



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



Yem Endüstrisi için Multivitaminlerin Çift Emülsiyon Enkapsülasyon Yöntemiyle Formülasyonu ve Karakterizasyonu

Yüksek Lisans Tezi

ECE UYAR

Biyomühendislik Anabilim Dalı Adı

İzmir
2024

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**Yem Endüstrisi için Multivitaminlerin Çift Emülsiyon
Enkapsülasyon Yöntemiyle Formülasyonu ve
Karakterizasyonu**

Ece UYAR

Danışman: Prof. Dr. Ayşe NALBANTSOY

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Yüksek Lisans Programı

**İzmir
2024**

Ece UYAR tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Yem Endüstrisi için Multivitaminlerin Çift Emülsiyon Enkapsülasyon Yöntemiyle Formülasyonu ve Karakterizasyonu” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 22.07.2024 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Ayşe NALBANTSOY

Raportör Üye : Dr. Öğr. Üyesi İsmail Hakkı AKGÜN

Üye : Prof. Dr. Canan Sevimli Gür

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / Doktora Tezi olarak sunduğum “Yem Endüstrisi için Multivitaminlerin Çift Emülsiyon Enkapsülasyon Yöntemiyle Formülasyonu ve Karakterizasyonu” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

22 / 07 / 2024

Ece UYAR

ÖZET**Yem Endüstrisi için Multivitaminlerin Çift Emülsiyon Enkapsülasyon Yöntemiyle Formülasyonu ve Karakterizasyonu**

UYAR, Ece

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ayşe NALBANTSOY

Temmuz 2024, 90 sayfa

Kanatlı sektöründe artan talep ile kümes kapasitelerinin hızlı artışı, patojenler ve değişen çevre koşulları ile kanatlı yetiştiriciliğinde, hayvanlar üzerindeki stresi de arttırmaktadır. Bu tehditleri kontrol altına alarak maliyetleri düşürmek ve verimi arttırmak için sektörde kullanılacak ekonomik yem katkılarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla uzun yıllardır yemlere eklenen vitamin katkı maddeleri, kanatlı sağlığını, kalitesini ve üretkenliğini arttırmak için etkili bir araç olarak kullanılmaktadır. Tez kapsamında, kanatlı sektöründe ihtiyaç duyulan, yenilikçi bir teknoloji ile tasarlanarak enkapsüle edilen vitaminlerin; yem katkısı olarak verimliliği arttıracak şekilde daha dayanıklı, raf ömrü uzun ve biyoyararlanımı yüksek ürün olarak geliştirilme potansiyeli araştırılmıştır. Bu amaçla, ticari olarak geliştirilmiş mineral yağ bazlı CORALVAC AT 318 adjuvanı denemelerde kullanılmıştır. Yağda çözünen A, E ve K₁ vitaminleri, yağ fazında; suda çözünen B₁₂ ve C vitaminleri ise, su fazında W/O/W tipi emülsiyona eklenerek multivitamin enkapsülasyonları tasarlanmıştır. Formülasyonlar hızlandırılmış ve gerçek zamanlı stabilite denemelerine tabi tutulmuştur. Formülasyonların enkapsülasyon stabilitesi ve verimliliği *in vitro* sindirim modelinde test edilmiştir.

In vitro modelde yapılan çalışmada, çift katmanlı emülsiyon ile enkapsüle edilen C, E, A, B₁₂ ve K₁ vitaminleri sırasıyla % 57,9 ± 2,6, % 76,6 ± 3,8, % 41 ± 2,6, % 72,6 ± 2, % 41,6 ± 4,5 verimlilik yüzdeleri ve biyoyararlanım sonuçları incelendiğinde %90,79 ± 1,1, %73,27 ± 0,86, %95,29 ± 1,6, %59,32 ± 2,7, %89,75 ± 0,83 biyoyararlanım yüzdeleri elde edilmiştir. Çalışmanın bulguları, çift katmanlı emülsiyon teknolojisinin yağda ve suda çözünen vitaminlerin bir arada taşınmasında verimli bir araç olduğunu kanıtlamıştır. Sonuç olarak, geliştirilen yeni formülasyon ile yeme veya içme suyuna eklenecek vitamin miktarı azaltılırken, verim ve biyoyararlanımda artış olacağı öngörülerek bunun saha çalışmaları ile desteklendikten sonra kanatlı sektörüne yeni bir teknolojik ürün olarak sunulabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Vitaminler, Yem Katkı, Enkapsülasyon, Çift Katmanlı Emülsiyon



ABSTRACT**Formulation and Characterization of Multivitamins for the Feed Industry
by Double Emulsion Encapsulation Method**

UYAR, Ece

Master's Thesis, Department of Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Ayşe NALBANTSOY

July 2024, 90 pages

With the increasing demand in the poultry sector, coupled with the rapid expansion of poultry house capacities, stress on animals in poultry farming has also increased due to pathogens and changing environmental conditions. Economic feed additives are needed in the industry to control these threats, reduce costs, and increase productivity. For this purpose, vitamin additives added to feeds for many years have been effectively utilized as a tool to enhance poultry health, quality, and productivity. Within the scope of the thesis, the potential development of encapsulated vitamins designed with innovative technology to meet the needs of the poultry sector, aimed at increasing efficiency as a feed additive by being more durable, having a longer shelf life, and exhibiting higher bioavailability, has been investigated. For this purpose, the commercially developed mineral oil-based adjuvant CORALVAC AT 318 was used in the trials. Fat-soluble A, E, and K₁ vitamins were encapsulated in the oil phase, while water-soluble B₁₂ and C vitamins were added to a W/O/W type emulsion to design multivitamin encapsulations. Formulations underwent accelerated and real-time stability tests, and encapsulation stability and efficiency were evaluated using an *in vitro* digestion model.

In the study conducted using an *in vitro* model, when examining the efficiency percentages and bioavailability results of C, E, A, B₁₂, and K₁ vitamins encapsulated with double-layer emulsion, the following were obtained: 57.9% ± 2.6, 76.6% ± 3.8, 41% ± 2.6, 72.6% ± 2%, and 41.6% ± 4.5 for efficiency, and 90.79% ± 1.1, 73.27% ± 0.86, 95.29% ± 1.6, 59.32% ± 2.7, and 89.75% ± 0.83 for bioavailability, respectively. The findings of the study demonstrate that double-layer emulsion technology is an efficient tool for the simultaneous transportation of fat-soluble and water-soluble vitamins. Consequently, it is anticipated that by reducing the amount of vitamins added to feed or drinking water while increasing efficiency and bioavailability, the developed formulation could potentially be introduced as a new technological product to the poultry sector, pending support from field studies.

Keywords: Vitamins, Feed Additives, Encapsulation, Double Emulsion

İÇİNDEKİLERSayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
İÇİNDEKİLER.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	5
2.1. Kanatlı Sektörü	5
2.1.1. Kanatlı sağlığı.....	6
2.1.2. Kanatlı beslemesi ve yem sektörü	8
2.1.3. Tavuk sindirim sistemi	10
2.2. Vitaminler.....	12
2.2.1. Tavukçuluk sektöründe vitaminlerin önemi.....	14
2.2.2. Tavuk beslemesinde ihtiyaç olan vitaminler ve miktarları.....	17
2.2.3. Vitamin enkapsülasyonu	19
2.3. Enkapsülasyon.....	21

2.4. Emülsiyonlar.....	22
2.5. Çift Katmanlı Emülsiyonlar	25
3.MATERYAL METOD.....	27
3.1. Materyal.....	27
3.1.1. Enkapsülasyon tasarımı için kullanılacak malzemeler.....	27
3.1.2. Cihazlar.....	27
3.2. Metot.....	27
3.2.1. W/O/W emülsiyon formülasyonu ve hazırlanması	28
3.2.2. Emülsiyon tipi analizi.....	30
3.2.3. Emülsiyonun mikroskopik gözlemi.....	30
3.2.4. Fizikokimyasal testlerin gerçekleştirilmesi	31
3.2.5. Stabilite testlerinin gerçekleştirilmesi	33
3.2.6. Parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümleri	34
3.2.7. Salınım performansının analizi.....	34
3.2.8. İstatistiksel analiz	37
4.BULGULAR	38
4.1. Emülsiyon Tipi Analizi	38
4.2. Mikroskopik Gözlem.....	38
4.3. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	39

4.4. Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli Ölçümleri.....	39
4.5. Stabilite Testlerinin Gerçekleştirilmesi	40
4.6. Biyosalınım Performansının Analizi	42
4.6.1. Vitaminlerin dalga boylarının taramasının yapılması	42
4.6.2. Vitaminlerin standart grafiklerinin oluşturulması	45
4.6.3. Salınım deneylerinin gerçekleştirilmesi	47
5.TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇLAR.....	59
7. ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	77
TEŞEKKÜR	77
ÖZGEÇMİŞ.....	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. 1. Kanatlı Yem Sektörü Pazar Payı (Mordor Intelligence, 2024)	1
Şekil 1. 2. Kanatlılarda Isı Stresinin Etkileri (Shehata et al., 2020).....	2
Şekil 1. 3. Emülsiyon Enkapsülasyon Türleri (Aboudzadeh ve Hamzehlou, 2020)	4
Şekil 2. 1. 2017 Yılındaki Yumurta İhracatının Ülkelere Göre Dağılımı (FAO, 2018).....	5
Şekil 2. 2. Tavuk Çiftliği Şeması (Yıldız D., 2021)	6
Şekil 2. 3. Kanatlılarda Görülen Isı Stresi (Tecnozoo, 2024).....	8
Şekil 2. 4. Kanatlı Besleme Sistemi (Feed Additive, 2023).....	9
Şekil 2. 5. Hayvan Yem Ticaret Miktarları (Türkiye Cumhuriyeti Cumhurbaşkanlığı Yatırım Ofisi, 2023).....	10
Şekil 2. 6. Tavuk Sindirim Sistemi (Nutrena, 2024)	11
Şekil 2. 7. Vitaminlerin Yapıları (Bunning, 2015).....	13
Şekil 2. 8. Kümes hayvanları için gerekli vitaminlerin listesi ve faydaları (Alagawany et al., 2020).....	14
Şekil 2. 9. Kanatlı sağlığı üzerine vitaminlerin faydalı etkileri (Alagawany et al., 2021)	19
Şekil 2. 10. Emülsiyon Türleri: (a) Basit Emülsiyon ve (b) Çift Katmanlı Emülsiyon (Silva et al., 2022).....	233
Şekil 2. 11. Emülsifikasyon işlemi sırasında damlacık deformasyonu (Nour, 2018).	233

Şekil 2. 12. Rotor-stator homojenizasyon süreci (de Carvalho-Guimarães et al., 2022)	244
Şekil 2. 13. Çift Katmanlı Emülsiyon Fazları	255
Şekil 3. 1. Enkapsülasyon Tasarımı ve Analizlerinin Akış Şeması	288
Şekil 3. 2. Yağ ve Su Fazının Formülasyonu	29
Şekil 3. 3. Emülsifikasyon Aşamaları	300
Şekil 3. 4. 5–40x büyütme Zeiss Axio Observer 5 Mikroskobu	311
Şekil 3. 5. Görünüş Analizi Aparatı (European Pharmacopoeia 6.0, 2008).....	333
Şekil 3. 6. Salınım Deney Düzenegi.....	366
Şekil 4. 1. Emülsiyon Tipi Analizi	388
Şekil 4. 2. Emülsiyonun mikroskopik görüntüsü (10x).....	388
Şekil 4. 3. Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyel Ölçümü.....	400
Şekil 4. 4. A Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği.....	433
Şekil 4. 5. E Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği	433
Şekil 4. 6. C Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği.....	444
Şekil 4. 7. B ₁₂ Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği	444
Şekil 4. 8. K ₁ Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği	455
Şekil 4. 9. A Vitamini için Standart Grafiği.....	455
Şekil 4. 10. E Vitamini için Standart Grafiği	466
Şekil 4. 11. C Vitamini için Standart Grafiği	466

Şekil 4. 12. B ₁₂ Vitamini için Standart Grafiği	477
Şekil 4. 13. K ₁ Vitamini için Standart Grafiği.....	477
Şekil 4. 14. Multivitamin Emülsiyonun Gastrik Stimüle Sıvısında Salınım Grafiği	48
Şekil 4. 15. Multivitamin Emülsiyonun İntestin Stimüle Sıvısında Salınım Grafiği	49
Şekil 4. 16. Enkapsüle Edilmiş Multivitaminlerin Enkapsülasyon Verimliliği	500
Şekil 4. 17. Enkapsüle Edilmiş Multivitaminlerin Biyoyararlanımı	511
Şekil 4. 18. Enkapsüle Edilen Vitaminlerin (A) % Verimliliği (B) % Biyoyararlanımı ('*' ile temsil edilen değerler, p < 0.05 düzeyinde kontrole göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001; ****p<0.0001)	52

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2. 1. Gastrointestinal Sistem Bölümlerinin pH ve Geçiş Zamanı Değerleri(Ravindran, 2013).....	12
Tablo 2. 2. Kanatlı sektöründe vitamin eksikliklerinin sebep olduğu durumlar (Korver, 2023)	155
Tablo 2. 3. Etlik Piliçlerde Alınması gereken vitamin miktarları (Aviagen, 2022)	177
Tablo 2. 4. Vitaminlerin, farklı faktörlerden etkilenme hassasiyeti ve stabilitesi (O=stabil, X=hassas, XX=Çok hassas) (Ward, 2014).	200
Tablo 2. 5. Enkapsülasyonda kaplama materyalleri ve uygun enkapsülasyon teknolojileri (Jayanudin et al., 2016).	211
Tablo 3. 1. Formülasyona girilecek vitamin miktarları (Ross, 2022; DSM, 2022).....	29
Tablo 3. 2. Broyler Sindirim Sistemi Organlarının pH Değerleri (Mabelebele et al., 2014)...	344
Tablo 4. 1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları	39
Tablo 4. 2. Stabilite Sonuçları	411
Tablo 4. 3. Multivitamin Emülsiyon Stabilitesi Sonuçları	411
Tablo 4. 4. Tarama Yapılacak Dalga Boyları.....	422
Tablo 4. 5. Vitaminlerin Başlangıç Konsantrasyonları (mg/ml)	50
Tablo 4. 6. Enkapsülasyon Verimliliği için Varyansın İstatistiksel Analizi (ANOVA)	51
Tablo 4. 7. Biyoyararlanım Yüzdeleri için Varyansın İstatistiksel Analizi (ANOVA)	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
<i>ml</i>	Mililitre
°	Derece
<i>C</i>	Celsius
<i>pH</i>	Potansiyel hidrojen
<i>IU</i>	İşlemin bitiş düğümü
<i>kg</i>	Kilogram
<i>g</i>	Gram
<i>mg</i>	Miligram
<i>rpm</i>	Dakika başına devir
<i>N</i>	Normalite
<i>M</i>	Molarite
<i>G</i>	Yerçekimi kuvveti
<i>d</i>	Çap
<i>nm</i>	Nanometre
<i>ppm</i>	Milyonda parçacık
<i>ζ-potansiyel</i>	Zeta potansiyel

Kısaltmalar

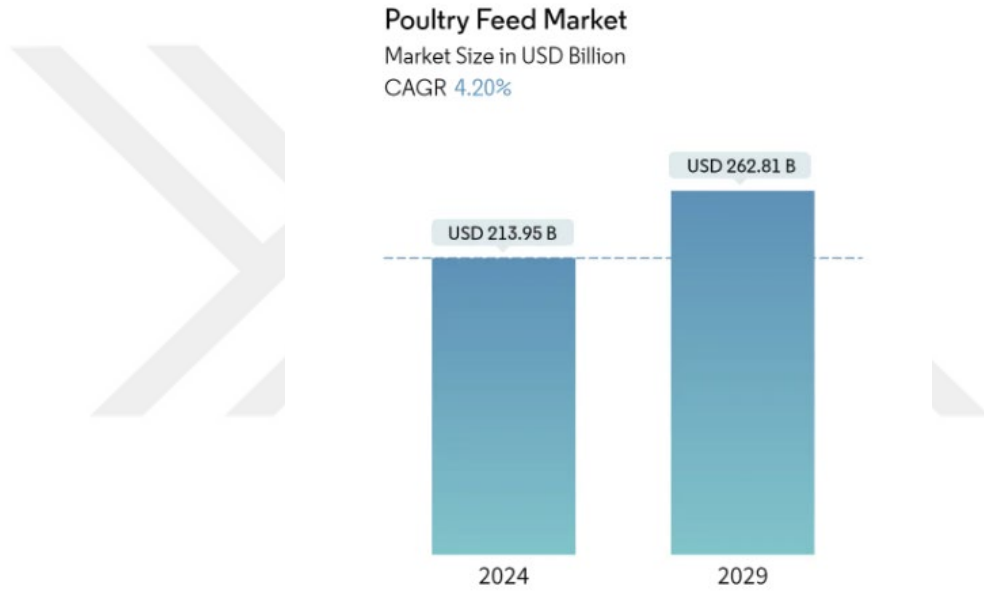
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
UV	Ultraviyole
CAGR	Bileşik yıllık büyüme oranı
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
Ar-Ge	Araştırma ve Geliştirme
GIT	Gastrointestinal Sistem
GSS	Gastrik Simüle Sıvı
ISS	İntestin Simüle Sıvı
ND	Newcastle Hastalığı
NDV	Newcastle Hastalığı Virüsü
HI	Hemaglutinasyon İnhibisyon
IUPAC	Uluslararası Saf ve Uygulamalı Kimya Birliği
HLB	Hidrofilik/Lipofilik Denge
O/W	Su içinde yağ
W/O	Yağ içinde su
O/W/O	Yağ içinde su içinde yağ
W/O/W	Su içinde yağ içinde su
KOH	Potasyum hidroksit

HCl	Hidroklorik asit
ICH	International Council for Harmonisation
NaOH	Sodyum hidroksit
UV-VIS	Ultraviyole-görünür spektroskopisi
EE	Kapsülleme Verimliliği



1. GİRİŞ

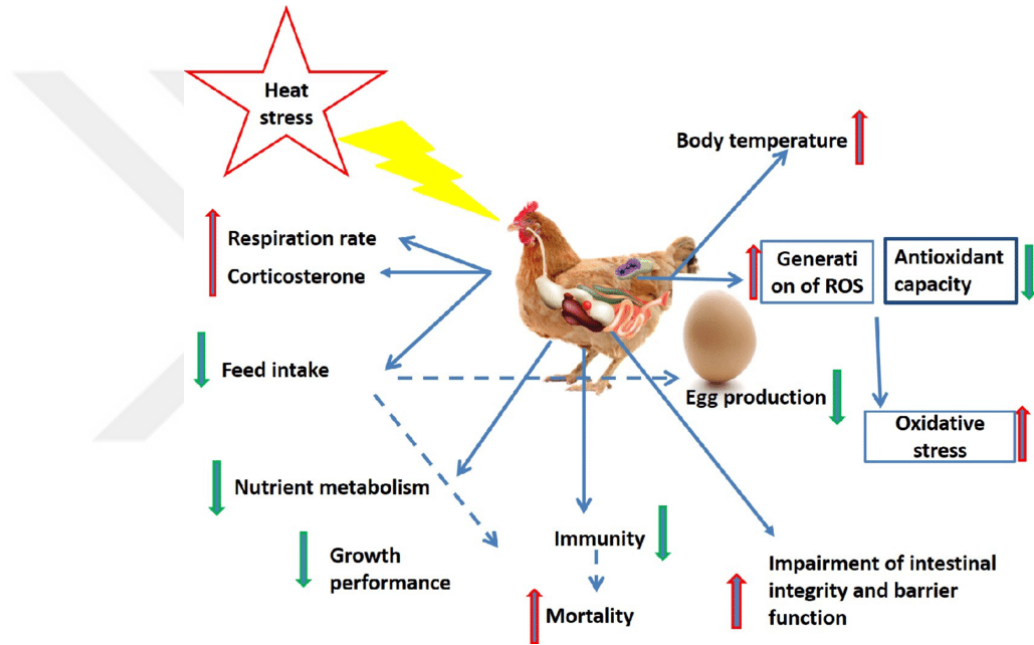
Kümes hayvancılığı sektöründe, önümüzdeki otuz yılda yurtiçi ve küresel talepte büyük bir artış beklenmektedir. Bu sektör, diğer hayvan sektörlerine göre daha ekonomik ve yönetilebilir olması nedeniyle özellikle gelişmekte olan ülkelerde hızla büyümektedir. Kümes hayvancılığında yem sektörünün, 2024 yılında tahmini büyüklüğü 213,95 milyar ABD dolarıdır ve 2029 yılında 262,81 milyar ABD dolarına ulaşması beklenmektedir. Tahmin dönemi boyunca %4,20'lik bir bileşik yıllık büyüme oranıyla büyüyeceği öngörülmektedir (Yıldız., 2021; Mordor Intelligence, 2024).



Şekil 1. 1. Kanatlı Yem Sektörü Pazar Payı (Mordor Intelligence, 2024)

Ticari kümes hayvanı yetiştiriciliğinde, stresli koşulların yaygın olduğu ve bu durum hastalıklara yol açarak ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir (Kabir, 2009). Kümeslerde kapasitenin üstünde yetiştiricilik yapıldığından, yüksek sıcaklık ve nem seviyelerinin, kanatlıların hayatta kalma oranını ve üretkenliğini olumsuz yönde etkilediği görülmektedir (Ayo et al., 1996). Özellikle hızlı büyüyen kanatlılarda, ısı stresine maruziyet artmaktadır. Isı stresi, tavuk büyümesini ve üretim performansını olumsuz etkileyen önemli bir faktördür ve büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Tavuklar için ideal sıcaklık aralığı aşıldığında, fizyolojik sorunlar ortaya çıkmakta ve ölüm riski artmaktadır (Ardiansah et al., 2020). Isı stresi ile mücadelede, çevresel değişiklikler ve beslenme stratejileri, bu durumun kontrolünde kullanılan yaygın yöntemler arasındadır. Çevresel değişikliklerden, kümesleri

soğutmak maliyetli olduğundan, diyet değişiklikleri ve vitamin katkı maddeleri gibi ekonomik çözümler tercih edilmektedir. Bu şekilde kanatlıların termo-toleransının artırılması amaçlanmaktadır (Ayo et al., 2011; Gupta et al., 2016; Ibtisham et al., 2017; Nawab et al., 2018). Özellikle antibiyotiklerin kümes hayvanlarında büyümeyi teşvik etmek amacıyla kullanımının sona ermesi ve tedavi amaçlı kullanımının yan etkileriyle ilgili endişeler, tüketicilerin ve üreticilerin vitamin katkıları gibi alternatif çözümler aradığı bir ortam yaratmıştır. Bu nedenle, hayvancılık maliyetlerini azaltırken verimi artırmak için ekonomik ve verimli bir araç gerekmektedir (Trafalska and Grzybowska, 2004; Nava et al, 2005; Tayyab et al., 2010).

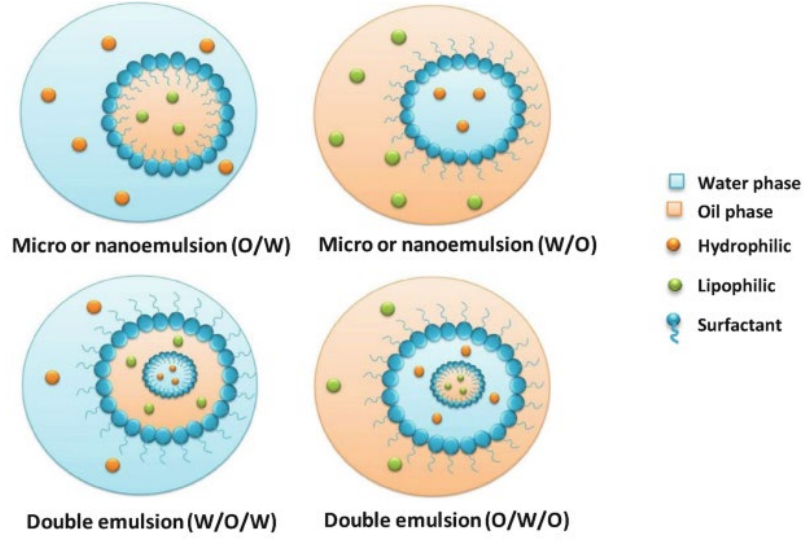


Şekil 1. 2. Kanatlılarda Isı Stresinin Etkileri (Shehata et al., 2020)

Yemlere eklenen vitamin katkı maddeleri, kanatlı hayvanların sağlığını, et kalitesini ve yumurta üretkenliğini artırmak için etkili bir çözüm olarak kabul edilmektedir. Vitaminler, besin gereksinimlerini karşılamakla kalmaz, aynı zamanda sağlığı korur, hastalıkları önler ve üretim performansını artırır. Bağışıklık yanıtlarını düzenler, fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları destekler (Britannica, 2016; Nawab et al., 2018; Hafez and Attia, 2020). Ayrıca, modern kanatlı çiftliklerinde büyümeyi desteklemek ve antibiyotik kullanımını azaltmak için de kullanılır. Modern ticari kanatlılarında, ölüm oranları daha yüksektir ve kanatlılar stres faktörlerine karşı daha düşük dirence sahiptirler. Bu durum, kümes hayvanlarının bağışıklık kazanamadıkları yaş aralıklarında patojenlere ve stres faktörlerine maruziyetine neden

olmaktadır. Antibiyotik dirençliliği; farmakolojik kalıntı olasılığı, dirençli patojenlerin ortaya çıkması ve çevresel etkiler gibi hayvan ve insan refahı endişelerini beraberinde getirmektedir. Bu sorunlarla başa çıkmak için vitamin katkılarına başvurulmaktadır. Vitaminler, birçok fizyolojik süreçte koenzim olarak işlev görerek büyümeyi, gelişmeyi, bakımı, üremeyi ve bağışıklığı desteklemektedir. Bu nedenle, kanatlı sağlığını iyileştirmek için vitamin ve mineral katkıları önemlidir (Leeson and Summers, 2005; Whitehead, 2000; Butcher and Miles, 2011; Elwinger et al., 2016).

Vitamin üreticileri, biyoyararlanımı maksimize etmek ve uygun maliyeti korurken, depolama veya yem işleme sırasındaki kayıpları en aza indirmek veya ortadan kaldırmak için çalışmaktadır. Yem işleme sırasında oluşan basınç ve sıcaklık ise vitamin kalitesini olumsuz etkileyebilmektedir. Bu nedenle, vitamin stabilitesini ve yararlanım performansını korumak kritik önem taşır ve yeni teknolojiler geliştirme süreci önemlidir. Özellikle sürdürülebilir hayvancılıkta, girdi miktarını azaltırken verim ve kaliteyi artırmak için yeni teknolojilere odaklanmak önemlidir. Enkapsülasyon, bu bağlamda öne çıkan bir teknolojidir. Bu teknoloji, aktif bileşikler kaplama malzemeleriyle kaplayarak stabiliteyi artırmakta ve biyoyararlanımı kontrol altında tutmaktadır (Madene et al. 2006; Alagawany et al., 2021; Tolve et al., 2021). Enkapsülasyon yöntemi, serbest radikaller, oksijen veya UV gibi prooksidan elementlere karşı bir bariyer oluşturarak vitamin stabilitesini koruyarak alım verimini artırabilmektedir. Emülsiyonlarla oluşturulan enkapsülasyon sistemleri, biyoaktif bileşikler stabilizasyonu ve performanslarını artırmak amacı ile tercih edilmektedir. Emülsiyon edilen vitamin katkılarının raf ömrü uzatmaktadır. Özellikle, çift katmanlı emülsiyonlar suya duyarlı veya hidrofilik maddelerin korunması ve taşınması için kullanılmaktadır. Çift katmanlı emülsiyonlar, kararsız olmalarına rağmen, birden fazla türde molekülü kapsüle edebilmektedir. Su içinde yağ içine su emülsiyonları, yağda çözünen vitaminlerin hızlı bir şekilde sindirilmesi ve taşınması için uygundur (McClements, 2004; Salvia- Trujillo et al., 2013; Fraj et al., 2021).



