

KİTOSAN OLİGOSAKKARİTİN HAYVAN BESLEMEDE KULLANIMI
II- ANTİOKSİDAN, ANTİMİKROBİYAL VE DİĞER ETKİLERİ
(DERLEME)

(The use of chitosan oligosaccharide in animal nutrition
II- Antioxidative, antimicrobial and the other effects)
(A review)

Onur KESER¹

Tanay BİLAL¹

¹ İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları ABD, Avcılar/İSTANBUL

Geliş Tarihi: 08.05.2009

Kabul Tarihi: 05.08.2009

ÖZET

Kitosan, deniz kabukluları ve böceklerin dış iskelet yapısında ve bazı mantarların hücre duvarlarında yaygın olarak bulunan doğal bir polimer olan kitinin deasetile edilmesiyle elde edilir. Birçok biyolojik aktiviteleri olmasına rağmen bu maddenin daha yüksek çözünürlüğe sahip düşük molekül ağırlıklı oligosakkarit formu olan kitosan oligosakkarit (KOS) türevi geliştirilmiştir. Son yıllarda antibiyotiklere alternatif olarak çalışmaların sakkaritik doğal ürünlere odaklanması KOS'e olan ilgiyi artırmıştır. Bağışıklık ve performans üzerine yararlı etkileri yanında KOS'in antimikrobiyal, antioksidan, antikanserojen, antidiyabetik etkileri ile lipid ve kolesterol düşürücü etkilerinin olduğu yakın zamanda yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu bölümde kitosan oligosakkaritin hayvanlarda antioksidan, antimikrobiyal, antikanserojen, antidiyabetik ve kolesterol düşürücü etkileri incelenmiştir.

Anahtar sözcükler: Antimikrobiyal, Antioksidan, Kitosan oligosakkarit

SUMMARY

Chitosan is produced by deacetylation of chitin, an abundant natural polymer in exoskeletons of crustaceans and insects and in the cell wall of some fungi. Although it has many biological activities, its oligosaccharide form with higher soluble and lower molecular weight known as chitosan oligosaccharide was developed. Due to the recent studies have focused on natural saccharidic products that may be alternative to antibiotics, it made COS attracting. Besides its beneficial effects on immunity and performance, it was demonstrated that COS had antimicrobial, antioxidative, anticancer, antidiabetic, lipid and cholesterol lowering effects by recent studies. In the present paper, antioxidative, antimicrobial and other effects of COS in animals were investigated.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, Chitosan oligosaccharide

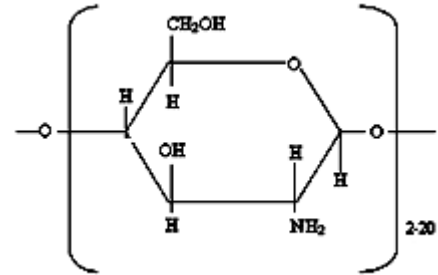
GİRİŞ

Antibiyotikler enfeksiyöz hastalıklara karşı duyarlılığı azaltmak için terapötik ve büyümeyi ilerletici yem katkı maddesi olarak hayvancılıkta uzun senelerden beri kullanılmaktadır (2). Fakat insan sağlığı açısından antibiyotiklere karşı bakteri rezistansı oluşması (33) riskinden dolayı hayvancılık sektöründe yem katkı maddesi olarak kullanılması günümüzde yasaklanmıştır (41). Antibiyotiklerin eksikliğinin üstesinden gelebilmek amacıyla; ortamdan patojenlerin uzaklaştırılması ve bağırsak mikroflorasının düzenlenmesine yardım eden yem katkı maddeleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (29). Oligosakkaritlerin tüketilmesinin konakta genel sağlık durumunu iyileştirici etkisi bilinmektedir (7). Galakta oligosakkarit (GOS), mannan oligosakkarit (MOS) ve frukto oligosakkarit (FOS) gibi belli başlı oligosakkaritlere ek olarak yakın zamanda kitosan oligosakkaritinde (KOS) sağlık üzerinde yararlı etkileri olduğu tespit edilmiştir. Bu maddenin antimikrobiyal, antifungal ve antitümör aktivitelerine (42) ek olarak antioksidan (35), kan kolesterol ve trigliserit düzeyini düşürücü (37) etkileri olduğu bildirilmektedir.

Bu derlemede prebiyotik olarak kullanılan belli başlı oligosakkaritlerden kitosan oligosakkaritin hayvan beslemede antioksidan, antimikrobiyal, antikanserojen, antidiyabetik ve kolesterol düşürücü etkileri ele alınacaktır.

