kompleks yapılar oluşturarak, okside edici ajanları stabilize ederek (62, 100) veya antioksidan enzimleri aktive ederek göstermektedir (18, 26, 43).

Bu çalışmada, yeme genistein ilavesi ile yumurta sarısında artan genistein düzeyine paralel olarak MDA düzeyi düşmüştür. Yumurta sarısı MDA düzeyi, rasyona genistein ilave edilmeyen grupta en yüksek, 800 mg/kg genistein ilave edilen rasyonla beslenen hayvanların yumurta sarısında en düşük bulunmuştur. Güçlü antioksidan özelliğe sahip olan genistein doza bağlı olarak yumurta sarısı MDA düzeyini önemli bir şekilde düşürmüştür. Tablo 7'ye bakıldığında da yemdeki genistein miktarı ile yumurta sarısı MDA düzeyi arasında negatif bir korelasyonun olduğu görülmektedir ( $r = -0,651$ ). Rasyona genistein ilave edilerek beslenen hayvanlardan elde edilen yumurta sarılarındaki MDA düzeyleri ile ilgili çalışmalara rastlanılmamıştır. Bulgularımız doku veya serumda yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir (46). Nitekim Önderci ve ark. (104) bıldırcınlarda yaptıkları bir çalışmada, rasyona ilave edilen genisteinin serum ve karaciğer MDA düzeyini düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Yine, Yalnız ve ark. (140) ratlarda yaptıkları bir çalışmada rasyona genistein ilavesi ile plazma ve karaciğer MDA düzeylerinin önemli oranda düştüğünü belirtmişlerdir. İnsanlarda yapılan bir çalışmada da, soyizoflavonların katkısı ile bir başka lipid

peroksidasyon ürünü olan, 8-izoprostan düzeyi yaklaşık % 20 düzeyinde bir azalma göstermiştir (139).

Sonuç olarak, yumurtacı bildirgin yemlerine genistein ilavesi, yumurta verimi ve kalitesi ile yumurta sarısı genistein düzeyinde artışa, MDA düzeyinde düşüşe neden olmuştur. Diğer bir deyişle, genisteinin yumurta sarısına geçtiğı ve yumurta sarısı genistein ile MDA düzeyi arasında negatif bir korelasyon olduğı tespit edilmiştir. Ancak, rasyon genistein düzeyi yumurta sarısı daidzein, vitamin A ve E düzeylerini etkilememiştir. Öte yandan, rasyona 400 veya 800 mg/kg düzeyinde genistein ilave edilmesi ile daha kaliteli ve raf ömrü uzun yumurtaların elde edilebileceğı kanaatine varılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Adlercreutz H, Fotsis T, Bannwart C, Wahala K, Brunow G, Hase T. (1991). Isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of lignans and isoflavonoids in human urine, including identification of genistein. *Clin Chim Acta* 15;199(3): 263–278.
2. Adlercreutz H, Mazur W. (1997). Phyto-oestrogens and Western Diseases. *Ann Med* 29(2): 95–120.
3. Adlercreutz H. (1995). Phytoestrogens: Epidemiology and a possible role in cancer prevention. *Environ. Health Perspect* 103 (7): 103–112.
4. Adlercreutz H, Fotsis T, Kurzer MS, Wähälä K, Mäkelä T, Hase T. (1995). Isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of unconjugated lignans and isoflavonoids in human feces with preliminary results in omnivorous and vegetarian women. *Anal Biochem* 225: 101–108.
5. Adlercreutz H, Fotsis T, Lampe J, Wähälä K, Mäkelä T, Brunow G, Hase T. (1993). Quantitative determination of lignans and isoflavonoids in plasma of omnivorous and vegetarian women by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry. *Scand J Clin Lab Invest* 53(215): 5–18.
6. Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh N, Shibuya M, Fukami Y. (1987). Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinase. *J Biol Chem* 262: 5592–5595.
7. American Soybean Association. Soy Stats 2003. Erişim: <http://www.soystats.com/2003>. Erişim tarihi: 25.09.2007
8. Andlauer W, Kolb J, Furst P. (2000). Absorption and metabolism of genistin in the isolated rat small intestine. *FEBS Lett* 475: 127–130.