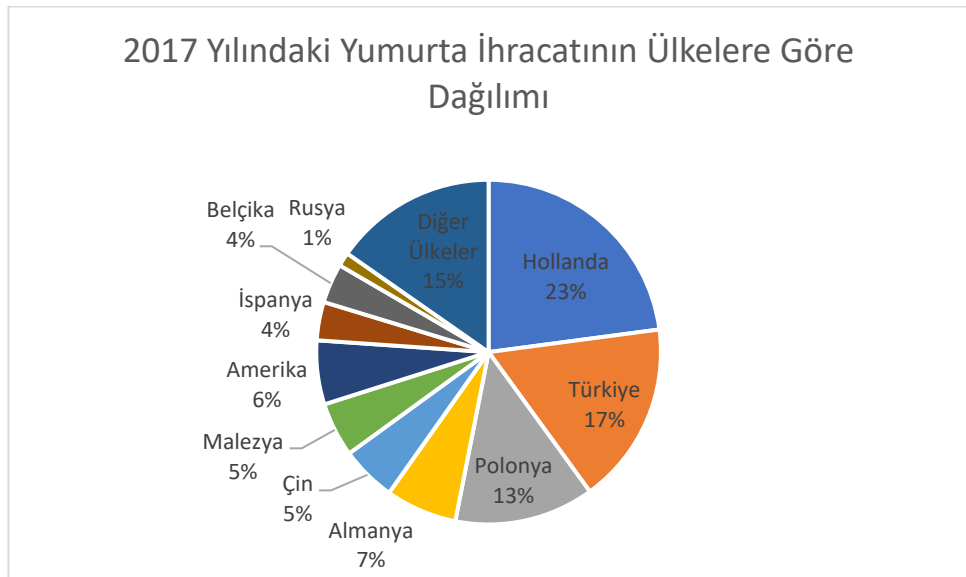
Şekil 1. 3. Emülsiyon Enkapsülasyon Türleri (Aboudzadeh ve Hamzehlou, 2020)

Tez çalışması kapsamında, çift katmanlı emülsiyon formülasyonu ile hem yağda çözünen hem de suda çözünen vitaminlerin enkapsülasyonu yapılmıştır. Bu enkapsülasyon yöntemi, broyler tavukların sindirim sistemini simüle edilen ortamlarda verim ve biyoyararlanım oranlarını belirlemek amacıyla incelenmiştir. Sonuçlar, vitamin alım verimini ve biyoyararlanımını artırarak yerli bir ürün olarak pazarlanabilecek önemli kanatlı vitamin yem katkılarının enkapsülasyonu ile ilgili olumlu sonuçlar ortaya koymuştur. Bu çalışma, ileri *in vivo* çalışmalarla birlikte desteklendikten sonra, katma değeri yüksek yerli ürünlerin geliştirilmesini hedeflemektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

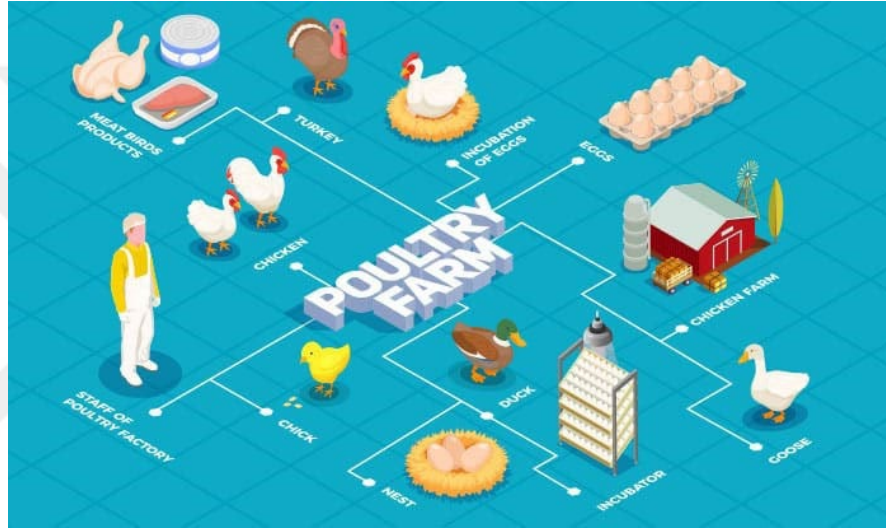
2.1. Kanatlı Sektörü

Hayvansal proteine yönelik yurtiçi ve küresel talebin önümüzdeki otuz yılda %50'den fazla artması beklenmektedir. Hayvancılık sektörünün, uluslararası pazarlardaki en öncü ve önemli segmenti kanatlı sektördür. Kanatlılar, diğer hayvan türlerine göre daha uygun maliyetli, kolay yönetilebilir ve hızlı büyüme özellikleri gösterdikleri için, ülke ekonomilerinde önemli bir konuma sahiptirler (Markos, 2016). Beslenme ve gıda güvenliği açısından kritik olan kanatlı sektörü, özellikle gelişmekte olan ülkelerde en hızlı büyüyen hayvancılık alt sektörüdür. 2020 yılında 310,7 milyar dolarlık bir piyasa değerine sahip olan kümes hayvancılığı sektörünün, 2021'de 322,55 milyar dolarlık bir değere ulaşarak bileşik yıllık büyüme oranı (CAGR) %3,8 olarak kaydedilmiştir. Piyasanın, 2025 yılında CAGR'si %7 olarak tahmin edilen 422,97 milyar dolarlık bir seviyeye ulaşması beklenmektedir (Yıldız., 2021; Grand View Research, 2022). Avrupa Birliğinin 2019'da raporlanan verilerine göre, kanatlı endüstrisinde, 2018'de yaklaşık 7,5 milyon ton yumurta ve 15 milyon ton et üretmiştir; bu, 2017'ye kıyasla sırasıyla %1,2 ve %4,8 artışı temsil etmektedir (Augère-Granier, 2019; Mota de Carvalho et al., 2021). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından kaydedilen verilere göre 2017 yılında, Türkiye özellikle yumurta ihracatında, %17,1'lik pay ile tavukçuluk sektöründe en önemli ülkelerdendir (FAO, 2018).



Şekil 2. 1. 2017 Yılındaki Yumurta İhracatının Ülkelere Göre Dağılımı (FAO, 2018)

Tavuk üretim zinciri, hayvanların yüksek kapasitede üretilmesi, sağlıklarının iyileştirilmesi ve genel olarak hayvan performansının artırılması için iyi üretim uygulamalarını benimsemiştir. Ticari kanatlı sektörü, diğer hayvan yetiştirme sistemleri ile karşılaştırıldığında kısa sürede hızlı gelişim için genetik olarak belirlenmiştir (Schmidt et al., 2009; Stanley et al., 2014). Hayvancılık sektöründe; hastalıklar ile savaş, verimin artırılması, gıda güvenliği ve sağlıklı hayvancılık ürünleri, sürdürülebilir hayvansal üretim sisteminin en kritik noktalarıdır. Kanatlı sektörünü incelediğimizde, kümeslerdeki büyüme hızındaki artış, patojenler ve sürekli değişen çevre koşulları nedeniyle kanatlılar sürekli stres altındadır (Lohakare et al., 2004; Khatibjoo et al., 2018).



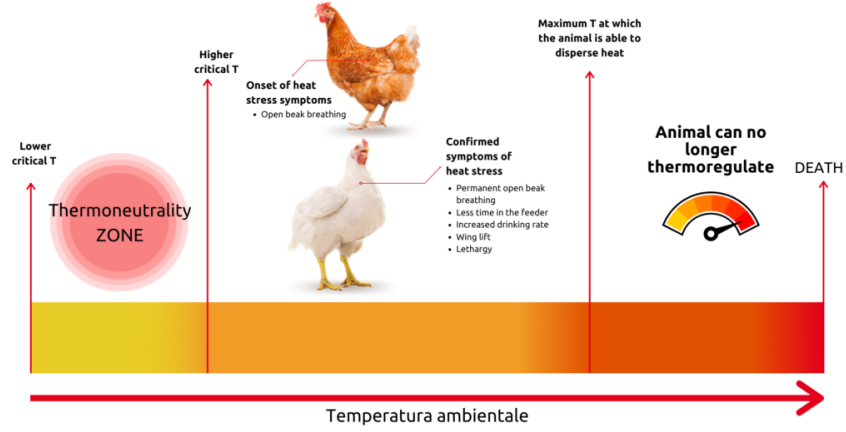
Şekil 2. 2. Tavuk Çiftliği Şeması (Yıldız D., 2021)

Kümes hayvanlarının sağlığı, bağışıklığı, ve üretimi, kümes hayvanı endüstrisinin gelecekteki büyümesi için kritik olan faktörlerdir. Tüketici güveni, ürün türleri, hastalıkların ortaya çıkışı, ürün kalitesi ve güvenliği, sektörün mevcut durumu ve stratejik geleceği açısından büyük zorluklar olmaya devam edecektir. Bu nedenle kanatlı sektöründe, kanatlı sağlığı stratejik bir konu olarak ele alınmalıdır (Hafez et al., 2020).

2.1.1. Kanatlı sağlığı

Kümes hayvanların stresli koşullarda kaldığı büyük ölçekli ve dar alanlı yetiştirme tesislerinde, hastalıklardan ve çevre koşullarının sürekli bozulmasından kaynaklı sorunlar ortaya çıkmaktadır ve önemli ölçüde ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Kabir, 2009). Normalin üzerindeki sıcaklıklar ve nem seviyeleri, piliçlerin hayatta kalma oranlarını

düşürdüğü gibi üretkenliği de sınırlamaktadır. Yoğun yetiştirme uygulamaları ile şiddetlenen yüksek ortam sıcaklığı, üretim performansını ve kanatlı sağlığını olumsuz etkilemektedir (Ayo et al., 1996). Daha yüksek büyüme hızına sahip piliçler, yavaş büyüyen piliçlere göre yüksek kümes sıcaklığında daha fazla zarar görmektedir (Ardiansah et al., 2020). Kanatlı sektöründe en sık karşılaşılan problem olan ısı stresi; yem alımının azalması, büyüme oranının, vücut ağırlığının, et kalitesinin, yumurta kalitesinin, yumurta üretiminin, sperma kalitesinin ve doğurganlığın düşmesi de dahil olmak üzere çok çeşitli tavuk performansını etkileyen en önemli çevresel faktörlerden biridir. Bu olumsuz etkiler büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Genellikle, yetişkin broyler tavuklar için optimum sıcaklık 18 ile 22 °C arasındadır ve bu aralıktan daha yüksek sıcaklıklar ısı stresine neden olabilir. Isı stresi, çevresel sıcaklık ile genellikle yaz mevsiminde meydana gelmektedir. Konfor bölgesi, kritik bölge ve üst kritik bölge olmak üzere kanatlılar üç farklı sıcaklık aralığı ile karşı karşıyadır. 18 ile 28 °C olan konfor bölgesinde, tavuklar vücut sıcaklığını çaba göstermeden koruyabilirken, 26 ile 35 °C olan kritik bölgede, vücut sıcaklığının korunması için fiziksel ısı düzenlemesi yardımı gerektirmektedir. 35 °C'den yüksek olan üst kritik bölgede, tavuklar vücut ısını dağıtamamaktadır. Bu durum, çoklu organ bozukluğunu takiben fizyolojik bozukluklar ortaya çıkmasına ve ölümlerle sonuçlanmasına neden olmaktadır (Shakeri et al., 2020; Dagher, 2009). Erken ısıtma, açık barakalar ve soğutma sistemleri gibi çevresel değişiklikler ve erken yem kısıtlaması, elektrolit, vitamin ve mineral dengesi beslenme stratejileri, stres ile mücadelede kullanılan yöntemlerdendir (Gupta et al., 2016; Ibtisham et al., 2017; Ayo et al., 2011). Kümesleri soğutmak, taşınmanın ve diğer giderlerin gerektirdiği maliyetler göz önüne alındığında ekonomik bir seçenek değildir (Nawab et al., 2018). Bu sebeple, kümes hayvanı üreticileri, çevre sıcaklığının kümes hayvanları performansındaki etkisini azaltmak amacı ile diyet manipülasyonlarına başvurmaktadır (Trafalska et al., 2004; Griggs and Jacob, 2005). Bu durum, sıcak nemli ortamda piliçlerin termo-toleransını iyileştirmek için ekonomik ve verimli bir araç gerektirmektedir (Asaduzzaman, 2000; Tayyab et al., 2010). Yemlerin yanında eklenen vitamin katkı maddesi, piliç kalitesini, sağlığını ve üretkenliği artırmak için etkili bir araç olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2. 3. Kanatlılarda Görülen Isı Stresi (Tecnozo, 2024)

Kanatlı sektöründen yayılan, gıda kaynaklı zoonotik hastalıklar da ortaya çıkmadan baş edilmesi gereken bir diğer husustur. Gıdadan kaynaklanan zoonotik patojenlerin bertaraf edilmesi ve kontrolü, kanatlı hayvanı endüstrisinde büyük zorluk teşkil etmektedir. Bulaşıcı hastalık kontrolünün ilk adımı olan önleme için, güçlü bir bağışıklık sistemi oluşturup sürdürmek ve aşılama yoluyla hastalığın girişini önlemek kritiktir (Hafez and Attia, 2020). Hastalıkların kontrolü ve önlenmesi son zamanlarda veteriner ilaçlarının kullanımında artışa yol açmıştır. Patojenik bakterilerde gözlenen antimikrobiyal dirence ilişkin kapsamlı çalışmalar göz önüne alındığında, bu ajanların bir tedbir olarak kullanımı önemle sorgulanmıştır (Nava et al., 2005; Trafalska and Grzybowska, 2004). Dolayısıyla, antibiyotiklerin kümes hayvanlarında büyüme uyarıcısı olarak kullanımının sona ermesi olasılığı ve tedavi edici madde olarak kullanımının yan etkileri konusundaki endişeler hem tüketicinin hem de üreticinin alternatif aradığı bir ortam yaratmıştır (Griggs and Jacob, 2005; Kabir, 2009). Bu nedenle, hayvancılıktaki maliyetleri düşürürken verimi artırmak için ekonomik ve verimli bir araç gerektirir. Yemlerin yanında eklenen vitamin katkı maddeleri, kanatlı sağlığını, kalitesini ve üretkenliği artırmak için etkili bir araç olarak kullanılmaktadır (Lohareke et al., 2004).

2.1.2. Kanatlı beslemesi ve yem sektörü

Doğuştan gelen bağışıklığın artırılması, hastalıkların önlenmesi ve kontrolünde beslenme önemli bir faktördür. Aktif ve pasif bağışıklık ile antikor oluşumu kanatlı beslemesinden, yem bileşenlerinden, hijyenden etkilenir. Yağ asitleri, amino asitler, mineraller ve vitaminler bağışıklığı güçlendirmekte hayati öneme sahiptir. Besin eksikliği, yeni ortaya çıkan hastalıkların tehdidini artırabilir ve bu nedenle bu koşullar altında C, E ve D

vitaminleriyle yeterli takviyenin sağlanması çok önemlidir. A, C, D, E ve K vitaminleri ile B vitaminlerinin tamamı da kanatlı beslenmesinde gereklidir (Kabir, 2009; Nawab et al., 2018; Hafez and Attia, 2020). Sıcaklık stresi altında tavukların vücudundan mineraller ve vitaminler atılır ve bu durum mineral ve vitamin eksikliğine neden olur (Şahin vd., 2009; Pawar et al., 2016; Kumari and Nath, 2018). Diyete vitamin, mineral ve elektrolit dengesinin eklenmesinin ölüm oranlarını azalttığı ve zorlu çevre koşulları altında kümes hayvanlarının büyüme oranını arttırdığı rapor edilmiştir (Fisinin and Kavtarashvili, 2015).



Şekil 2. 4. Kanatlı Besleme Sistemi (Feed Additive, 2023)

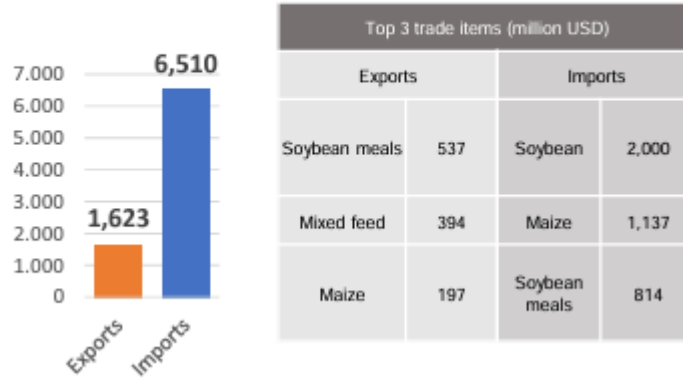
Kanatlı sektöründe, doğumdan 10. güne kadar verilen kaliteli bir başlangıç yemi, erken büyümeyi ve fizyolojik gelişimi destekleyerek hedef ağırlıklara, iyi sağlık ve refaha ulaşılmasını sağlamaktadır. Başlangıç formülasyonlarında önemli nokta yem maliyetleri değil, iyileştirilmiş biyolojik performans ve kârlılığı teşvik etmeye dayanmasıdır. 11. günden, 25. güne kadar olan süreçte büyütme yemine geçiş süreci, besin yoğunluğunda bir değişiklik gerektirdiği ve performans kaybını önlemek için dikkatli bir şekilde yönetilmelidir. Bitirme yemleri, 25. günden sonra verilmektedir. Kanatlı beslemesinde yem alımının ve toplam maliyetin yoğunluğunu oluşturmaktadır. Bu nedenle, ürün karışımı için finansal karı optimize edecek bir şekilde tasarlanmalıdır. 42 günlük yaştan sonra beslenen piliçler ilave bir bitirme yemi gerektirmektedir (DSM, 2022; Aviagen, 2022). Ticari kümes hayvanı beslemesi, büyüme ve yağ üretimi için maksimum enerji alımını sağlaması gereken önemli bir bilimdir. Yüksek kaliteli yem kaynakları maksimum miktarda organ, kas, tüy ve deri büyümesi sağlar. Bu nedenle küresel ölçekte, kaliteli yeme olan talep gün geçtikçe artmaktadır (Britannica, 2016).

Küresel hayvan yemi katkı maddeleri pazarının, 2020-2028 döneminde tahmini %6,7'lik bir CAGR ile 2020 yılında 1,6 milyar ABD doları olan küresel market boyutunun, 2028 yılına kadar 56,22 milyar ABD dolara ulaşması beklenmektedir (Grand View Research, 2022).

Yurtiçinde de tarım ve hayvancılık ülkesi olmanın verdiği avantaj ile yem katkıların pazar boyutu her geçen yıl artmaktadır. Firmaların yem katkı maddeleri sektöründe başarıyı yakalamaları için Ar-Ge faaliyetlerine önemli yatırımlar yapması gerekmektedir. Türkiye hayvan yemi pazarının, 2020'de 5,81 milyar ABD dolarından 2027'de 7,51 milyar ABD dolarlık pazar büyüklüğüne ulaşarak, tahmin dönemi boyunca yıllık %3,72 bileşik büyüme oranıyla büyümesi beklenmektedir. Hayvan yemi hammaddeleri açısından pazar sağlıklı görünmektedir ve tahmin dönemi boyunca büyümesi beklenmektedir (Knowledge Sourcing Intellegent, 2023).

Türkiye Cumhuriyeti Cumhurbaşkanlığı Yatırım Ofisi'nin yayınlamış olduğu, 'Why Invest In Turkish Agrofood Industry?' başlıklı dokümanda da seçilmiş ve önemli ticaret kalemlerinde hayvancılık yem sektörü yer almaktadır. Burada da hayvancılıkta görülen artış kaynaklı büyüyen talebin, yerli yem üreticilerince karşılanamadığı belirtilmiştir (Türkiye Cumhuriyeti Cumhurbaşkanlığı Yatırım Ofisi, 2023).

Animal feed sector (million USD)



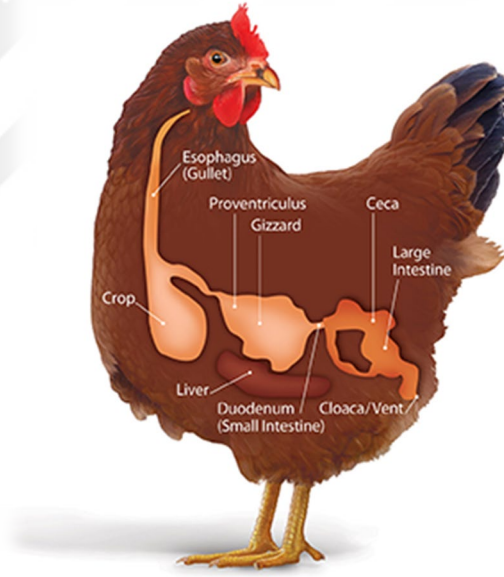
Şekil 2. 5. Hayvan Yem Ticaret Miktarları (Türkiye Cumhuriyeti Cumhurbaşkanlığı Yatırım Ofisi, 2023)

2.1.3. Tavuk sindirim sistemi

Kanatlılarda sindirim sisteminin işlevselliği, optimum performans için çok önemlidir ve diyet bileşimi, formu ve besleme sisteminin sindirim fonksiyonu üzerinde büyük etkisi vardır (Svihus, 2014). Tavuğun sindirim sistemi, bağırsak koşulları sindirimi ve emilimi yönlendirmektedir. Bu, yem tüketimini, sindirilebilirliği, yem dönüşüm oranını ve büyüme hızını etkilemektedir (Mabelebele et al., 2014). Kümes hayvanı fizyolojisinde, oral fazda gıda edinimi sağlanır, gastrik fazda sindirimin bir kısmı ve gıda depolama gerçekleşir, intestinal

fazda ise sindirim, fermentasyon ve emilim için kullanılır (Verhoeckx et al., 2015; Celi et al., 2017).

Tavuklarda gastrointestinal sistem altı farklı bölgeye ayrılır (Şekil 2.6). Gaga, yem taneciklerinin alınması, vücuda su ve yem girişi ile sindirimi başlatır. Alınan yem kesede, proventrikulusa geçme zamanına kadar depolanır. Mide ön kısmı olan proventrikulusde pepsin gibi asidik enzimler ile enzimatik sindirim gerçekleşir. Midenin ikinci bölümünde ise iki güçlü kas ile ezme ve karıştırma ile mekanik sindirim sağlanır. İnce bağırsakta pankreas ve karaciğerden gelen enzimler ile kimyasal sindirim ve emilimin büyük bir bölümü gerçekleşir. Kör bağırsakta suyun yeniden emilimi gerçekleşir. Kalın bağırsakta ise dışkıdaki kalan suyun ve elektrolitlerin emilimi gerçekleşir (Svihus, 2014; Denbow, 2015).



Şekil 2. 6. Tavuk Sindirim Sistemi (Nutrena, 2024)

Sindirim enzimlerinin aktivitesi ve mikrobiyal popülasyon bağırsak pH'sından etkilenir ve herhangi bir değişiklik bu nedenle sindirim yeteneğini etkiler. Hidroklorik asit, sindirim ürünlerini pepsinojenin pepsine dönüştürmek için sindirim içinde düşük pH'ı korumak için gereklidir (Bohak, 1970; Mahagna ve Nir, 1996). Geçiş hızı veya kalış süresi, besinlerin sindirimi ve emilimi üzerinde büyük etkiye sahiptir. Geçiş hızı ne kadar yavaş olursa, gastrointestinal sistemdeki (GIT) sindirim artıklarının kalış süresi o kadar uzun olur, bu da

sindirim enzimleri ve substratlar ile sindirme ürünleri ve bağırsak mukozası arasındaki temas için daha fazla zaman sağlar (Ravindran and Abdollahi, 2021). Tavuklarda gastrointestinal sistem bölümlerinin pH değerleri ve geçiş zamanları Tablo 2.1’de verilmiştir (Ravindran, 2013).

Tablo 2. 1. Gastrointestinal Sistem Bölümlerinin pH ve Geçiş Zamanı Değerleri (Ravindran, 2013)

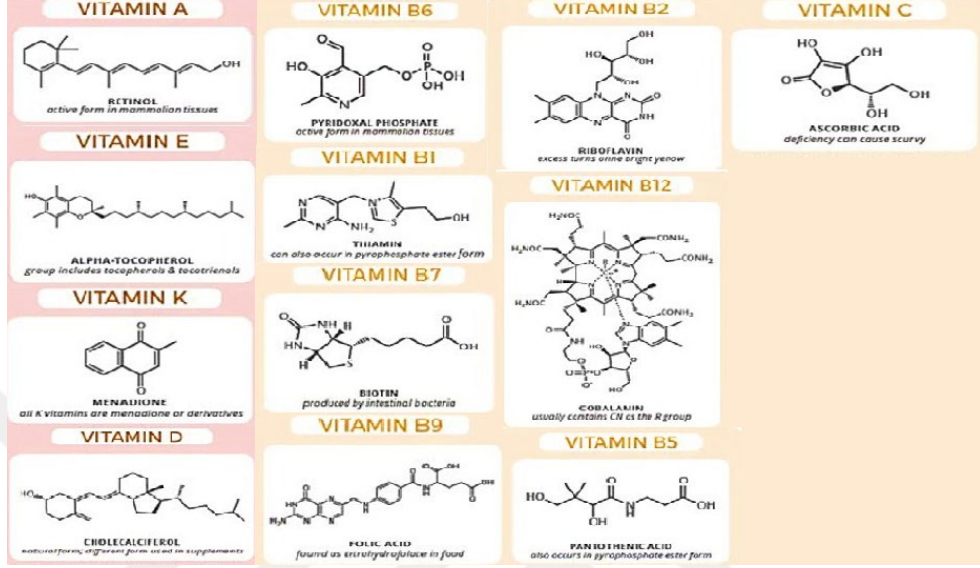
Gastrointestinal Sistem Bölümü	pH	Geçiş Zamanı (dk)
Kese	5.5	10-50
Mide (Proventrikulus)	2.5-3.5	30-90
İnce Bağırsak (Duodenum)	5-6	5-10
İnce Bağırsak (Jejunum)	6.5-7	20-30
İnce Bağırsak (Ileum)	7-.7.5	50-70
Kalın Bağırsak	8	20-30

2.2. Vitaminler

'Vitamin' terimi, Polonyalı biyokimya olan Casimir Funk tarafından 1912’de önerilmiştir. Vitaminler rutinde kanatlı yemlerine ön karışım şeklinde eklenmektedir. Genel uygulamada, kanatlılarda, büyüme aşamasına uygun ve üreticilerin tavsiyelerini uygulayarak çeşitli seviyelerde eklenmektedir. Bununla birlikte, nem ve geçerli sıcaklığın oldukça yüksek olduğu durumlarda ve bir hastalık salgını olduğunda normalden daha yüksek vitamin seviyeleri de takviye edilmektedir (Irfan ve Aslan, 2017; Saeed et al., 2019).

Günümüzde vitaminlerin immünojeniteyi ve gelişimi iyileştirdiğine dair çalışmalar yapılmaktadır. Ticari kümes hayvanlarının performans özelliklerini ve ayrıca kuşların sağlık ve refahını optimize etmek için vitamin beslemesi hakkında olumlu bilgiler bulunmaktadır (Leeson and Summers, 2005; Whitehead, 2000; Butcher and Miles, 2011; ElWinger et al., 2016). Bununla birlikte, kanatlıların genetik performansındaki değişiklikler, sağlık

gereklilikleri ve yeni aşılamadaki değişiklikler, vitamin beslemesi konusunda gelecekte önemli arz oluşturabilir. Modern kümes hayvancılığında, vitaminler konusunda ilerleme kaydedilmesi ulusal ve uluslararası alanda daha fazla disiplinler arası araştırma gerektirmektedir (EiWinger et al., 2016).



Şekil 2. 7. Vitaminlerin Yapıları (Bunning, 2015)

Kanatlılarda yüksek kaliteli vitaminlerin kullanımı, çevresel stres etkenlerinin yarattığı olumsuz koşulları en aza indirerek, yaşam evresine ve büyüme aşamalarına uygun şekilde beslemeyi amaçlamaktadır. Bu şekilde besleme ile, hayvan sağlığı ve refahına, hayvan performansına, gıda kalitesine ve sürünün korunmasına katkı sağlanır. Bu nedenle, tavuk beslemesi endüstrisi ve tüm paydaşları kanatlı yemlerindeki vitamin miktarlarını kontrol etmeye, daha sürdürülebilir uygulamalarla tarım için gereklilikleri düzenlemeye teşvik edilmelidir. Hedef vitamin tüketim miktarlarını sağlayabilmek için işlemedeki ve raf ömründe depolamadaki kayıpların hesaba katılması ve ürüne ek olarak bu miktarların eklenmesi gerekmektedir (DSM, 2022). Vitamin üreticilerinin görevi, bir yandan maksimum biyoyararlanımı ve karıştırma özelliklerini uygun maliyetli bir şekilde korurken, bir yandan da depolama veya yem işleme sırasındaki kayıpların en aza indirilmesi veya ortadan kaldırılması için vitaminler üretmektir. Bu nedenle vitaminlerin stabilitesini ve yararlanım performansını korumak kritiktir. Bu konuda yeni teknolojiler geliştirmek önemli bir araştırma alanıdır. Yemlerin yanında eklenen vitamin katkı maddesi, piliç kalitesini, sağlığını ve üretkenliği artırmak için etkili bir araç olarak kullanılmaktadır.

2.2.1. Tavukçuluk sektöründe vitaminlerin önemi

Hayvanların beslenmesi, tavuk yemi formülasyonlarının büyük ölçüde gelişimlerini, refahlarını ve nihai ürünlerinin kalitesini, yani et ve yumurtaları etkilediği için hayati bir faktördür. Bu nedenle, hayvanların refahını ve ürünlerin güvenliğini garanti eden daha iyi performanslar sağlayan, düşük maliyetli kullanımı olan yem katkı maddelerini araştırma, tavuk endüstrisinin önceliği haline gelmiştir. Erken aşamada olmasına rağmen, araştırmalar kanatlı bağırsak mikrobiyotasının ve fizyolojisinin işlevini dikkate alarak uygun maliyette ancak optimal şekilde etkin yem formülasyonlarının geliştirmesine odaklanmıştır (Kırkpınar et al., 2014; Syed et al., 2021).

Kümes hayvanlarının D₃ ve C vitaminlerini, niasin ve kolini kısmen veya tamamen sentezleyebildiği bilinmektedir. Karotinler, farklı organlarda A vitaminine dönüştürülür. Aksine, kanatlı hayvanlarda sekada sentezlenen vitaminlerin emilimini gözlemlemek zordur. Bu nedenle kümes hayvanları, yem içeriklerinin doğal bileşenleri olarak ve takviyeler (yem katkı maddeleri) olarak yem yoluyla sağlanan bir vitamene bağımlıdır. Kümes hayvanları için gerekli vitaminlerin listesi ve faydaları Tablo 2.2’de verilmiştir (Alagawany et al., 2020).