KİMYASAL YAPISI

Kitosan; eklem bacaklıların (deniz kabukluları, böcek vs.) dış iskeletinde ve bazı mantarların hücre duvarlarında doğal bir polimer olarak bulunan kitinin deasetile edilmesi sonucunda β -1,4-2-deoksi-2-amino-D-glikopiranoz ve β -1,4-2-deoksi-2-asetamido-D-glikopiranoz birimlerinden oluşan linear bir polisakkarittir (39). Çoğu ticari olarak üretilen kitosanın molekül ağırlığı 100-1200 kDa arasında olup (30) yüksek molekül ağırlığı ve 6.8'den yüksek pH değerlerinde çözümlülüğünün düşük olması nedeniyle pratik kullanımı oldukça sınırlıdır (31). Kitosanın önemli fonksiyonel aktiviteleri olduğu bilinmesine karşın gerek kısa zincir uzunluğu ve D-glikozamin birimlerindeki serbest amino grupları nedeniyle suda hızlı çözünebilme özelliği gerekse nötral pH'da düşük vizkozitesi (16) nedeniyle son yıllarda çalışmalar KOS üzerinde yoğunlaşmıştır. KOS'in kimyasal yapısı Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Kitosan oligosakkaritin kimyasal yapısı

ANTIOKSİDAN ETKİ

Doğada yaygın olarak bulunması ve toksik olmayan yapısından dolayı kitosan ve derivatlarının antioksidan aktivitesine son yıllarda ilgi oldukça artmıştır. Bu konuda

yapılan araştırmalar kitosan ve derivatlarının antioksidan aktivitesini esas olarak polimer zincirlerindeki aktif hidroksil ve amino gruplarına bağlı olarak gösterdiğini ortaya koymuştur (35). Huang ve ark. (9) KOS'in metal iyon tutum yeteneğinin hidroksil radikal tutucu potansiyeli üzerine büyük lde etkisinin olduğunu belirterek bu potansiyelin KOS'in sahip olduğu hidroksil ve amino grupları sayesinde şelatlayıcı yeteneğe, moleküler yk ve proton verebilme özelliklerine bağlı olarak oluştuğunu bildirmektedirler. Bu özelliklere ek olarak KOS'in serbest radikal tutucu özelliğinin bu maddenin deasetile edilme derecesine ve moleküler ağırlığına bağlı olarak değiştiği de belirtilmektedir. Yin ve ark. (44) düşük molekül ağırlığına sahip KOS'in 0.5 mg/ml düzeyindeki konsantrasyonda % 80'den daha fazla süperoksit radikal tutucu aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Molekül ağırlığına ek olarak KOS'in yüksek derecede deasetile (% 90) edilmiş şeklinin hidroksil, süperoksit ve karbon merkezli radikallerin tutulumunda daha tercih edilebilir olduğu da ileri sürülmüştür (10). KOS'in antioksidan etkisiyle ilgili laboratuvar ortamında yapılan çalışmalar dışında canlı hayvan kullanılarak yapılan deneyler çok az olmakla birlikte çoğunluğu farelerle yapılmıştır. Laboratuvar farelerinde karbon tetraklorid (CCl₄) ile oluşturulacak karaciğer hasarına karşı KOS ve derivatlarının (d-glukozamin [GlcNH₂] ve N-asetil-d-glukozamin [GlcNAc]) koruyucu etkisinin araştırıldığı bir denemede hayvanlara 12 gün süresince 1.5 g/kg CA oranında KOS ve derivatları intra-gastrik yoldan verilmiş ve

sonradan intra-peritoneal olarak 20 mg/kg CA oranında CCl₄ tatbik edilmiştir. Denemede hayvanlarda KOS ve derivatları ile yapılan ön tedavi vücudun antioksidan savunma mekanizmasını gclendirmiş ve CCl₄'n oksidatif hasar oluşturmasını önlemiştir. Ayrıca KOS ve derivatları karaciğerde malondialdehit (MDA) oluşumunu engellemiş, bu organın antioksidan yeteneğini yeniden kazanmasını sağlamış ve ayrıca böbreklerde lipid peroksidasyonunu da inhibe etmiştir (43). Shon ve ark. (32) tarafından labotaruvar farelerinde KOS'in farklı molekül ağırlığına sahip iki formunun (1-3 kDa arası [KOS 1] ve 3-5 kDa arası [KOS 2]) 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-*p*-dioksin (TCDD) ile oluşturulmuş oksidatif stres üzerine etkisini araştırdıkları benzer bir çalışmada, hayvanlara bu iki farklı KOS 500 mg/kg CA düzeyinde intra-gastrik olarak 14 gün süresince uygulanmış ve uygulamanın 8. gününde taşıyıcı madde olarak mısır yağıyla beraber 25 µg/kg CA düzeyinde TCDD oral gavajla uygulanmıştır. Deneme sonucunda KOS 1 mikrozomal MDA oluşumunu nlemeyip lipid peroksidasyonu üzerinde etkili olmamıştır. Fakat KOS 2 verilen grupta mikrozomal MDA oluşumunu kontrol grubuna göre % 20.3 oranında azaltarak lipid peroksidasyonunu, glutatyon peroksidaz inhibisyonunu ve canlı ağırlık ile karaciğerde ağırlık kaybını önlemiştir.

