

Derleme/Review

Organik Bir Materyal Olarak Pikan Cevizi (*Carya illinoensis*) Kabuğu Alternatif Bir Yem Katkı Maddesi Olabilir Mi?

Dilek KOR*, Filiz KARADAŞ, M. Reşit KARAGEÇİLİ

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Van, Türkiye
*e-posta: dilek.kor@gmail.com

Özet: Doğal besin tüketimi insan beslenmesinde gün geçtikçe önem kazanmakta ve artan tüketici talebi sonucunda organik gıda üretimi de yaygınlaşmaktadır. Dolayısıyla; sektör ve bilim dünyası, organik hayvansal gıda üretimi için bitkisel üretimde ortaya çıkan atık ürünlere odaklanmakta ve bu doğal ürünlerin hayvan beslemede kullanılabilirliğini son yıllarda giderek daha fazla tartışmaktadır. Pikan cevizi (*Carya illinoensis*) üretiminde açığa çıkan kabuk organik bir atık materyal olarak kabul edilmektedir. Pikan cevizi ile ilgili birçok araştırma yapılmış olmasına karşın son yıllarda pikan cevizi kabuğunun besinsel kompozisyonu ile insan ve hayvan sağlığını ilgilendiren bazı fitokimyasal özellikleri üzerine yapılan araştırma sayısının az olması bu alandaki bilimsel çalışmalara konu olmaya yeni başladığını göstermektedir. Yapılan mevcut çalışmalarda bildirilen verilere göre pikan cevizi kabuğunun yüksek lif içeriğine, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu dikkat çekmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda; pikan cevizi kabuğunun hayvan beslemede prebiyotik gibi immün sistemi destekleyen ve bazı patojenlerin gelişmesini durduran bir yem katkı maddesi olarak kullanılabilirliği düşünülebilir. Buna ek olarak; pikan cevizi kabuğunun etin uygun olmayan koşullarda pişirilmesi ve muhafaza edilmesi ile insanlarda sağlık sorunlarına neden olabilen bazı mikroorganizmaların gelişmesini baskılayan koruyucu fonksiyonu da ilgi çekicidir. Dolayısıyla doğal ve yeni bir ürün olarak pikan cevizi kabuğunun yem katkı maddesi olarak hayvan besleme alanındaki araştırmalara konu olabilecek potansiyele sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel, Antioksidan, Pikan cevizi kabuğu, Prebiyotik, Yem katkı maddesi

Is it Possible That Pecan Nut (*Carya illinoensis*) Shell as an Organic Material May Be an Alternative Feed Additive?

Abstract: Consumption of natural foods has become important day after day and organic food production has also become popular as a result of increasing demand of consumer. Therefore; industry and science world, for organic animal food production focuses on the waste products generated in plant production and the availability of these natural products in animal nutrition has been increasingly discussed in recent years. The shell which is released during the production of pecan nut (*Carya illinoensis*) is considered an organic waste material. Although there have been a lot of research on the pecan nut, in recent years the number of research articles associated with the nutritional composition and some phytochemical properties of pecan nut shell that related human and animal health is low and this shows that it is just beginning to be a subject of scientific work in this area. It has been underlined that pecan nut shell has high fiber content, antioxidant and antimicrobial properties according to reported data in the recent publications. In the view of such data, it may be thought that pecan nut shell can be used feed additive, like a prebiotic, supporting immune system and stopping the development of some pathogens. In addition; it is also interesting to note that there is the protective function of the pecan nut shell which suppresses the growth of some microorganisms that can cause health problems in humans due to the meat in cooked and preserved inappropriate conditions. Thus, it is concluded that pecan nut shell as a natural and a new product has potential subjected to research area of animal nutrition as feed additive.

Keywords: Antibacterial, Antioxidant, Pecan nut shell, Prebiotic, Feed additive

Giriş

Gıda endüstrisinden her yıl önemli miktarda açığa çıkan atık ürünlerin ne şekilde imha edileceği sektörün en çok uğraş verdiği ana konular arasında yer almaktadır. Bu amaçla son yıllarda kimyasal ve besinsel yüksek potansiyel değer taşıyan yan ürünlerin kullanımı için bazı araştırmalar yapılmaktadır (Graminha ve ark. 2008; Rodríguez Couto 2008; Orzua ve ark. 2009). Bu nedenle insanların güvenle tüketebileceği organik hayvansal gıdaların

üretimi için yine organik olan bu alternatif kaynakların hayvan beslemede kullanımı gün geçtikçe önem kazanmakta ve araştırılmaktadır.

Günümüzde işletmelerde yoğun üretimden dolayı oluşabilecek stres kaynakları hayvanların immün sistemini zayıflatmakta, paraziter hastalıklar da verim ve kaliteyi doğrudan düşürmektedir. Bu nedenle yüksek kapasiteli genotiplerden maksimum verimin alınabilmesi amacıyla uygun besleme koşullarının yanı sıra yem katkı maddelerinin kullanılması önem kazanmıştır. Yem katkı maddeleri konusunda yapılan çalışmalarda (Alp ve ark. 1999; Küçükersan 1999; Coşkun ve ark. 2000), antibiyotiklerin kanatlı hayvanların büyüme performansı ve yemden yararlanması üzerinde olumlu etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Antibiyotiklerin sindirim sistemi mikroflorası üzerine olan bu olumlu etkileri elbette onların antimikrobiyel özellikleri ile ilişkilendirilebilir. Ancak antibiyotiklerin kanatlı hayvan yetiştiriciliğinde uzun yıllar kullanımı sonucunda tespit edilen sorunlar araştırmacıları ve sektörü yeni arayışlara sürüklemiştir. Yoğun antibiyotik kullanımı yeni nesil dirençli bakterilerin gelişimini desteklemiş ve hastalıklarla mücadele zorlaşmıştır. Özellikle ürünlerdeki antibiyotik kalıntısı bunları tüketen insanlar için de risk faktörü durumuna gelmiştir (Landers ve ark. 2012). Ayrıca tüketicilerin bilinçlenmesi ile antibiyotik kullanımına karşı kamuoyu tepkisi de gelişerek kanatlı sektörü üzerinde baskı oluşturmuştur. Tüm bu gerekçelerle 01.01.2006 tarihinden itibaren Avrupa Birliğinde, 21.01.2006 tarihinden itibaren de Türkiye'de yem katkı maddesi olarak antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır (Resmi Gazete 2006; Tuncer 2007) Böylece kanatlı sektörde antibiyotiklere alternatif, bitkisel üretimlerde elde edilen ve doğal antimikrobiyel özelliklere sahip olabilecek yan ürünler araştırmacılar ve yetiştiriciler tarafından cazip materyaller olarak görülmektedir.