9. Anila L, Vijayalakshmi NR. (2003). Antioxidant action of flavonoids from *Mangifera indica* and *Emblica officinalis* in hypercholesterolemic rats. *Food Chem.* 83: 569–574.
10. Anon. (1999). USDA-Iowa State University database on the isoflavone content of foods. Erişim: ([http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isfl\\_tbl.pdf](http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/isoflav/isfl_tbl.pdf)) Erişim Tarihi: 12.10.2007
11. AOAC (1990) Official Methods of Analysis (15th ed.). Association of official analytical chemists, Washington, DC.
12. Arjmandi BH, Khalil DA, Smith BJ, Lucas EA, Juma S, Payton ME, Wild RA. (2003). Soy protein has a greater effect on bone in postmenopausal women not on hormone replacement therapy, as evidenced by reducing bone resorption and urinary calcium excretion. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 1048–1054.

13. Arjmandi BH, Lucas EA, Khalil DA, Devareddy L, Smith BJ, McDonald J, Arquitt AB, Payton ME, Mason C. (2005). One year soy protein supplementation has positive effects on bone formation markers but not bone density in postmenopausal women. *J Nutr* 23: 4–8.
14. Arora A, Nair MG, Strasburg GM. (1998). Antioxidant activities of isoflavones and their biological metabolites in a liposomal system. *Arch. Biochem Biophys* 356: 133–141.
15. Balasubramanian S, Nair MG. (2000). An efficient “one pot” synthesis of isoflavones. *Synth. Com.* 30: 469–484.
16. Banerjee S, Zhang Y, Wang Z, Che M, Chiao PJ, Abbruzzese JL, Sarkar FH. (2007). In vitro and in vivo molecular evidence of genistein action in augmenting the efficacy of cisplatin in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 120 (4): 906–917.
17. Barnes S, Kim H, DarleyUsmar V, Patel R, Xu J, Boersma B, Luo M. (2000). Beyond ER alpha and ER beta: estrogen receptor binding is only part of the isoflavone story. *J Nutr* 130: 656–657.
18. Barnes S, Peterson G, Grubbs C, Setchell K. (1998). Potential role of dietary isoflavones in the prevention of cancer. *Adv Exp Med & Biol* 354:135–147.
19. Bennetts HW, Underwood EJ, Shier FL. (1946). A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in western Australia. *Aust Vet J* 22: 2–12.
20. Bhathena SJ, Velasquez MT. (2002). Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes. *Am J Clin Nutr* 76(6): 1191–1201.
21. Bingham SA, Atkinson C, Liggins J. (1998). Phyto-oestrogens: Where are we now? *Br. J. Nutr.* 79: 393–406.
22. Bourre JM, Galea F. (2006). An important source of omega–3 fatty acids, vitamins D and E, carotenoids, iodine and selenium: a new natural multi-enriched egg. *J Nutr Health Aging* 10(5): 371–376.
23. Bovet P, Faeh D, Madeleine G, Viswanathan B, Paccaud F. (2007). Decrease in blood triglycerides associated with the consumption of eggs of hens fed with food supplemented with fish oil. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 17(4): 280–287.
24. Brown JP. (1988). Hydrolysis of glycosides and esters. In *role of the gut flora in toxicity and cancer*; Rowland IR, Ed; Academic Press: San Diego, CA 109–144.
25. Büyüktuncer Z, Başaran AA. (2005). Fitoöstrojenler ve sağlıklı yaşamdaki önemleri. *Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi* 25(2): 79–94.
26. Cai Q and Wei H. (1996). Effect of dietary genistein on antioxidant enzyme activities in SENCAR mice. *Nutr. Cancer* 25(1): 1–7.
27. Cassidy A, Hanley B, Raventos R. (2000). Isoflavones, lignans and stilbens-origins, metabolism and potential importance to human health. *J. Sci. Food Agricul.* 80: 1044–1062.
28. Chapman N. (1998). Where is the soyfood market headed? The 3rd annual soyfoods symposium proceeding; Kentucky Soybean Board: Louisville, KY, Nov 12–13.

29. Chen X, Garner SC, Quarles LD, Anderson JJ. (2003). Effects of genistein on expression of bone markers during MC3T3-E1 osteoblastic cell differentiation. *J Nutr Biochem* 14: 342–349.