ANTİMİKROBİYAL ETKİ

Primer amino gruplarına sahip olan kitosan ve KOS'un antibakteriyal mekanizmada esas rolü bu amino gruplarının

sayısının üstlendiği düşünülmektedir (3). KOS'in antimikrobiyal mekanizması ile ilgili çoğunlukla kabul edilen görüş bu maddenin mikrobiyal hücre membranı geçirgenliğini değiştirerek hücre için gerekli materyallerin geçişini önlemesi ve hücre içi materyallerde azalmaya yol açarak mikrobun ölümüne yol açması şeklindedir (34). Antibakteriyal etki ile ilgili diğer bir görüş ise bakteriyal DNA içerisine giren KOS'un RNA transkripsiyonunu bloke etmesi yönündedir (14). KOS molekülleri pozitif yüklü amino gruplarının bakterilerin hücre yüzeyindeki negatif yüklü karboksilik asit makromoleküllerine bağlanmasında etkili olmaktadır (5). Genel olarak molekül ağırlığı 5-27 kDa arasında olan düşük molekül ağırlığına sahip KOS'lerin bakteriyal gelişimi baskıladığı kabul edilmektedir (6). Kitosan ile KOS'in karşılaştırıldığı bazı araştırmalarda antibakteriyal etki bakımından farklı sonuçlara da rastlanmaktadır. Quin ve ark. (27) kitosanın *E. coli* üzerine etkisinin KOS'den daha yüksek olduğunu ve KOS'un antimikrobiyal etkisinin zayıf olduğunu bildirirken Zheng ve Zhu (45) aksini bildirmektedir. Ayrıca kitosanın KOS'e göre daha fazla sayıda amino grubu içermesi ve dolayısıyla molekül ağırlığının daha yüksek olması nedeniyle antimikrobiyal etkisinin daha düşük olduğu da bildirilen başka bir sonuçtur (23).

KOS'in antimikrobiyal etkisiyle ilgili literatür bildirişlere bakıldığında yapılan çalışmaların çoğunun in vitro düzeyde olduğu görülmektedir. Jeon ve Kim (12), ultrafiltrasyon membran reaktörü kullanarak ürettikleri KOS'in *E. coli* üzerine etkisini

araştırdıkları bir çalışmada ortama % 0.5 düzeyinde KOS katılmasının *E. coli* gelişimini tamamen önlediğini ve aynı etkinin % 0.01 düzeyde KOS kullanılması durumunda da oluştuğunu bildirmişlerdir. Choi ve ark. (5)'nin molekül ağırlığı 2000 ile 30.000 Da arasında değişen KOS karışımının antimikrobiyal etkisini araştırdıkları çalışmalarında *A. actinomycetemcominans*'ın % 0.1 oranında KOS'e maruz bırakılması ile inaktive olduğunu ve elektron mikroskobu ile yapılan incelemede bakterinin hücre zarının yıkımlandığını gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde Moon ve ark. (26)'nın sığır mastitisinden izole edilen *S. aureus* enfeksiyonuna karşı KOS'in etkisini araştırdıkları bir çalışmada ilgili bakterinin KOS'in % 0.0001-0.5 arasındaki oranlarda muamele edilmesinin bakteri gelişimini 10 dak. içerisinde önlediğini ve mikroskobik incelemede bakteri yüzeyinin bütünlüğünü kaybederek eridiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada peritonal olarak *S. aureus* ile enfekte edilen farelere 7 gün süresince günde 0.5-2 mg miktarında oral yoldan KOS verilmesi hayatta kalma oranını % 70-100 yaparken kontrol grubundaki farelerde bu oran ancak % 10 düzeyinde kalmıştır. Wang ve ark. (40) tarafından KOS, kitosan ve *Pseudomonas* CUY8'den elde edilen kitosaz enziminin bir dizi bakteri (*E. coli*, *S. aureus*, *S. lactis*, *B. subtilis*) ve mantar (*Rhodotorula bacarum*, *Sac. Cerevisiae*, *Mucor circinelloides*, *Rhizopus apiculatus*, *P. charlesii*, *A. niger*) üzerine antimikrobiyal karşılaştırılmasının yapıldığı bir çalışmada bu üç maddenin bakteriler üzerine olan etkisi mantarlar üzerine olan etkiden önemli derecede yüksek

bulunmuştur. Antimikrobiyal etki bakımından ise KOS kitosandan önemli derecede yüksek etki göstermiş, fakat kitosanz enziminden önemsiz derecede düşük etkiye sahip olmuştur.