Pikan cevizi, Amerika'da ve Brezilya'da yoğun olarak yetiştirilmektedir. Türkiye'de ise yetiştiriciliği Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı bünyesinde faaliyet gösteren Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (BATEM) tarafından yapılmaktadır. Bununla birlikte Antalya bölgesinde pikan cevizi yetiştiren özel işletmeler de bulunmaktadır. Brezilya'nın güney bölgesinde pikan cevizi üretiminde % 40 – 50 civarında kabuğun açığa çıktığı ve parçalanmış olarak satışa sunulan bu materyalin su içerisinde demlenmesi ile çayının tüketildiği bildirilmiştir (Prado ve ark. 2014). Ratlarda yapılan *in vivo* çalışmalarda, pikan cevizi kabuğundan hazırlanan çayın kronik etanol alımını takiben oluşan oksidatif stresin yol açtığı karaciğer hasarını minimize edebileceği belirtilmiştir (Reckziegel ve ark. 2011; Müller ve ark. 2013).

Birçok bitki türevi olan antimikrobik maddelerin mikrobiyal enfeksiyonlara karşı yararlı olduğu kanıtlanmıştır ve ayrıca diğer iyileştirici yararları da sahip olabilmektedirler. Buna ilaveten çoğu bitki ve baharatın sahip olduğu uçucu yağ fraksiyonları, gıda koruyucu özelliğe ve gıda patojenleri üzerinde antimikrobiyel etkiye sahip olduğu literatürlerde yaygın olarak bildirilmiştir (Friedman ve ark. 2002; Olasupo ve ark. 2003). Pikan cevizi kabuğunun antioksidan özellikleri bilinen fenolik bileşikler (fenolik asit, flavonoid asit ve proantosiyanidin) bakımından zengin olduğu (Dimitrios 2006; Villarreal-Lozoya ve ark. 2007; Malik ve ark. 2009) ve çeşitli gıda patojenlerine karşı doğal bir antimikrobiyel özelliğe sahip olduğu (Van Loo ve ark. 2012) bildirilmektedir. Bununla birlikte; Van Loo ve ark. (2012), Pikan kabuğu ile ilgili yaptıkları çalışmalarda antimikrobiklerin inhibisyon gücünün antimikrobiyel bileşiklerin kaynağından ziyade ekstraksiyon metoduna bağlı olduğunu vurgulamışlardır. Bu nedenle Pikan kabuğuna yönelik olarak yapılmış çalışmalarda özellikle ekstraksiyon yöntemleri ele alınmıştır. Pikan cevizi kabuğu medikal alanda çalışan araştırmacıların da ilgisini çekmektedir. Özellikle ağrı kesici ve ödem azaltıcı etkileri fareler üzerinde denenmiş ve olumlu sonuçlar alındığı ifade edilmiştir (Trevisan ve ark. 2014). Diyetlerine pikan cevizi kabuğu ilave edilen (50 000, 100 000 ve 150 000 ppm) ratlarda özellikle 100 000 ve 150 000 ppm grubundaki erkek hayvanların besin tüketiminde istatistik olarak artış belirlendiği bildirilmiş; klinik kimya, hematoloji ve idrar parametrelerinde toksikolojik bir bulguya rastlanmadığı ifade edilerek ürünün non-mutajenik ve non-klastojenik özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Bu araştırmanın sonuç kısmında, pikan cevizi kabuğu liflerinin insanlar tarafından güvenli bir şekilde tüketilebileceği ve diyetlerde önemli bir lif kaynağı olarak değerlendirilebileceği önerilmiştir (Dolan ve ark. 2016).

Bu çalışmada; pikan cevizi kabuğunun besinsel içeriği ile birlikte antioksidan ve antimikrobiyel özelliklerine ilişkin olarak yapılmış sınırlı sayıda çalışmalara değinilmiş, hayvan beslemede alternatif bir yem katkı maddesi olarak kullanılabilmesi tartışılmıştır.

Pikan cevizi kabuğunun besinsel kompozisyonu

Pikan cevizine yönelik çalışmalara literatürde sıkça rastlanılmasına karşılık kabuğuna yönelik çalışmaların daha az olduğu görülmektedir. Pikan cevizi kabuğuna ilişkin mevcut bazı çalışmalar (Prado ve ark. 2009; Littlefield 2010; Prado ve ark. 2013) dikkate alındığında yüksek lif içeriği göze çarpmaktadır. Bu konuda çalışmalar yapan çeşitli araştırmacıların bildirdikleri değerler Çizelge 1, 2 ve 3 de verilmiştir.

