



Laboratuvar Hayvanları (Sıçanlar ve Fareler) için Metabolik Sendromlu Yemlerin Geliştirilmesi ve Analizi

Development and Analysis of Metabolic Syndrome Feeds for Laboratory Animals (Rats and Mice)

Tayfun IDE^{1*}, Askın Nur DERİNOZ ERDOĞAN², Naim Deniz AYAZ³

¹ARDEN (Araştırma & Deney), Ankara

²AÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi AD, Ankara

³KKÜ Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi AD, Kırıkkale

*Sorumlu Yazar: info@ardenarastirma.com

¹ORCID: 0000-0001-6798-2908 ²ORCID: 0000-0002-8504-0794

³ORCID: 0000-0003-2219-2368

*Sorumlu Yazar: info@ardenarastirma.com

Geliş Tarihi: 16.03.2024

Kabul Tarihi: 30.04.2024

ÖZET

Yüksek yağlı diyetle beslenme, kemirgenlerde insandaki metabolik sendroma benzeyen obeziteye ve metabolik bozukluklara neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı laboratuvar hayvanlarında (sıçan ve fare) metabolik sendrom oluşturmak için kazein bazlı yüksek yağlı yemlerin hazırlanması ve karakterizasyonudur. Bu çalışmada, stabil, tozlaşmayan ve dökülme özelliğine sahip üç farklı konsantrasyonda yüksek yağlı yemler (%24, %35 ve %45) pelet formda geliştirilmiştir. Yemlerin karakterizasyonunda kullanılan parametreler bu yemlerin kullanım hedeflerine ulaşması için gerekli olan belirli özellikler dâhilinde oluşturulmuştur. Hazırlanan yemlerde çeşitli bileşen ve özelliklerin belirlenmesi amacıyla; fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik analizlerin yanı sıra in-vivo beslenme testleri aynı amaçlarla geliştirilmiş ithal ticari ürünler ile karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, elde edilen ürünlerin üretim hedeflerine uygun olarak elde edildiğini ve karşılaştırıldığı ithal yemlerin analiz değerlerine benzer olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak çalışmada, yerli olarak geliştirilen kazein bazlı yüksek yağlı pelet yemlerin çeşitli firma ve araştırma merkezlerinin deney hayvanlarında obezite ve metabolik bozukluk oluşturmak çalışmalarında güvenilir bir şekilde kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Yüksek yağlı yem, Obezite, Metabolik sendromlu diyetler, Laboratuvar hayvanları

ABSTRACT

Feeding a high-fat diet causes obesity and metabolic disorders in rodents that resemble human metabolic syndrome. The aim of this study was the preparation and characterization of casein-based high-fat feeds to induce metabolic syndrome in laboratory animals (rats and mice). In this study, three different concentrations of high-fat feeds (24, 35 and 45%), which are stable, dust-free and shedding, were developed in pellet form. The parameters used in the characterization of feeds were established within the specific features required for these feeds to achieve their usage goals. To determine various components and properties of prepared feeds; In addition to physical, chemical and microbiological analyses, in-vivo nutritional tests were carried out by comparing them with imported commercial products developed for the same purposes. The results showed that the products obtained were in accordance with the production targets and were like the analysis values of the imported feeds compared. In conclusion, the study revealed that locally developed casein-based high-fat pellet feeds can be used reliably in studies of various companies and research centers to create obesity and metabolic disorders in experimental animals.

Keywords: High-fat feed, Obesity, Metabolic syndrome diets, Laboratory animals

GİRİŞ

Metabolik sendrom, genellikle hipertansiyon, dislipidemi, obezite ve bozulmuş glikoz toleransı gibi çeşitli metabolik bozukluklar ile karakterize bir sağlık sorunudur (Şekerli ve Güneş Bayır, 2024) Bunlar içerisinde özellikle obezite, metabolik sendromun etiolojisinde anahtar faktör olarak tanımlanmaktadır (Aydın vd., 2014; Merone vd., 2017). Metabolik sendrom ise tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve alkolsüz yağlı karaciğer hastalığı gibi birçok hastalığın görülme sıklığını artırmaktadır (Aydın vd., 2014; Bhatti vd., 2017; Panchal ve Brown, 2011). Ayrıca risk faktörleri arasında yüksek kan basıncı, insülin direnci, bozulmuş glikoz toleransı, obezite ve dislipidemi yer almaktadır (Grundy, 2005; Şekerli ve Güneş Bayır, 2024). Bu sendromun semptomlarının tetiklenmesi, yüksek karbonhidratlı, yüksek yağlı diyetin neden olduğu oksidatif strese bağlı olup (Roberts vd., 2006) bu faktörler temel bilim ve klinik araştırmalar için büyük zorluklar oluşturmaktadır.