KOS'in antimikrobiyal etkisi ile ilgili in vitro çalışmalar yanında canlı hayvanlarla yapılan denemeler oldukça az sayıdadır. Elde edilen sonuçlar KOS'in bir prebiyotik olarak yararlı mikroorganizmaların gelişmesini desteklediği ve buna karşın zararlı olanları önlediği yönündedir. Sütten kesilen domuzlarla yapılan bir araştırmada kontrol grubu dışındaki deneme gruplarına KOS (100, 200 ve 400 mg/kg) ve klotetrasiklin (80 mg/kg) katılmıştır. Deneme sonucunda KOS katılan gruplarda dışkıdaki *Lactobacillus* sayısı kontrol ve antibiyotik verilen gruptan önemli derecede yüksek bulunmuş fakat *E. coli* sayısı KOS ve antibiyotik verilen gruplarda kontrol grubuna göre daha düşük çıkmıştır (22). Benzer etki broylerlerle yapılan bir çalışmada da görülmüş ve yeme 100 mg/kg düzeyinde KOS katılması sindirim sisteminde *Lactobacillus* sayısını artırırken *E. coli* sayısında azalmaya yol açmıştır (21). Sütten kesilen domuzlarda yapılan başka bir denemede Han ve ark. (8) denemenin 4. haftasında % 0.1 ve 0.3 KOS katılan grupta dışkı *E. coli* sayısının kontrol grubundan daha düşük olduğunu (sırasıyla 6.71, 6.54 ve 7.35 log CFU/g), denemenin 8. haftasında ise % 0.3 KOS verilen grupta dışkıdaki *Clostridium spp.* sayısının kontrol grubundan daha düşük (sırasıyla 5.43 ve 6.26 log CFU/g) olduğunu belirterek KOS'un zararlı bakteriyal üremeyi engellediği sonucuna varmışlardır. KOS'in antimikrobiyal etkisi Tablo 1'de verilmiştir.

ANTİKANSEROJEN ETKİ

Yapılan çalışmalar sonucunda KOS'in tümör engelleyici etkisinin tümör hücrelerini doğrudan öldürerek değil lökositler, sitotoksik T hücreleri ve natural killer hücreler gibi immun sistemle ilgili savunma araçlarının uyarılmasıyla olduğu düşünülmektedir (38). KOS'in molekül ağırlığının antitümör aktivitede önemli bir unsur olduğu bildirilmektedir. Jeon ve Kim (11) tarafından laboratuvar farelerinde farklı molekül ağırlığına (yüksek, orta, düşük) sahip KOS'in antitümör aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada 40 günlük besleme döneminde orta düzey molekül ağırlığına (1.5-5.5 KDa arası) sahip KOS'in etkili bir şekilde Sarcoma 180 solid (S180) ve Uterine cervix carcinoma No 14 (U14) tümör hücrelerinin gelişimini önlediği belirtilerek, KOS'in en etkili düzeyinin günde 20 mg/kg olduğu bildirilmiştir.

Kim ve ark. (17) laboratuvar farelerinde farklı molekül ağırlıktaki KOS'in (1-3 KDa [KOS 1] ve 3-5 KDa [KOS 2]) kanser enzimleri üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada hayvanlara tümör hücreleri (Ehrlich hücreleri) implantasyonundan sonra 10 gün süresince 10 ve 100 mg/kg CA miktarında KOS uygulanmış ve hayvanlar 20 gün süresince izlenmiştir. Deneme sonunda KOS verilen farelerde hayatta kalma oranı % 33 olarak tespit edilmiş ve ayrıca quinon redüktaz (QR) enzim aktivitesi KOS seviyesine bağlı olarak artmıştır. Sitokrom P450 1A1 enzim aktivitesinde ise KOS 1 ve KOS 2 için sırasıyla % 26 ve % 33 lük bir azalma tespit edilmiştir.

Tablo 1. Kitosan oligosakkaritin antimikrobiyal etkisi

		Antibakteriyal aktivite* (%)			Kaynak
		YMAKOS	OMAKOS	DMAKOS	
Gram (-)	<i>Escherichia coli</i>	98	62	51	Jeon ve ark.(13)
	<i>Escherichia coli</i> O-157	71	56	60	
	<i>Salmonella typhi</i>	91	88	89	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47	35	22	
Gram (+)	<i>Streptococcus mutans</i>	100	99	99	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	97	95	93	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	82	57	23	
	<i>Bacillus subtilis</i>	63	60	63	
	<i>Micrococcus luteus</i>	70	67	63	
		MIK* (%)			
Bakteri	<i>Escherichia coli</i>	0.08	Wang ve ark.(40)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.12			
	<i>Streptococcus lactis</i>	0.12			
	<i>Bacillus subtilis</i>	0.12			
Mantar	<i>Rhodotorula bacarum</i>	0.13			
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0.13			
	<i>Mucor circinelloides</i>	0.15			
	<i>Rhizopus apiculatus</i>	0.15			
	<i>Penicillium charlesii</i>	0.14			
	<i>Aspergillus niger</i>	0.15			

*Kültür ortamına % 0.1 oranında kitosan oligosakkarit (KOS) ilavesinin etkileridir.

YMAKOS: Yüksek molekül ağırlıklı KOS (10-5 kDa), OMAKOS: Orta molekül ağırlıklı KOS (5-1 kDa), DMAKOS: Düşük molekül ağırlıklı KOS, MIK: Minimum inhibe edici konsantrasyon.