Çizelge 1. Pikan cevizi kabuğunun besin kompozisyonu (Prado ve ark. 2009)

Bileşenler (g/100 g)	Ortalama ±Standart hata
Protein	2.2±0.04
Nem	16.8±0.1
Toplam lipid	1.1±0.1
Mineral	1.4±0.03
Toplam lif	48.6±0.06
Çözülebilir lif	3.1±0.09
Çözünemeyen lif	45.4±0.4
Karbonhidrat ¹	29.6
Kalori değeri (kcal/100 g)	331

¹ Karbonhidrat değeri 100-(% toplam lipid + % protein + % nem + % mineral + % toplam lif) eşitliği ile hesaplanmıştır.

Çizelge 2. Farklı boyutlardaki eleklerden geçirilen pikan cevizi kabuğunun selüloz, hemiselüloz ve lignin içerikleri (Littlefield 2010)

Örnek boyutu	Selüloz (%)	Hemiselüloz (%)	Lignin (%)
İnce ¹	9.53 ^a	7.38 ^a	26.53 ^b
Orta ²	24.17 ^b	18.43 ^c	25.16 ^a
Kaba ³	36.03 ^c	16.33 ^b	30.59 ^c

^{a,b,c}: Her bir sütundaki aynı harfler istatistik bakımdan farklılık olmadığını ifade eder (P<0.05).

¹: Elek delik çapı 1.295 mm'den geçebilenler.

²: Elek delik çapı 1.295 mm'den geçemeyip 1.885 mm'den geçebilenler.

³: Elek delik çapı 1.885 mm'den geçemeyenler.

Çizelge 3. Farklı yıllarda hasat edilen farklı pikan cevizi varyetelerine ait kabuklarda besin içeriği (Prado ve ark. 2013)

Besin bileşenleri (g/100 g)	Karışık varyete ¹ (2009)	Barton varyetesi (2009)	Karışık varyete (2010)	Barton varyetesi (2010)
Protein	2.58±0.11 ^{Ab}	2.21±0.12 ^{Bb}	2.84±0.11 ^{Aa}	2.79±0.03 ^{Aa}
Nem	7.95±0.04 ^{Bb}	10.09±0.07 ^{Ab}	11.30±0.04 ^{Aa}	11.83±0.20 ^{Aa}
Toplam lipid	0.42±0.04 ^{Ba}	0.91±0.10 ^{Aa}	0.39±0.003 ^{Aa}	0.31±0.006 ^{Bb}
Toplam mineral	1.63±0.37 ^{Aa}	1.11±0.24 ^{Aa}	1.85±0.20 ^{Aa}	0.88±0.16 ^{Ba}
Ham lif	46.11±0.21 ^{Ab}	44.77±0.21 ^{Bb}	48.47±0.43 ^{Ba}	49.77±0.28 ^{Aa}
Karbonhidrat	41.41±0.51 ^{Aa}	40.93±0.21 ^{Aa}	34.57±1.33 ^{Ab}	34.33±0.47 ^{Ab}

^{ABab}: Aynı satırda büyük harfle gösterim aynı yılda farklı varyetelere ilişkin ortalamaların farklılığını, aynı satırda küçük harfle gösterim aynı varyetenin farklı yıllardaki ortalamalarının farklılığını ifade eder (P<0.05).

¹: Barton, Shoshone, Shawnee, Choctaw, Stuart ve Cape Fear varyetelerinin karışımı.

Hayvan sağlığı ve performansı için dikkate alınması gereken konular arasında kuşkusuz ilk sırada besin maddelerinin emilimi gelmektedir. Probiyotikler üzerine yapılan çalışmalar bu ürünlerin öneminin anlaşılmasına yol açarak araştırmacıların prebiyotikler konusuna ve kanatlı hayvanların bağırsak histomorfolojisini esas alan çalışmalara odaklanmasına neden olmuştur. Probiyotiklerin yeme ilave edildiklerinde laktik asit üreten bakterilerin kolonizasyonunu hızlandırmak suretiyle sindirim sisteminde var olan *E.coli* ve *Salmonella* gibi patojenik bakterileri kendisine bağlayarak vücuttan dışarı attıkları, konakçının bağışıklığını destekledikleri bildirilmiştir (Delzenne 2003).

Hayvan besleme çalışmalarında prebiyotik etkisi olduğu ifade edilen karbonhidrat türevleri incelenmiştir (Pagan ve ark. 1999a; Pagan ve ark. 1999b; Spring ve ark. 2000; Iji ve ark. 2001; Kim 2002; Van Loo 2007; Adeleye ve ark. 2008; Toghyani ve ark. 2011; Sadeghi ve ark. 2013; Hajati ve ark. 2014; Helal ve ark. 2015).

Bitkilerde depo karbonhidrat olarak bol miktarda bulunan ve fruktan zincirlerinin bir karması olan inülin hayvan besleme çalışmalarında ele alınmış ve prebiyotik etkisinin olduğu ifade edilmiştir (Kim 2002; Van Loo 2007). Kanatlılarda prebiyotik denemelerinde kullanılan bir diğer madde Mannan oligosakkarittir (MOS). Bu çalışmalarda MOS'un yararlı bakteriler tarafından enerji kaynağı olarak kullanıldığı, intestinal mukozayı iyileştirdiği, villileri artırdığı ve özellikle jüenümda maltaz, aminopeptidaz ile alkalın fosfotaz aktivitesini artırdığı belirtilmektedir. Toghyani ve ark. (2011), prebiyotik (Prototoxin TM) ve prebiyotik (MOS) alan broiler civcivlerde 28 ve 42 günlük yaşta belirlenen canlı ağırlık kazancının kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu (P<0.05), prebiyotik grubunda tüm periyod boyunca istatistiksel olarak daha yüksek miktarda yem tüketimi belirlendiğini, prebiyotik ve antibiyotik (flavofosfolipol) alımının abdominal yağ miktarını önemli düzeyde azalttığını bildirmişlerdir. İmmün parametrelerin (immün organ ağırlıkları, beyaz kan hücreleri, antikor profili)

incelendiği bir çalışmada broiler civcivlerin yemlerine prebiyotik olarak MOS ve β -glukan ilavesi yapılmış, Newcastle ve *Salmonella enteritidis* ile enfekte olmuş broiler civcivlerde enfekte olmamış gruba göre daha yüksek immün cevaplar tespit edildiği belirtilmiştir (Sadeghi ve ark. 2013).