30. Choi C, Cho H, Park J, Cho C, Song Y. (2003). Suppressive effects of genistein on oxidative stress and NF- $\kappa$ B activation in RAW 264.7 Macrophages. *Biosci Biotech Biochem* 67(9): 1916–1922.
31. Choi EM, Suh YS, Kim RW. (2001). Soybean ethanol extract increases the function of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Phytochem* 56: 733–739.
32. Clarkson TB. (2002). Soy, Soy Phytoestrogens and cardiovascular disease. *J Nutr* 132: 566–596.
33. Collins BM, McLachlan JA, Arnold SF. (1997). The estrogenic and antiestrogenic activities of phytochemicals with the human estrogen receptor expressed in yeast. *Steroids* 62: 365–372.
34. Constantinou AI, Kamath N, Murley JS. (1998). Genistein inactivates bcl-2, delays the G2/M phase of the cell cycle, and induces apoptosis of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells. *Eur J Cancer* 34: 1927–1934.
35. Cotroneo MS, & Lamartiniere CA. (2001). Pharmacologic, but not dietary genistein supports endometriosis in a rat model. *Toxicol Sci* 61: 68–75.
36. Cotter AA, Jewell C and Cashman KD. (2003). The effect of oestrogen and dietary phytoestrogens on transepithelial calcium transport in human intestinal-like Caco-2 cells. *Br. J. Nutr.* 89:755–765.
37. Couch JR and Saloma AE (1973). Effect of diet on triglyceride structure and composition of egg yolk lipids. *Lipids* 8: 385–392.
38. Coward L, Smith M, Kirk M and Barne S. (1998). Chemical modification of soy foods during cooking and processing. *Am J Clin Nutr* 68: 1486–1491.
39. Davis S, Dalais F, Simpson E, Murkies A. (1999). Phytoestrogens in health and disease. *Recent Prog Horm Res.* 54: 185–211.
40. Day AJ, DuPont MS, Ridley S, Rhodes M, Rhodes MJ, Morgan MR, Williamson G. (1998). Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver  $\alpha$ -glucosidase activity. *FEBS Lett* 436: 71–75.
41. Demlow BE, Duncan AM, Wangen KE, Xu X, Carr TP, Phipps WR, Kurzer MS. (2000). Soy isoflavones improve plasma lipids in normocholesterolemic, premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 71: 1462–1469.
42. Dixon RA, Ferreira D. (2002). Genistein. *Phytochemistry* 60(3): 205–211.
43. Djuric Z, Chen G, Doerge DR, Heilbrun LK, Kucuk O. (2001). Effect of soy isoflavone supplementation on markers of oxidative stress in men and women. *Cancer Lett* 172(1):1–6.
44. Doerge DR, Sheehan DM. (2002). Goitrogenic and estrogenic activity of soy isoflavones. *Environ Health Perspect* 110 (3): 349–353.

45. Doerge DR, Twaddle NC, Churchwell MI, Newbold RR, Delclos KB. (2006). Lactational transfer of the soy isoflavone, genistein, in Sprague-Dawley rats consuming dietary genistein. *Reprod Toxicol* 21(3): 307–312.
46. El-Demerdash FM, Yousef MI and Al-Salhen KS. (2003). Protective effects of isoflavone on some biochemical parameters affected by cypermethrin in male rabbits, *J Env Sci Health B38*: 365–378.
47. El-Rayes BF, Ali S, Ali IF, Philip PA, Abbruzzese J, Sarkar FH. (2006). Potentiation of the effect of erlotinib by genistein in pancreatic cancer: the role of Akt and nuclear factor-kappaB. *Cancer Res* 66(21): 10553–10559.
48. Emmens CW. (1965). Oestrogenic, anti- oestrogenic and anti-fertility activities of various compounds. *J Reprod Fert* 9: 277–283.
49. Fitzpatrick LA. (2003). Soy isoflavones: hope or hype? *Maturitas* 44(1): 21–29.
50. Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleishmann G, Hase T, Montesano R, Schweigerer L. (1993). Genistein, a dietary-derived inhibitor of in vitro angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 2690–2694.