A Vitamini	D Vitamini	E Vitamini	K Vitamini	B Vitamini	C Vitamini
<input type="checkbox"/> Büyüme <input type="checkbox"/> Sağlık (Bağışıklık) <input type="checkbox"/> Üreme (Steroid Sentezi) <input type="checkbox"/> Görme <input type="checkbox"/> Cilt, epitel ve mukozanın gelişimi ve bütünlüğü	<input type="checkbox"/> Kalsiyum ve fosfor homeostazi (bağırsak, kemikler ve böbrek) <input type="checkbox"/> Kemik kireçlenmesi ve yumurta kabuğu oluşumunun düzenlenmesi <input type="checkbox"/> Bağışıklık sisteminin modülasyonu <input type="checkbox"/> Kas hücreleri büyümesi	<input type="checkbox"/> En güçlü yağda çözünen antioksidan <input type="checkbox"/> Bağışıklık sistemi modülasyonu <input type="checkbox"/> Doku koruması <input type="checkbox"/> Doğurganlık <input type="checkbox"/> Et kalitesi	<input type="checkbox"/> Kan pıhtılaşması ve pıhtılaşma <input type="checkbox"/> Kemik mineralizasyonu (Ca bağlayıcı proteinler) ve protein oluşumu ile ilgili metabolik süreçte koenzim	<input type="checkbox"/> Karbonhidrat metabolizması (glukozun enerjiye dönüştürülmesi) <input type="checkbox"/> ATP, DNA ve RNA üretiminde yer alır <input type="checkbox"/> Kırmızı kan hücrelerinin sentezi ve büyümesi <input type="checkbox"/> Sinir uyarılarının iletilmesinde gerekli olan asetilkolin sentezi <input type="checkbox"/> Flavin koenzim (FMN ve FAD) sentezi, enerji üretimi için temel unsurlar (solunum zinciri) <input type="checkbox"/> Mukozal membranların bütünlüğü ve hücrelerdeki antioksidan sistem	<input type="checkbox"/> Hücre içi (suda çözünür) antioksidan <input type="checkbox"/> Bağışıklık sistemi modülasyonu: fagositozun uyarılması <input type="checkbox"/> Yumurta kabuğu zarı oluşumu <input type="checkbox"/> Kollajen, bağ dokuları, kırkardak ve kemiklerin oluşumu <input type="checkbox"/> Kortikosteroid sentezi ve steroid metabolizması <input type="checkbox"/> D3 vitamininin aktif formuna dönüştürülmesi

Şekil 2. 8. Kümes hayvanları için gerekli vitaminlerin listesi ve faydaları (Alagawany et al., 2020)

Örneğin artan E vitamini takviyeleri, koksidiyoza karşı aşılamaı teşvik eder. Belirli koşullar altında C vitamini takviyesinin kümes hayvanlarına fayda sağladığını kabul edilmiştir (Alagawany et al., 2020). Özellikle stres döneminde beslemeye veya suya C vitamini uygulanmaktadır. C vitamini, sıcak stresi sırasında piliçlerde büyüme performansını ve karkas özelliklerini iyileştirmede faydalıdır (Min et al., 2018). Isı gibi stres etkenleri altında kümes hayvanlarının C vitamini otosentezi yetersizdir ve bu sorunu hafifletmek için takviyelere ihtiyaç

vardır. Kanatlı etinde ve yumurtada birikimi iyileştirmek amacıyla artan vitamin takviyesi insan sağlığı için de avantajlara sahiptir. Kanatlı etindeki artan E vitamini takviyeleri, yağ içeriğinin oksidasyonunun stabilitesini iyileştirmekte ve etin rengini korumaktadır (Attia et al., 2018).

Vitaminlerin çoğu kümes hayvanları tarafından sentezlenemez, bu nedenle beslenme yoluyla sağlanmalıdır. Fakat, pelet yemler tek başına önemli gereksinimi karşılamakta yetersizdir. Diyetler eklenen vitamin takviyeleri, hastalık tedavisinde veya önlenmesinde önemli rol oynar. Hayvansal proteinleri ve enerjiyi, kanatlı sağlığın iyileştirmesini, üreme ve büyüme için vitaminler kullanılmaktadır (Whitehead, 2002; McDowell and Ward, 2008). Eğer vitaminler diyette eksikse, uygun şekilde emilmiyor veya kullanılmıyorsa, belirli hastalıkların yanında eksiklik sendromları ortaya çıkar. Vitamin A eksikliği, tüylerin kabarması, büyümenin durması, koordinasyonsuzluk, zayıflık, ataksi, kseroftalmi ve körlüğe neden olur. Vitamin B kompleksi eksikliği nedeniyle polinörit, perozis, gıda kullanımının bozulması ve kıvrık paralizi, folik asit ve vitamin B₁₂ eksikliği nedeniyle anemi görülür. Farklı vitaminlerin eksikliklerinin neden olduğu olumsuz durumlar Tablo 2.3'te verilmiştir. Vitamin takviyeleri bu durumların önlenmesine katkı sağlamaktadır. Ticari takviyeler, optimum karıştırma özellikleri, yüksek stabilite ve iyi biyoyararlanım sağlamak için pratik uygulama ve yeme etkili bir şekilde dahil edilme için iyi kriterleri garanti edecek şekilde işlenip, formüle edilmelidir (Korver, 2023).

Tablo 2. 2. Kanatlı sektörde vitamin eksikliklerinin sebep olduğu durumlar (Korver, 2023)

A Vitamini	D Vitamini	E Vitamini	K Vitamini	B Vitamini	C Vitamini
<ul style="list-style-type: none"> • Körlük veya gece körlüğü (xerophthalmia) • İştah kaybı, besinlerin zayıf emilimi, büyüme bozukluğu ve ciddi vakalarda ölüm • Azalan yumurta üretimi ve çıkım gücü • Azalan bağışıklık tepkisi ve artan enfeksiyon riski (solunum ve bağırsak) • Epitel dokularının keratinizasyonu 	<ul style="list-style-type: none"> • Raşitizm, osteomalazi ve kemik bozuklukları • Düşük yumurta kabuğu kalitesi (daha fazla çatlamış yumurta) • azaltılmış kuluçka • Azalan büyüme oranı • Kas zayıflığı 	<ul style="list-style-type: none"> • Kas distrofisi ve miyopati • Azaltılmış bağışıklık tepkisi • Ensefalomalazi ("çilgin civciv hastalığı") • Azaltılmış doğurganlık ve kuluçka • Et kalitesi kusurları: damlama kaybı, kötü tatlar 	<ul style="list-style-type: none"> • Artan pıhtılaşma süresi • Kanamalar • Anemi • Kemik bozuklukları • Sert tüyler 	<ul style="list-style-type: none"> • Anoreksiyaya kadar iştah kaybı • Azalan büyüme oranı • Nöropatiler (boyun bükülmesi ile polinörit) • Genel kas zayıflığı • Mukozal inflamasyon • Azaltılmış yumurta üretimi • Embriyo ölümlerinde artışlar • Anemi • Kusurlu tüylenme, zayıf tüylenme 	<ul style="list-style-type: none"> • Strese karşı daha düşük direnç (örn. düşük/yüksek sıcaklıklar) • Zayıflık ve yorgunluk • Azaltılmış bağışıklık tepkisi • Deri, kas ve yağ dokularının kanamaları • Üreme başarısızlıkları

Son zamanlarda, vitaminlerin besleyici ve sağlık açısından faydalı etkileri göz önünde bulundurulurak, yem katkı maddeleri, kanatlı biliminde büyük önem kazanmıştır. Vitaminlerin, kanatlılarda besin gereksinimlerini sağlamanın yanında, faydalı farmakolojik etkileri vardır. Vitaminler, fizyolojik sağlığı arttırmaya destek olurlar, hastalıkları önlerler ve en önemlisi bu şekilde üretim performansını artırırılar. Ayrıca, vitaminler modern tavuk sürülerinde optimal büyüme performansını desteklemek için dengeli besin sağlamada yardımcı olur ve antibiyotik kullanımını azaltmak için bir besin takviyesi olarak da hizmet edebilir (Alagawany et al., 2021). Tavuklarda antibiyotik kullanımını, antibiyotik dirençli mikroorganizmaların yayılmasına ve ilaç kalıntılarına neden olur; bu nedenle, birçok ülkede antibiyotik kullanımı kısıtlanmıştır. Antibiyotik kullanımının kısıtlanması sonrası, kanatlı sağlığını etkilemeden aynı büyüme artışına yol açan yem katkı maddelerine olan talep artmıştır.

Beslenme, tavukların sağlığını, yumurta kalitesini ve broylerlerin vücut gelişimini korumak açısından önemli bir rol oynar (Wang et al., 2017). Vitaminler, gelişim, büyüme, bakım ve üreme gibi optimum genel sağlık ve fizyolojik fonksiyonlar için gereken esansiyel nutrastiklerdir (Dhama et al., 2015; Aronson, 2017; Helal et al., 2019; Waheed Janabi et al., 2020). Vitaminler, besin sentezini kolaylaştıran katalitik fonksiyonlar sergilerler, böylece metabolizmayı kontrol eder ve tavukların performansı ve sağlığı üzerinde etki ederler. Vitaminlerin, diyeti hazırlamak amacıyla malzemelerin doğal bileşenleri ve konsantre şekilde takviye edilenler olmak üzere kanatlı yemlerindeki iki kaynağı vardır (Whitehead, 2002). Optimal kanatlı sağlığı için önemli birkaç vitamin vardır (yağda znen vitaminler: A, D, E ve K; ve suda znen vitaminler: B₁, B₂, B₆, B₁₂, folik asit, pantotenik asit, biyotin, niyasin ve C vitamini). Bu besin maddelerinin yeterli miktarlarda kullanılması hayvan sağlığını iyileştirebilir. Bazı vitaminler, eritropoezin ve hematopoetik organların normal gelişimi için kritiktir. Vitaminlerin pelet yem yanında uygulama yöntemi olan içme suyu ile verilmesi, zararlı etkiler göstermeden broyler tavuklarında, biyokimyasal profillerde ve hematolojik indekslerde iyi sonuçlar için kullanılmaktadır (Ferdous et al., 2018). Örneğin, bağırsak mukozasında gelişimi iyileştirebilirler ve oksidatif stresin etkilerinden koruyabilir (Hassanpour et al., 2016). Yağda znen vitaminlerin belirlenen oranları ve ayrıca dört vitamin kombinasyonu- A, D, E ve C, bir vitamin emülsiyonu, broyler tavuklarının performansını pozitif yönde etkilemektedir (Kamalzadeh et al., 2009). Özetle, vitaminler, kuşların fizyolojik ve sağlık durumunu iyileştirir.

2.2.2. Tavuk beslemesinde ihtiyaç olan vitaminler ve miktarları

Modern besleme ve hayvancılık stratejileri, yüksek büyüme, verim ve yem verimliliği potansiyeline sahip kanatlılar üretmek için tasarlanmıştır. Ancak bu durumda da sağlık yönünden ödün verilmesine neden olmaktadır. Modern yöntemler ile üretilen kanatlıların, yüksek ölüm riski ve stres etkenlerine düşük direnç gösterdikleri görülmektedir. Kanatlı hayvancılıkta çevre koşulları, hızla büyüyen kanatlıların optimum sağlığı için genellikle yeterli değildir. Bu tür koşullarda kanatlılar, yeterli bağışıklık kazanmadıkları yaşta patojenlere ve çevresel stres faktörlerine maruz kalmaktadır (Awadin, 2019). Ürünlerde farmakolojik kalıntı ihtimali, çevresel etkiler ve patojenik organizmaların direnci nedeniyle ilaca bağımlılık, insan ve hayvan refahı için endişelerine neden olmuştur. Bunların üstesinden gelmek için en kolay yaklaşım yeme vitamin katkısıdır. Vitaminler, bakım, büyüme, gelişme, bağışıklık ve üreme gibi fizyolojik süreçlerde önemli koenzimler olarak işlev görürler. Kanatlı sağlığını iyileştirmek için vitamin ve mineral katkıları önemli bir yer tutmaktadır (Bourre and Galea, 2006). Etlik piliç beslemesinde gerekli vitamin miktarları Tablo 2.4'te verilmiştir.

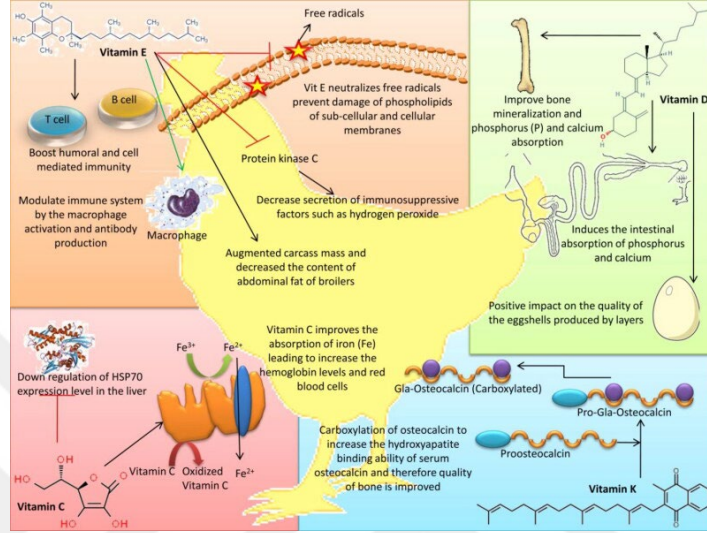
Tablo 2. 3. Etlik Piliçlerde Alınması gereken vitamin miktarları (Aviagen, 2022)

	A Vitamini IU/kg	D ₃ Vitamini IU/kg	E Vitamini IU/kg	K Vitamini mg/kg	B ₁ / B ₂ / B ₃ / B ₅ / B ₆ / B ₇ / B ₉ / B ₁₂ (mg/kg)	C Vitamini (mg)
Başlangıç (1-10 günlük)	13000	5000	80	4	5 / 9 / 70 / 5 / 0.35 / 2.5 / 0.02	105-210
Gelişme (11- 24 günlük)	11000	4500	65	3.6	4 / 8 / 65 / 20 / 4 / 0.28 / 2 / 0.018	105-210
Bitiş (25 günlük – pazar)	10000	4000	55	3.2	3 / 7 / 50 / 15 / 3 / 0.22 / 1.8 / 0.016	105-210

E vitamini doğanın en etkili yağda çözünen, zincir kıran antioksidanı olarak kabul edilmektedir. Antioksidan vitamininin, etlik kanatlılarda hem hümorale hem de hücresele bağışıklığı iyileştirdiği gösterilmiştir. Kanatlı endüstrisi, yüksek büyüme oranları sağlamak ve yetiştirme hedefini gerçekleştirmek için hastalıkların kontrolünde giderek daha fazla ilaçlara

bağımlı hale gelmektedir (Niu et al., 2009; Konieczka et al., 2019). Vitaminler, Newcastle hastalığı (ND) aşısı yapılmış kanatlılarda canlı ağırlık kazanımında ve antikör titrelerinde pozitif etkilere sahiptir (Awadin et al., 2019). E vitamini takviyesinin, hasta tavukların duodenum ve jejunumundaki oksidatif stresi ve histopatolojik değişiklikleri iyileştirerek Newcastle hastalığı virüsü (NDV) enfeksiyonunu düzelterek önüne sürülmüştür (Rehman et al., 2018). D₃ vitamini, memelilerinin çoğunda ve kuşların cildinde güneş ışığının etkisiyle doğal olarak oluşmaktadır. D₃ vitamini, kemik büyümesinde önemli besin maddesidir. Ayrıca bağışıklık fonksiyonu, hücresel çoğalma, kalsiyum homeostazı ve farklılaşma gibi biyolojik yollarda önemli bir rol oynar (Holick, 2004). Vitamin D, kemik mineralizasyonu, mobilizasyonu ile fosfor ve kalsiyum emilimi gibi fizyolojik süreçler ile de ilişkilidir (Garcia et al., 2013). Yumurtacı tavuklarda, D vitamini, iskelet sisteminin en iyi işlevinde olması için rol oynar. Pençeleri, kemikleri, gagayı güçlendirir. Ayrıca, yumurta üreten tavuklarda üretilen kabukların kalitesi üzerinde olumlu bir etkisi vardır (Adhikari et al., 2019; Alagawany et al., 2021). Vitamin K kanın pıhtılaşma faktörlerinin üretimini düzenler, bu faktörler yaralardan kontrolsüz kanamanın durdurulmasında rol oynarlar. Bunların yanında, tavuklarda yumurta gelişimini, büyüme performansını, kemik gelişimini ve kan pıhtılaşmasını iyileştirir (Weber, 2009; Zhang et al., 2003). A vitamini, görmenin gelişmesinde, büyümede, üreme fizyolojisinde ve epitelyum, iskeletin bütünlüğünün korunmasında gereklidir. Kümes hayvanlarında büyüme performansında inhibisyonun önlenmesi amacıyla diyetlere vitamin A eklenir. Vücuda giren farklı patojenlere karşı, A vitamini, antikör sentezini artırmada oldukça faydalıdır. Genel olarak, vitamin A, kanatlıların üretken performansını, bağışıklığı ve üreme sistemini artırır (Weber, 2009; Das et al., 2011; Yuan et al., 2014). C vitamini, bağışıklık sistemini güçlendirerek kanatlılarda hastalıklara karşı direnci artırır. Stres sırasında enerji sağlamayı artıran kortikosteroidin biyosentezinde önemli bir rol oynar (Ahmadu et al., 2016). C vitamini takviyesinin performansı artırdığını ve ısı stresi altında yetiştirilen kuşlarda et kalitesini iyileştirebileceğini belirtmiştir (Şahin vd., 2001; Abidin and Khatoon, 2013). C vitamini, oksidatif stresi önlemede, bağışıklık yanıtını iyileştirmede ve fizyolojik fonksiyonları düzenlemede etkili bulunmuştur. Bu nedenle, yüksek sıcaklık bölgelerindeki tavuk çiftliklerinde stresi hafifletmedeki önemli rolü nedeniyle çok önemlidir. (El-Senousey et al., 2018; Min et al., 2018). Tavuklarda tiamin eksikliğinin bazı belirti ve semptomlarını, kilo ve iştah kaybı, zayıflık, kalp yetmezliği, karaciğerin dejenerasyonu, mukozal inflamasyon, atrofik yumurtalıklar ve azalmış yumurta üretimi olarak belirlenmiştir. Riboflavin, solunum zincirinde hidrojenin transferinde görev alan flavin enzimlerinin (flavoproteinlerin) temel faktörüdür. Dolayısıyla enerji üretiminde katkıda bulunur (Weber, 2009). Riboflavin, kanın normal

homosistein konsantrasyonunun korunmasını destekler (Rivlin, 2010). Tavuklarda, riboflavinin hücrel antioksidan koruması, metabolizma ve sinir sisteminin düzenli işleyişi için gereklidir (Belinda, 2014). Vitamin B₁₂, sinir sistemi ve beyin normal işleyişinde merkezi bir rol oynar ve nükleik asitlerin düzenlenmesi ve oluşturulmasında yer alır. Ayrıca, yağ asidi metabolizmasında ve enerji üretiminde rol alır (Ahmad et al., 2019).



Şekil 2. 9. Kanatlı sağlığı üzerine vitaminlerin faydalı etkileri (Alagawany et al., 2021)

2.2.3. Vitamin enkapsülasyonu

Vitamin üreticilerinin görevi, bir yandan maksimum biyoyararlanımı ve karıştırma özelliklerini uygun maliyetli bir şekilde korurken, bir yandan da depolama veya yem işleme sırasındaki kayıpların en aza indirilmesi veya ortadan kaldırılması için vitaminler üretmektir. Bu nedenle vitaminlerin stabilitesini ve yararlanım performansını korumak kritiktir. Bu konuda yeni teknolojiler geliştirmek önemli bir araştırma alanıdır. Vitamin stabilitesini ve yararlanım performansını korumak için uygulanabilecek teknolojilerden biri enkapsülasyondur (Tolve et al., 2021). Kapsülleme, aktif bir bileşiğin bir veya birden fazla kaplama malzemesi ile kaplanarak kapsül içinde tutulması esasına dayanan bir teknolojidir. Kapsülleme, biyoaktif bileşiklerin hedef dokulara salınımını kontrol eden ve formunu koruyan, stabilize ve biyoyararlanımı artırmak için kullanılabilen bir sistemdir (Madene et al. 2006). Özellikle sürdürülebilir hayvancılıkta yeni teknolojiler ile girdi miktarı azaltılırken verim ve kalitenin iyileştirilmesi önemli bir çalışma alanıdır. Yem işleme sırasında oluşan basınç ve sıcaklık vitamin kalitesine zarar vermektedir. Farklı vitaminlerin, farklı faktörlerden etkilenme hassasiyeti ve stabilitesi Tablo 2.5'te verilmiştir (Ward, 2014).

Tablo 2.4. Vitaminlerin, farklı faktörlerden etkilenme hassasiyeti ve stabilitesi (O=stabil, X=hassas, XX=Çok hassas) (Ward, 2014)

Vitamin	Isı	Oksijen	Su	Işık	Asit	Alkali
A	XX	XX	X	XX	X	O
D	X	XX	X	X	X	O
E	X	O	X	X	O	X
K	X	X	XX	O	XX	O
B	XX	X	X	X	O	O
C	O	XX	XX	O	O	X

Yağda çözünen vitaminler (A, D, E ve K), oksidasyona karşı hassastır, bu nedenle kapsülleme, depolama sırasında özelliklerini korumak ve fizyolojik güçlerini artırmak için uygun bir araç oluşturabilir. Örneğin, ısı özellikle A vitamini için yıkıcı olabilirken, B₃ vitamini üzerinde çok az etkisi vardır (De Ritter, 1976). Yemlerde ve gıdalarda kullanıma yönelik vitaminler, beklenen streslere karşı formüle edilir ve formülasyonların, vitamin ile yıkıcı bileşen arasında bir tampon görevi görmesi amaçlanır. Bu nedenle vitaminlerin stabilitesini ve yararlanım performansını korumak kritiktir. Bu konuda yeni teknolojiler geliştirmek önemli bir araştırma alanıdır. Enkapsülasyon ise vitamin stabilitesini ve yararlanım performansını korumak için uygulanan etkili bir teknolojidir (Tolve et al., 2021). Formülasyon tasarımları, yüksek sıcaklık, fazla miktarda ışık veya oksijene maruziyeti sınırlandırarak hassas moleküllerin korunması için uyarlanmıştır. Peletlemede görülen neme, basınca ve ısıya karşı daha fazla koruma sağlamak amacı ile A ve D₃ vitaminlerine kapsülleme yapılmaktadır (De Ritter, 1976; Ward, 2014). Yağda çözünen vitaminlerin kapsüllemesinde, kullanımlarına bağlı olarak değişen dikkat edilmesi gereken hususlar vardır. Kapsüllemede; yüksek basınç, sıcaklık, kayma gerilimi gibi bazı endüstriyel işlemlerde oluşan stres faktörlerine ve biyoyararlanım performansı için organ pH'larına dikkat edilmelidir ve kapsülleme materyali seçiminde bu parametrelerin değerlendirilmesi gerekir (Gonnet et al., 2010). Isı, nem ve yumuşatma süresi, peletleme sırasında çoğu vitaminin stabilitesini etkileyebilir. Nem, basitçe bir çözücü görevi görerek zararlı kimyasal reaksiyonları destekleyebilir, ayrıca püskürtülerek kurutulmuş formların kaplamasını yumuşatabilir, vitamini oksijene ve eser mineraller gibi diğer yıkıcı

kimyasal bileşenlere maruz bırakır (Gadiant, 1986; Ward, 2014). Vitamin plazma düzeylerini artırmanın bir yolu, vitamin alımını artırmaktır (Gonnet et al., 2010).

2.3. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon teknolojisi; gıda, farmakoloji, kimya, kozmetik, biyoteknoloji gibi birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Poshadri ve Aparna, 2010). Enkapsülasyon işleminde en kritik adım, kapsüllenmek istenen maddeye göre kaplama malzemesinin seçilmesidir. Biyoyararlanım için fizikokimyasal yapı, ürünün saklama koşulları ve süresi, temini, üretim maliyeti ve iş gücü bu seçim için önemli unsurlardır (Budincic et al., 2020). İstenilen salınım koşullarında, kaplama materyali, aktif maddeyi çözebilme özelliğine sahip olmalıdır (Öztürk ve Temiz, 2018). Tek başına kullanılan kaplama malzemesinin tüm özelliklere sahip olması çok zordur ve bu nedenle, farklı kaplama malzemelerinin kombinasyonlarının kullanılabilir (Desai and Jin Park, 2005). Kaplama materyalleri ve uygun enkapsülasyon metotları Tablo 2.6'da verilmiştir (Jayanudin et al., 2016).

Tablo 2. 5. Enkapsülasyonda kaplama materyalleri ve uygun enkapsülasyon teknolojileri (Jayanudin et al., 2016)

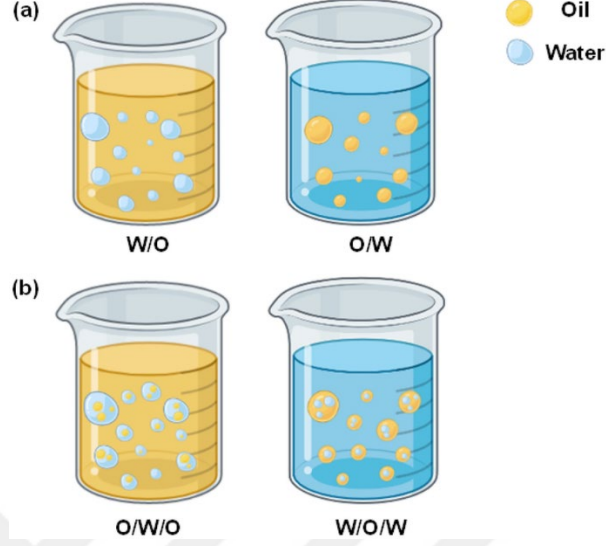
Tip	Kaplama Materyali	Enkapsülasyon Metodu
Karbonhidrat	Nişasta, maltodekstrin, kitosan, mısır şurubu, dekstrin, nişasta modifikasyonu	Püskürtme ve dondurarak kurutma, ekstrüzyon, koaservasyon, inklüzyon
Selüloz	Karboksimetil, selüloz, metil, selüloz, etilselüloz, selüloz asetat-ftalat, selüloz asetat, bütilat- ftalat	Koaservasyon, püskürterek kurutma ve yenilebilir filmler
Gum	Gum akasya, ağar, sodyum aljinat, İrlanda yosunu	Sprey kurutma, şırınga metodu (jel boncuklar)
Lipitler	Balmumu, parafin, balmumu, diasilgliseroller, yağlar, katı yağlar	Emülsiyon, lipozomlar, film oluşumu
Protein	Gluten, kazein, jelatin, albümin, peptidler, peptidler	Emülsiyon, püskürterek kurutma

Enkapsülasyon yöntemi, potansiyel olarak vitamin alım verimini yükselterek piliçlerin canlılığını ve hayatta kalma oranını artırabilecek bir yöntemdir (Ardiansah et al., 2020). Enkapsülasyon raf ömrü, önemli aktif bileşenlerin korunmasını kontrol etme ve olası yan etkilerin çıkmasını engelleyebilme gibi etkinlikleri iyileştirmenin etkili yolunu temsil eder (Fraj et al., 2021). Hassas bileşiklerin stabilizasyonunu ve performanslarını artırmak amacı ile tercih edilir. Enkapsüle vitamin formülasyonları genellikle peletleme sırasında stabilitede bir gelişme sağlar. Bajaj ve arkadaşlarının 2020 yılında gerçekleştirmiş olduğu çalışmada, sprey kurutma yöntemi ile hazırlanan kapsüller, kontrol ile karşılaştırıldığında B₁₂ vitamini için %151 ve D₃ vitamini için %109 oranında iyileştirilmiş biyoyararlanım göstermiştir. Bu çalışma, suda çözünen vitamin B₁₂ ve yağda çözünen vitamin D₃'ü tek bir üründe sağlamak için uygun bir ortam sağlamıştır. B₁₂ vitamininin kitosan ile yapılan mikroenkapsülasyonu, saklamada stabilitenin arttığını göstermiştir (Bajaj et al., 2021). Farklı kapsülleyici materyallerde (aljinat, kitosan ve modifiye kitosan) kapsüllenen B₁₂ ve C vitamini kapsülleri, iki vitamin için ortalama %45 verim ve değişken salım hızı göstermiştir (Estevinho et al., 2016). Yağda çözünen vitaminlerin kapsülasyonunda tercih edilen taşıyıcı yağ da kritik rol oynamaktadır ve biyoyararlanımda etkili olmaktadır. Uzun zincirli trigliseritler, orta zincirli trigliseritlere kıyasla D₃ vitamininin biyoyararlanımını ve α -tokoferol'ün *in vitro* sindirilebilirliğini daha iyi göstermiştir (Öztürk vd., 2015; Yang and McClements, 2013). Bunların yanında, ürünün parçacık boyutunun biyosalınım üzerinde önemli bir etkisi bulunmaktadır ve küçük parçacıklar daha büyük olanlardan daha yüksek biyosalınım gösterir (Salvia- Trujillo et al., 2013).

2.4. Emülsiyonlar

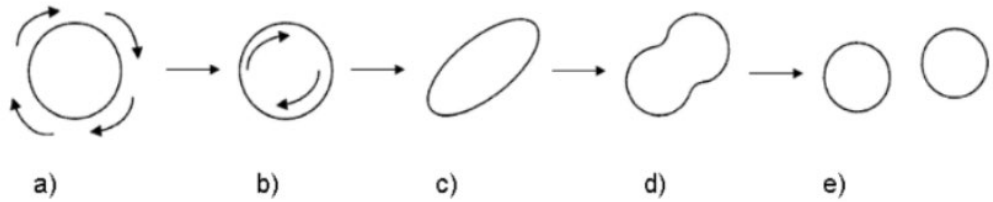
Emülsiyonlar ilk kez Jules Freund tarafından geliştirilmiştir ve 1916'da Le Moinic ve Pinoy tarafından tanımlanmıştır (Freund et al., 1937; Le Moinic ve Pinoy, 1916). IUPAC 1972'ye göre, "Bir emülsiyon, bir sıvının diğerinde, karışmamış olduğu bir sıvının damlacıklarının dağılımıdır." (PAC, 1972). Emülsiyonları stabilize etmek için yüzey aktif maddeler eklenmektedir. Yüzey aktif maddeler, her iki faz için de göreceli afinitelerini belirten Hidrofilik/Lipofilik Denge (HLB) değeri ile tanımlanabilir. Yüzey aktif maddenin HLB değerine göre, farklı türde emülsiyonlar elde edilebilir (Becher, 1965). Bir emülsiyonda, yağ fazı sıvı damlacıklar şeklinde suda dağılmış ise bu emülsiyon tipine su içinde yağ (O/W) emülsiyonu denir. Su faz sıvı damlacıklar şeklinde yağ fazında dağılmış emülsiyonlara yağ içinde su emülsiyonu (W/O) denir. Çift katmanlı emülsiyonlar hem yağ içinde su hem de su

içinde yağ emülsiyonlarının aynı anda bulunduğu karmaşık polidispers sistemlerdir (Khan et al., 2006).