Son yıllarda yapılan bir başka çalışmada, broiler yemlerine ilave edilen probiyotik kullanımının incelenen parametreler üzerinde önemli bir etkisinin belirlenmediğini ancak prebiyotik ilavesinin yumurtadan çıkışı ve humoral bağışıklığı geliştirdiği ifade edilmiştir (Hajati ve ark. 2014).

Helal ve ark. (2015), yaptıkları bir çalışmada broiler yemlerine ilave ettikleri antibiyotik (chlortetracycline) ve prebiyotik (%11.7 MOS, %9.2 β -glukan, vitamin B kompleksi, esansiyel amino asitler, mineral ve Vitamin E) katkıların etkilerini karşılaştırmışlar; prebiyotik ilavesi yapılan grupta antibiyotik ve kontrol gruplarına göre büyüme performansının önemli düzeyde yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Yukarıda özetlenen çalışmalardan da anlaşıldığı gibi kanatlı hayvanlarla ilgili besleme araştırmalarında son yıllarda prebiyotik etkisi olduğu düşünülen materyallere odaklanılmaktadır. Bu bağlamda; Pikan cevizi kabuğunun karbonhidrat içeriği düşünüldüğünde, bu alanda yapılan çalışmalara konu olabileceği aklı gelmektedir.

Pikan cevizi kabuğuna yönelik bazı araştırmalarda kullanılan ekstraksiyon teknikleri ve belirlenen antioksidan kapasitesi

Bitki çaylarının hazırlanmasında kurutulmuş toprak üstü kısımları (yaprak, çiçek, kabuk, meyve, tohum) ya da toprak altı kısımlarının (kök, rizom, yumru) sıcak su içerisinde demlenmesi işlemine infüzyon, kaynatılması işlemine de dekoksasyon adı verilmektedir (Piljac-Žegarac ve ark. 2013). Pikan kabuğundan ekstrakt eldesi için birçok çalışmada infüzyon tekniği kullanıldığı bildirilmektedir (Prado ve ark. 2009; Prado ve ark. 2013; Prado ve ark. 2014).

Prado ve ark. (2009), 2006 yılında hasat edilen bazı pikan cevizi varyetelerine (Barton, Shoshone, Shawnee, Choctaw ve Cape Fear) ait kabukları harmanlayarak elde ettikleri karışımlardan örnekler almış ve infüzyon tekniği kullanarak antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri ortalama değerler bakımından; kuru ekstrakt miktarını 23 ± 5 g/100 g, toplam fenolik düzeyini 138 ± 26 mg GAE(Gallik asit cinsinden eşdeğeri)/g, kondanse tanen miktarını 43 ± 7 mg CE (Kateşin eşdeğeri)/g ve antioksidan kapasitesini (ABTS = radikal katyon) 1404 ± 330 μ mol TEAK (Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite)/g olarak bildirmişlerdir. Aynı çalışmada; tokoferollerin, pikan kabuğu ekstraktlarının ve ekstrakt+tokeferol karışımının oksidasyon inhibisyonu üzerindeki etkileri de karşılaştırılmıştır. Araştırmacılar, en yüksek oksidasyon inhibisyonunun infüzyona tabi tutulan ekstrakt örneklerinde görüldüğünü ifade etmiş ve ekstrakt + tokeferol karışımındaki bileşenlerin aralarında sinerjik bir etki oluşturmadığını vurgulamışlardır.

Pikan kabuğunda yapılan bu çalışmaların birçoğunda ekstraksiyon prosesi üzerinde durulmuş ve infüzyon ile hazırlanan örneklerde Spray Dryer (Püskürtmeli Kurutucu) teknolojisi kullanıldığı ifade edilmiştir (Prado ve ark. 2013; Prado ve ark. 2014). Spray Dryer ile kurutma, sıcak hava ile sıvının bir silindire atomize parçacıklar biçiminde verilmesini içermektedir. Böylece sıvı ürün çok kısa bir sürede ince taneler halinde kurutulmakta ve sulu ekstreten yüksek % verime sahip toz ekstre elde edilmiş olmaktadır (Işık 2010). Polifenollerce zengin ekstraktların kullanımı içeriğindeki bu maddelerin biyo yararlılığının ve stabilitesinin korunmasına bağlıdır. Bundan başka bazı fenolik bileşiklerin hoşça gitmeyen tatları onların kullanımlarını sınırlamaktadır. Serbest formda bulunan bileşikler yerine püskürtmeli kurutucu (Spray Drying) teknoloji ile elde edilen kapsüllü polifenoller bu olumsuz özelliklerin ortaya çıkışını engelleyebilir. Antioksidan özellikler gösteren bitki ekstraktları, probiyotikler ve bitkisel liflerin mikropartikülleri bu teknoloji ile elde edilerek çalışılmıştır (Chiou ve Langrish 2007; Homayouni ve ark. 2008).