51. Franchini A, Sirri F, Tallarico N, Minelli G, Iaffaldano N, Meluzzi A. (2002). Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. *Poult Sci* 81(11): 1744–1750.
52. Franczyk-Zarów M, Kostogrys RB, Szymczyk B, Jawień J, Gajda M, Cichocki T, Wojnar L, Chlopicki S, Pisulewski PM. (2008). Functional effects of eggs, naturally enriched with conjugated linoleic acid, on the blood lipid profile, development of atherosclerosis and composition of atherosclerotic plaque in apolipoprotein E and low-density lipoprotein receptor double-knockout mice (apoE/LDLR). *Br J Nutr* 99(1): 49–58.
53. Fritz WA, Coward L, Wang J, Lamartiniere CA. (1998). Dietary genistein: perinatal mammary cancer prevention, bioavailability and toxicity testing in the rat. *Carcinogenesis* 19: 2151–2158.
54. Gao YH and Yamaguchi M. (2000). Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: involvement of protein kinase inhibition and protein tyrosine phosphatase activation. *Int J Mol Med* 5: 261–267.
55. Garcia C, Cornejo S, Albala C. (2002). Enriched eggs for human consumption and the feeding pattern of layers. In *Eggs and Health Promotion*; Watson RR, Ed. Iowa State Press: Ames IO pp: 155–170.
56. Gee JM, DuPont MS, Rhodes MJC, Johnson IT. (1998). Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose transport pathway. *Free Radic Biol Med* 25: 19–25.
57. Gilad LA, Tirosh O, Schwartz B. (2006). Phytoestrogens regulate transcription and translation of vitamin D receptor in colon cancer cells. *J Endocrinol.* 191(2): 387–398.
58. Giles D, and Wei H. (1997). Effect of structurally related flavones/isoflavones on hydrogen peroxide production and oxidative DNA damage in phorbol ester-stimulated HL-60 cells. *Nutrition & Cancer* 29: 77–82.



59. Giovanucci E. (1995). Epidemiological characteristics of prostate cancer. *Cancer* 75(7): 1766–1777.
60. Greendale GA, Fitzgerald G, Huang MH, Sternfeld B, Gold E, Seeman T, Sherman S, Sowers M. (2002). Dietary soy isoflavones and bone mineral density: results from the Study of Women's Health Across the Nation. *Am J Epidemiol* 155: 746–754.
61. Hawrylewicz EJ, Zapata JJ and Blair W. (1995). Soy and experimental cancer: animal studies. *J Nutr* 125: 698–708.
62. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J of Nutr Bioch* 13: 572–584.
63. Hilakivi-Clarke L, Onojafe I, Raygada M, Cho E, Skaar T, Russo I, Clarke R. (1999). Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis. *Br J Cancer* 80: 1682–1688.
64. Hillman GG, Forman JD, Kucuk O, Yudelev M, Maughan RL, Rubio J, Layer A, Tekyi-Mensah S, Abrams J, Sarkar FH. (2001). Genistein potentiates radiation effect on prostate carcinoma cells. *Clin Cancer Res* 7: 382–390.
65. Hsieh CY, Santell RC, Haslam SZ, Helferich WG. (1998). Estrogenic effects of genistein on the growth of estrogen receptor-positive human breast cancer (MCF-7) cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 58: 3833–3838.
66. Huang H, Liang H and Kwok KC. (2006). Effect of thermal processing on genistein, daidzein and glycitein content in soymilk. *J Sci Food Agric* 86: 1110–1114.
67. Hwang JL, Hodis HN, Sevanian A. (2001). Soy and alfalfa phytoestrogen extracts become potent low-density lipoprotein antioxidants in the presence of acerola cherry extract. *J. Agric. Food Chem.* 49: 308–314.
68. Institute of Laboratory Animal Resources. *Coturnix (Coturnix coturnix japonica): standards and guidelines for the breeding, care, and management of laboratory animals*; National Academy of Sciences Printing and Publishing Office: Washington, DC, 1969; p 4.
69. Izumi T, Piskula MK, Osawa S et al. (2000). Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J Nutr* 130: 1695–1699.
70. Jackson RL, Lin HY, Mao JT, Chan L, Means AR. (1977). Estrogen induction of plasma vitellogenin in the cockerel: studies with a phosvitin antibody. *Endocrinology* 101(3): 849–857.