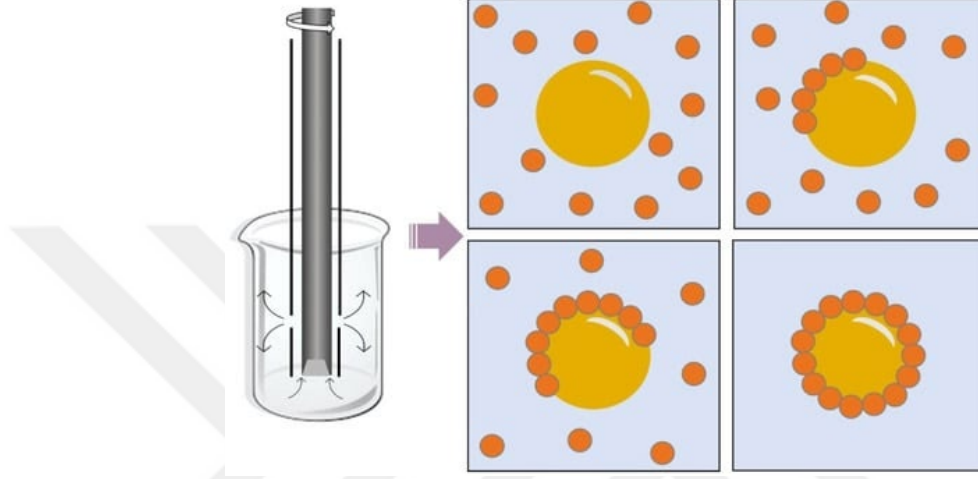
Şekil 2. 10. Emülsiyon Türleri: (a) Basit Emülsiyon ve (b) Çift Katmanlı Emülsiyon (Silva et al., 2022)

Emülsiyon oluşum sürecine “emülsifikasyon” denir. Emülsifikasyon için çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Emülsifikasyon genellikle mekanik enerji uygulanarak gerçekleştirilmektedir. Bu tür bir işlemde, başlangıçta, iki faz arasındaki arayüz büyük damlacıklar oluşturacak şekilde deforme edilmekte ve daha sonra bu damlacıklar küçük parçalara ayrılmaktadır (Şekil 2.9). Karıştırma, büyük damlacıkları küçük olanlar haline getirerek kararlı ve homojen bir emülsiyon oluşturmak için yapılmaktadır. Daha kararlı bir emülsiyon elde edilmek için, daha yüksek bir karıştırma hızı seçilmelidir (Gonglun and Daniel, 2005). Düşük sıcaklıkta hazırlanan emülsiyonlar daha stabil olmaktadır; ancak daha stabil emülsiyonlar 30°C sıcaklıkta hazırlanabilir.



Şekil 2. 11. Emülsifikasyon işlemi sırasında damlacık deformasyonu (Nour, 2018).

Karıştırma süresi, emülsifikasyon sırasında önemli bir faktördür. Dağılmış fazın damlacıklarının yarıçapı karıştırma hızının ve karıştırma süresinin artmasıyla azalır. Uzun karıştırma süresi, emülsifiye edici maddelerin etkinliğini artırır; ancak çok uzun karıştırma süresi, emülsifiye edici maddelerin etkinliğinin azalmasına neden olur, çünkü şiddetli karıştırma emülsifiye edici maddelerin sıvı arayüzünden düşmesine neden olur (Gonglun and Daniel, 2005; Khan et al., 2011).



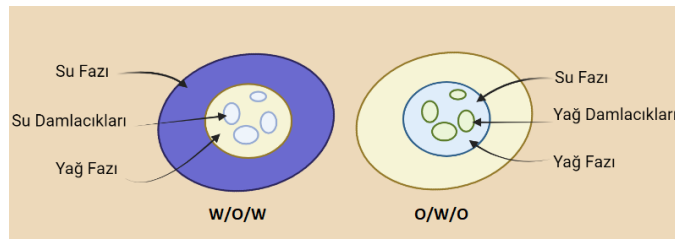
Şekil 2. 12. Rotor-stator homojenizasyon süreci (de Carvalho-Guimarães et al., 2022)

Emülsiyonlar termodinamik olarak kararsız bir sistem olduğundan, stabilizasyon için üçüncü bir madde olan emülsifiye edici eklenmektedir. Emülsifiye edici, dağılmış fazın globüllerini çevreleyen ince bir film oluşturarak sistemi stabilize etmektedir (Agarwal and Rajesh, 2007). Dağılmış faz veya sürekli faz, hareketli bir sıvıdan yarı katıya kadar olan bir kıvamda değişebilmektedir (Alfred, 2005; Khan et al., 2011). Emülsiyonların kalitesi, taşıyıcı sistem etkinliği ve güvenliği üzerinde doğrudan bir etkiye sahiptir. Emülsiyonun fizikokimyasal karakterizasyonu, iletkenlik, damlacık testi, parçacık boyutu, viskozite ve çeşitli sıcaklıklarda bakılan stabilite gibi parametrelerle tanımlanabilmektedir. Damlacık testi ve iletkenlik, emülsiyon türünün belirlenmesinde kullanılan yöntemlerdir. Yüzey aktif madde yapısı ve HLB değerine bağlı olarak emülsiyonun viskozitesi değişmektedir (Salager, 1965). Optimize edilmemiş HLB, yüksek viskoziteli W/O emülsiyonları oluşturmaktadır. O/W emülsiyonları ve W/O/W emülsiyonları nispeten daha düşük viskoziteye sahiptir. Parçacık boyutu da yüzey aktif madde sistemi ve emülsifikasyon işlemiyle etkilenen önemli bir parametredir. Genellikle, küçük bir parçacık boyutuna ve homojen bir dağılıma sahip emülsiyonların daha stabil olduğu

kabul edilmektedir. Stabilite emülsiyon tasarımında çok önemlidir ve çeşitli parametreler üzerinde etkisi olabilir (Lissant, 1984).

2.5. Çift Katmanlı Emülsiyonlar

Çift emülsiyonlar ile ilgili detaylı çalışmalar 1980'lerin başında başlamıştır ancak ilk yayın 1927 yılında yayınlanmıştır (Seifriz, 1924). Çift emülsiyonlar, içerdikleri damlaların içinde dağılmış, başka damlaları barındırdığı için oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu nedenle, genellikle "emülsiyonların emülsiyonu" olarak tanımlanmaktadır (Vasiljevic et al., 2009). Dağılmış fazın türüne bağlı olarak, yağ içinde su içinde yağ (O/W/O) çift emülsiyonlar ve su içinde yağ içinde su (W/O/W) çift emülsiyonlar olarak sınıflandırmak mümkündür (Şekil 2.12). Su içinde yağ içinde su emülsiyonları, içinde su bulunan yağ fazının bir dış sulu faz içine dağıtıldığı emülsiyon türüdür. Yağ içinde su içinde yağ emülsiyonlarında ise, içinde yağ bulunan su fazının bir dış yağ fazına dağıtılması ile emülsiyon oluşmaktadır. Çift katmanlı emülsiyonlar, ilaç taşıyıcı sistemlerde, gıda bileşenlerinin korunması ve salınımının kontrol edilmesi gibi suya duyarlı veya hidrofilik maddelerin korunması ve taşınması için kullanılmaktadır (McClements, 2004; Fraj et al., 2021). Çift emülsiyonların hazırlanması için en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri, iki aşamalı işlemlerdir. Bu yöntemde, W/O/W çift emülsiyon hazırlığı için, iç su fazı (W_1) ilk adımda, lipofilik emülgatör içeren yağ fazına dağıtılmaktadır; ardından, birincil emülsiyonun dış su fazı (W_2) içeren hidrofilik emülgatör içine dağıtılması işlemi gerçekleştirilmektedir (Garti and Aserin, 1996; Schuch et al., 2014).



Şekil 2.13. Çift Katmanlı Emülsiyon Fazları

Çift katmanlı emülsiyonlar doğası gereği çok stabil değildir. Esnek ve kararsız yapısına rağmen, çift emülsiyonların temel avantajı, aynı anda birden fazla türde molekülü kapsüle edebilme yetenekleridir. Çift emülsiyonlar, değerli bileşikleri tutma ve bozulmaya karşı dayanıklılık açısından tek emülsiyonlardan daha uygun seçeneklerdir (Ding et al., 2019). Çift emülsiyon sistemleri, iki farklı sıvı dispersiyon bölgesini içerdiğinden özel bir yapıya sahiptir.

Bu özel yapı, çeşitli potansiyel uygulamalar sunar. İçteki damlalar, çift emülsiyon tarafından hapsedilen istenilen bileşikler için bir depo görevi görebilirler. Bu bileşiklerin içteki damlalardan dış fazına transferi, çift emülsiyonun uygun taşıma mekanizması koşulları tarafından kontrol edilebilmektedir. Bu özellik, W/O/W çift emülsiyonların, suda çözünebilen vitaminler, mineraller ve bazı biyoaktif bileşikler gibi hidrofilik bileşiklerin kapsüllemesi için uygun olmasını sağlamaktadır (Vasiljevic et al., 2009; Iqbal et al., 2015; Ding et al., 2019). Çift emülsiyonlar, biyoaktif bileşenlerin salınımını mükemmel şekilde kontrol etme yeteneklerinden dolayı, gıda ve ilaç endüstrilerinde mikrokapsülasyon için uygun bir taşıyıcıdır. Su içinde yağ içine su nano emülsiyonları, polar olmayan antimikrobiyaller, antioksidanlar, renkler, tatlar gibi hidrofobik biyoaktif bileşenler için ayrı ayrı etkili dağıtım araçlarıdır (Malone et al., 2003; Kaimainen et al., 2015). Gastrointestinal sistemde (GIT) hızlı bir şekilde sindirilmesi nedeniyle yağda çözünen vitaminlerin kapsüllemesi ve verilmesi için uygundur, böylece hızlı oluşan karışık miseller bunların çözünmesini ve taşınmasını sağlar (Schoener et al., 2019; Didar and Hesarinejad, 2022).

Bu tez kapsamında hem yağda hem de suda çözünen vitaminlerin, çift katmanlı emülsiyon formülasyonu ile enkapsüle edilip, enkapsülasyonun *in vitro* tavuk sindirim sistemindeki verimi ve biyoyararlanım yüzdelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sonuçlar doğrultusunda kanatlı beslemesinde önemli olan vitaminlerin, yem katkı olarak bir arada, tek üründe, vitamin alım verimliliği ve biyoyararlanımı arttırılarak yerli bir ürün olarak piyasaya kazandırılabilceğinin kanıtlanması amaçlanmıştır. Tez çalışmasından çıkan bulgular ışığında, ileri *in vivo* çalışmalar ile katma değeri yüksek, yerli ürünlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir.

3.MATERYAL METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Enkapsülasyon tasarımı için kullanılacak malzemeler

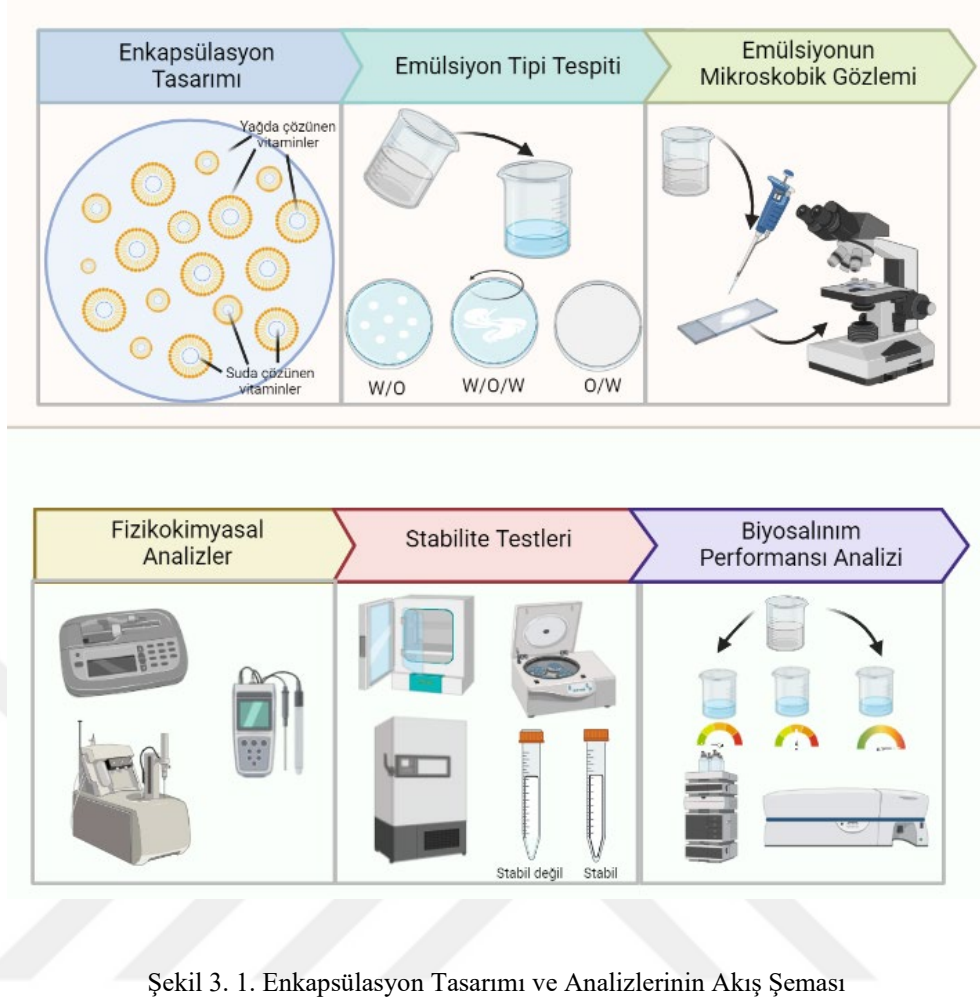
Bu tez aşamasında, enkapsülasyon tasarımı ve salınım testleri sırasında kullanılan; CORALVAC AT 318 (Coral Biyoteknoloji, Türkiye), Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi (PBS) (Gibco, ABD), Vitaminler (Vitamin A, Vitamin E, Vitamin K, Vitamin B₁₂, Vitamin C) (Merck, Almanya), Beher (Isolab, Türkiye), Falcon Tüp (Isolab, Türkiye), Diyaliz Torbaları (Sigma, Almanya), Pancreatin (Sigma, Almanya), Pepsin (Sigma, Almanya), Quartz Küvet (Hellman, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.1.2. Cihazlar

Bu tez çalışmasında analizler için kullanılan; Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı (Heidolph, Almanya), Terazi ve Hassas Terazi (Radwag, İngiltere), Homojenizatör (IKA, Almanya), Etüv (Nüve, Türkiye), Buzdolabı (Arçelik, Türkiye), Yoğunluk Cihazı (KEM, Japonya), pH-İletkenlik (Methrom, İsviçre), Santrifüj (Thermo, ABD), UV Spektrofotometre (Thermo Fisher Scientific, ABD), Viskozimetre Cihazı (Tanaka, Japonya), Otomatik renk tayin cihazı (Lovibond, Almanya), Refraktometre (KEM, Japonya), Mikroskop (Zeiss, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.2. Metot

Vitamin A, Vitamin E, Vitamin K, Vitamin B₁₂, Vitamin C vitaminleri çift katmanlı emülsiyon ile enkapsüle edilmiştir. Elde edilen emülsiyonun, emülsiyon tipi belirlenmiştir. Fizikokimyasal testlerden sınır değerleri içinde olumlu sonuçlar alındıktan sonra *in vitro* sindirim modelinde salınım deneyleri gerçekleştirilmiştir. Verimlilik ve biyoyararlanım yüzdeleri hesaplanmış ve istatistiksel analizler yapılmıştır. Tezde uygulanacak yöntemler Şekil 3.1.'de akış şeması olarak sunulmuştur.



Şekil 3. 1. Enkapsülasyon Tasarımı ve Analizlerinin Akış Şeması

3.2.1. W/O/W emülsiyon formülasyonu ve hazırlanması

Emülsiyon formülasyonu tasarımı için Coral Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret A.Ş.'nin ürün gruplarından biri olan mineral yağ bazlı CORALVAC AT 318 adjuvanı denemelerde kullanılmıştır. Tasarım öncesi, literatürden ve ticari ürünlerden yararlanılarak final multivitamin ürününün kilogramı başına içermesi gereken vitamin miktarları belirlenmiştir. Denemelerde kullanılacak 200 gram multivitamin emülsiyonu miktarına uygun şekilde, formülasyon tasarımına eklenecek vitamin miktarları hesaplanmıştır ve bu miktarlar Tablo 3.1'de sunulmuştur (Ross, 2022; DSM, 2022).

Tablo 3. 1. Formülasyona girilecek vitamin miktarları (Ross, 2022; DSM, 2022)

Vitaminler	1 kg Ürün için Girilecek Vitamin Miktarları (mg)	200 g Ürün İçin Girilecek Vitamin Miktarları (mg)
Vitamin A	65	13
Vitamin E	80	16
Vitamin B ₁₂	10	2
Vitamin C	20	4
Vitamin K ₁	4	0.8

Denemelerde kullanılacak vitaminlerden yağda çözünen A, E ve K₁ vitaminleri, CORALVAC AT 318 ürünü olan yağ fazında (Şekil 3.2.a); suda çözünen B₁₂ ve C vitaminleri ise, ultra saf su olan su fazında (Şekil 3.2.b) mekanik karıştırıcı yardımı ile 500 rpm’de 60 dakika karıştırılarak çözülmüştür.



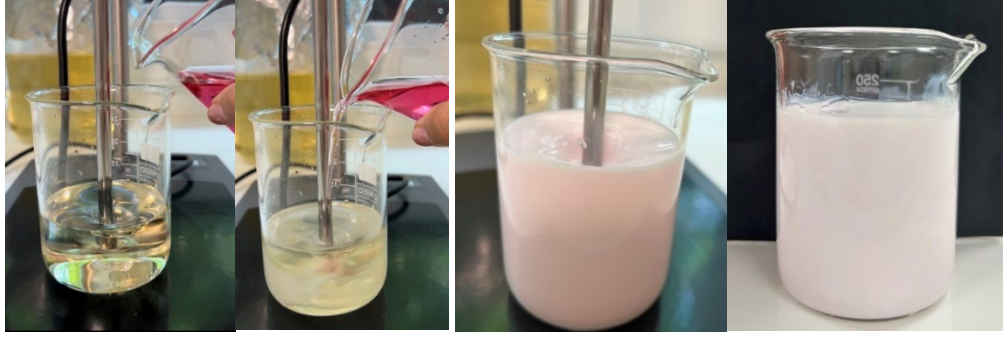
a. Yağ Fazı
(Vitamin A, E ve K₁)



b. Su Fazı
(Vitamin B₁₂ ve C)

Şekil 3. 2. Yağ ve Su Fazının Formülasyonu

W/O/W emülsiyonunun hazırlanması için, emülsifikasyon prosedürü uygulanmıştır. Bu işlemde, yağ fazı IKA Eurostar mekanik karıştırıcı kullanılarak 300 rpm hızında ve 24°C sıcaklıkta homojenize edilirken, su fazı 60 saniye içinde yağ fazına eklenmiştir. Elde edilen emülsiyon, 300 rpm hızında ve 24°C sıcaklıkta 20 dakika boyunca karıştırılarak stabil hale getirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3. 3. Emülsifikasyon Aşamaları

3.2.2. Emülsiyon tipi analizi

Emülsiyon tipi analizi, damla testi yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu testte, bir beherde bulunan su yüzeyine dikkatlice bir damla emülsiyon bırakılmıştır. Sonrasında, damlanın davranışına göre emülsiyon tipi belirlenmiştir:

- Eğer damla hızlıca suda çözünüyorsa, emülsiyonun O/W tipi olduğu sonucuna varılmıştır.
- Eğer damla sadece nazikçe çalkalandığında çözünüyor ve çalkalama durduğunda yüzeyde beyaz emülsiyon kalıyorsa, emülsiyonun W/O/W tipi olduğu belirlenmiştir.
- Eğer damla karıştırma sonrası yüzeyde kalıyorsa ve su fazı berrak ise, emülsiyonun W/O tipinde olduğu tespit edilmiştir (ICH, 2023).

3.2.3. Emülsiyonun mikroskopik gözlemi

Parçacık dağılımı ve boyutunun homojen gözlemlenmesi ve yüzeyde bir ayrışma görülmemesi, emülsiyonun stabil kalacağı konusunda yorum yapılabilmesi için kullanılmaktadır. Emülsiyon yapısının görsel incelemesi, 5–40x büyütmeli Zeiss Axio Observer 5 mikroskobu (Zeiss, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 4. 5–40x büyütmeli Zeiss Axio Observer 5 Mikroskobu

3.2.4. Fizikokimyasal testlerin gerçekleştirilmesi

3.2.4.1. Viskozite analizleri

Adjuvan formülasyonunun kinematik viskozitesi, hem 40°C'de hem de 100°C'de otomatik viskozimetre cihazı (Tanaka, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Sıcaklığı sabitlenmiş cihazın kılcal cam tüpüne yaklaşık 15 ml adjuvan formülasyonu yerleştirilerek ardından cihaz kılcal borudan geçen süreyi otomatik olarak ölçerek belirtilen sıcaklıktaki viskoziteyi bu süreye göre hesaplanmıştır (ASTM D445).

3.2.4.2. Sabunlaşma indisi analizleri

1 g numune ile reaksiyona girecek baz miktarını gösterir. Adjuvan formülasyonu behere tartılmıştır. 25 ml \pm 1 ml metiletilketon, ardından 25 ml \pm 0.03 ml alkollü KOH çözeltisi eklenmiştir. Beher kondensere bağlanarak ve geri akış başladıktan sonra 30 dakika ısıtılmıştır. 30 dakika sonunda 50 ml petrol eteri dikkatlice kondenserden aşağı dökülerek eklenmiştir. Üç damla fenolftalein indikatörü eklenerek ve 0,5 N HCl (ASTM D94) ile titre edilmiştir. Rengin pembeden beyaza dönüştüğü andaki tüketim aşağıdaki Formül 3.1 kullanılarak sabunlaşma indisi hesaplanmıştır.

Formül 3.1. Sabunlaşma İndisi

$$SV = 56,1 * M * (V_1 - V_2) / W$$

SV: Sabunlaşma değeri

M: hidroklorik asidin molaritesi

V₁: körün titre edilmesinde kullanılan asit hacmi, (ml)

V₂: örneğin titre edilmesinde kullanılan asit hacmi, (ml)

W: örnek (g)

56,1: KOH'nin moleküler ağırlığı

3.2.4.3. Toplam asit sayısı analizi

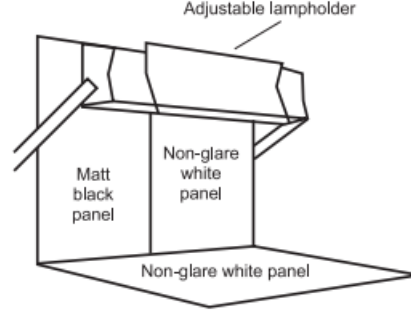
Adjuvan formülasyonları, uygun miktarda titrasyon beherinde tartılmıştır. Daha sonra tartılan numune üzerine 50 ml titrasyon çözücüsü (%0,5 su ile %49,5 susuz propan-2-ol ve %50 toluen ile hazırlanan çözelti) eklenerek numune cihaza yerleştirildikten sonra cihaz 0,1 M KOH ile titrasyona başlatılmıştır. Cihaz, titrasyondan sonra toplam asit sayısını (mgKOH/g) otomatik olarak hesaplamaktadır (ASTM D664).

3.2.4.4. Su içeriği analizi

Adjuvandaki su miktarını belirlemek için Karl Fischer titrasyonu kullanılmıştır. Uygun miktarda ürün şırıngaya alınarak ve 0,0001 g hassasiyette hassas terazide tartılmıştır. Tartım sonucu cihaza kaydedilerek ve numune titrasyon hücreğine enjekte edilmiştir. Şırınganın darası alınarak ve cihaza kaydedilerek titrasyon başlatılmıştır. Titrasyon bittiğinde cihaz otomatik olarak sonucu vermektedir (ASTM D6304).

3.2.4.5. Görünüş analizi

Deney tüpündeki tüm yapışkan etiketler çıkarılıp dışı yıkanıp kurulanmıştır. Hava kabarcıkları oluşmadığından emin olunarak tüp hafifçe döndürülmüştür ve beyaz panelin önünde yaklaşık 5 saniye gözlemlenmiştir. Siyah panelin önündeki prosedür tekrarlanmıştır (European Pharmacopoeia 6.0, 2008).



Şekil 3. 5. Görünüş Analizi Aparatı (European Pharmacopoeia 6.0, 2008)

3.2.4.6. Saybolt renk analizi

Otomatik renk tayin cihazı (Lovibond, Almanya) ile ölçüm alınmıştır. Referans ölçümü tamamlanmış cihaza numune yerleştirilmiş ve ölçüm tamamlandıktan sonra değerler alınmıştır. (ASTM D6045)

3.2.4.7. Yoğunluk analizi (20°C)

Otomatik yoğunluk ölçüm cihazı (KEM, Japonya) kullanılarak ölçüm alınmıştır. Numunenin içinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilerek, cihazın besleme bölümünden numune yüklenmiştir. Hücre içerisindeki numune sıcaklığı kararlı hale geldiğinde ekrandan numuneye ait yoğunluk değeri okunmuştur (ASTM D4052).

3.2.4.8. Kırma indisi analizi (25°C)

Şeffaf ve açık renkli hidrokarbonların kırma indisi değerinin, 20°C ile 30°C sıcaklık aralığında, 1,3300 ile 1,7000 değerleri arasında dört basamaklı veya daha hassas olarak ölçümü, otomatik Refraktometre (KEM, Japonya) ile yapılmıştır (ASTM D1218).

3.2.5. Stabilite testlerinin gerçekleştirilmesi

3.2.5.1. Gerçek zamanlı stabilite testi

Stabilite testleri, ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1A(R2) standartlarına dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda hazırlanan emülsiyonlar, 4°C, 24°C ve 37°C sıcaklıklarda 1 ay boyunca, 48 saat aralıklarla ölçülmek üzere stabilite testine tabi tutulmuştur.

Stabilite testlerinde belirli kriterler göz önünde bulundurulmuştur:

- Oda sıcaklığında ve 4°C'de herhangi bir su ayrışması tespit edilmemiş ve %10'dan fazla yağ ayrışması gözlenmemişse,
- 37°C'de %20'den fazla yağ ayrışması ölçülmemişse,

Bu durumlar emülsiyonun stabil olduğunu gösterir ve standartlara uygun kabul edilir (ICH, 2003).

3.2.5.2. Hızlandırılmış stabilite testi

Hazırlanan emülsiyonlar hızlandırılmış stabilite testi için 10 ml santrifüj tüplerine konulmuştur. Ardından 1000×g 'de 30 dakika santrifüj yapılmıştır. Ayrışma %10 dan küçük ise 'Ayrışma Yok' olarak raporlanmıştır (ICH, 2003).

3.2.6. Parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçümleri

W/O/W emülsiyonunun parçacık boyutu ve zeta potansiyeli statik bir ışık saçılım cihazı olan Malvern Zetasizer (Malvern Panalytical, İngiltere) kullanılarak ölçülmüştür. Emülsiyon örneği, ultra saf su ile seyreltikten sonra parçacık boyutu ölçüm küvetine ve elektrotlu Zeta potansiyel küvetine konularak cihazda analiz edilmiştir.

3.2.7. Salınım performansının analizi

Salınım performansı analizleri için Tablo 3.2'te verilen pH değerlerine uygun tavuk mide gastrik sıvısını ve intestinal sıvıları *in vitro* modellenerek, diyaliz torbası sisteminde deneyler gerçekleştirilmiştir (Zhang et al., 2022).

Tablo 3. 2. Broyler Sindirim Sistemi Organlarının pH Değerleri (Mabelebele et al., 2014)

Broyler Sindirim Sistemi Organları	pH Değerleri
Mide	2.5-3.5
İnce Bağırsak	6.5
Kalın Bağırsak	6.4

3.2.7.1. Gastrik simüle sıvısının (GSS) hazırlanması

Gastrik mide simüle sıvısı hazırlamak için, 2 g NaCl ve 7 ml HCl, 1 litre hacimde su içinde çözülmüştür. Ardından 3,2 gram pepsin (Sigma, Almanya) enzimi eklenmiştir. 500 ml intestin simüle sıvısı için ayrılmıştır ve geri kalan sıvı 1 M NaOH ve 1 M HCl kullanılarak pH 3'e ayarlanmıştır.

3.2.7.2. Intestin simüle sıvısının (ISS) hazırlanması

Mide gastrik simüle sıvısı hazırlanırken ayrılmış 500 ml solüsyonunun 4 g pankreatin (Sigma, ABD) enzimi eklenmiştir. Bu işlem öncesinde pankreatin enziminin çözülmesi için 1 M NaOH kullanılarak pH değeri 8,5'e ayarlanmıştır. Pankreatin çözüldükten sonra 1 M HCl kullanılarak pH 6,5'e ayarlanmıştır.

3.2.7.3. Vitaminlerin dalga boylarının taramasının yapılması

Denemeler öncesinde kullanılacak vitaminlerin UV-spektrofotometrede (Thermo Scientific, ABD) okunması gereken dalga boylarının tespit edilebilmesi için absorbans-dalga boyu taramaları yapılmıştır. Her bir vitamin için grafikler oluşturulmuş ve salınım deneylerinde okunması gereken dalga boyları tespit edilmiştir.