Farklı tekniklerle (infüzyon, infüzyonu takiben püskürtmeli kurutucu, etanol ekstraksiyonu ve süper kritik akışkan ekstraksiyonu) ekstrakte edilen pikan kabuğu örneklerinde toplam fenolik bileşikler ile kondanse tanen miktarı ve antioksidan aktivite (ABTS ve DPPH) incelenmiş ve çalışmada (Prado ve ark. 2014) bildirilen sonuçlar Çizelge 4'de verilmiştir. Çalışmada, infüzyon ile elde edilen ekstrakt örneklerinde belirlenen toplam fenolik bileşik miktarının ve antioksidan aktivitenin alkolik (etanol) ekstrakt örneklerindeki göre önemli düzeyde yüksek bulunmasına karşılık tanen içeriğinin alkolik (etanol) ekstraktlarda istatistik olarak daha yüksek belirlendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, infüzyonla elde edilen ekstraktlardaki durumu hidrolize olabilen tanenler, şekerler, bazı pigmentler ile proantosiyanidin gibi suda çözünebilir fraksiyonlarla ilişkili bulurken alkolik ekstraktlarda belirlenen daha yüksek tanen içeriğini moleküler yapısı daha kompleks olan lignoselülozik bileşiklerin organik çözücülerde çözünebilmeleri ile açıklamışlardır. Kosolvent olarak etanolün kullanıldığı

süper kritik akışkan ekstraksiyonu aynı çalışmada kullanılmış ve elde edilen örneklerdeki parametrelerin klasik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilenlere göre daha düşük değerlere sahip olduğu bildirilmiştir. Ancak iki ayrı basınç değerinde denedikleri süper kritik akışkan ekstraksiyon sonuçlarını karşılaştırdıklarında; 200 bar basınç uygulamasının 100 bar'lık basınca göre parametrelerdeki değerlerin önemli düzeyde artmasına sebep olduğu vurgulanmıştır. Basınç 100 bar'dan 200 bar'a çıkarıldığında kuru ekstrakt, toplam fenolik ve kondanse tanen içeriğinin sırasıyla 10, 25 ve 60 kez daha yüksek belirlendiği bildirilmiştir. Basınç olarak 200 bar uygulamasında antioksidan aktivitedeki önemli artışın 100 bar'daki değerlere göre ABTS ve DPPH için sırasıyla 20 ve 40 kat olduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar, bu durumu çözücü yoğunluğundaki değişikliğin ve sabit sıcaklıkta artırılan basıncın ekstraksiyon randımanını yükseltmesi ile açıklamışlardır. Püskürtmeli kurutucu teknolojisi ile elde edilen örneklerde ise kurutma prosesinden sonra katı madde (fenolik bileşikler ve kondanse tanenler) miktarında belirlenen önemli artışın yanı sıra antioksidan aktivitenin de zenginleşmiş olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 4. Farklı yöntemlerle ekstrakte edilen pıkan cevizi kabuklarında belirlenen kuru ekstrakt (KE), toplam fenolik bileşik (TF) ve kondanse tanen (KT) miktarı ile antioksidan kapasite (AK) (Prado ve ark. 2014)

	Geleneksel ekstraksiyon yöntemi		Süperkritik ekstraksiyon yöntemi		İnfuzyon + spray dryer
	İnfuzyon	Alkol	100 bar	200 bar	
KE (g/100g)	32.12±0.43 ^A	32.09±0.77 ^A	0.83±0.02 ^B	8.40±0.90 ^A	46.36±0.50*
TF (mg/GAE g)	181.49±6.97 ^A	167.85±3.89 ^B	0.34±0.01 ^B	9.30±0.10 ^A	590.78±4.41*
KT (mg/CE g)	36.94±3.20 ^B	412.1±9.46 ^A	0.48±0.01 ^B	29.00±2.00 ^A	48.70±1.50*
AK _{ABTS} (µmol/TEAK g)	1809.01±27.18 ^A	1562.51±33.15 ^B	4.95±0.04 ^B	100.00±5.00 ^A	4124.83±57.09*
AK _{DPPH} (µmol/TEAK g)	612.24±26.73 ^A	524.77±40.72 ^B	1.91±0.03 ^B	79.20±0.80 ^A	1210.97±25.24*

^{AB}: Aynı ekstraksiyon yönteminde aynı satırda bulunan farklı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05).

*: İnfuzyon+Spray drying işlemine ve diğer ekstraksiyon yöntemlerine maruz kalan örnekler arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05).

Pıkan cevizi kabuğunun antimikrobiyel özelliği

Fenolik bileşikler mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ajan olarak da fonksiyon göstermektedirler (Rauha ve ark. 2000; Serrano ve ark. 2009). Kafeik, gallik, *p*-kumarik, protokateşik ve ferulik asit gibi fenolik asitlerin çeşitli bakterilerin (*Bacillus cereus*, *Escherichia coli* spp., *Salmonella* spp.) gelişmesini inhibe edici aktiviteye sahip olduğu; kateşin ve kuersetin gibi flavonoid bileşiklerin *Bacillus* spp., *E.coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* ve *Vibrio* spp. türlerine karşı bakteriyostatik veya bakterisid etki gösterdiği bildirilmiştir (Rauha ve ark. 2000; Puupponen-Pimiä ve ark. 2001; Naz ve ark. 2007; Vaquero ve De Nadra 2008).

Tavuk eti, üretim teknolojisi ve özellikle kesim işlemi sırasında oluşabilecek kontaminasyonlar ile pişirme ve muhafaza hataları nedeniyle çoğu patojen mikroorganizmaların da önemli bir kaynağı durumundadır. Örneğin *Listeria* enfeksiyonlarında bulaşmanın kontamine olmuş çiğ ya da az pişmiş gıdalar ile pişirme işleminden sonra çeşitli nedenlerle *Listeria* türleri ile kontamine olmuş gıdalardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Epidemiyolojik çalışmalar, kontamineli gıdalardan dolayı Listeriosis enfeksiyonlarının özellikle immün sistemi baskılanmış insanlarda önemli sağlık sorunlarına neden olduğunu ortaya koymaktadır (Erol ve Şireli 1999).