ANTİDİYABETİK ETKİ

Diyabet (Diabetes mellitus); hiperglisemi, lipid, karbonhidrat ve protein metabolizmasındaki değişimlerle beraber vasküler hastalık komplikasyon riskini artıran bir metabolik hastalıktır ve göze çarpan en karakteristik belirtisi dolaşım sistemindeki glikoz konsantrasyonunun artmasıdır (1). Diyabet ayrıca organizmada plazma yağ asidi ve serbest radikal düzeyini artırarak ve antioksidan düzeyi azaltarak endotelial hasara yol açabilmektedir. Bozulmuş lipid, glikoz ve antioksidan düzeylerinin iyileştirilmesinin diyabete bağlı komplikasyonların önlenmesinde yararlı olabileceği (20) yönündeki bildirişler dikkate alındığında

KOS'in bu bakımdan dolaylı olarak etki gösterebileceği düşünülebilir. Miura ve ark. (25), polimerik kitosanın neonatal diyabetik farelerde kan glikoz ve lipid düzeyini düşürücü etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Kondo ve ark. (19) düşük molekül ağırlıklı kitosanın farelerde 22 hafta gibi uzun süre uygulanmasının diyabetin yavaş seyrini önlediğini ve kitosanın antidiyabetik etkisini pankreas dokusundaki β -hücrelerinin azalmasını önleyerek gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Lee ve ark. (20) streptozotosin kullanarak yapay olarak oluşturdukları Tip 2 diyabetli (insülin-bağımsız diabetes mellitus) ratlara % 0.3 KOS'i 4 hafta süresince

uygulanmışlar ve deneme sonucunda KOS içirilen diyabetik ratlarda diyabetik kontrol grubuna göre açlık glikoz düzeyi % 19 azalmış, glikoz toleransı önemli derecede artmış ve serum tokluk-trigliserit düzeyleri % 49 azalmıştır. Araştırmacılar sonuç olarak KOS'in diyabetik ratlarda trigliserit azaltıcı, glikoz tolerans ve insülin sekresyonunu artırıcı etkisinin olduğunu ve ayrıca mitokondriyadaki vakuolizasyon ve miyofibrillerdeki ayrılma ve dejenerasyon gibi diyabetik kardiyomiyopati bulgularını azalttığını belirterek bu maddenin antidiyabetik ajan olarak kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

YAĞ DÜŞÜRÜCÜ VE HİPOKOLESTEROLEMİK ETKİ

Kitosan ile ilgili yakın zamanda yapılan çalışmalar bu maddenin yemdeki yağları bağlayabilme ve bağırsaktan absorpsiyonunu önleyebilme yeteneğinin olduğunu göstermiştir. Kobayashi ve ark. (18) tarafından yapılan bir çalışmada kitosanın broylerde abdominal yağ düzeyinde önemli bir azalma yarattığı ve ince bağırsak içeriğinde lipaz aktivitesini azalttığı gözlenmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan bir çalışmada 2 hafta süresinde 3-6 g kitosan alımının kan kolesterol düzeyini % 6 azalttığı ve HDL-kolesterol düzeyinde % 10'luk bir artış yarattığı bildirilmiştir (24). Kolesterol ile zenginleştirilmiş yemle beslenen ratlarda yeme farklı viskoziteye sahip kitosan ilavesinin etkilerinin araştırıldığı bir denemede gruplara sırasıyla % 5 selüloz, % 5 yüksek viskoziteli kitosan ve % 5 düşük viskoziteli kitosan içeren yemlerle 4 haftalık bir besleme programı

uygulanmıştır. Çalışma sonucunda kitosan içeren yemle beslenen ratlarda plazma total kolesterol, LDL-kolesterol ve VLDL-kolesterol konsantrasyonları önemli derecede düşük bulunmuşken dışkı ile atılan kolesterol ve trigliserit içeriğinin önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca her iki kitosan grubunda karaciğer total lipid ve kolesterol içeriği de selüloz grubuna kıyasla önemli derecede azalmıştır (4). Kitosan yanında KOS'in de kan kolesterol düzeyini düşürücü etkiye sahip olduğu bildirilmektedir. Kan kolesterol düzeyinin azalmasında KOS'in etki mekanizmasıyla ilgili değişik görüşler mevcuttur. Bir görüşe göre KOS safra tuz ve asitleriyle iyonik bağ oluşturarak sindirim kanalında lipid sindirimi sırasında misel oluşumunu inhibe etmektedir (28). Bir başka görüşe göre ise kitosan ve oligomerleri doğrudan lipid ve yağ asitlerini bağlamaktadır (36).