71. Jefferson WN, Padilla-Banks E, Newbold RR (2007). Disruption of the female reproductive system by the phytoestrogen genistein. *Reproductive Toxicology* 23: 308–316.
72. Kahkonen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS and Heinonen M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J Agric Food Chem*, 47: 3954–3962.
73. Kajiya J, Okabe K, Okamoto F, Tsuzuki T, Soeda H. (2000). Protein tyrosine kinase inhibitors increase cytosolic calcium and inhibit actin organization as resorbing activity in rat osteoclasts. *J Cell Physiol* 183: 83–90.

74. Kalandarishvili A. (2007). Influence of the new premix with iodine content on the quantitative indices of iodine accumulation in egg. *Georgian Med News* 151: 57–60.
75. Kano M, Takayanagi T, Harada K, Sawada S and Ishikawa F. (2006). Bioavailability of Isoflavones after Ingestion of Soy Beverages in Healthy Adults. *J Nutr* 136: 2291–2296.
76. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C, Ehringer H and Gmeiner BM. (1997). Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Arterio Throm & Vas Bio* 17: 2868–2874.
77. Karatas F, Karatepe M, Baysar A. (2002). Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. *Analy Bioche* 311(1): 76–79.
78. Kirk EA, Sutherland P, Wang SA, Chait A, LeBoeuf RC. (1998). Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL receptor-deficient mice. *J Nutr* 128(6): 954–959.
79. Knight DC, Eden JA. (1996). A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 87: 897–904.
80. Kucuk O. (2002). Chemoprevention of prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev* 21(2): 111–124.
81. Kulling SE, Lehmann L, Metzler M. (2002). Oxidative metabolism and genotoxic potential of major isoflavone phytoestrogens. *J of Chromatography* 777: 211–218.
82. Kwon SH, Kang MJ, Huh JS, Ha KW, Lee JR, Lee SK, Lee BS, Han IH, Lee MS, Lee MW, Lee J, Choi YW. (2007). Comparison of oral bioavailability of genistein and genistin in rats. *Int J Pharm* 337: 148–154.
83. Lamartiniere CA, Cotroneo MS, Fritz WA, Wang J, Mentor-Marcel R, Elgavish A. (2002). Genistein chemoprevention: timing and mechanisms of action in murine mammary and prostate. *J Nutr* 132(3): 552–558.
84. Lamartiniere CA, Moore JB, Brown NM, Thompson R, Hardin MJ and Barnes S. (1995). Genistein suppresses mammary cancer in rats. *Carcinogenesis* 16: 2833–2840.
85. Lee HP, Gourley L, Duffy SW, Esteve J, Lee J and Day NE. (1991). Dietary effects on breast cancer risk in Singapore. *Lancet* 336: 1197–1200.
86. Lee YB, Lee HJ, Sohn HS. (2005). Soy isoflavones and cognitive function. *J Nutr Biochem* 16(11): 641–649.
87. Liggins J, Bluck LJ, Coward WA, Bingham SA. (1998). Extraction and quantification of daidzein and genistein in food. *Analy Bioche* 264: 1–7.
88. Lin F, Wu J, Abdelnabi MA, Ottinger MA and Giusti MM. (2004). Effects of dose and glycosylation on the transfer of genistein into the eggs of the Japanese quail (*Coturnix japonica*). *J Agric Food Chem* 52: 2397–2403.
89. Linford NJ, Dorsa DM. (2002). 17 $\beta$ -Estradiol and the phytoestrogen genistein attenuate neuronal apoptosis induced by the endoplasmic reticulum calcium-ATPase inhibitor thapsigargin. *Steroids* 67: 1029–1040.

90. Liu YQ, Xin TR, Lü XY, Ji Q, Jin Y, Yang HD. (2007). Memory performance of hypercholesterolemic mice in response to treatment with soy isoflavones. *Neuroscience Res* 57: 544–549.
91. Liu K. (1999). Current constraints in soybean food utilization and efforts to overcome them. In *World Soybean Research Conference VI: August 4–7, 1999, Chicago, Illinois, USA: Proceedings: Invited and Contributed Papers and Posters*; Kauffman HE, Ed; Superior Printing: Champaign, IL 409–418.