Babu ve ark. (2013), yeni bir ekstraksiyon yöntemi (çözücüsüz) kullanarak organik pıkan cevizi kabuğundan ekstrakte ettikleri doğal antimikrobiyellerin 7 farklı *Listeria* türünün baskılanmasındaki etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, söz konusu antimikrobiyellerin bakterileri inhibe edici minimum konsantrasyonları (MIK) ile ilgilenmişlerdir. Çalışmada bildirilen yöntemlere göre; ceviz kabuklarını kırarak parçalamışlar, bunların bir kısmını direk olarak ekstraksiyona tabi tutarken (Pıkan Kabuğu Ekstraktesi=PKE) diğer kısmını kurutarak toz haline getirdikten sonra ekstrakte etmişlerdir (Pıkan Kabuğu Tozu=PKT). Araştırmacılar; taze tavuk bagetlerinden peeling yöntemi ile elde ettikleri deri örneklerinin bir kısmını bakteri kültürleri (*Listeria* spp.) ile inoküle ettiklerini ve daha sonra da antimikrobiyellerle muamele ettiklerini belirtmişler, bir kısım deri örneğini ise inoküle etmeden kendi üzerinde mevcut olan bakterilerle değerlendirdiklerini ifade etmişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre kullanılan *Listeria* türleri içerisinde ikisi hariç diğerlerinin her iki ekstrakta karşı önemli düzeyde duyarlı oldukları bildirilmiştir. Kurutulmuş-toz haline getirilmiş kabuklardan (PKT) elde edilen ekstrakta ait MIK değerinin %0.38, kurutulmamış-toz haline getirilmemiş kabuklardan (PKE) elde edilen MIK değerinin %1,5 olarak belirlendiği ve bu farkın önemli (P<0.05) bulunduğu ifade edilmiştir. Aynı üründen (pıkan ceviz kabuğu) elde edilmelerine rağmen bu önemli farklılığın sebebi, kurutma işlemi ile nem kaybeden materyalde antimikrobiyal oranındaki artışa ve böylece ekstraktların kimyasal kompozisyonuna atfedilmiştir.

Böylece PKT ekstraktlarının antimikrobiyal özelliğinin daha etkili olduğu vurgulanmıştır. İnokülasyon yapılmamış deri örneklerinde PKE ekstraktının %0.75'lik konsantrasyonu denendiğinde ise antimikrobiyal faydanın doğal olarak mevcut olan bakteri popülasyonu üzerinde etkili olduğu ($P<0.05$) belirtilmiş ve bu uygulamamın kanatlı et ürünlerinde raf ömrünü uzatabileceği ifade edilmiştir.

Prado ve ark. (2014), farklı ekstraksiyon yöntemleri (infüzyon, infüzyon+spray dryer ve etanol ekstrakt) ile Pikan kabuğundan elde ettikleri özütlerin bazı mikroorganizmalar üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bu etki incelenirken Pikan kabuğu ekstraktları, izole edilen fenolik bileşikler (Gallik asit, Klorojenik asit, Epigallokateşin, Epikateşingallat) ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 5). Çalışmada, en kuvvetli inhibisyonun saf fenolik bileşiklere göre pikan kabuğu ekstraktlarında gözlemlendiği bildirilmiştir. Araştırmacılar, bunun nedeninin pikan kabuğundaki kompleks fenolik bileşiklerden kaynaklandığını ve bu bileşiklerin farklı formlarının antimikrobiyal etkiyi zenginleştirdiğini belirtmişlerdir. Özellikle *Listeria monocytogenes*'in büyümesinin baskılanmasında fenolik bileşiklerin izole edilmiş formlarına göre ekstraktların daha yüksek bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ifade edilmiştir.

Çizelge 5. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Bacillus cereus* mikroorganizmalarına karşı farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen pikan cevizi kabuğu ekstraktlarının ve başlıca fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitesi (Prado ve ark. 2014)

	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19117	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> ATCC 17802	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11718
İnfüzyon	++	+	-	+
İnfüzyon+spray dryer	++	-	-	+
Etanol ekstrakt	++	+	+	+
Gallik asit	-	-	-	-
Klorojenik asit	-	-	-	-
Epigallokateşin	-	+	-	-
Epikateşin gallat	+	-	+	+

Patojenlerin ortalama inhibisyon alanı (mm): + = 7-11 mm, ++ = 12-16 mm, - = inhibisyonun olmaması.

Aynı çalışmada ekstraktların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) ve Minimum Bakterisid Konsantrasyonları da (MBK) belirlenmiştir (Çizelge 6). Tüm ekstraktların bakterisid aktivite gösterdiği, *L. Monocytogenes*'in daha geniş bir inhibisyon alanına sahip olmasına rağmen en düşük MİK ve MBK değerlerinin *S. aureus*, *V. parahaemolyticus* ve *B. cereus* türlerinde gözlemlendiği bildirilmiştir. *L. Monocytogenes*'in suşları karşılaştırıldığında ise, ATCC 19112 ile ilgili testlerde ekstraktların ATCC 19177 suşuna göre daha düşük konsantrasyonlarda daha etkili oldukları ifade edilmiştir. Benzer durum *S. aureus* testlerinde de gözlemlenmiş ve ATCC 25923 suşunun diğerlerine (ATCC 29213 ve ATCC 6538) göre daha düşük MİK ve MBK değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 6. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Bacillus cereus* mikroorganizmalarına karşı farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen pikan cevizi kabuğu ekstraktlarında belirlenen Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve Minimum Bakterisid Konsantrasyonu (MBK) (Prado ve ark. 2014)