KOS'in karaciğer fonksiyonları üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, her birinde 8 laboratuvar faresi olacak şekilde 3 grup üzerinde yapılan denemede kontrol grubuna sadece bazal yem, iki deneme grubundan birine % 3 kolesterol, diğerine ise % 1 KOS + % 3 kolesterol içeren yem 6 hafta süresince verilmiştir. Deneme sonucunda yeme KOS ilavesi sadece kolesterol içeren yemle beslenen gruba göre serum total kolesterol düzeyinde % 23'lük bir düşüş yaratmıştır (15). Aynı araştırmacıların laboratuvar farelerinde etanolün karaciğer hasarı üzerine KOS'in koruyucu etkisini ortaya koyan diğer bir çalışmada deneme gruplarına 8 hafta

süresince su ile karıştırılarak sırasıyla % 15 etanol ve % 15 etanol + % 0.5 KOS uygulanmıştır. Tek başına % 15 etanol verilen grupta karaciğerin periferik lobüllerinde ve portal venlerde lipid yoğunlaşmasına ve mikroskobik incelemede hepatositler içerisinde yaygın lipid vakuollerine rastlanmasına rağmen % 15 etanol + % 0.5 KOS karışımı verilen grupta bu oluşumlara hiç rastlanmamıştır.

Li ve ark. (21) tarafından broylerlerde yapılan bir çalışmada gruplara sırasıyla antibiyotik (başlangıç döneminde 80 mg/kg, büyüme döneminde 50 mg/kg klortetrasiklin), 50 mg/kg ve 100 mg/kg KOS içeren yemler

verilmiştir. Denemenin 21. gününde en düşük serum trigliserit ve kolesterol düzeyi 100 mg/kg KOS verilen grupta tespit edilmiş, fakat gruplar arasında HDL-kolesterol düzeyleri bakımından önemli bir farklılığa rastlanmamıştır. Denemenin 42. gününde ise yine 100 mg/kg KOS verilen grupta en düşük serum trigliserit ve kolesterol düzeyine rastlanmış ve buna ek olarak HDL-kolesterol düzeyi de diğer üç gruptan önemli derecede yüksek bulunmuştur. KOS'in lipid ve kolesterol düzeyleri üzerine etkisi Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Kitosan oligosakkaritin lipid ve kolesterol düzeyleri üzerine etkisi

Tür	Parametreler	Gruplar				Kaynak
		Kontrol	Yem I	Yem II	-	
Fare	Karaciğer kolesterol, mg/g	10.40 ^a	9.10 ^a	10.30 ^a	-	Kim ve ark.(15)
	Plazma kolesterol, mg/dl	84.02 ^a	127.45 ^b	165.78 ^c		
	Plazma HDL kolesterol, mg/dl	13.38 ^a	12.21 ^a	13.78 ^a		
		Kontrol	KOS [*] % 3			Lee ve ark.(20)
Rat	Açlık plazma trigliserit, mg/dl	81.3	69.5	-		
	Açlık plazma kolesterol, mg/dl	145.0	133.2			
	Tokluk plazma trigliserit, mg/dl	198.6	124.0			
	Tokluk plazma kolesterol, mg/dl	140.1	124.0			
Diyabetik rat	Açlık plazma trigliserit, mg/dl	78.9	65.9			
	Açlık plazma kolesterol, mg/dl	150.0	122.0			
	Tokluk plazma trigliserit, mg/dl	222.2 ^a	114.0 ^b			
		Tokluk plazma kolesterol, mg/dl	126.8	111.9		
		Kontrol	KTS ^{**}	KOS 50 mg/kg	KOS 100 mg/kg	Li ve ark.(21)
Broyler	Serum Trigliserit, mg/dl	86.7 ^a	76.0 ^a	78.1 ^a	63.4 ^b	
	Serum Total kolesterol, mg/dl	110.5 ^b	116.6 ^b	110.4 ^b	131.2 ^a	
	Serum HDL kolesterol, mg/dl	72.2 ^b	69.0 ^b	73.3 ^b	81.1 ^a	
	Serum LDL kolesterol, mg/dl	26.2 ^b	34.9 ^{ab}	38.1 ^a	41.8 ^a	

^{a-b} Aynı satırda farklı üst karaktere sahip ortalama değerler önemli derecede farklıdır (P<0.05).

Not: Yem I: % 3 kolesterol + % 1 KOS, Yem II: % 3 kolesterol içermektedir.

^{*}İçme suyuna katılmıştır, ^{**}Başlangıç rasyonuna 80 mg/kg, büyüme rasyonuna 50 mg/kg klortetrasiklin (KTS)

SONUÇ

Son yıllarda alternatif yem katkı maddeleri olarak sakkaritik doğal ürünlere yönelik çalışmalar ile KOS'in prebiyotik özelliği yanında antioksidan, antimikrobiyal, antikanserojen, antidiyabetik, yağ ve kolesterol düşürücü gibi yararlı biyolojik etkilere sahip olduğu kanıtlanmıştır. Bu konuyla ilgili çalışmalar devam etmekle birlikte araştırmaların laboratuvar ortamından çok çiftlik hayvanları üzerinde saha çalışmaları ile ayrıntılı olarak incelenmesi KOS'in doğal bir yem katkı maddesi olarak güvenilirliği açısından kapsamlı sonuçlar verecektir.