92. Mahesha HG, Singh SA, Srinivasan N and Appu Rao AG. (2006). A spectroscopic study of the interaction of isoflavones with human serum albumin. *FEBS J* 273: 451–467.
93. Martini MC, Dancisak BB, Haggans CJ, Thomas W, Slavin JL. (1999). Effects of soy intake on sex hormone metabolism in premenopausal women. *Nutr. and Cancer* 34(2): 133–139.
94. Martucci CP, Fishman J. (1993). P450 enzymes of estrogen metabolism. *Pharmacol Ther* 57(2–3): 237–257. Review.
95. McCarty MF. (2006). Isoflavones made simple - genistein's agonist activity for the beta-type estrogen receptor mediates their health benefits. *Med Hypotheses* 66(6): 1093–1114.
96. McClain RM, Wolz E, Davidovich A and Bausch J. (2006). Genetic toxicity studies with genistein *Food & Chem Toxicol* 44(1): 42–55.
97. Messina M, Gugger ET, Alekel DL. (2001). Soy protein, soybean isoflavones, and bone health: a review of the animal and human data. “nutraceuticals and functional foods” (Ed. Wildman RE.) 1st ed. CRP Press, USA, 77–99.
98. Morris D. (1996). Hormone replacement therapy and coronary artery disease. *Current Opinion In Obstetrics And Gynecology* 8: 184–187.
99. Murty NL and Reiser R. (1961). Influence of graded levels of dietary linoleic and linolenic acids on the fatty acid composition of hen's eggs. *J Nutr* 75: 287–294.
100. Nagata H, Takekoshi S, Takagi T, Honma T & Watanabe K. (1999). Antioxidative action of flavonoids quercetin and catechin mediated by the activation of glutathione peroxidase. *Tokai J Expe Clin Med* 24(1): 1–11.
101. Navarro JG, Saavedra JC, Borie FB, Caiozzi MM. (1972). Influence of dietary fish meal on egg fatty acid composition. *J Sci Food Agric* Nov 23(11): 1287–1292.
102. Ni Y, Zhu Q, Zhou Z, Grossmann R, Chen J and Zhao R. (2007). Effect of dietary daidzein on egg production, shell quality, and gene expression of ER- $\alpha$ , GH-R, and IGF-IR in shell glands of laying hens. *J Agric Food Chem* 55: 6997–7001.
103. Okura A, Arakawa H, Oka H, Yoshinari T & Monden Y. (1988). Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [VAL12) Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 157: 183–189.
104. Onderci M, Sahin K, Sahin N, Gursu MF, Doerge D, Sarkar FH, Kucuk O. (2004). The effect of genistein supplementation on performance and antioxidant status of Japanese quail under heat stress. *Arch Anim Nutr* 58(6): 463–471.

105. Ottinger MA, Rattner B. (1999). Husbandry and care of quail. *Poult AVian Biol Rev* 10(2): 117–120.
106. Pan C, Huang K, Zhao Y, Qin S, Chen F, Hu Q. (2007). Effect of selenium source and level in hen's diet on tissue selenium deposition and egg selenium concentrations. *J Agric Food Chem* 55(3): 1027–1032.
107. Pandjaitan N, Hettiarachchy N and Ju ZY. (2000). Enrichment of genistein in soy protein concentrate with  $\beta$ -glucosidase. *J Food Sci* 65(3): 403–407.
108. Pascual-Teresa S, Hallund J, Talbot D, Schroot J, Williams CM, Bugel S, Cassidy A. (2006). Absorption of isoflavones in humans: effects of food matrix and processing. *J Nutr Biochem* 17: 257–264.
109. Penza M, Montani C, Romani A, Vignolini P, Ciana P, Maggi A, Pampaloni B, Caimi L, Di Lorenzo D. (2007). Genistein accumulates in body depots and is mobilized during fasting, reaching estrogenic levels in serum that counter the hormonal actions of estradiol and organochlorines. *Toxicological Sciences* 97(2): 299–307.
110. Peterson G, Barnes S. (1996). Genistein inhibits both estrogen and growth factor-stimulated proliferation of human breast cancer cells. *Cell Growth Differ* 7: 1345–1351.