	İnfüzyon (mg/mL)		İnfüzyon+spray dryer (mg/mL)		Etanol ekstrakt (mg/mL)	
	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19117	2.5±0.01 ^A	2.5±0.03 ^a	0.93±0.01 ^B	0.93±0.01 ^b	1.87±0.01 ^A	1.87±0.03 ^a
<i>L. monocytogenes</i> IIATCC 19112	1.25±0.02 ^A	1.25±0.04 ^a	0.62±0.01 ^B	0.93±0.01 ^a	1.25±0.02 ^A	1.25±0.01 ^a
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.15±0.01 ^A	0.63±0.01 ^a	0.15±0.01 ^A	0.63±0.03 ^a	0.15±0.01 ^A	0.47±0.09 ^a
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0.46±0.13 ^A	1.25±0.10 ^a	0.23±0.09 ^A	0.31±0.05 ^b	0.62±0.16 ^A	1.25±0.07 ^a
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	0.46±0.01 ^A	1.25±0.02 ^a	0.23±0.03 ^A	0.31±0.04 ^b	0.62±0.05 ^A	1.25±0.04 ^a
<i>V. parahaemolyticus</i> ATCC 17802	0.15±0.01 ^B	0.15±0.02 ^b	0.31±0.01 ^A	0.31±0.01 ^a	0.31±0.02 ^A	0.31±0.01 ^a
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	0.11±0.01 ^A	0.23±0.01 ^a	0.075±0.01 ^B	0.31±0.01 ^a	0.15±0.01 ^A	0.15±0.01 ^a

^{AB}: Aynı satırdaki farklı büyük harflerle gösterilen MİK değerlerine ilişkin ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($P<0.05$).

^{ab}: Aynı satırdaki farklı küçük harflerle gösterilen MBK değerlerine ilişkin ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($P<0.05$).

Sonuç

Pıkan cevizi kabuğu, ceviz yetiştiriciliğinde açığa çıkan organik bir yan ürün olarak tanımlanabilir. Mevcut araştırılmalar değerlendirildiğinde, pıkan cevizi kabuğunun yüksek lif içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal kapasitesi nedeniyle hayvan besleme alanında alternatif bir yem katkı maddesi olarak kullanılabilir. Olanaklarının araştırılmaya değer olduğu ifade edilebilir.

Kaynaklar

- Adeleye OO, Ologhobo AD, Adebisi OA, Adebisi FG, Moiforay S, Adeyemo GO (2008). In vitro assessment for prebiotic potentials of some carbohydrate/fibrous feedstuffs fed in broiler diets. In: Conference on International Research on Food Security NRMaRD, 7-9 October 2008, University of Hohenheim, Tropoltag.
- Alp M, Kocabađlı N, Kahraman R, Bostan K (1999). Effects of dietary supplementation with organic acids and zinc bacitracin on ileal microflora, pH and performance in broilers. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 23 (5): 451-456.
- Babu D, Crandall PG, Johnson CL, O'Bryan CA, Ricke SC (2013). Efficacy of antimicrobials extracted from organic pecan shell for inhibiting the growth of *Listeria spp.* J. of Food Science. 78 (12): M1899-M1903.
- Chiou D, Langrish T (2007). Development and characterisation of novel nutraceuticals with spray drying technology. Journal of Food Engineering. 82 (1): 84-91.
- Coşkun B, Őeker E, İnal F (2000). Feeds and Technology, pp. 192-222, In: Yemler ve Teknolojisi 3. Baskı. Seluk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın nitesi, Konya.
- Delzenne NM (2003). Oligosaccharides: state of the art. Proceedings of the nutrition Society. 2 (1): 177-182.
- Dimitrios B (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. Trends in Food Science & Techn. 17 (9): 505-512.
- Dolan L, Matulka R, Worn J, Nizio J (2016). Safety studies conducted on pecan shell fiber, a food ingredient produced from ground pecan shells. Toxicology Reports. 3: 87-97.
- Erol İ, Şireli UT (1999). Incidence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* in frozen broiler carcasses. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 23 (EK4): 765-770.
- Friedman M, Henika PR, Mandrell RE (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. Journal of food protection. 65 (10): 1545-1560.
- Graminha E, Gonçalves A, Pirota R, Balsalobre M, Da Silva R, Gomes E (2008). Enzyme production by solid-state fermentation: Application to animal nutrition. Animal Feed Science and Tech., 144 (1): 1-22.
- Hajati H, Hassanabadi A, Yansari AT (2014). The Effect of dietary supplementation of prebiotic and probiotic on performance, humoral immunity responses and egg hatchability in broiler breeders. Poultry Science Journal. 2 (1): 1-13.
- Helal MS, Youssef FM, Moursi MK, Khalil WF, Abdel-Daim MM (2015). Effectiveness of prebiotic as an alternative to the antimicrobial growth promoter on growth performance, blood constituents, intestinal healthiness and immunity of broilers. Alexandria Journal for Veterinary Sciences. 45: 13-25.
- Homayouni A, Azizi A, Ehsani M, Yarmand M, Razavi S (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. Food Chemistry. 111 (1): 50-55.
- Iji PA, Saki AA, Tivey DR (2001). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81 (12): 1186-1192.
- Işık S (2010). Biyoteknolojik ynden önemli tıbbi bitkiler ve bitkisel rnlerde kalitenin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Kim M (2002). The water-soluble extract of chicory affects rat intestinal morphology similarly to other non-starch polysaccharides. Nutrition Research. 22 (11): 1299-1307.
- Kkersan K (1999). Yem katkı maddeleri. Ders Notları, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara.
- Landers TF, Cohen B, Wittum TE, Larson EL (2012). A review of antibiotic use in food animals: perspective, policy, and potential. Public health reports. 127 (1): 4-22.
- Littlefield B (2010). Characterization of pecan shells for value-added applications. Master's Thesis, Graduate Faculty of Auburn University, Alabama, USA.
- Malik NS, Perez JL, Lombardini L, Cornacchia R, Cisneros-Zevallos L, Bradford J (2009). Phenolic compounds and fatty acid composition of organic and conventional grown pecan kernels. Journal of the Science of Food and Agriculture. 89 (13): 2207-2213.
- Mller LG, Pase CS, Reckziegel P, Barcelos RC, Bouffleur N, Prado ACP, Fett R, Block JM, Pavanato MA, Bauermann LF (2013). Hepatoprotective effects of pecan nut shells on ethanol-induced liver damage. Experimental and toxicologic pathology. 65 (1): 165-171.