KAYNAKLAR

1. **Arulmozhi DK, Veeranjanyulu A, Bodhankar SL** (2004) *Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance*. Indian Journal of Pharmacology, 36(4): 217-221.
2. **Barton MD** (2000) *Antibiotic use in animal feed and its impact on human health*. Nutrition Research Review, 13: 279-299.
3. **Chen YM, Chung YC, Wang LW, Chen KT, Li SY** (2002) *Antibacterial properties of chitosan in waterborne pathogen*. Journal Environmental Science and Health A, 37: 1379-1390.
4. **Chiang MT, Yao HT, Chen HC** (2000) *Effect of dietary chitosans with different viscosity on plasma lipids and lipid peroxidation in rats fed on a diet enriched with cholesterol*. Bioscience, Biotechnology, Biochemistry, 64(5): 965-971.
5. **Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, Oh SJ, Choi JH, Kim CY** (2001) *In vitro antimicrobial activity of chitooligosaccharide mixture against Actinobacillus actinomycetecomitans and Streptococcus mutans*. International Journal of Antimicrobial Agents, 18: 553-557, 2001.
6. **Gerasimenko DV, Avdienko ID, Bannikova GE, Zueva OY, Varlamov VP** (2004) *Antibacterial effects of water-soluble low molecular-weight chitosans on different microorganisms*. Applied Microbiology and Biotechnology, 40: 253-257.
7. **Gibson GR, Roberfroid MB** (1995) *Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics*. Journal of Nutrition, 125: 1401-1412.
8. **Han KN, Yang YX, Hahn TW, Kwon IK, Lohakare JD, Lee JK, Chae BJ** (2007) *Effects of chito-oligosaccharides supplementation on performance, nutrient digestibility, pork quality and immune response in growing-finishing pigs*. Journal of Animal Feed Science, 16: 607-620.
9. **Huang R, Mendis E, Kim SK** (2005) *Factors affecting the free radical scavenging behavior of chitosan sulfate*. International Journal of Biological Macromolecules, 36: 120-127.
10. **Je JY, Park PJ, Kim SK** (2004) *Free radical scavenging properties of hetero-chitooligosaccharides using an ESR spectroscopy*. Food and Chemical Toxicology, 42: 381-387.
11. **Jeon YJ, Kim SK** (2002) *Antitumor activity of chitosan oligosaccharides produced in an ultra filtration membrane reactor system*. Journal of Microbiology and Biotechnology, 12: 503-507.

12. **Jeon YJ, Kim SK** (2000) *Production of chitooligosaccharides using an ultrafiltration membrane reactor and their antibacterial activity*. *Carbohydrate Polymers*, 41: 133-141.
13. **Jeon YJ, Park PJ, Kim SK** (2001) *Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor*. *Carbohydrate Polymers*, 44: 71-76.
14. **Kim JY, Lee JK, Lee TS, Park WH** (2003) *Synthesis of chitooligosaccharide derivative with quaternary ammonium group and its antimicrobial activity against *Streptococcus mutans**. *International Journal of Biological Macromolecules*, 32: 23-27.
15. **Kim SJ, Kang SY, Park SL, Shin T, Ko YH** (1998) *Effects of chitooligosaccharides on liver function in the mouse*. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 30(3): 693-696.
16. **Kim SK, Rajapakse N** (2005) *Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharide (COS): a review*. *Carbohydrate Polymers*, 62, 357-368.
17. **Kim TH, Jo YJ, Ha YM, Shon YH, Bae BJ, Nam KS** (2001) *Effect of chitosan oligosaccharide on enzymes for cancer chemoprevention*. *Journal of Korean Cancer Association*, 33(1): 64-70.
18. **Kobayashi S, Terashima Y, Itoh H** (2002) *Effects of dietary chitosan on fat deposition and lipase activity in digesta in broiler chickens*. *British Poultry Science*, 43: 270-273.
19. **Kondo Y, Nakatani A, Ito M, Hayashi K** (2000) *Low molecular weight chitosan prevents the progression of low dose streptozotocin-induced slowly progressive diabetes mellitus in mice*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(12): 1458-1464.
20. **Lee HW, Park YS, Choi JW, Yi SY, Shin WS** (2003) *Antidiabetic effects of chitosan oligosaccharides in neonatal streptozotocin-induced noninsulin-dependent diabetes mellitus in rats*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 26(8): 1100-1103.
21. **Li XJ, Piao XS, Kim SW, Liu P, Wang L, Shen YB, Jung SC, Lee HS** (2007) *Effects of chito-oligosaccharide supplementation on performance, nutrient digestibility, and serum composition in broiler chickens*. *Poultry Science*, 86: 1107-1114.
22. **Liu P, Piao XS, Kim SW, Wang L, Shen YB, Lee HS, Li SY** (2008) *Effects of chito-oligosaccharide supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and fecal shedding of *Escherichia coli* and *Lactobacillus* in weaning pigs*. *Journal of Animal Science*, 86: 2609-2618.
23. **Liu XF, Guan YL, Yang DZ, Li Z, Yao K** (2001) *Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan*. *Journal of Applied Polymer Science*, 79: 1324-1335.
24. **Maizake Y, Tsuji K, Nakagawa Y** (1993) *Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males*. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 57: 1439-1444.
25. **Miura T, Usami M, Tsuura Y, Ishida H, Seino Y** (1995) *Hypoglycemic and hypolipidemic effect of chitosan in normal and neonatal streptozotocin-induced diabetic mice*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 18(11): 1623-1625.
26. **Moon JS, Kim HK, Koo HC, Joo YS, Nam HM, Park YH, Kang MI** (2007) *The antibacterial and immunostimulative effect of chitosan-oligosaccharides against infection by*

- Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. Applied Microbiology and Biotechnology, 75: 989-998.
27. **Quin C, Li H, Xiao Q, Liu Y, Zhu J, Du Y** (2006) *Water-solubility of chitosan and its antimicrobial activity*. Carbohydrate Polymers, 63: 367–374.
28. **Remunan-Lopez C, Portero A, Vila-Jato JL, Alonso MJ** (1998) *Design and evaluation of chitosan/ethylcellulose mucoadhesive bilayered devices for buccal drug delivery*. Journal of Controlled Release, 55: 143-152.
29. **Revington B** (2002) *Feeding poultry in the postantibiotic era*. Multi-State Poultry Meeting. 14-16 May 2002. Multi-State Feeding and Nutrition Publications.
30. **Roller S, Covill N** (1999) *The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice*. International Journal of Food Microbiology, 47, 66-77.
31. **Seo S, King JM, Prinyawiwatkul W** (2007) *Simultaneous depolymerization and decolorization of chitosan by ozone treatment*. Journal of Food Science, 72, 522-526.
32. **Shon YH, Park IK, Moon IS, Chang HW, Park IK, Nam KS** (2002) *Effect of chitosan oligosaccharide on 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in mice*. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 25(9): 1161-1164.
33. **Smith DL, Harris AD, Johnson JA, Silbergeld EK, Morris Jr JG** (2002) *Animal antibiotic use has an early but important impact on the emergence of antibiotic resistance in human commensal bacteria*. Proceeding of the National Academy of Sciences, 99: 6434–6439.
34. **Sudharshan NR, Hoover DG, Knorr D** (1992) *Antibacterial action of chitosan*. Food Biotechnology, 6: 257-272.
35. **Sun T, Yao Q, Zhou D, Mao F** (2008) *Antioxidant activity of N-carboxymethyl chitosan oligosaccharides*. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 18: 5774-5776.
36. **Tanaka Y, Tanioka S, Tanaka M, Tanigawa T, Kitamura Y, Minami S, Okamoto Y, Miyashita M, Nanno M** (1997) *Effects of chitin and chitosan particles on BALB/c mice by oral and parenteral administration*. Biomaterials, 18: 591-595, 1997.
37. **Tang ZR, Yin YL, Nyachoti CM, Huang RL, Li TJ, Yang C, Yang XJ, Gong J, Peng J, Qi DS, Xing JJ, Sun ZH, Fan MZ** (2005) *Effect of dietary supplementation of chitosan and galacto-mannan-oligosaccharide on serum parameters and the insulin-like growth factor-I mRNA expression in early weaned piglets*. Domestic Animal Endocrinology, 28: 430-441.
38. **Tokoro A, Tatewaki N, Suzuki K, Mikami T, Suzuki S, Suzuki M** (1998) *Growth inhibitory effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaoses and Meth-A solid tumor*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 36: 784-790.
39. **Vernazza CL, Gibson GR, Rastall RA** (2005) *In vitro fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria*. Carbohydrate Polymers, 60, 539-545.
40. **Wang Y, Zhou P, Yu J, Pan X, Wang P, Lan W, Tao S** (2007) *Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by chitosanase from Pseudomonas CUY8*. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 16 (Suppl. 1): 174-177.
41. **WHO (World Health Organization)** (2003) *Impacts of antimicrobial growth promoter*

- termination in Denmark.* Document WHO/CDS/CPE/ZFK/2003.1.WHO, Foulum, 1-57.
- 42. Wu KY, Wu M, Fu ML, Li H, Yang Y, Zhang H, Cheng C, Wang ZZ, Wang XY, Lü XB, Liu DG, Li H, Gao R** (2006) *A novel chitosan CpG nanoparticle regulates cellular and humoral immunity of mice.* Biomedical and Environmental Sciences, 19: 87-95.
- 43. Yang Y, Liu W, Han B, Liu B, Fu C** (2006) *Protective effects of chitosan oligosaccharide and its derivatives against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice.* Hepatology Research, 35(3): 178-184.
- 44. Yin XQ, Lin Q, Zhang Q, Yang LC** (2002) *O₂⁻ scavenging activity of chitosan and its metal complexes.* Chinese Journal of Applied Chemistry, 19: 325-328.
- 45. Zheng LY, Zhu JF** (2003) *Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights.* Carbohydrate Polymers, 54: 527-530.