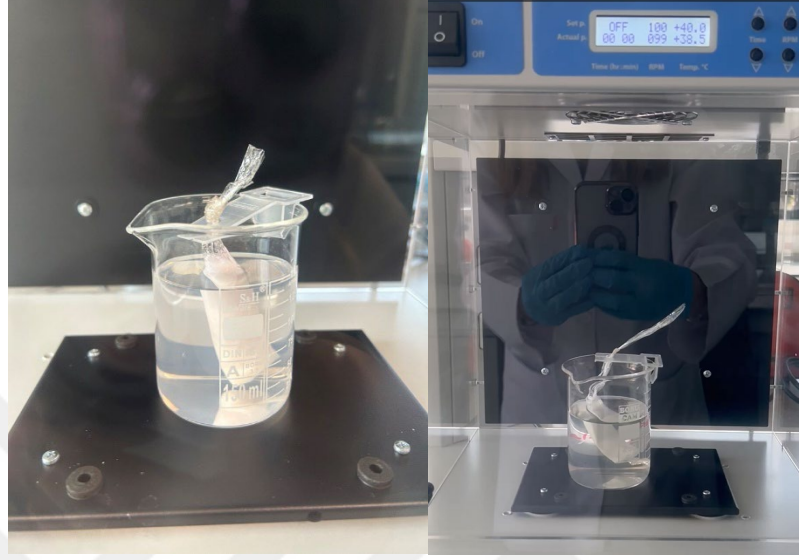
3.2.7.4. Vitaminlerin standart grafiklerinin oluşturulması

Vitamin konsantrasyonları, UV-spektrofotometrede (Thermo Scientific, ABD) kullanılarak absorbans-dalga boyu taramalarında tespit edilen dalga boyunda ölçülerek belirlenmiştir. A, E, B₁₂, K₁ ve C vitaminleri için dış faz kullanılarak 0-0,2 mg/ml (0, 0.000195313 mg/ml, 0.000390625 mg/ml, 0.00078125 mg/ml, 0.0015625 mg/ml, 0.003125 mg/ml, 0.00625 mg/ml, 0.0125 mg/ml, 0.025 mg/ml, 0.05 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml) konsantrasyonları aralığında standart grafikleri çizilmiştir. Grafiklerden salınım denemelerinde vitamin konsantrasyonları hesaplamalarında kullanılmak üzere regresyon denklemleri belirlenmiştir.

3.2.7.5. Salınım deneylerinin gerçekleştirilmesi

150 ml ISS ve GSS solüsyonları beherlere eklenmiştir. Diyaliz torbalarına 10 ml multivitamin emülsiyonu eklenip, solüsyonların içerisine yerleştirilmiştir. Sindirim

modellemesi 40°C’de, 100 rpm’de karıştırma koşulları sağlanmıştır. Belirli aralıklarla örnekler alınıp vitamin salınım performansı UV Spektrometre ile değerlendirilmiştir (Zhang et al., 2022).



Şekil 3. 6. Salınım Deney Düzeneği

360 dakikalık salınım deneyi süresince, alınan örneklerdeki süpernatant fazındaki vitamin konsantrasyonları, UV-VIS spektrofotometre kullanılarak spektrofotometri yöntemiyle belirlenmiştir. Hesaplama için standart grafiklerinden kalibrasyon eğrileri kullanılmıştır. Her numune için alınan zamana göre vitamin konsantrasyonları hesaplanmıştır ve salınım grafikleri çizilmiştir.

3.2.7.6. Verimlilik analizlerinin yapılması

Enkapsülasyon verimliliğinin sağlanabilmesi için bağırsakta sindirimi hedeflenen vitaminlerin, bağırsağa ulaşacağı süre boyunca enkapsülasyon yapısını ve stabilitesini koruması beklenmektedir. Broyler tavuklar için sindirim sisteminde, sindirilmiş bir maddenin sindirim sisteminden geçiş süresi, ince bağırsağa kadar ortalama 90 dakika olarak belirlenmiştir (Ravindran, 2013). Bu süre içerisinde enkapsüle edilen vitaminlerin, gastrik simüle sıvısındaki salınımları UV-spektrometre ile tespit edilmiştir ve % verimlilik analizleri Formül 3.2 kullanılarak yapılmıştır.

Formül 3.2. Enkapsülasyon Verimi Formülasyonu (Bajaj et al., 2021)

$$EV = \frac{\text{İlk eklenen vitamin miktarı- GIS'da bulunan vitamin konsantrasyonu}}{\text{Enkapsülasyona eklenen vitamin miktarı}} \times 100$$

Biyoyararlanabilirlik bağırsakta belli saatte emilen miktar olarak hesaplanacaktır. Broyler tavuklar için sindirim sisteminde, sindirilmiş bir maddenin sindirim sisteminden geçiş süresi, 180 dakika olarak belirlenmiştir (Ravindran, 2013). Bu süre içerisinde enkapsüle edilen vitaminlerin, intestin simüle sıvısındaki salınımları UV-spektrometre ile tespit edilmiştir ve % biyoyararlanımları Formül 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır.

Formül 3.3. Biyoyararlanım Analizi Formülasyonu (Bajaj et al., 2021)

$$\text{Biyoyararlanım} = \frac{\text{İntestin simüle sıvısındaki konsantrasyon}}{\text{Enkapsüle edilen konsantrasyon}} \times 100$$

3.2.8. İstatistiksel analiz

Her deney üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar, bu ölçümlerin Microsoft Excel kullanılarak hesaplanmış ortalaması ve standart sapması olarak rapor edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık GraphPad Prism programı kullanılarak Ordinary one-way ANOVA Testi ve Unpaired t-test yöntemleri ile yapılmıştır. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir ve yıldız ile işaretlenmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Emülsiyon Tipi Analizi

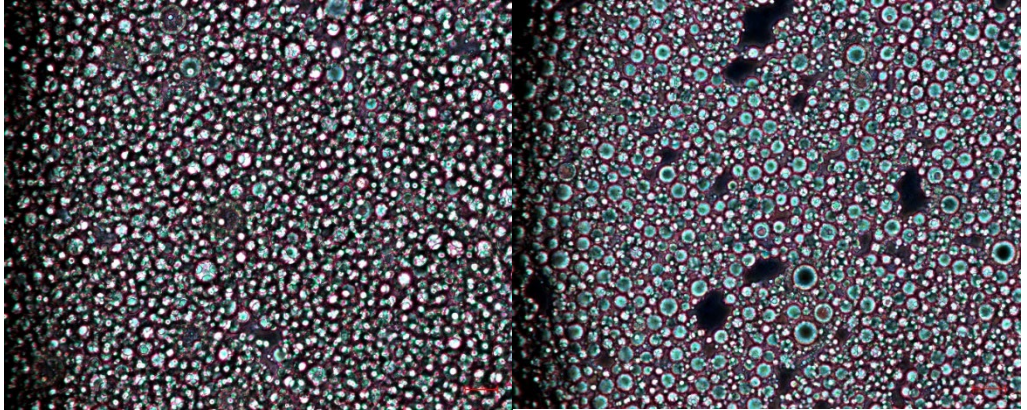
Damla testi metodu kullanılarak gerçekleştirilen gözlemede, damlanın çalkalandığında çözündüğü ve çalkalama durduğunda yüzeyde beyaz emülsiyon olarak kaldığı gözlemlenmiştir. Gözlem sonucu 'Emülsiyon W/O/W tipidir.' tespiti yapılmıştır. Gözlem görseli Şekil 4.1'te verilmiştir.



Şekil 4. 1. Emülsiyon Tipi Analizi

4.2. Mikroskopik Gözlem

Emülsiyonun yapısı, 5–40x büyütme Zeiss Axio Observer 5 mikroskobu kullanılarak incelenmiştir. Şekil 4.2'de gösterildiği gibi, parçacık dağılımı ve boyutları homojen olarak gözlemlenmiştir. Gözlem sırasında yüzeyde herhangi bir ayrışma belirtisi görülmediği için emülsiyonun stabil olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4. 2. Emülsiyonun mikroskopik görüntüsü (10x)

4.3. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

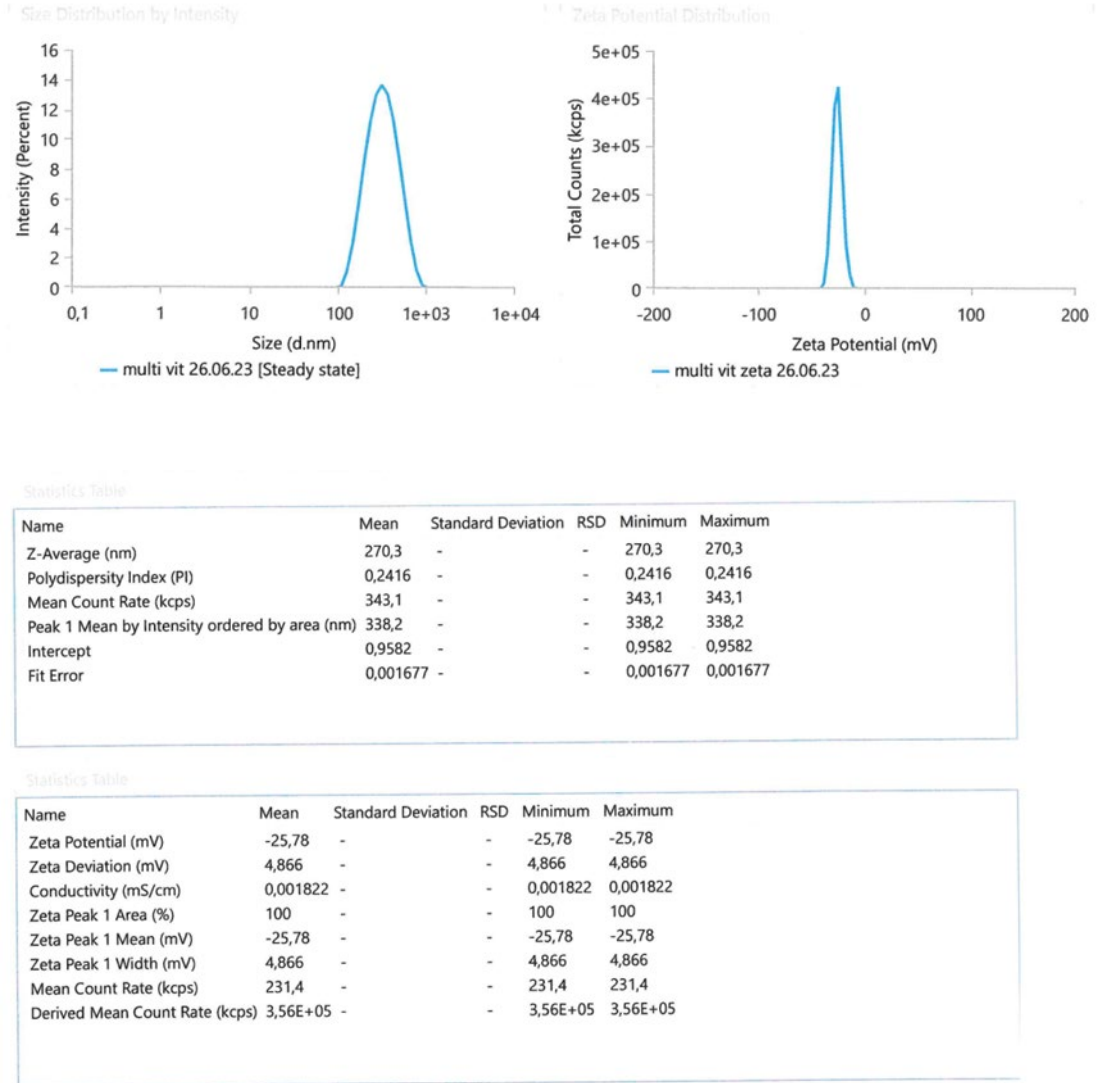
Coral Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş. laboratuvarında bulunan cihazlar ve standart yöntemleri ile gerçekleştirilen fizikokimyasal testlerde tüm değerler W/O/W emülsiyonları için belirlenen limit değerlerin arasında bulunmuştur. Bulunan değerler Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4. 1. Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

TEST	UNIT	METHOD	LIMIT	RESULT
				Multivitamin
Görünüş (Appearance)	-	-	C&B	C&B
Saybolt Renk (Saybolt Colour)	-	ASTM D6045	min 20	24.0
Yoğunluk (Density) @20 °C	kg/m ³	ASTM D4052	840.0-870.0	859.5
Viskozite (Viscosity) @40 °C	mm ² /s	ASTM D445	12.00-14.50	13.46
Kırma İndisi (Refractive Index) @ 25 °C	-	ASTM D1218	1.4500-1.4750	1.4575
Su Miktarı (Water Content)	%	ASTM D6304 (METHOD A) TS 6147 EN ISO 12937	max 2.0	0.88
Toplam Asit Sayısı, (Total Acid Number)	mgKOH/g	ASTM D664	max 1.5	1.01
Sabunlaşma Değeri (Saponification Value)	mgKOH/g	ASTM D94	10.0-19.0	12.80

4.4. Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyeli Ölçümleri

Zetasizer cihazında parçacık boyutu ve zeta potansiyeli ölçülen multivitamin emülsiyonunun parçacık boyutu, tam parçacık boyutu dağılımından hesaplanan yüzey ağırlıklı ortalama çap (d.nm) olarak sunulmuştur. Emülsiyonların damlacık yükü (ζ-potansiyel), toplam sayım ile sunulmuştur. Sonuçlar Malvern Panalytical yazılımında raporlanmış ve rapor Şekil 4.3’te sunulmuştur.



Şekil 4. 3. Parçacık Boyutu ve Zeta Potansiyel Ölçümü

Çift katmanlı emülsiyon olarak formüle edilen multivitamin kapsülasyonunun parçacık boyutu 270,3 nm olarak ölçülmüştür. Polidispersite indeksi değeri 0'a yakın hesaplandığı için parçacık boyutlarının homojen dağıldığı yorumu yapılabilir. Bu sonuç, mikroskopik gözlem ile de uyumludur. Parçacıkların elektriksel yükünü gösteren Zeta potansiyel değeri -25,78 mV olarak ölçülmüştür. -30/+30 mV aralığı stabil bölge olarak kabul edildiğinden, emülsiyon stabil kabul edilmiştir.

4.5. Stabilité Testlerinin Gerçekleştirilmesi

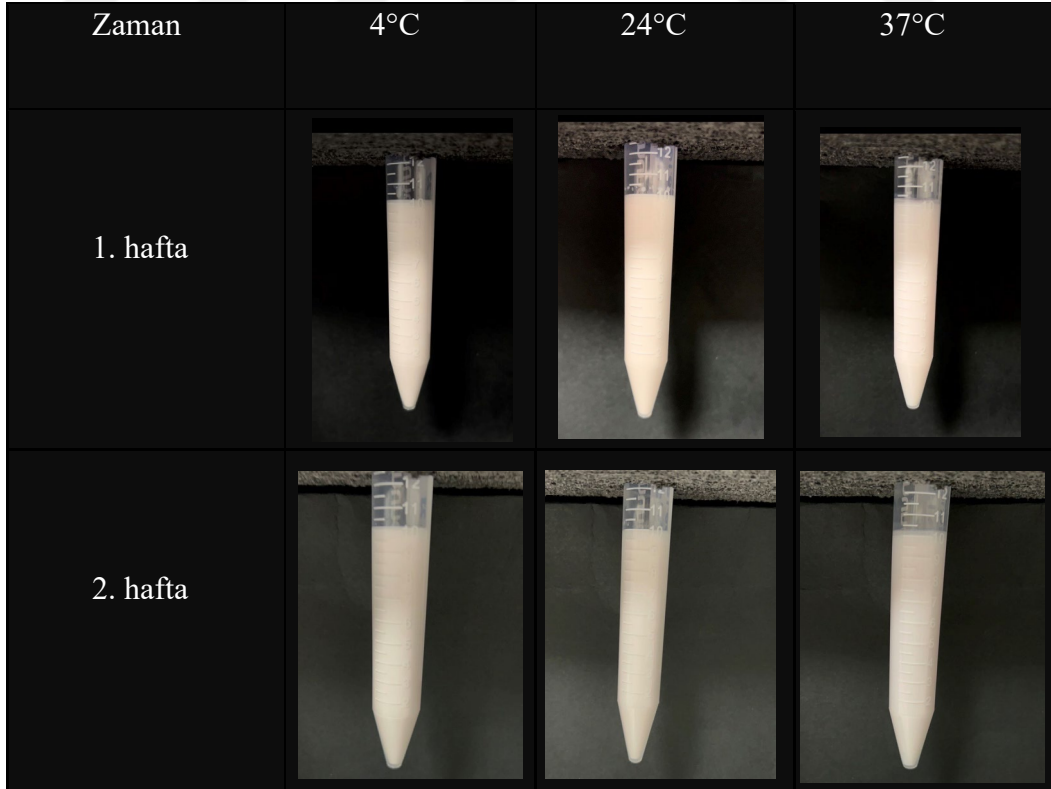
Multivitamin emülsiyonu için yapılan hızlandırılmış ve gerçek zamanlı stabilite testi sonuçları Tablo 4.2 'de verilmiştir.

Tablo 4. 2. Stabilite Sonuçları

Ürün	Hızlandırılmış stabilite	4°C				24°C				37°C			
		1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
CORALVAC AT 318	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Üst 0.5 ml	Üst 0.5 ml
Multivitamin Emülsiyonu	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	X	Üst 0.5 ml

Hızlandırılmış stabilite analizi için yapılan santrifüj yönteminde ayrışma olmadığı gözlemlenmiştir. 37°C'deki stabilite testi sırasında, CORALVAC AT 318'de 3. hafta içerisinde üstten 0.5 ml'lik bir yağ ayrışması olduğu, Multivitamin emülsiyonunda ise 4. hafta içerisinde üstten 0.5 ml'lik bir yağ ayrışması olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.3). Emülsiyon ayrışmaları limit sınırlarının içinde bulunduğundan, emülsiyon stabil bulunmuştur.

Tablo 4. 3. Multivitamin Emülsiyon Stabilitesi Sonuçları





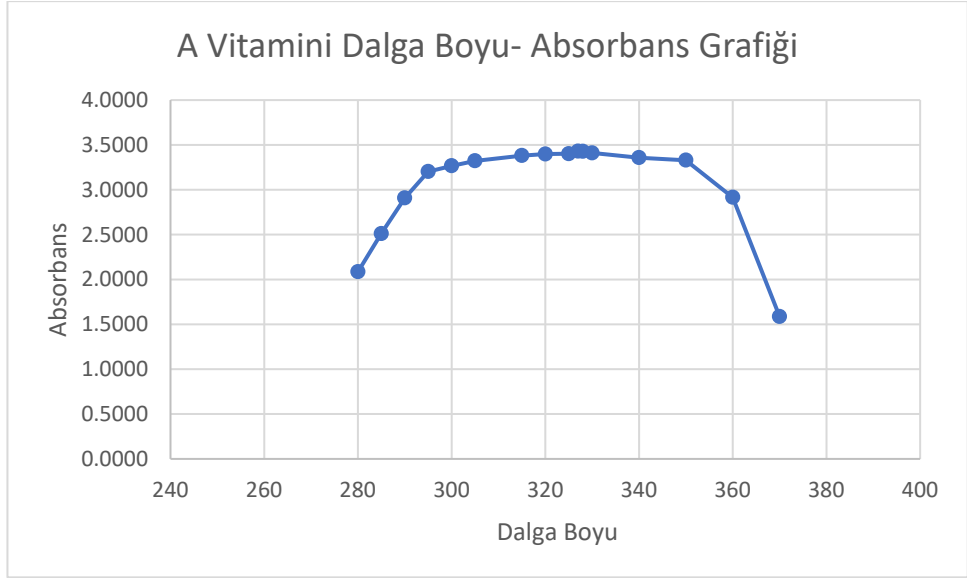
4.6. Biyosalınım Performansının Analizi

4.6.1. Vitaminlerin dalga boylarının taramasının yapılması

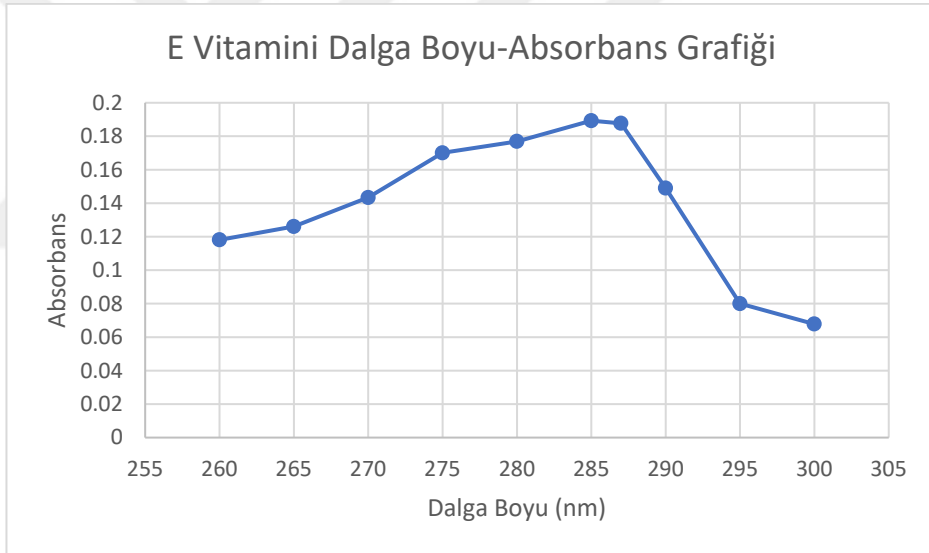
Kullanılan vitaminlerin UV-spektrofotometrede (Thermo Scientific, ABD) absorban- dalga boyu tarama grafikleri çizilmiştir. Verimlilik ve salınım analizlerinde kullanılacak dalga boyları tespit edilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4. 4. Tarama Yapılacak Dalga Boyları

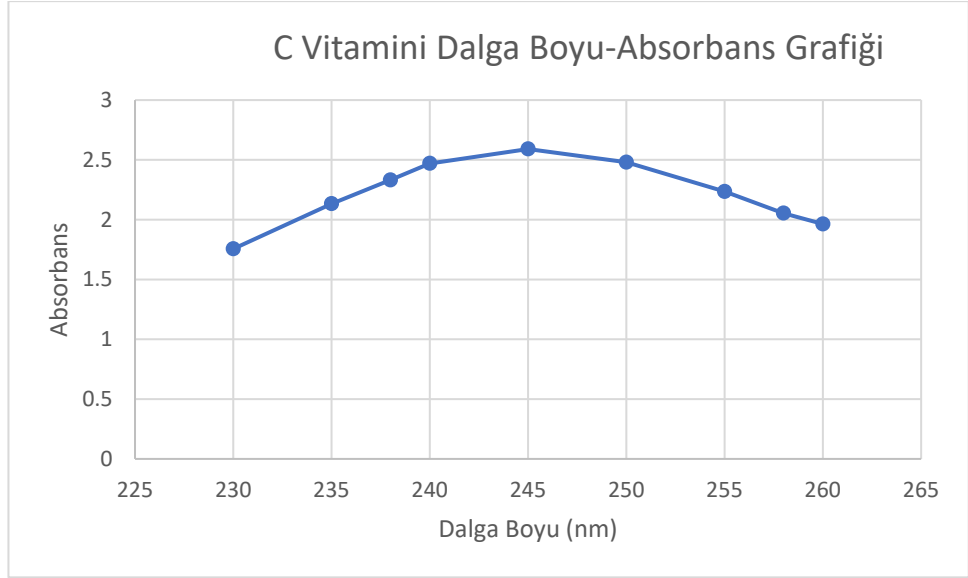
<i>Vitaminler</i>	Tarama Yapılacak Dalga Boyu (nm)
<i>A</i>	327
<i>E</i>	285
<i>C</i>	245
<i>B₁₂</i>	360
<i>K₁</i>	250



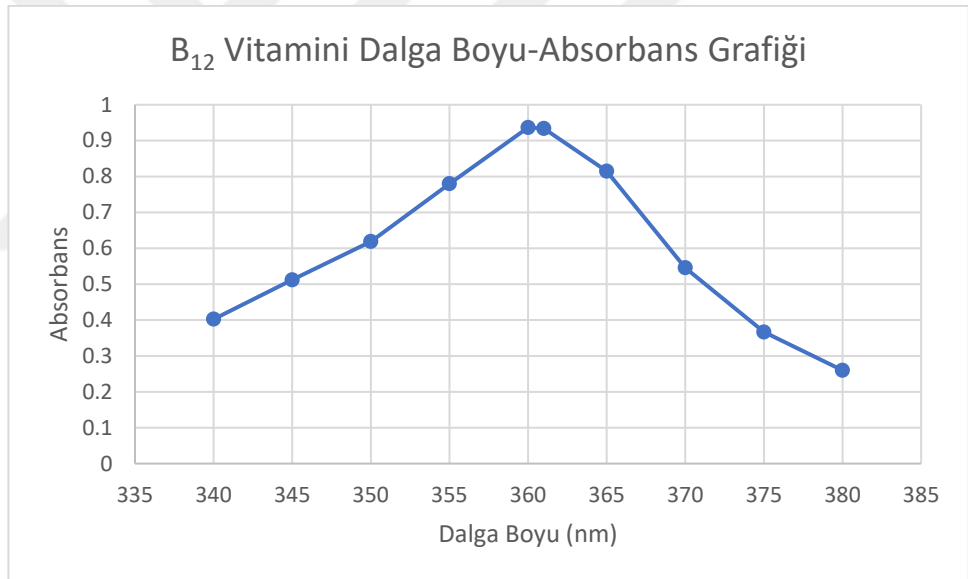
Şekil 4. 4. A Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği



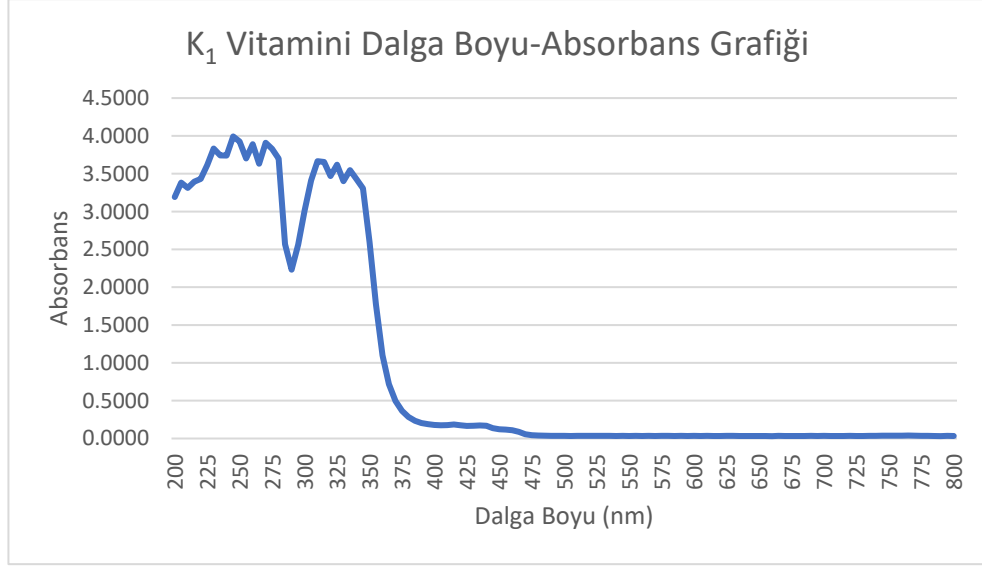
Şekil 4.5. E Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği



Şekil 4.6. C Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği



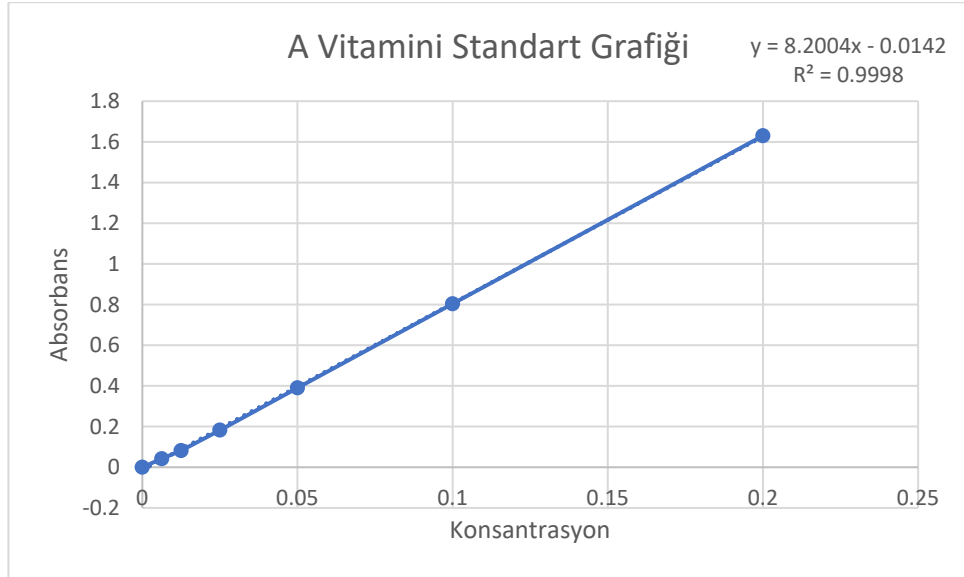
Şekil 4.7. B₁₂ Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği



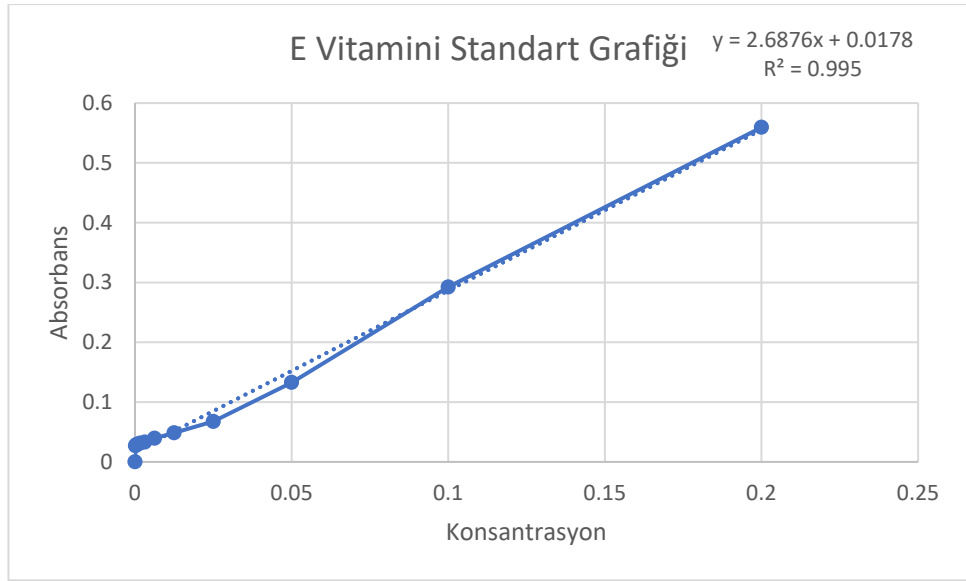
Şekil 4.8. K₁ Vitamini için Absorbans-Dalga Boyu Grafiği

4.6.2. Vitaminlerin standart grafiklerinin oluşturulması

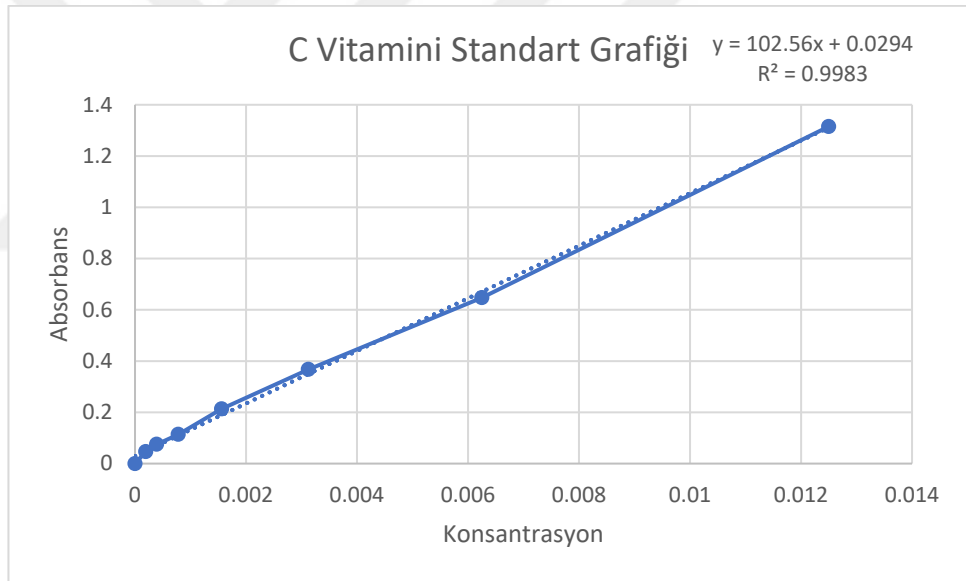
0-0,2 mg/ml konsantrasyonları aralığında hazırlanan vitaminlerin, UV- spektrofotometre kullanılarak standart grafikleri çizilmiştir ve regresyon denklemleri grafikler üzerinde verilmiştir. Denklemler daha sonrasında verimlilik ve biyosalınım analizlerinde kullanılmıştır.