- Naz S, Siddiqi R, Ahmad S, Rasool S, Sayeed S (2007). Antibacterial activity directed isolation of compounds from Punica granatum. Journal of food science. 72 (9):
- Olasupo N, Fitzgerald D, Gasson M, Narbad A (2003). Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*. Letters in Applied Microbiology. 37 (6): 448-451.
- Orzua MC, Mussatto SI, Contreras-Esquivel JC, Rodriguez R, de la Garza H, Teixeira JA, Aguilar CN (2009). Exploitation of agro industrial wastes as immobilization carrier for solid-state fermentation. Industrial Crops and Products. 30 (1): 24-27.
- Pagan J, Seerley B, Cole D, Lowe J, Tangtrongpiros J (1999a). Antibiotic resistance: Perception versus science. Feeding Times. 4 (1): 4.
- Pagan J, Seerley B, Cole D, Tangtronggiros J (1999b). How do mannanoligosaccharides work? Feeding Times. 1: 7-9.
- Piljac-Žegarac J, Šamec D, Piljac A (2013). Herbal teas: A focus on antioxidant properties, pp. 129-140, In: Tea in health and disease prevention, Preedy V, Academic press.
- Prado ACP, Aragão AM, Fett R, Block JM (2009). Antioxidant properties of Pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] shell infusion. Grasas y aceites. 60 (4): 330-335.
- Prado ACP, da Silva HS, da Silveira SM, Barreto PLM, Vieira CRW, Maraschin M, Ferreira SRS, Block JM (2014). Effect of the extraction process on the phenolic compounds profile and the antioxidant and antimicrobial activity of extracts of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch] shell. Industrial Crops and Products. 52 (Supplement C): 552-561. Doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.11.031
- Prado ACP, Manion BA, Seetharaman K, Deschamps FC, Arellano DB, Block JM (2013). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of the oil and the shell of pecan nuts [*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]. Industrial Crops and Products. 45: 64-73.
- Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, Oksman-Caldentey KM (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. J. of Applied Microbi., 90(4):494-507.
- Rauha J-P, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kähkönen M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H, Vuorela P (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International journal of food microbiology. 56 (1): 3-12.
- Reckziegel P, Dias VT, Benvegnú D, Boufleur N, Barcelos RCS, Segat HJ, Pase CS, dos Santos CMM, Flores ÉMM, Bürger ME (2011). Locomotor damage and brain oxidative stress induced by lead exposure are attenuated by gallic acid treatment. Toxicology letters. 203 (1): 74-81.
- Resmi Gazete (2006). Yem katkıları ve premikslerin üretimi, ithalatı, ihracatı, satışı ve kullanımı hakkında tebliğde değişiklik yapılmasına dair tebliğ, Tarım ve Köyişleri Bakanlığında 21 Ocak 2006 sayı:26056, 21 Ocak 2006.
- Rodríguez Couto S (2008). Exploitation of biological wastes for the production of value-added products under solid-state fermentation conditions. Biotechnology Journal. 3 (7): 859-870.
- Sadeghi AA, Mohammadi A, Shawrang P, Aminafshar M (2013). Immune responses to dietary inclusion of prebiotic-based mannan-oligosaccharide and β -glucan in broiler chicks challenged with *Salmonella enteritidis*. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 37 (2): 206-213.
- Serrano J, Puupponen-Pimiä R, Dauer A, Aura AM, Saura-Calixto F (2009). Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. Molecular nutrition & food research. 53 (S2): S310-S329. Doi:10.1002/mnfr.200900039
- Spring P, Wenk C, Dawson K, Newman K (2000). The effects of dietary mannaoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. Poultry Science. 79 (2): 205-211.
- Toghyani M, Toghyani M, Tabeidian S (2011). Effect of probiotic and prebiotic as antibiotic growth promoter substitutions on productive and carcass traits of broiler chicks. In: Biotechnology ICoFEa, 7-9 May 2011, Singapura. pp. 168-184.
- Trevisan G, Rossato MF, Hoffmeister C, Müller LG, Pase C, Córdova MM, Rosa F, Tonello R, Hausen BS, Boligon AA (2014). Antinociceptive and anti-inflammatory effect of pecan (*Carya illinoensis*) nut shell extract in mice: a possible beneficial use for a by-product of the nut industry. Journal of basic and clinical physiology and pharmacology. 25 (4): 401-410.
- Tuncer H (2007). Karma yemlerde kullanımı yasaklanan hormon, antibiyotik, antikoksidiyal ve ilaçlar. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. 47 (1): 29-37.
- Van Loo EJ (2007). How chicory fructans contribute to zootechnical performance and well-being in livestock and companion animals. The Journal of nutrition. 137 (11): 2594S-2597S.
- Van Loo EJ, Babu D, Crandall PG, Ricke SC (2012). Screening of commercial and pecan shell-extracted liquid smoke agents as natural antimicrobials against foodborne pathogens. Journal of food protection. 75 (6): 1148-1152.

- Vaquero MJR, De Nadra MCM (2008). Growth parameter and viability modifications of *Escherichia coli* by phenolic compounds and argentine wine extracts. *Applied biochemistry and biotechnology*. 151 (2-3): 342-352.
- Villarreal-Lozoya JE, Lombardini L, Cisneros-Zevallos L (2007). Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. *Food Chemistry*. 102 (4): 1241-1249.