111. Russin TA, Boye JI, Pham HM and Arcand Y. (2006). Antioxidant properties of genistein in a model edible oil system. *J Food Sci* 71(7): 395–399.
112. Sahin N, Akdemir F, Orhan C, Kucuk O, Hayirli A and Sahin K. (2008). Lycopene-enriched quail egg as functional food for humans. *Food Res. Inter* 41, 295–300.
113. Sahin N, Sahin K, Onderci M, Sarkar FH, Doerge D, Prasad A, Kucuk O. (2006). Effects of dietary genistein on nutrient use and mineral status in heat-stressed quails. *Exp Anim* 55(2): 75–82.
114. Saitoh S, Sato T, Harada H, Matsuda T. (2004). Biotransformation of soy isoflavone-glycosides in laying hens: intestinal absorption and preferential accumulation into egg yolk of equol, a more estrogenic metabolite of daidzein. *Biochimica et Biophysica Acta* 1674: 122–130.
115. Saitoh S, Sato T, Harada H, Takita T. (2001). Transfer of soy isoflavone into the egg yolk of chickens. *Biosci Biotechnol Biochem* 65 (10): 2220–2225.
116. Sam K, Chang C. (2002). *Isoflavones From Soybeans And Soy Foods. "Functional Foods Biochemical And Processing Aspects"* (Ed Gazza M.) de CRC Press, New York.
117. SAS. (1999). *SAS User's Guide, Version 6,12*. Statistical analysis system, SAS Institute Inc., Cary, NC.
118. Setchell KD, Brown NM, Desai P, Zimmer-Nechemias L, Wolfe BE, Brashear WT, Kirschner AS, Cassidy A, Heubi JE. (2001). Bioavailability of pure isoflavones in healthy humans and analysis of commercial soy isoflavone supplements. *J Nutr* 131: 1362–1375.
119. Setchell KDR and Adlercreutz H. (1988). Mammalian lignans and phyto-oestrogens recent studies on their formation, metabolism and biological role in health and disease. In *role of*

the gut flora in toxicity and cancer, ed. I. R. Rowland, San Diego: Academic Press Inc. 315–345.

120. Setchell KDR. (1998). Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *Am J Clin Nutr* 68: 1333–1346.
121. Sim JS, Sunwoo HH. (2002). Designer eggs: nutritional and functional significance. In *Eggs and Health Promotion*; Watson RR, Ed; Iowa State Press: Ames, IO, pp 19–36
122. Smith TJ and Yang CS. (1994). Effects of food phytochemicals on xenobiotic metabolism and tumorigenesis. In *phytochemicals for cancer prevention I: fruits and vegetables*, ed. M.T. Huang, T. Osawa, C.T. Ho, and R. T. Rosen, Washington D. C: American Chemical Society. 17–48.
123. Sonee M, Sum T, Wang C, Mukherjee SK. (2004). The soy isoflavone, genistein, protects human cortical neuronal cells from oxidative stress. *Neurotoxicology* 25: 885–891.
124. Song TT, Hendrich S, Murphy PA. (1999). Estrogenic Activity Of Glycitein, A Soy Isoflavone. *J Agric Food Chem* 47: 1607–1610.
125. Steensma A, Bienenmann-Ploum ME, Noteborn HPJ. (2004). Intestinal uptake of genistein and its glycoside in the rat using various isolated perfused gut segments. *Environ Toxicol Pharmacol* 17: 103–110.
126. Steensma A, Noteborn HPJM, Van Der Jagt RCM, Polman THG, Mengelers MJB, Kuiper HA. (1999). Bioavailability of genistein, daidzein, and their glycosides in intestinal epithelial Caco-2 cells. *Env Toxicol Pharmacol* 7: 209–211.
127. Toda S and Shirataki Y. (1999). Inhibitory effects of isoflavones on lipid peroxidation by reactive oxygen species. *Phytotherapy Res* 13: 163–165.
128. Toggenburger G, Kessler M, Semenza G. (1982). Phloridzin as a probe of the small-intestinal Na<sup>+</sup>, d-glucose cotransporter. A model. *Biochim Biophys Acta* 688: 557–571.