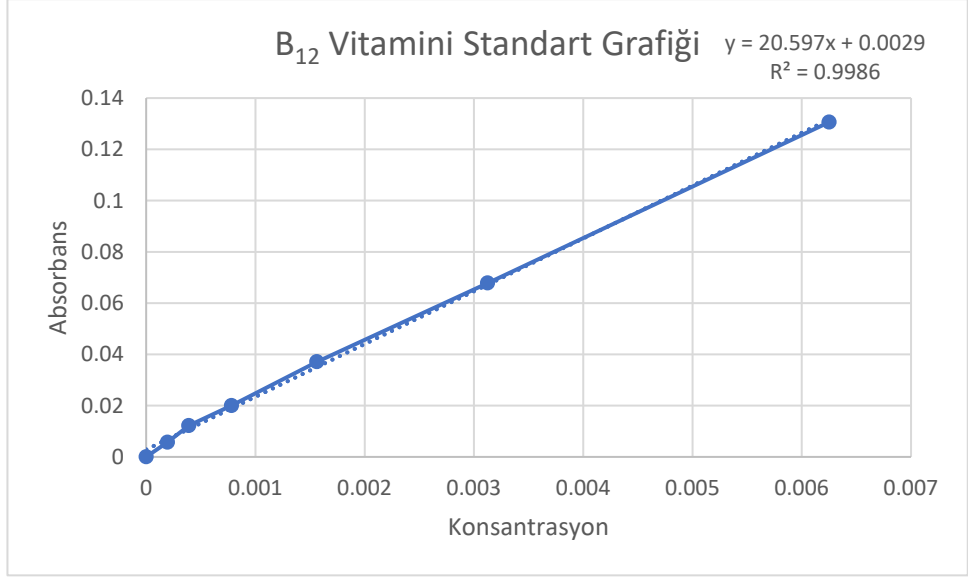
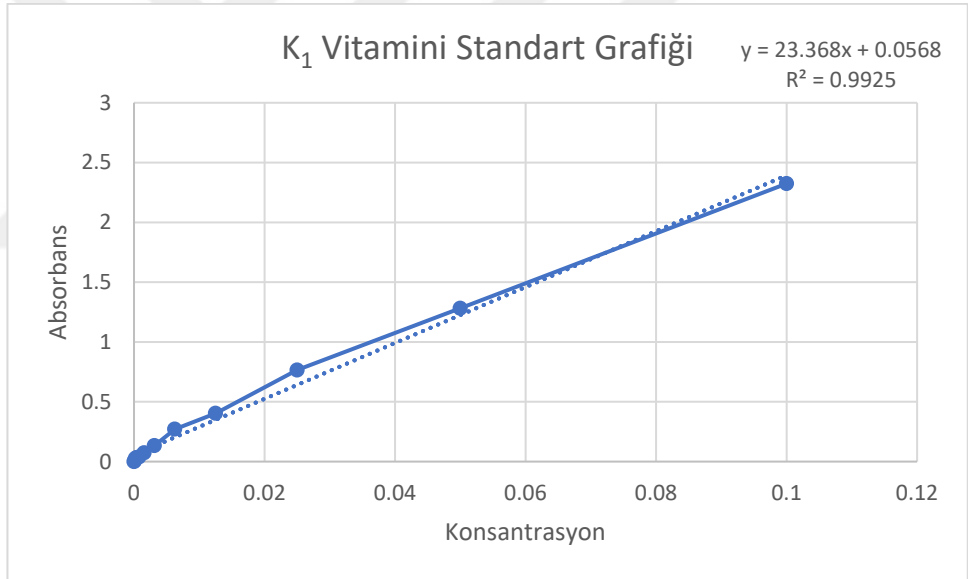
Şekil 4. 9. A Vitamini için Standart Grafiği



Şekil 4. 10. E Vitamini için Standart Grafiği

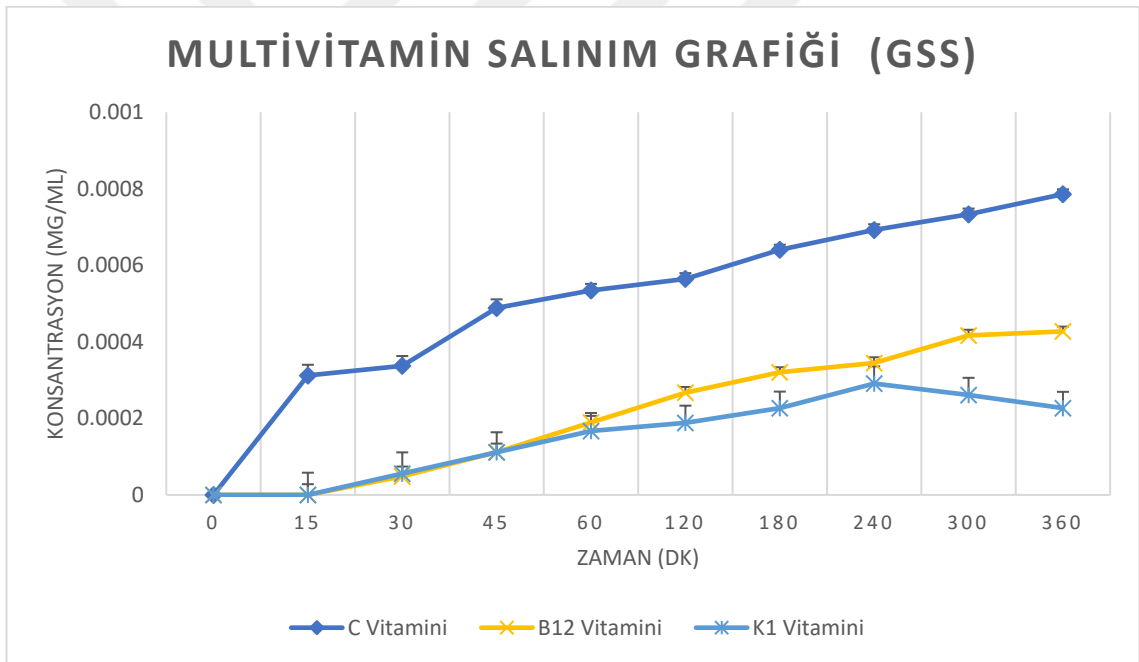
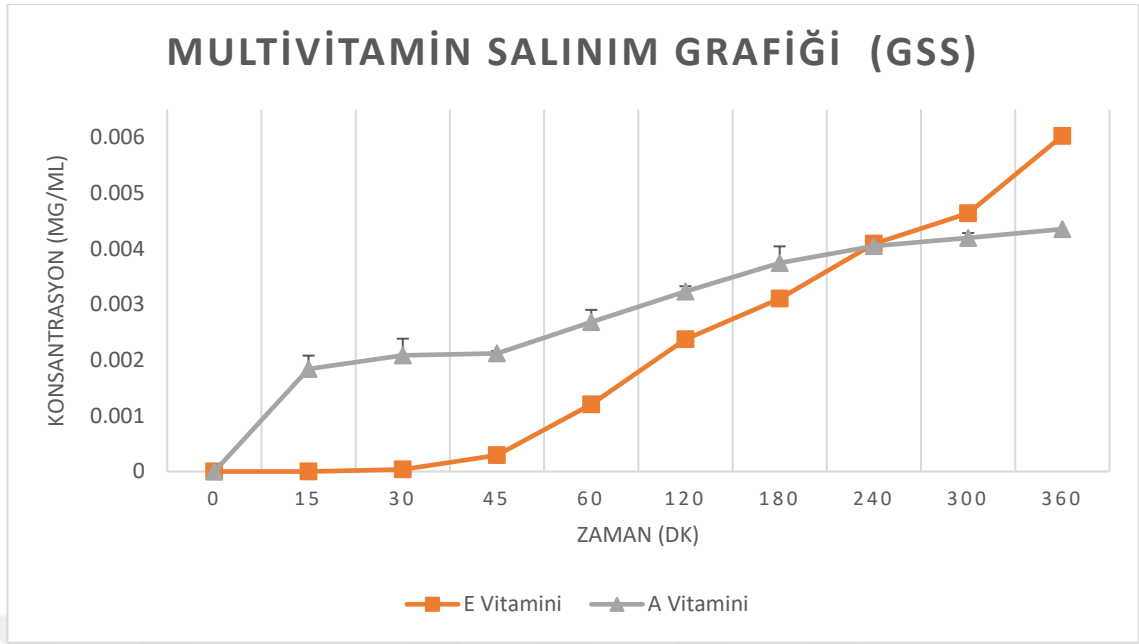


Şekil 4. 11. C Vitamini için Standart Grafiği

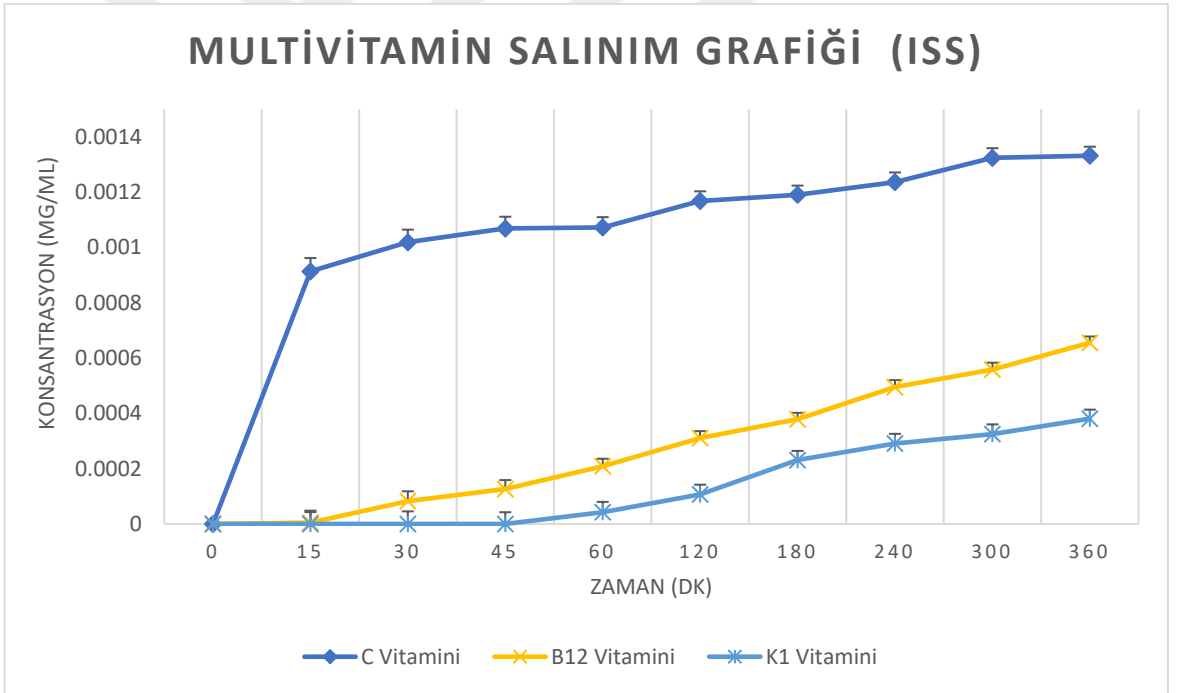
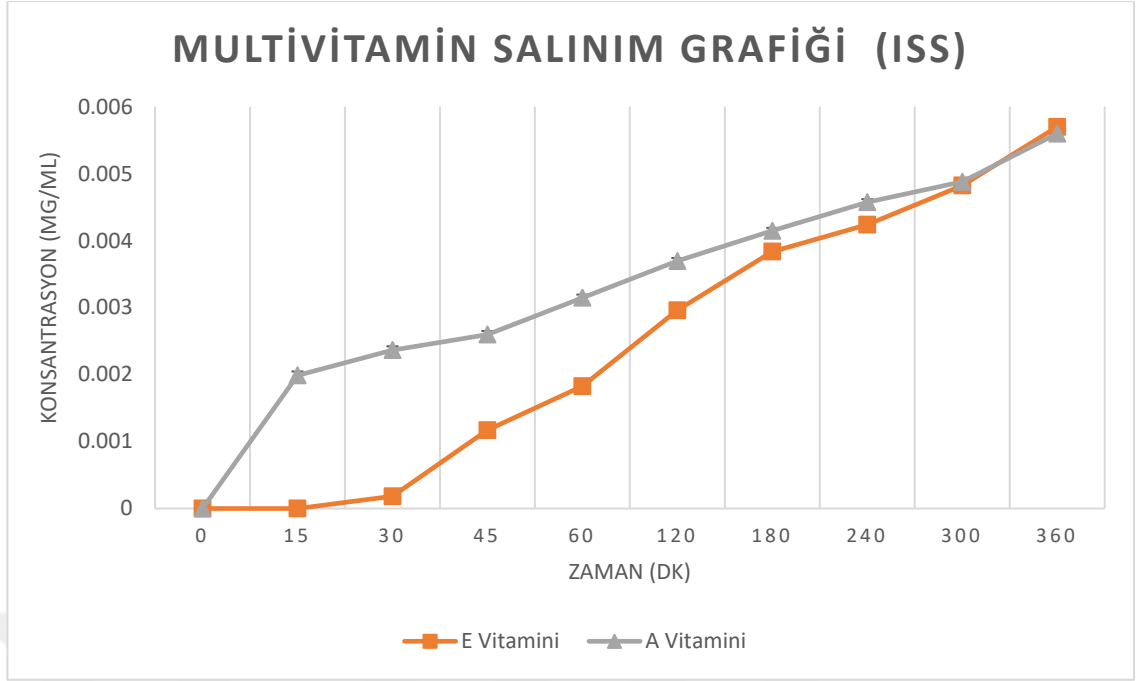
Şekil 4.12. B₁₂ Vitamini için Standart GrafiğiŞekil 4.13. K₁ Vitamini için Standart Grafiği

4.6.3. Salınım deneylerinin gerçekleştirilmesi

Salınım denemelerinde diyaliz torbalarına eklenen 10 ml emülsiyon içerisindeki, vitamin konsantrasyonları hesaplanarak Tablo 4.5'te verilmiştir. Belirlenen aralıklar ile alınan örneklerdeki vitamin konsantrasyonları verimlilik ve biyosalınım analizlerinde kullanılmıştır. Multivitamin salınım grafikleri vitamin konsantrasyonlarına uygun olarak oluşturularak Şekil 4.14'te GSS için Şekil 4.15'te ISS için verilmiştir.



Şekil 4.14. Multivitamin Emülsiyonun Gastrik Stimüle Sıvısında Salınım Grafiği

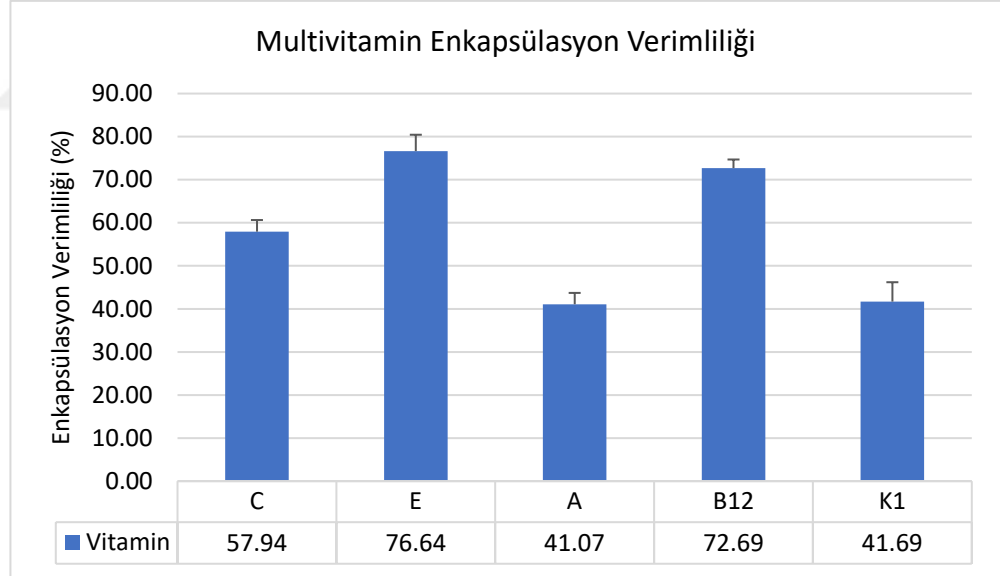


Şekil 4. 15. Multivitamin Emülsiyonun İntestin Stimüle Sıvısında Salınım Grafiği

Tablo 4. 5. Vitaminlerin Başlangıç Konsantrasyonları (mg/ml)

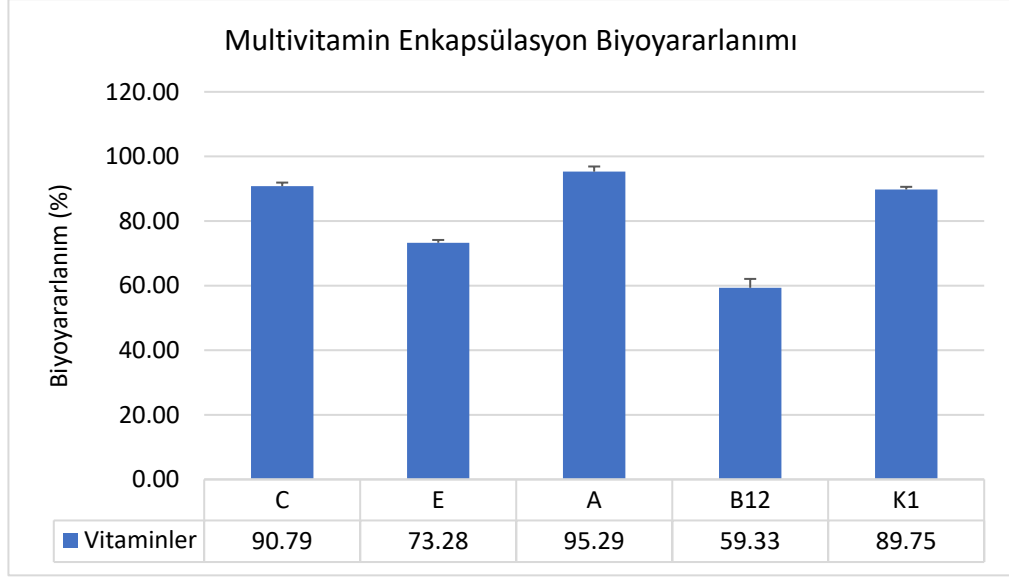
Vitamin	Başlangıç Konsantrasyonları
A	0.0043 mg/ml
E	0.0053 mg/ml
K ₁	0.00026 mg/ml
C	0.0013 mg/ml
B ₁₂	0.00066 mg/ml

Multivitamin enkapsülasyon verimliliği 90 dakikalık sindirim süresi boyunca enkapsüle kalan vitamin konsantrasyonunun, ilk enkapsülasyon konsantrasyonuna oranı ile hesaplanmış ve % verimlilikleri Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4. 16. Enkapsüle Edilmiş Multivitaminlerin Enkapsülasyon Verimliliği

Multivitamin enkapsülasyonunun biyoyararlanım analizleri için sindirim sürecinin intestinal süresinin sonunda alınan örnekten konsantrasyon hesabı yapılmıştır. İntestin simüle sıvısındaki vitamin konsantrasyonunun, ilk enkapsülasyon konsantrasyonuna oranı ile % biyoyararlanım hesaplanmıştır ve Şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.17. Enkapsüle Edilmiş Multivitaminlerin Biyoyararlanımı

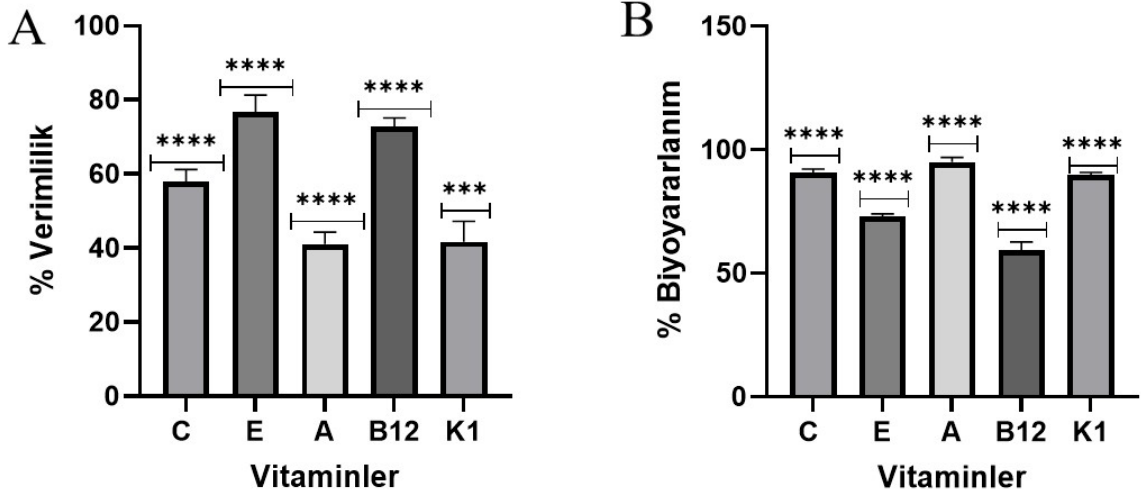
Enkapsülasyonda vitaminler arası verimliliği ve biyoyararlanım yüzdeleri için varyansın istatistiksel analizi (ANOVA) ve unpaired t-test gerçekleştirilmiştir ve analiz sonuçları Tablo 4.6 ve Tablo 4.7'de verilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlılık Şekil 4.18'de grafik ile gösterilmiştir ve gözlemlenen yanıtların tümü için, sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,005$) bulunmuştur.

Tablo 4. 6. Enkapsülasyon Verimliliği için Varyansın İstatistiksel Analizi (ANOVA)

Enkapsülasyon Verimliliği	Ortalama	Standart Sapma	P değeri	P değeri özeti	t	df	R ²
Vitamin C	57.93633	2.698489612	<0,0001	****	30.36	4	0.9957
Vitamin E	76.6358	3.803904484	<0,0001	****	28.49	4	0.9951
Vitamin A	41.07469	2.636900554	<0,0001	****	22.03	4	0.9918
Vitamin B12	72.69238	2.00024889	<0,0001	****	51.39	4	0.9985
Vitamin K1	41.69342	4.500703435	0.0002	***	13.10	4	0.9772

Tablo 4. 7. Biyoyararlanım Yüzdeleri için Varyansın İstatistiksel Analizi (ANOVA)

Biyoyararlanım (%)	Ortalama	Standart Sapma	P değeri	P değeri özeti	t	df	R ²
Vitamin C	90.79211386	1.112348672	<0,0001	****	112.4	4	0.9997
Vitamin E	73.27664285	0.867136588	<0,0001	****	107.1	4	0.9997
Vitamin A	95.29024717	1.600316984	<0,0001	****	91	4	0.9995
Vitamin B12	59.32834698	2.757965752	<0,0001	****	31.16	4	0.9959
Vitamin K1	89.7545431	0.837812485	<0,0001	****	151.5	4	0.9998



Şekil 4. 18. Enkapsüle Edilen Vitaminlerin (A) % Verimliliği (B) % Biyoyararlanımı (* ile temsil edilen değerler, $p < 0.05$ düzeyinde kontrole göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$)

Multivitamin enkapsülasyon verimlilikler incelendiğinde, $76,63 \pm 3,8$ ile en yüksek enkapsülasyon verimliliğinin E vitamininde olduğu belirlenmiştir. Formülasyona girilen vitamin miktarları göz önünde bulundurulduğunda en düşük vitamin miktarı girdisi K₁ vitamininde olduğu hale verimlilik $41,69 \pm 4,5$ olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bağırsak sistemine kadar olan sindirim süresince, tasarlanmış formülasyonun mide pH'larına dayanıklılığını ve formülasyonun stabilitesini yüksek ölçüde koruduğunu göstermiştir.

Multivitamin enkapsülasyonunun biyoyararlanım analizleri, midede korunan formülasyonun, hedeflenen bağırsak sindiriminde vitamin salınımına olanak sağladığını ve $59,32 \pm 2,7$ (B₁₂ vitamini) ile $95,29 \pm 1,6$ (A vitamini) oranları kadar biyoyararlanım artmasına olanak tanıdığını göstermiştir. Tüm bulgular incelendiğinde, çift katmanlı emülsiyonun, suda ve yağda çözünen vitaminlerin bir arada kapsüllenmesine olanak sağlarken, *in vitro* sindirim modelinde, midede stabilitesine korurken bağırsakta salınarak yüksek verimlilik ve biyoyararlanım sağladığını göstermiştir.

5.TARTIŞMA

Isı stresi gibi olumsuz çevre koşulları ve salgın hastalıklar kümes hayvanı üretimini olumsuz etkileyerek büyüme performansını bozmakta ve ölüm oranlarını arttırmaktadır. Aşırı sıcaklığı dağıtmaya yönelik mekanizmalar, enerji tüketimini arttırarak verimli üretimden uzaklaşmaya neden olmaktadır. Bu nedenle maliyeti daha düşük, sürdürülebilir ve verimli yöntemlere gerek duyulmaktadır. Yapılan araştırmalarda, belirli yem katkı maddeleri ile diyetlerin güçlendirilmesinin, ısı stresinin tavuk üretimi üzerindeki negatif etkilerini en aza indirmek için en önemli yaklaşımlarından biri olduğunu göstermiştir (El-Senousey et al., 2017). Bu bağlamda, E ve C vitaminleri, umut verici yem katkı maddeleri arasında yer almaktadır. Kanatlı diyetlerinin yem katkı ile etkili güçlendirilmesinin, ısı stresi altındaki kanatlıların hayati organlarının işlevini ve bağışıklık sistemi tepkisini ayrıca büyüme performansını artırdığı kanıtlanmıştır. Literatür, C ve E vitaminlerinin, lipit ve proteinleri oksidatif hasardan ve fizyolojik etkilerinden korumakta ve bağışıklık sisteminin genel işlevini artırmakta önemli etkileri olduğunu ortaya koymaktadır (Abidin and Khatoun, 2013; Ahmadu et al., 2016; Shakeri et al., 2020).

Jang ve arkadaşlarının 2014 yılında, yaz koşullarında broyler civcivlerinde besinsel antioksidanların sitokinler ve sıcak şok proteinleri durumu üzerindeki etkilerini araştırdığı çalışma, ısı stresine maruz kalan kuşlarda C ve E vitamininin besinsel takviyesinin, ısı stresine bağlı inflamasyon ve oksidatif stres üzerinde hafifletici etkileri olduğunu göstermiştir. Çalışma, özellikle C vitamini ile yapılan besinsel takviyenin, yaz ısı stresini hafifletme konusunda E vitaminden daha etkili olabileceğini önermektedir (Jang et al., 2014). Niu ve arkadaşlarının, ısı stresi altındaki broylerlerin büyüme performansı ve bağışıklık yanıtı üzerine besinsel vitamin E'nin etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirdiği deneyde, ısı stresinin broylerlerin büyüme performansını ve bağışıklık yanıtını ciddi şekilde azalttığını, ancak broylerlerin bağışıklık yanıtının ısı stresi altında besinsel vitamin E takviyesi ile iyileştirilebileceğini gösterilmektedir (Niu et al., 2009). Yine Şahin ve arkadaşlarının 2001 yılında yayınlamış olduğu çalışmanın sonuçları, ısı stresi altında yetiştirilen broyler civcivlerinde 250 mg vitamin E takviyesinin optimal performans sağladığını göstermektedir. Bu düzeyde vitamin E takviyesinin, broyler diyetlerinde olumsuz etkileri azaltarak koruyucu bir yönetim uygulaması olarak değerlendirilmesi önerilmektedir (Şahin vd., 2001).

Beslenmenin yanında yem katkı olarak verilen vitaminlerin hastalıklar ile mücadelede de pozitif etkiler gösterdiği görülmüştür. Konieczka ve arkadaşlarının 2019'da yayınlamış olduğu çalışmada, *E. coli* kaynaklı inflamasyonun kuşlarda stres aracı yanıtını kolaylaştırmak için E vitamininin etkisi incelenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarında, E vitamininin, enzim aktivitelerini etkileyebildiği ve akut faz inflamasyonunun büyüklüğünü kontrol etmek için kümes hayvanı üretiminde kullanılabileceği gösterilmiştir (Konieczka et al., 2019). Beslenmeye ilave C vitamininin broyler tavuklarının performansı üzerindeki etkinliğini değerlendirmek için yapılan çalışmada, 200 ppm C vitamini takviyesinin ticari broylerlerin performansını ve bağışıklığını iyileştirmek, ticari broylerlerin tam genetik potansiyelinden yararlanmak için faydalı olduğu sonucuna varılmıştır. Bunların yanında, C vitamininin antioksidan madde olarak eklenmesinin, et renginin stabilitesini artırdığı gözlemlenmiştir. Isı stresi ve enfeksiyon hastalıklar sırasında performansı ve bağışıklığı iyileştirmek için faydalı bir yem katkı maddesi olacağı vurgulanmıştır (Lohakare et al., 2005). Rehman ve arkadaşlarının 2018 yılında yayınlamış olduğu çalışmada, tavuklarda Newcastle enfeksiyonunun, duodenum ve jejunumda oksidatif stresi tetiklediği ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma ve bağırsakta histolojik değişikliklere yol açtığı gözlemlenmiştir. Vitamin E takviyesinin antioksidan savunma sistemindeki tüm bu değişiklikleri en aza indirdiği, virüs yükünü azalttığı ve bağırsakta histopatolojik değişiklikleri azalttığı deneysel süreç ile gösterilmiştir. Bu nedenle, vitamin E takviyesinin Newcastle enfeksiyonunun neden olduğu bağırsak oksidatif stresi ve hasarı hafifletmek için de kullanılabileceği ve sürü verimliliğini artırmaya yardımcı olabileceği önerilmektedir (Rehman et al., 2018). Safarizadeh ve Zakeri'nin 2013'te, hümorale bağışıklık hakkında yapmış olduğu çalışmada, vitamin A, kompleks vitamin E ve selenyum içeren diyetlerle beslenen kuşların, Newcastle hastalığı aşısına karşı önemli bir fark ile bağışıklık sistemini iyileştirdiğini göstermiştir. Sonuçlarda hem vitamin A hem de vitamin E + selenyum takviyesinin, broyler tavuklarda Newcastle aşısına karşı humoral bağışıklığı artırdığı görülmektedir (Safarizadeh and Zakeri, 2013). Aynı şekilde Mileva ve Galabov'un 2018 yılında yayınlanan çalışmasında E vitamininin oksidatif hasarı önlemedeki etkinliği nedeniyle influenza enfeksiyonu ile mücadelede önde gelen bir konuma sahip olduğu vurgulanmıştır. Vitamin E, çok hedefli influenza tedavisinde bir bileşen olarak önerilmiştir (Mileva and Galabov, 2018). Yapılan araştırmalarda, vitamin E ve Selenyum ile takviye edilen diyetlerin yumurta ağırlığı, kabuk ağırlığı, yumurta sarısı ağırlığı, yumurta indeksi, yumurta şekil indeksi

ve kabuk kalınlığını artırdığını da belirtmiştir (Abdel Galil and Abdel Samad, 2003; Radwan et al., 2008; El-Sheikh and Salama, 2010; Mahrose et al., 2012).

E vitamininin yanında yağda çözünen diğer vitaminlerin de beslemedeki faydaları büyüktür. Moghaddam ve Emadi'nin 2014 yılında yayınlamış olduğu çalışmada, immünoglobulin titre seviyelerinin, vitamin A içeren bir diyetle beslenen kuşlarda önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Tavuk sağlığının yönetiminde threonin ve vitamin A'nın doğrudan kullanımının daha iyi bağışıklık yanıtı sağlayarak daha iyi hastalık direnci ve sağlık olasılığı vaat ettiği vurgulanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, broylerlerin beslemelerinde vitamin miktarlarının, gereksinimleri karşılamak için yetersiz olduğunu belirtmektedir (Moghaddam et al., 2014). Lin ve arkadaşlarının 2002'de yayınladığı çalışmada, ısı stresi altında ticari yumurta tavuklarına verilen vitamin A takviyesinin, T lenfositlerinin oranını artırdığı görülmüştür. NDV aşısı sonrası ısı stresi yaşayan tavuklar için, maksimum antikor üretim seviyesine ulaşmak amacı ile daha yüksek miktarda vitamin A içeren bir diyet gerektiği vurgulanmıştır (Lin et al., 2002). D vitamininin de ısı stresi ile mücadelede kemik gelişimde pozitif etkileri görülmüştür (Fritts and Waldroup, 2003). Vitamin K eksikliğinin iskelet metabolizması göstergeleri üzerindeki etkisini belirlemek amacı ile yumurta veren tavuklarda yapılan deneyde, 28 hafta boyunca vitamin K eksikliği olan bir diyetle tabi tutulmuş tavuklarda, vitamin K yeterli olan tavuklara kıyasla kan pıhtılaşmasının bozulması ve kemik -y-karboksilglutamik asit konsantrasyonunun azalması gibi sorunlar gözlemlenmiştir (Lavelle et al., 1994).

Yapılan tüm literatür araştırmalarında vurgulanan, beslemenin yanında vitamin katkısı stratejisinden yola çıkarak, bu tez kapsamında kanatlı beslemesinde önemli vitaminler tek bir üründe, multivitamin formülasyonu olarak çalışılmıştır. Potansiyel ürünün, suda ve yağda çözünen vitaminlerin faydaları göz önünde bulundurularak çift katmanlı emülsiyon ile verimi ve biyoyararlanımı arttırılmış yem katkısı olarak sunulması bu tezi oldukça özgün kılmaktadır. Minimum vitamin girdisi ile maksimum verim elde edilmesi hedeflenmiştir. Verimli ve uygun maliyetli yem formülasyonları geliştirilirken kanatlı fizyolojisi ve fonksiyonu dikkate alınmalıdır. Yüksek besleyici, dengeli ve verimli yem formülasyonlarını test etmek için *in vitro* sindirim modellerinin kapasiteleri, birçok literatürde döngüsel ekonomi çerçevesinde bir çözüm olarak vurgulamaktadır (Martinez-Haro et al., 2009; Menezes-Blackburn et al., 2015; Bean et al., 2016; Bryan et al., 2018; Carvalho et al., 2021). *In vitro* sindirim modelleri, kuş performansının nasıl etkilendiğine dair değerli bilgiler sağlar. Bu bağlamda, gastrointestinal sindirim sisteminin (GIT) anlaşılması ve rolü özellikle yem endüstrisi için hayati öneme

sahiptir, çünkü GIT kümes hayvanlarının sağlığını etkilemektedir ve dolayısıyla et kalitesini ve besin içeriğini etkiler. Bu yöntemler, hala "altın standart" olarak kabul edilmiş *in vivo* modellere göre tekrarlanabilir, basit, daha az maliyetli ve çok daha az zaman alıcıdır (Verhoeckx et al., 2015; Bryan et al., 2018; Carvalho et al., 2018). *In vitro* modeller, tekrarlanabilirlik, güvenilirlik, hız ve kar-fayda oranı kavramlarına dayanmalıdır. Yem formülasyonlarında ise, *in vitro* yöntemler, *in vivo* denemelerden önce yem tüketimini ve diğer performans parametrelerini simüle edebilen büyüme modellerinin oluşturulmasına yardımcı olan veriler sağlayabilir. Öztürk ve arkadaşlarının 2015 yılında yapmış olduğu çalışmada, *quillaja* saponini kullanılarak hazırlanan yağ içinde su nanoemülsiyonlarında kapsüllenmiş D₃ vitamininin biyoyararlanımı üzerindeki etkisi, çalışmamıza benzer şekilde simüle gastrointestinal sistem (GIS) modeli kullanılarak incelenmiştir. Çalışma sonuçlarında, nanoemülsiyonların D₃ vitamini biyo-yararlanımını artırmak için uygun olduğu gösterilmiştir ve yağda çözünen vitaminler ve diğer lipofilik besin takviyeleri için nanoemülsiyon tabanlı taşıyıcı sistemlerinin önemi vurgulanmıştır (Öztürk vd., 2015). Kaimainen ve arkadaşlarının 2015 yılında gerçekleştirmiş olduğu çalışmada *in vitro* intestinal sistem kullanılarak betalain pigmentlerinin, yüksek kapsülleme verimliliği ve emülsiyon stabilitesi ile W/O/W çift emülsiyonlarında kapsüllenebileceği gösterilmiştir. Çift emülsiyon, *in vitro* bağırsak lipid sindirimine tabi tutulmuştur ve yapıların evrimi ve betalainin salınımı izlenmiştir. Çift emülsiyon, 180 dakika boyunca yüksek stabilite göstermiştir (Kaimainen et al., 2015). *In vitro* sindirim modelleri, hayvan diyetlerini formüle ederken faydalı olan sindirimin mide asidinden kolona kadar olan sindirim yolu boyunca yolunu izlemesi konusunda değerli bilgiler sağlamaktadır (Minekus et al., 2014; Dupont and Mackie, 2015; Egger et al., 2016; Shani-Levi et al., 2017). Bu nedenle, *in vitro* modeller, hayvan yemlerine yeni fonksiyonel içeriklerin katılmasının gerçek etkisini belirlemek ve incelemek için iyi bir başlangıç noktasıdır. Bu tez kapsamında da yem formülasyonlarının yanında yem katkı olarak sunulan multivitamin enkapsülasyonunun denemelerinde, *in vitro* sindirim sistemi modeli oluşturulmuş ve verimlilik, stabilite ve biyoyararlanım gibi parametreler değerlendirilmiştir.

Tez kapsamında çift katmanlı emülsiyon ile enkapsüle edilen C, E, A, B₁₂ ve K₁ vitaminleri sırasıyla % 57,9 ± 2,6, % 76,6 ± 3,8, % 41 ± 2,6, % 72,6 ± 2, % 41,6 ± 4,5 verimlilik ile enkapsüle edilmiştir. Önceki çalışmalar incelendiğinde, Didar ve Hesarinejad'ın 2022 yılında yaptığı çalışmada, D₃ vitamini su içinde yağ içinde su çift katmanlı emülsiyonu ile bizim çalışmamıza benzer bir şekilde kapsüle edilmiştir. Çalışmanın bulgularına göre, *psyllium* sakızı ve lesitin içeren çift katmanlı emülsiyonların kapsülleme verimliliği tek bir vitamin için %93,26

olarak bulunmuştur (Didar and Hesarinejad, 2022). Amiri ve arkadaşlarının 2019 yılındaki çalışmasında, farklı oranlardaki süt fosfolipitleri, kolesterol ve fitosteroller ve sonikasyon süresinin değişik etkileri incelenerek, C vitamini kapsüllemesi için yeni bir nanolipozom formülasyonu üretilmiştir. Sonuçlarda, C vitamininin 20 gün boyunca en yüksek stabilitesinin, %75–25 fosfolipid:campesterol oranında olduğu ve 32,7 verimlilik yüzdesi elde edildiği tespit edilmiştir (Amiri et al., 2019). Yağ içinde su emülsiyonu ile enkapsüle edilen D₃ vitamini üzerinde yapılan çalışmada, emülsiyonunun vitamin D₃ kapsüllemesi üzerindeki potansiyelini değerlendirmek için *in vitro* salınım davranışı incelenmiştir. Son, sindirim zamanında vitamin D₃ salınımı %42,37 ila %56,85 arasında değişmiştir ve emülsiyonlardaki kapsülleme verimliliği (EE, %), ortalama olarak %95,65 olarak bulunmuştur (Zhang et al., 2022). B₂ vitamininin kapsülleme ve serbest bırakılması için biyopolimer tabanlı bir nanopartikülün geliştirilmesi ve karakterizasyonu amacı ile yapılan çalışmada, aljinat/kitosan nanopartikülleri ile kapsülleme ve farklı koşullarda kontrollü salınım hedeflenmiştir. Nanopartiküllerin kapsülleme verimliliği ve yükleme kapasitesi değerleri sırasıyla %55,9 ± 5,6 ve %2,2 ± 0,6 olarak belirlenmiştir (Azevedo et al., 2014). Budincic ve arkadaşlarının 2020’de yayınlamış olduğu çalışmada, E vitamininin, duvar malzemesi olarak kitosan/sodyum lauril eter sülfat komplekslerinin kullanıldığı yağ içerikli mikrokapsüller ile salınımı değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda, kitosan/SLES kompleksinin kapsülleme verimliliği %73,17 ± 0,64 olarak belirlenmiştir ve kozmetik endüstrisinde hidrofobik aktif moleküllerin mikroenkapsülasyonu için duvar malzemesi olarak kullanılabilirliğini bulunmuştur (Budincic et al., 2021). Biyobozunur glukomannan ve aljinat kombinasyonunu bir taşıyıcı olarak kullanarak pH duyarlı vitamin C kapsüllemesi amaçlanan çalışmada, verimlilik %95,82’ye ulaşmıştır (Wardhani et al., 2019).

In vitro modelde biyoyararlanım sonuçları incelendiğinde, C, E, A, B₁₂ ve K₁ vitaminleri için sırasıyla %90,79 ± 1,1, %73,27 ± 0,86, %95,29 ± 1,6, %59,32 ± 2,7, %89,75 ± 0,83 biyoyararlanım yüzdeleri elde edilmiştir. Çalışmamıza benzer bir şekilde, Azad ve arkadaşları 2020 yılında, bağırsak sisteminde ilaç salınımını kontrol etmek üzere tasarlanmış aljinat-siyah çörekotu yağı kapsüllerini geliştirmek amacı ile yapmış olduğu çalışmada, *in vitro* ilaç salınım mekanizması ile gastrointestinal sistemdeki verimliliğini ve salınımını araştırmıştır. Yağ kapsülleme verimliliği kurutulmuş boncuklarda %90,13 ± 0,93 ve ilaç salınımı simüle edilen gastrointestinal sıvıda salınım %90’ın üzerinde bulunmuştur. Bu tasarlanmış formülasyon, biyoyararlanımın artmasına ve bağırsak bölgesine hedefli ilaç teslimine olanak tanımıştır (Azad et al., 2020). Bajaj ve arkadaşlarının 2021 yılında yayınlamış olduğu çalışmada, sprey kurutma yöntemi ile vitamin B₁₂ ve D₃’ün birlikte kapsüllemesi amaçlamıştır. Bizim çalışmamızda

olduğu gibi salınım, *in vitro* salınım mekanizması, ile tespit edilmiştir. Bizim sonuçlarımıza uygun bir şekilde, bu çalışmada da elde edilen kapsüller, B₁₂ için %151 ve vitamin D₃ için %109 daha iyi biyoyararlanım göstermiştir. Bu çalışma, suyla çözünebilen vitamin B₁₂ ve yağda çözünebilen vitamin D₃'ü tek bir üründe sağlamak için uygun bir ortam sunmuştur (Bajaj et al., 2021)

Mevcut çalışmanın sonuçları literatürden tespit edilen benzer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Çift katmanlı emülsiyonların yüksek stabilite, verimlilik ve biyosalınım sonuçları göz önüne alınarak, yağda ve suda çözünen vitaminlerin bir arada enkapsüle edilmesinde uygun bir teknoloji olduğu gösterilmiştir. Çalışmanın verileri, vitamin girdi miktarı azaltılarak, yem hammadde ve maliyet miktarının düşürülmesi ve sürdürülebilirliğe katkı sağlanması için potansiyel bir ürün sunmuştur. Farklı çözünürlükteki vitaminleri taşıma kapasiteleri gösterilmiş çift katmanlı emülsiyonların, ileri *in vivo* analizler sonrasında sanayide ürüne dönüşme potansiyeli oldukça yüksektir.

6. SONUÇLAR

Kanatlı sektöründe artan talep ile kümes kapasitelerinin hızlı artış, patojenler ve değişen çevre koşulları ile birlikte kanatlı yetiştiriciliğinde hayvanlar üzerindeki stresi ve salgın hastalıkları arttırmaktadır. Literatürdeki araştırmalar, tehditleri kontrol altına alarak maliyetleri düşürmek ve verimi arttırmak için sektörde kullanılacak ekonomik yem katkılarının başında vitaminlerin geldiğini göstermektedir. Bu nedenle uzun yıllardır yemlere eklenen vitamin katkı maddeleri formülasyonlarını, kanatlı sağlığını, kalitesini ve üretkenliğini artırmak için etkili bir araç olarak kullanırken minimum hammadde girdisi, maksimum verim ve biyoyararlanım sağlayan formülasyonlar ile sürdürülebilirliğe ve ekonomiye katkı sağlamak da kritiktir. Bu kapsamda, yağda ve suda çözünen vitaminler tek bir formülasyonda, çift katmanlı emülsiyon ile enkapsüle edilerek, vitaminlerin *in vitro* sindirim modelinde stabilite, verimlilik ve biyoyararlanım analizleri gerçekleştirilmiştir. Sunulan çalışma sonuçları, kanatlı sektöründe ihtiyaç duyulan, yenilikçi bir teknoloji ile tasarlanarak enkapsüle edilen vitaminlerin; verimliliğinin, dayanıklılığının ve biyoyararlanımının artırılma potansiyeli gösterilmiştir.

Çalışmanın bulguları, çift katmanlı emülsiyon teknolojisinin yağda ve suda çözünen vitaminlerin bir arada taşınmasında verimli bir araç olduğunu kanıtlamıştır. Literatür sonuçları ile karşılaştırıldığında, çözünürlükleri farklı beş farklı vitamin girilen formülasyonumuzda, literatürde tek bir vitamin ile yapılan çalışmalar ile benzer veya daha yüksek verimlilik ve biyoyararlanım sonuçları elde edilmiştir. Böylelikle, çift katmanlı emülsiyonlar ile hazırlanan potansiyel ürünlerde, vitamin girdi miktarı azaltılarak yem hammadde maliyet ve miktarının düşürülmesi ve sürdürülebilirliğe katkı sağlanması için yeni bir teknoloji sunulmuştur. Sonuç olarak, geliştirilen yeni formülasyon ile yeme veya içme suyuna eklenecek vitamin miktarı azaltılırken, verim ve biyoyararlanımda artış olacağı öngörülerek bunun saha çalışmaları ile desteklendikten sonra kanatlı sektörüne yeni bir teknolojik ürün olarak sunulabileceği ortaya konmuştur. Formülasyonun ileri *in vivo* analizler ile başarılı bulunması durumunda sanayide ürüne dönüşme potansiyeli oldukça yüksektir.

7. ÖNERİLER

Kümes hayvancılığı sektörünün, önümüzdeki otuz yılda ülkemizde ve küreselde en hızlı büyüyen sektörlerden biri olacağı öngörülmektedir. Mevcutta var olan salgın hastalıklar, ısı stresi, yetersiz beslenme gibi tehditlerin kontrol edilmesi, bu artış ile oldukça zorlaşacaktır. Bu durumlar sadece hayvancılık ve ülke ekonomisini etkilemekle kalmayıp, hayvan ve insan sağlığı açısından da tehdit oluşturacaktır. Sürdürebilir beslenmenin önemini anlaşıldığı günümüzde, bu tehditler ile savaşmada verimli, maliyeti düşük, biyoyararlanımı yüksek yem katkı maddelerine yönelmek değerlendirilmelidir.

Yemlere eklenen vitamin miktarlarında peletleme işlemi sırasında yaklaşık %40'lık bir kayıp yaşanmaktadır. Bu kayıpları minimize etmek için sıcaklık ve pH'a duyarlı enkapsülasyon teknolojilerinin geliştirilmesi, sürdürülebilir üretim için kilit bir nokta olabilir.

Mevcutta yemlere eklenen vitamin miktarlarında bir de kayıplar oluşunca kanatlı beslemesinde eksiklikler ortaya çıkmaktadır. Bunun önüne geçebilmek için yem katkı olarak multivitamin takviyesi stratejisine gidilebilir.

Sektörde halihazırda yağda ve suda çözünen vitaminler için tek bir ürün olarak, hızlı erişilebilir takviyeye ihtiyaç vardır. Tez kapsamında elde edilen bilgiler ve ileri *in vivo* çalışmalar ile vitaminlerin tek bir üründe sunulmasının ve potansiyel ürüne dönüşmesinin önü açılacaktır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdel Galil, M.A. and Abdel Samad, M.H.**, 2003, Effect of vitamin E, C, selenium and Zinc supplementation on reproductive performance of two local breeds of chickens under hot climate condition, *Egyptian Poultry Science Journal*, 24 (1): 217 - 229.
- Abidin, Z. and Khatoon, A.**, 2013, Heat stress in poultry and the beneficial effects of ascorbic acid (vitamin C) supplementation during periods of heat stress, *World's Poultry Science Journal*, 69(01), 135–152, doi:10.1017/s0043933913000123.
- Aboudzadeh, M.A., and Hamzehlou, S.**, 2020, Low-Energy Emulsification Methods for Encapsulation of Antioxidants, In: Aboudzadeh, M.A. (Eds.) *Emulsion-based Encapsulation of Antioxidants Food Bioactive Ingredients*, Springer, Cham, https://doi.org/10.1007/978-3-030-62052-3_3.
- Adhikari, R., White, D., House, J.D.**, and Kim, W.K., 2019, Effects of additional dosage of vitamin D3, vitamin D2, and 25-hydroxyvitamin D3 on calcium and phosphorus utilization, egg quality and bone mineralization in laying hens, *Poultry Science*, doi:10.3382/ps/pez502.
- Agarwal, S.P. and Rajesh, K.**, 2000, *Physical Pharmacy*, CBS Publisher, Delhi, India, pp, 177-186.
- Ahmad, Z., Xie, M., Wu, Y. and Hou, S.**, 2019, Effect of supplemental cyanocobalamin on the growth performance and hematological indicators of the white Pekin ducks from hatch to day 21. *Animals*, 9(9):633.
- Ahmadu, S., Mohammed, A., Buhari, H. and Auwal, A.**, 2016, An overview of vitamin C as an antistress in poultry, *Malays J Vet Res*, 7:9–22.
- Alagawany, M., Elnesr, S.S., Farag, M.R., Tiwari, R., Iqbal Yattoo, M., Karthik, K., and Dhama, K.**, 2020, Nutritional significance of amino acids, vitamins and minerals as nutraceuticals in poultry production and health – A comprehensive review, *Veterinary Quarterly*, 1–45, doi:10.1080/01652176.2020.1857887.
- Alfred, M., Pilar, B., and Chun, A.H.C.**, 1993, *Physical pharmacy*, Lea and febiger, New York, USA, pp. 487-490.

Amiri, S., Rezazadeh-Bari, M. and Alizadeh-Khaledabad, M., 2018, New formulation of vitamin C encapsulation by nanoliposomes: production and evaluation of particle size, stability and control release, *Food Sci Biotechnol* 28, 423–432, <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0493-z>.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ardiansah, I., Sholiha, K. and Sjoftjan, O.,** 2020, Dietary supplementation of powdered and encapsulated probiotic: In vivo study on relative carcass, giblet weight and intestinal morphometry of local duck, *Acta Scientiarum, Animal Sciences*, 42.
- Asaduzzaman, M.,** 2000, Effect of different commercial vitamin-mineral premixes in caged lay (MS Thesis), Department of Poultry Science, BAU, Mymensingh, Bangladesh.
- ASTM International,** 2024, ASTM D1218 - Standard Test Method for Refractive Index and Refractive Dispersion of Hydrocarbon Liquids, ASTM International, West Conshohocken, PA, <https://doi.org/10.1520/D1218>.
- ASTM International,** 2024, ASTM D4052 - Standard Test Method for Density and Relative Density of Liquids by Digital Density Meter, ASTM International, West Conshohocken, PA, <https://doi.org/10.1520/D4052>.
- ASTM International,** 2024, ASTM D445 - Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and Calculation of Dynamic Viscosity), ASTM International, West Conshohocken, PA, <https://doi.org/10.1520/D0445>.
- ASTM International,** 2024, ASTM D6045 - Standard Test Method for Color of Petroleum Products by the Automatic Tristimulus Method, ASTM International, West Conshohocken, PA, <https://doi.org/10.1520/D6045>.
- ASTM International,** 2024, ASTM D6304 - Standard Test Method for Determining the Water Separation Characteristics of Diesel Fuel by Portable Separometer, ASTM International, West Conshohocken, PA, <https://doi.org/10.1520/D6304>.
- ASTM International,** 2024, ASTM D664 - Standard Test Method for Acid Number of Petroleum Products by Potentiometric Titration, ASTM International, West Conshohocken, PA, <https://doi.org/10.1520/D0664>.

ASTM International, 2024, ASTM D94 - Standard Test Methods for Saponification Number of Petroleum Products, ASTM International, West Conshohocken, PA, <https://doi.org/10.1520/D0094>.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Attia, Y.A., El-Hamid, A.E.A., Abdallah, A.E.A., Berika, A.A., El-Gandy, M.F., Şahin, K. and Abou-Shehema, B.M., 2018, *European Poultry Science*, Vol.82, pp.226.

Augère-Granier, M.L., 2019, The EU poultry meat and egg sector: Main features, challenges and prospects, *Eur. Parliam. Res. Serv.*, 1–20, <https://doi.org/doi:10.2861/33350>.

Aviagen, R., 2022, *Broiler Nutrition Specification*.

Awadin, W.F., Eladl, A.H., El-Shafei, R.A., El-Adl, M.A. and Ali, H.S., 2019, Immunological and pathological effects of vitamin E with Fetomune Plus® on chickens experimentally infected with avian influenza virus H9N2, *Veterinary Microbiology*, 231, 24–32, doi:10.1016/j.vetmic.2019.02.028.

Ayo, J.O., Obidi, J.A. and Rekwot, P I., 2011, Effects of Heat Stress on the Well-Being, Fertility, and Hatchability of Chickens in the Northern Guinea Savannah Zone of Nigeria: A Review, *Vet. Sci.*, 1–11.

Ayo, J.O., Oladele, S.B. and Fayomi, A., 1996, Effect of heat stress on livestock production: A review, *Nig. Vet. J.*, 1: 58-68.

Azad, A.K., Al-Mahmood, S.M.A., Chatterjee, B., Wan Sulaiman, W.M.A., Elsayed, T.M., and Doolaanea, A.A., 2020, Encapsulation of Black Seed Oil in Alginate Beads as a pH-Sensitive Carrier for Intestine-Targeted Drug Delivery: In Vitro, In Vivo and Ex Vivo Study, *Pharmaceutics*, 12(3), 219, doi:10.3390/pharmaceutics12030219.

Azevedo, M.A., Bourbon, A.I., Vicente, A.A., and Cerqueira, M.A., 2014, Alginate/chitosan nanoparticles for encapsulation and controlled release of vitamin B2. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71, 141–146, doi:10.1016/j.ijbiomac.2014.05.

Bajaj, S.R., Marathe, S.J. and Singhal, R.S., 2020, Co-encapsulation of vitamins B12 and D3 using spray drying: Wall material optimization, product characterization, and release kinetics. *Food Chemistry*, Volume 335, doi:10.1016/j.foodchem.2020.127642.

Bean, T.G., Arnold, K.E., Lane, J., Pietravalle, S. and Boxall, A.B.A., 2016, An in vitro method for determining the bioaccessibility of pharmaceuticals in wildlife, *Environ, Toxicol, Chem.*, 35, 2349–2357.

Becher, P., 1965, *Emulsion: Theory and Practice*, 2nd. New York: Reinhold.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Belinda, T.J., 2014, Significance of riboflavin (vitamin-B2) for health, *J Pharm Sci Res.* 6:285–287.

Bohak, Z., 1970, Chicken pepsinogen and chicken pepsin, *Methods Enzymol*, 19, 347–358.

Bourre, J.M. and Galea, I.F., 2006, An important source of Omega 3 fatty acids, vitamin D and E, Carotenoids, Iodine, Selenium; a new natural multi enriched egg, *J. Nut. Health Aging* 10, 371-376.

Britannica, 2016, The Editors of Encyclopaedia, "equal-field system", *Encyclopedia Britannica*, <https://www.britannica.com/topic/equal-field-system>. Accessed 2 April 2024.

Brunning, A., 2015, The Chemical Structures of Vitamins, Compound Interest, <https://www.compoundchem.com/2015/01/13/vitamins/>. Accessed 14 April 2024.

Bryan, D.D.S.L., Abbott, D.A. and Classen, H.L., 2018, Development of an in vitro protein digestibility assay mimicking the chicken digestive tract, *Anim. Nutr.*, 4, 401–409, <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2018.04.007>.

Budinčić, J.M., Petrović, L., Đekić, L., Fraj, J., Bučko, S., Katona, J. and Spasojević, L., 2020, Study of vitamin E microencapsulation and controlled release from chitosan/sodium lauryl ether sulfate microcapsules, *Carbohydrate Polymers*, 116988, doi:10.1016/j.carbpol.2020.116988.

Carvalho, N.M., Costa, E.M., Silva, S., Pimentel, L., Fernandes, T.H. and Pintado, M.E., 2018, Fermented Foods and Beverages in Human Diet and Their Influence on Gut Microbiota and Health, *Fermentation* 4, 90.

Couto, R., Alvarez, V. and Temelli, F., 2017, Encapsulation of Vitamin B2 in solid lipid nanoparticles using supercritical CO₂, *The Journal of Supercritical Fluids*, 120, 432–442, doi:10.1016/j.supflu.2016.05.036.