129. Tripathi YB, Lim RW, Fernandez-Gallardo S, Kandala JC, Guntaka RV, and Shulka SD. (1992). Involvement of tyrosine and protein kinase C in platelet-activating-factor-induced c-fos gene expression in A-421 cells. *Biochem J* 286: 527–533.
130. Tsunoda N, Pomeroy S and Netsel P. (2002). Absorption in humans of isoflavones from soy and red clover is similar. *J Nutr* 132: 2199–2201.
131. Ungar Y, Osundahunsi OF, Shimoni E. (2003). Thermal stability of genistein and daidzein and its effect on their antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 51: 4394–4399.
132. Üstündağ B, Bahçecioğlu İH, Şahin K, Gülcü F, Düzgün S, Özeran İH ve Gürsu MF (2005). Soy izoflavonların karbon tetraklorüre (CCL<sub>4</sub>) bağlı karaciğer hasarı ve plazma paraoksonaz ile arilesteraz aktivite düzeylerine olan etkileri. *F.Ü. Sağlık Bil Dergisi* 19(4): 263–271.
133. Van Elswyk ME. (1997). Comparison of n-3 fatty acid sources in laying hen rations for improvement of whole egg nutritional quality: A review. *Br J Nutr* 78: 61–69.

134. Viereck V, Grundker C, Blaschke S, Siggelkow H, Emons G, Hofbauer LC. (2002). Phytoestrogen genistein stimulates the production of osteoprotegerin by human trabecular osteoblasts. *J Cell Biochem* 84: 725–735.
135. Villa R, Bonetti E, Penza ML, Iacobello C, Bugari G, Bailo M, Parolini O, Apostoli P, Caimi L, Ciana P, Maggi A, Di Lorenzo D. (2004). Target-specific action of organochlorine compounds in reproductive and nonreproductive tissues of estrogen-reporter male mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 201: 137–148.
136. Vincent A, Fitzpatrick LA. (2000). Soy isoflavones: are they useful in menopause? *Mayo Clin Proc* 75: 1174–1184.
137. Wang HJ and Murphy PA. (1994). Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42: 1666–1673.
138. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M. (1995). Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase: inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest* 96: 2882–2891.
139. Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, Sanders TA. (2000). Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F(2)-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *Am J Clin Nutr* 72(2): 395–400.
140. Yalniz M, Bahcecioğlu IH, Kuzu N, Poyrazoğlu OK, Bulmus O, Celebi S, Ustundag B, Ozercan IH, Sahin K. (2007). Preventive role of genistein in an experimental non-alcoholic steatohepatitis model. *J Gastroent Hepat* 22 (11) : 2009–2014.
141. Yanagihara K, Ito A, Toge T, Numoto M. (1993). Antiproliferative effects of isoflavones on human cancer cell lines established from the gastrointestinal tract. *Cancer Res* 53: 5815–5821.
142. Zhang Y, Wang GJ, Song TT, Murphy PA, Hendrich S. (1999). Urinary disposition of the soybean isoflavones, glycitein, daidzein and genistein in humans with moderate fecal isoflavone degradation activity. *J Nutr* 129: 957–962.
143. Zhao R, Wang Y, Zhou Y, Ni Y, Lu L, Grossmann R, Chen J. (2004). Dietary daidzein influences laying performance of ducks (*Anas platyrhynchos*) and early post-hatch growth of their hatchlings by modulating gene expression. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 138 (4): 459–466.
144. Zhao RQ, Zhou YC, Ni YD, Lu LZ, Tao ZR, Chen WH, Chen J. (2005). Effect of daidzein on egg-laying performance in Shaoxing duck breeders during different stages of the egg production cycle. *Br Poult Sci* 46: 175–181.
145. Zhou JR and Erdman JJW. (1997). Chemical effects of processing and food preparation on carotenoids and soy and garlic phytochemical. In *nutraceuticals: designer foods III garlic. Soy and Licorice*, ed. P. A. Lachance, Connecticut: Food & Nutrition Press Inc 23–37.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Artvin’de, 1981 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Artvin’de tamamladı. 1999 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi’ne girdi ve 2004 yılında mezun oldu. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Programı Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı’nda doktora eğitimine başladı. Nisan 2008 tarihinden beri özel bir yumurta tavukçuluğu firmasında Veteriner Hekim olarak çalışmaktadır.