Daghir, N., 2019, Nutritional strategies to reduce heat stress in broilers and broiler breeders, *Lohmann Inf.*, 44, 6–15.

Das, S., Palai, T.K., Mishra, S.R., Das, D. and Jena, B., 2011, Nutrition in relation to diseases and heat stress in poultry, *Vet World*, 4(9):429.

de Carvalho-Guimarães, F.B., Correa, K.L., de Souza, T.P., Rodríguez Amado, J.R., Ribeiro-Costa, R.M. and Silva-Júnior, J.O.C., 2022, A Review of Pickering Emulsions:

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Perspectives and Applications, *Pharmaceuticals*, 15, 1413, <https://doi.org/10.3390/ph15111413>.

De Ritter, E., 1976, Stability characteristics of vitamins in processed foods, *Food Tech Feed Pelleting Reference Guide* 30:48

Denbow, D.M., 2015, Gastrointestinal anatomy and physiology, in: *Sturkie's Avian Physiology*, Elsevier, pp. 337–366.

Desai, K.G.H. and Jin Park, H., 2005, Recent developments in microencapsulation of food ingredients, *Drying technology* 23, 1361-1394.

Didar, Z. and Hesarinejad, M.A., 2022, Preparation of vitamin D3-loaded oil-in-water-in-oil double emulsions using psyllium gum: optimization using response surface methodology, *Chem. Biol. Technol. Agric.* 9, 81, <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00348-6>.

Ding, S., Serra, C.A., Vandamme, T.F., Yu, W. and Anton, N., 2019, Double emulsions prepared by two-step emulsification: History, state-of-the-art and perspective, *Journal of Controlled Release*, 295, 31–49, doi:10.1016/j.jconrel.2018.12.037.

DSM, 2022, *OVN Optimum Vitamin Nutrition® Guidelines*.

Dupont, D. and Mackie, A.R., 2015, Static and dynamic in vitro digestion models to study protein stability in the gastrointestinal tract, *Drug Discov. Today Dis. Model*, 17, 23–27.

Egger, L., Ménard, O., Delgado-Andrade, C., Alvito, P., Assunção, R., Balance, S., Barberá, R., Brodkorb, A., Cattenoz, T. and Clemente, A., 2016, The harmonized INFOGEST in vitro digestion method: From knowledge to action, *Food Res. Int.* 88, 217–225.

El-Senousey, H.K., Chen, B., Wang, J.Y., Atta, A.M., Mohamed, F.R. and Nie, Q.H., 2017, Effects of dietary vitamin C, vitamin E, and alpha-lipoic acid supplementation on the antioxidant defense system and immune-related gene expression in broilers exposed to oxidative stress by dexamethasone, *Poultry Science*, 97(1), 30–38, doi:10.3382/ps/pex298.

El-Sheikh, S.E.M. and Salama, A.A., 2010, Effect of vitamin C and E as water additives on productive performance and egg quality of heat stressed local laying hens in Siwa oasis, Egyptian Poultry Science, 30(III): 679 - 697.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Elwinger, K., Fisher, C., Jeroch, H., Sauveur, B., Tiller, H. and Whitehead, C.C., 2016, A Brief History Of Poultry Nutrition Over The Last Hundred Years, World's Poultry Science Journal, 72(04), 701–720.

Erf, G., Bottje, W., Bersi, T., Headrick, M., and Fritts, C., 1998, Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: altered proportions of CD4 T cells in the thymus and spleen, Poultry Science, 77(4), 529–537, doi:10.1093/ps/77.4.529.

Estevinho, B.N., Carlan, I., Blaga, A. and Rocha, F., 2016, Soluble vitamins (vitamin B12 and vitamin C) microencapsulated with different biopolymers by a spray drying process, Powder Technology, 289, 71–78.

European Pharmacopoeia, 6.0 - 01 / 2008:20920 – 2.9.20, Particulate Contamination: Visible Particles.

FAO, 2018, Production, Accessed Date: 31.03.2024, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

Fechner, A., Knoth, A., Scherze, I. and Muschiolik, G., 2007, Stability and release properties of double-emulsions stabilised by caseinate–dextran conjugates, Food Hydrocolloids, 21(5-6), 943–952, doi:10.1016/j.foodhyd.2006.10.023.

Fisinin, V.I. and Kavtarashvili, A.S., 2015, Heat Stress in Poultry, II. Methods and Techniques for Prevention and Alleviation, Agri. Biol. 50, 431–443.

Fraj, J., Petrović, L., Đekić, L., Budinčić, J.M., Bučko, S. and Katona, J., 2021, Encapsulation and release of vitamin C in double W/O/W emulsions followed by complex coacervation in gelatin-sodium caseinate system, Journal of Food Engineering, 292, 110353, doi:10.1016/j.jfoodeng.2020.110353 .

Freund, J., Casal, J. and Hismer, E.P., Sensitization and antibody formation after injection of tubercle bacilli and paraffin oil, Proc Soc Exp Biol Med 1937;37:509.

Fritts, C.A. and Waldroup, P.W., 2003, Effect of Source and Level of Vitamin D on Live Performance and Bone Development in Growing Broilers¹, *The Journal of Applied Poultry Research*, 12(1), 45–52, doi:10.1093/japr/12.1.45.

Gadient, M., 1986, Effect of pelleting on nutritional quality of feeds, Maryland Feed Manufacturers, College Park, Maryland, USA

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Garcia, A.F.Q.M., Murakami, A.E., do Amaral Duarte, C.R., Rojas, I.C.O., Picoli, K.P. and Puzotti, M.M., 2013, Use of vitamin D3 and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality, *Asian Australas J Anim Sci.* 26(3):408–415.

Garti, N. and Aserin, A., 1996, Double emulsions stabilized by macromolecules surfactants, *Advances in Colloid and Interface Science*, 65(0), 37-69.

Gonglun, C. and Daniel, T., 2005, An Experimental Study of Stability of OilIn-Water Emulsion, *Fuel. Proc. Technol.*, 86: 499-508.

Gonnet, M., Lethuaut, L. and Boury, F., 2010, New trends in encapsulation of liposoluble vitamins, *Journal of Controlled Release*, 146(3), 276–290.

Grand View Research, 2022, Veterinary Dietary Supplements Market Size, Share & Trends Analysis Report by Product (Tablets & Capsules, Powder, Liquid), by Application (Companion Animals, Livestock), by Distribution Channel, by Region, and Segment Forecasts, <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/veterinary-dietary-supplements-market-report>.

Griggs, J.P. and Jacob, J.P., 2005, Alternatives to antibiotics for organic poultry production. *J. Appl. Poult. Res.*, 14, 750-756.

Gupta, S.K., Shinde, K.P. and Lone, S.A., 2016, The Potential Impact of Heat Stress on Production and Reproduction of Dairy Animals: Consequences and Possible Solutions: A Review, *Int. J. Sci. Envi. Technol.* 5, 903–911.

Hafez, H.M. and Attia, Y.A., 2020, Challenges to the Poultry Industry: Current Perspectives and Strategic Future After the COVID-19 Outbreak, *Front. Vet. Sci.* 7:516, doi: 10.3389/fvets.2020.00516.

Holick, M.F., 2004, Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis, *Am J Clin Nutr.* 79(3):362–371.

Ibtisham, F., An, L., Li, T., Niu, Y., Xiao, M., Zhang, L. and Jia, R., 2017, Growth Patterns of Two Chinese Native Goose Breeds, Brazil, J. Poul, Sci. 19, 203–210.

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), 2003, ICH Harmonised Tripartite Guideline – Stability Testing of New

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Drug Substances and Products Q1A(R2), Retrieved from <https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf>.

Iqbal, M., Zafar, N., Fessi, H., and Elaissari, A., 2015, Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation, International Journal of Pharmaceutics, 496(2), 173–190, doi:10.1016/j.ijpharm.2015.10.057.

Irfan, J. and Aslam, S., 2017, Vitamins: Key Role Players in Boosting Up Immune Response-A Mini Review, Vitamins & Minerals.

Jang, I.S., Ko, Y.H., Moon, Y.S., and Sohn, S.H., 2014, Effects of Vitamin C or E on the Pro-inflammatory Cytokines, Heat Shock Protein 70 and Antioxidant Status in Broiler Chicks under Summer Conditions, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 27(5), 749–756, doi:10.5713/ajas.2013.13852.

Jayanudin, J., Rochmadi, R., Fahrurrozi, M. and Sang, K., 2016, Microencapsulation Technology of Ginger Oleoresin With Chitosan as Wall Material: A review, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 6. 209-223.

Kabir, S.M.L., 2009, The Role of Probiotics in the Poultry Industry, International Journal of Molecular Sciences, 10(8), 3531–3546, doi:10.3390/ijms10083531

Kaimainen, M., Marze, S., Järvenpää, E., Anton, M. and Huopalahti, R., 2015, Encapsulation of betalain into w/o/w double emulsion and release during in vitro intestinal lipid digestion, LWT - Food Science and Technology, 60(2), 899–904, doi:10.1016/j.lwt.2014.10.016

Khan, B.A., 2011, Basics of pharmaceutical emulsions: A review, African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5(25), doi:10.5897/ajpp11.698.

Khatibjoo, A., Mahmoodi, M., Fattahnia, F., Akbari-Gharaei, M., Shokri, A.N. and Soltani, S., 2018, Effects of dietary short-and medium-chain fatty acids on performance, carcass traits, jejunum morphology, and serum parameters of broiler chickens. J. Appl.

Kırkpınar, F., Ünlü, H.B., Serdaroğlu, M. ve Turp, G.Y., 2014, Effects of dietary oregano and garlic essential oils on carcass characteristics, meat composition, colour, pH and sensory quality of broiler meat, *British Poultry Science*, 55:2, 157-166, DOI: 10.1080/00071668.2013.87998.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Konieczka, P., Barszcz, M., Kowalczyk, P., Szlis, M. and Jankowski, J., 2019, The potential of acetylsalicylic acid and vitamin E in modulating inflammatory cascades in chickens under lipopolysaccharide-induced inflammation, *Veterinary Research*, 50(1), doi:10.1186/s13567-019-0685-4.

Korver, D., 2023, Vitamin Deficiencies in Poultry, University of Alberta.

Kumari, K., Raja, N. and Nath, D.N., 2018, Ameliorative Measures to Counter Heat Stress in Poultry, *World. Poult. Sci. J.* 74, 117–130.

Lavelle, P.A., Lloyd, Q.P., Gay, C.V. and Leach, R.M., 1994, Vitamin K Deficiency Does Not Functionally Impair Skeletal Metabolism of Laying Hens and Their Progeny, *The Journal of Nutrition*, 124(3), 371–377, doi:10.1093/jn/124.3.371.

Le Moinic, Pinoy., 1916, Les vaccins en emulsion dans les corps gras ou lipovaccins, *Compt. Rend. Soc. Biol.*

Leeson, S. and Summers, J.D., 2005, Commercial Poultry Nutrition, 3rd Edition, 398.

Lin, H., Wang, L.F., Song, J.L., Xie, Y.M. and Yang, Q.M., 2002, Effect of Dietary Supplemental Levels of Vitamin A on the Egg Production and Immune Responses of Heat-Stressed Laying Hens, *Poultry Science*, 81(4), 458–465, doi:10.1093/ps/81.4.458.

Lissant, K.J.L., 1984, Emulsions and emulsion technology, part III, In: Lissant Kenneth J, editor, *Surfactant Science Series*, vol. 6, 1984:206–10.

Lohakare, J., Chae, B.J. and Hahn, T.W., 2004, Effects of Feeding Methods (Water vs. Feed) of Vitamin Con Growth Performance and Carcass Characteristics in Broiler Chickens, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*.

Lohakare, J., Ryu, M., Hahn, T.-W., Lee, J. and Chae, B., 2005, Effects of Supplemental Ascorbic Acid on the Performance and Immunity of Commercial Broilers, *immunity J. Appl. Poult. Res.* 14. 10-19. 10.1093/japr/14.1.10.

Lv, S., Zhang, Y., Tan, H., Zhang, R. and McClements, D.J., 2019, Vitamin E encapsulation within oil-in-water emulsions: Impact of emulsifier type on physicochemical stability and bioaccessibility, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, doi:10.1021/acs.jafc.8b06347

Mabelebele, M., Alabi, O.J., Ng'ambi, J.W., Norris, D. and Ginindza, M.M., 2014, Comparison of gastrointestinal tract and pH values of digestive organs of Ross 308 broiler and indigenous

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Venda chickens fed the same diet, *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9 (1): 71-76.

Madene, A., Jacquo, M., Scher, J. and Desobry, S., 2006, Flavour encapsulation and controlled release (review), *International journal of food science & technology* 41, 1-21.

Mahagna, M. and Nir, I., 1996, Comparative development of digestive organs, intestinal disaccharidases and some blood metabolites in broiler and layer-type chicks after hatching, *Br. Poult. Sci.*, 37, 359–371.

Mahrose, K., Sonbol, S. and Mohamed, E., 2012, Response of laying hens to dietary vitamins A, E and selenium supplementation during summer months, *Egyptian Journal of Animal Production*, 47. 167-181.

Malone, M.E., Appelqvist, I.A.M. and Norton, I.T., 2003, Oral behaviour of food hydrocolloids and emulsions, Part 2. Taste and aroma release, *Food Hydrocolloids*, 17(6), 775- 784.

Markos, T., 2016, A Review on Pullorum Disease and its Economic Importance in Poultry Industry, *Journal of Poultry Science and Technology*, Volume 4, Issue 1, 01-10.

Martinez-Haro, M., Taggart, M.A., Green, A.J. and Mateo, R., 2009, Avian digestive tract simulation to study the effect of grit geochemistry and food on Pb shot bioaccessibility, *Environ. Sci. Technol*, 43, 9480–9486.

McClements, D., 2004, *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*, CRC Press, Boca Raton.

McDowell, L.R. and Ward, N.E., 2008, Optimum vitamin nutrition for poultry, *Int Poultry Prod*, 16(4):27–34.

Menezes-Blackburn, D., Gabler, S. and Greiner, R., 2015, Performance of Seven Commercial Phytases in an in Vitro Simulation of Poultry Digestive Tract. *J. Agric. Food Chem*, 63, 6142–6149, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01996>.

Mileva, M. and Galabov, A.S., 2018, Vitamin E and Influenza Virus Infection, Vitamin E in Health and Disease, doi:10.5772/intechopen.80954.

Min, Y.N., Niu, Z.Y., Sun, T.T., Wang, Z.P., Jiao, P.X., Zi, B.B., Chen, P.P., Tian, D.L. and Liu, F.Z., 2018, Vitamin E and Vitamin C supplementation improves antioxidant status and

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

immune function in oxidative stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene, Poultry Science, 97(4): 1238–1244, doi:10.3382/ps/pex417.

Minekus, M., Alming, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carriere, F., Boutrou, R., Corredig, M. and Dupont, D., 2014, A standardised static in vitro digestion method suitable for food—an international consensus, Food Funct. 5, 1113–1124.

Moghaddam, H.S., Mozhdah, E. and Kermanshahi, H., 2013, The effect of threonine and vitamin A on immune system in broiler chickens, Life Science Journal, 10. 798-803.

Mordor Intelligence, 2024, Poultry Feed Market - Growth, Trends, COVID-19 Impact, and Forecasts (2022 - 2027), <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/poultry-feed-market>.

Mota de Carvalho, N., Oliveira, D.L., Saleh, M.A.D., Pintado, M.E. and Madureira, A.R., 2021, Importance of gastrointestinal in vitro models for the poultry industry and feed formulations, Animal Feed Science and Technology, 271, 114730. doi:10.1016/j.anifeedsci.2020.114730.

Nava, G.M., Bielke, L.R., Callaway, T.R. and Castañeda, M.P., 2005, Probiotic alternatives to reduce gastrointestinal infections: The poultry experience. Animal Health Res. Rev., 6,105-118.

Nawab, A., Ibtisham, F., Li, G., Kieser, B., Wu, J., Liu, W., Zhao, Y., Nawab, Y., Li, K., Xiao, M. and An, L., 2018, Heat stress in poultry production: Mitigation strategies to overcome the future challenges facing the global poultry industry, Journal of Thermal Biology, Volume 78, Pages 131-139, doi:10.1016/j.jtherbio.2018.08.01.

Niu, Z.Y., Liu, F.Z., Yan, Q.L. and Li, W.C., 2009, Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress, Poultry Science, 88(10), 2101–2107, doi:10.3382/ps.2009-00220.

Nutrena, 2024, <https://nutrenaworld.com/the-poultry-digestive-system/>

Ozturk, B., Argin, S., Ozilgen, M. and McClements, D.J., 2015, Nanoemulsion delivery systems for oil-soluble vitamins: Influence of carrier oil type on lipid digestion and vitamin D3 bioaccessibility, *Food Chemistry*, 187, 499–506, doi:10.1016/j.foodchem.2015.04.065.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ozturk, E. ve Temiz, U., 2018, Encapsulation Methods and Use in Animal Nutrition. *Selcuk Journal of Agricultural and Food Sciences*, 32. 624-631.

PAC, 1972, Manual of Symbols and Terminology for Physicochemical Quantities and Units, Appendix II: Definitions, Terminology and Symbols in Colloid and Surface Chemistry, 31, 577, p606.

Pawar, S.S., Basavaraj, S., Dhansing, L.V., Nitin, K.P., Sahebrao, K.A., Vitthal, N.A., Manoj, B.P. and Kumar, B.S., 2016, Assessing and Mitigating the Impact of Heat Stress in Poultry.

Poshadri, A. and Aparna, K., 2010, Microenkapsulation Technology (review), *J. Res. Angrau*, 38,86-102.

Ravindran, V. and Abdollahi, M.R., 2021, Nutrition and Digestive Physiology of the Broiler Chick: State of the Art and Outlook. *Animals*, 11(10):2795, <https://doi.org/10.3390/ani11102795>.

Ravindran, V., 2013, Feed enzymes: The science, practice, and metabolic realities, *The Journal of Applied Poultry Research*, 22(3), 628–636, doi:10.3382/japr.2013-00739.

Rehman, Z.U., Che, L., Ren, S., Liao, Y., Qiu, X., Yu, S. and Ding, C., 2018, Supplementation of Vitamin E Protects Chickens from Newcastle Disease Virus-Mediated Exacerbation of Intestinal Oxidative Stress and Tissue Damage, *Cellular Physiology and Biochemistry*, 47(4), 1655–1666, doi:10.1159/000490984.

Rivlin, R.S., 2010, Riboflavin, In: Coates PM, Betz JM, Blackman MR, editors, *Encyclopedia of dietary supplements*, 2nd ed. London: Informa Health, p. 691–699.

Saeed, M., Abbas, G., Alagawany, M., Kamboh, A.A., Abd El-Hack, M.E., Khafaga, A.F. and Chao, S., 2019, Heat stress management in poultry farms: A comprehensive overview, *Journal of Thermal Biology*, doi:10.1016/j.jtherbio.2019.07.025.

Safarizadeh, A. and Zakeri, A., 2013, The effect of vitamin A and complex of vitamin E and selenium on growth factors and Humoral immunity in broiler chickens, *European Journal of Experimental Biology*, 3(4):99-102.

Sahin, K., Kucuk, O., Sahin, N. ve Ozbey, O., 2001, Effects of dietary chromium picolinate supplementation on egg production, egg quality and serum concentrations of insulin, corticosterone, and some metabolites of Japanese quails, *Nutr Res.* 21(9):1315–1321.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Sahin, K., Sahin, N., Kucuk, O., Hayirli, A. and Prasad, A.S., 2009, Role of Dietary Zinc in HeatStressed Poultry: A Review, *Poult. Sci.* 88, 2176–2183.

Sahin, K., Sahin, N., Onderci, M., Yaralioglu, S. ve Kucuk, O., 2001, Protective role of supplemental vitamin E on lipid peroxidation, vitamins E, A and some mineral concentrations of broilers reared under heat stress, *Veterinari Medicina*, 46, 140-144.10.17221/7870-VETMED.

Sahin, N., Sahin, K., Onderci, M., Karatepe, M., Smith, M.O. and Kucuk, O., 2005, Effects of Dietary Lycopene and Vitamin E on Egg Production, Antioxidant Status and Cholesterol Levels in Japanese Quail, *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 224-230.

Salager, J.L., Formulation concepts for the emulsion maker, In: Nielloud F, Mestres GM, editors, *Pharmaceutical Emulsions and Suspensions and Pharmaceutical, Science*, vol. 105, 2000:19–68.

Salvia-Trujillo, L., Qian, C., Martín-Belloso, O. And McClements, D.J., 2013, Influence of particle size on lipid digestion and β -carotene bioaccessibility in emulsions and nanoemulsions, *Food Chemistry*, 141(2), 1472–1480.

Schmidt, C.J., Persia, M.E., Feierstein, E., Kingham, B. and Saylor, W.W., 2009, Comparison of a modern broiler line and a heritage line unselected since the 1950s, *Poult. Sci.* 88, 2610–2619.

Schoener, A.L., Zhang, R., Lv, S., Weiss, J. and McClements, D.J., 2019, Fabrication of plant-based vitamin D3-fortified nanoemulsions: influence of carrier oil type on vitamin bioaccessibility, *Food Funct.*, 10(4):1826–35.

Schuch, A., Tonay, A.N., Köhler, K. and Schuchmann, H.P., 2014, Influence of the second emulsification step during production of W/O/W multiple emulsions: comparisons of different

methods to determine encapsulation efficiency in W/O/W emulsions, *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 92, 203-209.

Shakeri, M., Oskoueian, E., Le, H.H. and Shakeri, M., 2020, Strategies to Combat Heat Stress in Broiler Chickens: Unveiling the Roles of Selenium, Vitamin E and Vitamin C, *Veterinary Sciences*, 7(2), 71, doi:10.3390/vetsci7020071.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Shani-Levi, C., Alvito, P., Andrés, A., Assunção, R., Barberá, R., Blanquet-Diot, S., Bourlieu, C., Brodkorb, A., Cilla, A. and Deglaire, A., 2017, Extending in vitro digestion models to specific human populations: Perspectives, practical tools and bio-relevant information, *Trends Food Sci. Technol.*, 60, 52–63.

Shehata, A., Saadeldin, I., Tukur, H. and Habashy, W., 2020, Modulation of Heat-Shock Proteins Mediates Chicken Cell Survival against Thermal Stress, *Animals*, 10.10.3390/ani10122407.

Silva, C., Verruck, S., Ambrosi, A. and Luccio, M., 2022, Innovation and Trends in Probiotic Microencapsulation by Emulsification Techniques, *Food Engineering Reviews*, 14.10.1007/s12393-022-09315-1.

Stanley, D., Hughes, R.J. and Moore, R.J., 2014, Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: Influence on health, productivity and disease, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98, 4301–4310, <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5646-2>.

Svihus, B., 2014, Function of the digestive system, *J. Appl. Poult. Res.* 23, 306–314, <https://doi.org/10.3382/japr.2014-00937>.

Syed, B., Kesselring, J., Sánchez, J. and Gracia, M., 2021, Growth Performance and Nutrient Digestibility in Broiler Chickens Fed with an Encapsulated Blend of a Phyto-genic Feed Additive, *J. World Poult. Res.*, 11 (3): 278-285, doi:<https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2021.33>.

Tayyab, A.M., Howlider, A., Azad, A. and Rahman, S., 2010, Vitamin C and electrolyte supplementation to support growth and meat yield of broilers in a hot humid environment, *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 8.10.3329/jbau.v8i1.6399.

Tecnozoo, 2024, <https://tecnozoo.it/en/heat-stress-in-poultry/>

- Tolve, R., Tchuenbou, M., Laure, F., Di Cairano, M., Caruso, M., Scarpa, T. and Galgano, F.,** 2021, Encapsulation of bioactive compounds for the formulation of functional animal feeds: The biofortification of derivate foods, *Animal Feed Science and Technology*, 279.
- Trafalska, E. and Grzybowska, K.,** 2004, Probiotics-An alternative for antibiotics, *Wiad Lek*, 57, 491-498.
- Türkiye Cumhuriyeti Cumhurbaşkanlığı Yatırım Ofisi, 2023,** Why Invest In Turkish Agrofood Industry?, Sayfa 14. (invest.gov.tr)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vasiljevic, D., Parojcic, V.J., Primorac, M. and Vuleta, M.G.,** 2009, Rheological and droplet size analizisi of W/O/W multiple emulsions containing low concentrations of polymeric emulsifiers, *Journal of Serbian Chemical Society*, 74(7), 801-816.
- Verhoeckx, K., Cotter, P., López-Expósito, I., Kleiveland, C., Lea, T., Mackie, A., Requena, T., Swiatecka, D. and Wichers, H.,** 2015, The impact of food bioactives on health: in vitro and ex vivo models, Springer Nature.
- Ward, N.E.,** 2014, Stability of vitamins in pelleting, *Feed Pelleting Reference Guide Section 4: Ingredient Considerations*, Chapter 16.
- Wardhani, D.H., Cahyono, H. and Aryanti, N.,** 2019, Performance of Glucomannan-Alginate Combination As a PH Sensitive Excipient of Vitamin C Encapsulation Using Gelation Method, *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 185–192. doi:10.22159/ijap.2019v11i2.28519.
- Weber, G.M.,** 2009, Improvement of flock productivity through supply of vitamins for higher laying performance and better egg quality, *World Poult Sci J*, 65(3):443–458.
- Whitehead, C.C.,** 2000, Nutrition: The Integrative Science, *British Poultry Science* 41: 5–15.
- Whitehead, C.C.,** 2002, Vitamins in feedstuffs, In: Mc Nab, J, Boorman, N, editors. *Poultry feedstuff: supply, composition and nutritive value*, Roslin, UK: CABI Publishing, p. 181–190.
- Yang, Y. and McClements, D.J.,** 2013, Vitamin E bioaccessibility: Influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified α -tocopherol acetate, *Food Chem*, 141(1), 473–481.
- Yaqoob Khan, A., Talegaonkar, S., Iqbal, Z., Jalees Ahmed, F. and Krishan Khar, R.,** 2006, Multiple Emulsions: An Overview, *Current Drug Delivery*, 3(4), 429–443, doi:10.2174/156720106778559056.

- Yıldız, D.**, 2021, Feed and Additive, Global Poultry Industry and Trends, Erişim tarihi: 31.03.2024, <https://www.feedandadditive.com/global-poultry-industry-and-trends/>
- Yuan, J., Roshdy, A.R., Guo, Y., Wang, Y. and Guo, S.**, 2014, Effect of dietary vitamin A on reproductive performance and immune response of broiler breeders, *PloS One*, 9(8): e105677.
- Zhang, C., Li, D., Wang, F. and Dong, T.**, 2003, Effects of dietary vitamin K levels on bone quality in broilers, *Arch Tierernahr*, 57(3):197–206.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zhang, Y., Zhou, F., Zeng, X., Shen, P., Yuan, D., Zhong, M., Zhao, Q. and Zhao, M.**, 2022, pH-driven-assembled soy peptide nanoparticles as particulate emulsifier for oil-in-water Pickering emulsion and their potential for encapsulation of vitamin D₃, *Food Chem.*, 383:132489, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132489.

TEŞEKKÜR

Değerli bilgi ve tecrübeleri ile lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince bana yol gösteren danışmanım Sayın Prof. Dr. Ayşe NALBANTSOY'a,

Yüksek lisans tez çalışmamı ürün gruplarını ve laboratuvar olanaklarını benimle paylaşarak destekleyen Coral Biyoteknoloji San. Ve Tic. A.Ő. 'ye,

Deneysel çalışmalarım süresince bana destek olan Sayın Göksel ALKAÇ, Sayın Mustafa AKIN'a,

Tezim süresince, bana motivasyon veren, destekleri ve sevgileri ile her zaman yanımda olan arkadaşlarım Ayşe Dila ÇAĞLAR, Hülya Serap MOĞUL ve Miray ELİBÜYÜK'e,

Hayatımın her anında bana olan sonsuz sevgi ve güvenleri ile yanımda duran, benim için her türlü fedakarlıkta bulunan, her koşulda beni destekleyen sevgili annem Zerrin Uyar ve sevgili babam Arif Uyar'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

22 / 07 / 2024

Ece Uyar

ÖZGEÇMİŞ

Eğitim

2021-2024

Yüksek Lisans

Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

2016-2021

Lisans

Ege Üniversitesi Mühendislik Bölümü, Biyomühendislik Bölümü

Yabancı Diller

İngilizce, Almanca

Deneyim

2021 – 2022

Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü

İmmünoyoteknoloji ve Biyoaktivite Tarama Laboratuvarı, Biyomühendis

2022 – devam

Coral Biyoteknoloji San. ve Tic. A.Ş., Ar-Ge Uzmanı

Projeler

2020 - 2021

Abies nordmanniana subsp. equi-trojani (Kazdağı Göknarı) Kozalaklarından Uçucu Yağ Ekstraktlarının Hazırlanması ve Potansiyel Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması, TÜBİTAK 2209-B

Sözlü Sunumlar

Uyar, E., Akın, M., Nalbantsoy, A., 2024, Yem Endüstrisi İçin Multivitaminlerin Çift Emülsiyon Enkapsülasyon Yöntemiyle Formülasyonu ve Karakterizasyonu, 7th International Cukurova Agriculture and Veterinary Congress, Adana, Türkiye.

Makaleler

Çöven, F.O., Gür, S., Uyar E., Alsakini, K.A.M.H., Karabey, F., Çöven, F., Çalış, İ., Nalbantsoy, A., 2024, Assessment of *In-vitro* Cytotoxicity and *In-ovo* Virucidal Antiviral Efficacy of Various Plant Extracts and Bioactive Molecules, *Kafkas Univ Vet Fak Dergisi*, 30 (2): 171-178, DOI: 10.9775/kvfd.2023.30306.

Sarıkahya, N., Okkalı, G., Çöven, F.O., Zeinali, S., Gucur, G., Çağlar A.D., Uyar. E., Gören, A.C., Nalbantsoy, A., 2024, Antiviral, cytotoxic activities and chemical profile of two different species of *Abies nordmanniana* from Türkiye, *Turkish Journal Of Chemistry*, 1303-6130.