Metabolik sendromun tedavisinde başarılı yöntemlerin geliştirilebilmesi için hayvan modellerinin kullanıldığı, insan hastalıklarını gerçekçi bir şekilde taklit eden, hastalıkta ortaya çıkan tüm değişiklikleri ve semptomları geliştiren çeşitli modellere ihtiyaç duyulmaktadır (Panchal ve Brown, 2011). Bu bağlamda, metabolik sendromun gelişiminde anahtar faktör olan obezite ve buna neden olan diyet kemirgen deney modelleri genellikle metabolik sendromun oluşumunda kullanılan yollar hakkında daha iyi bilgi edinmek için uygulanmaktadır (Aydın vd., 2014). Bu nedenle obez kemirgen modelleri oluşturmak amacıyla yüksek yağlı diyetler olarak adlandırılan yağdan zenginleştirilmiş diyetler çeşitli araştırmalarda uygulanmaktadır.

Beslenme müdahalesinin tanımı 1940'lara kadar uzanmaktadır. Birçok çalışma, yüksek yağlı diyetlerin hiperglisemiyi ve vücut insülin direncini artırdığını ortaya koymuştur. Ayrıca çeşitli araştırmacılar bunların karaciğer, kas fizyolojisi ve insülin sinyal iletimi üzerindeki etkilerini incelemiştir (Oakes vd., 1997). Bu çalışmalar, insülin direnci ve bozulmuş B hücresi fonksiyonu olan metabolik

sendrom için uygun bir kemirgen modeli oluşturmak üzere yüksek yağlı diyetlerin uygulanabileceğini kabul etmiştir (Lingohr vd., 2002).

Enerjinin %20-60'ının yağdan sağlanarak yüksek yağlı diyetler uygulanan hayvan modellerinde çalışma sonuçlarının diyetle kullanılan sığır iç yağı, tereyağı ile palm, soya veya mısır yağına bağlı olarak hayvan sağlığı için farklılık gösterdiği bunun nedeninin ise temel yağ bileşenlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu araştırmaların büyük bir bölümünde araştırmacılar, karbonhidrat ve/veya proteinin yerine ihtiyaç duyulan enerjiyi yağdan sağladıkları yarı saflaştırılmış yüksek yağlı diyetler uygulamış olmakla birlikte bazı çalışmalarda araştırmacılar standart kemirgen yemlerine basitçe yağ ekleyerek bu deneyleri gerçekleştirmişlerdir ki bu durum açıkça tüm makro ve mikro besinler açısından dengesiz bir beslenme kompozisyonuna yol açmaktadır (Warden ve Fisler, 2008).

Tüm bu sebeplerden dolayı, bu çalışmada laboratuvar hayvanlarının metabolik hastalık oluşturma çalışmalarında kullanılmak üzere bir taraftan deney sonuçlarının güvenilir olmasını sağlayacak diğer taraftan da kolay ulaşılabilir ve ithal muadillerine göre fiyat avantajı sunun yüksek yağlı diyetler için gerektiğinde modifiye edilebilir yemlerin üretilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçlar doğrultusunda ürün kalite nitelikleri ile güvenilirliğinin ortaya konulması için fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ayrıca hazırlanan yemler ile hayvan yedirme deneyleri yapılarak beğeni durumu ile üretilme hedefine uygun olarak obezite geliştirme potansiyelleri incelenmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyaller

Çalışmada yemlerin hazırlanmasında başlıca; rennet kazein (kazeinat, 9000-71-9, ENKA), maltodekstrin (9050-36-6, Nutridex), sakkaroz (Puder Sukur, 57-50-1, Mivelli), mısır nişastası, yağ kaynağı, mineral karışımı, vitamin karışımı, kolin klorür (Shandong Aocter Biotechnology, Yem Katkı Maddeleri, Shandong, Çin),

BHA-BHT (AOX) ve selüloz (9004-34-6) kullanılmıştır. Yüksek yağlı yemlerin formülleri yapılan araştırmalar neticesinde hayvanların fizyolojik ihtiyaçlarına uygun olacak şekilde hazırlanmıştır.

Hazırlık süreci yüksek yağlı araştırma yemleri konusunda Tarım ve Orman Bakanlığı onaylı (onay no: TR0600295) Türkiye'deki ilk ve tek kuruluş olup, ARDEN Araştırma ve Deney tarafından gerçekleştirilmiştir. Tüm formülasyonlar için saflaştırılmış diyetlerin içerikleri, ayrı ayrı tartılarak kaplarda karıştırılana kadar muhafaza edilmiştir. Daha sonra tüm bileşenler birleştirilerek üç farklı yağ bileşimine (%24, %35, %45) sahip yüksek yağlı kazein bazlı pelet yemler elde edilmiştir (Şekil 1).

Geliştirilen Yemlerin Fiziksel Analizleri

Fiziksel analizler Kırıkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda yemlerin buzdolabında (+4 ve -20°C) sekiz aylık muhafaza sürecinde haftalık olarak renk değişimi, yağ sızıntısı ve koku özellikleri duyuusal ve görsel olarak gözlenmiştir.

Geliştirilen Yemlerin Kimyasal Analizleri

Paketlenmiş yemlerin sekiz aylık depolama süresi boyunca özellikle doymuş yağların oksidasyonuna bağlı bozulma parametresi olan TBA değerinin (Botsoglou vd., 1994) takip analizi yapılmıştır. Kimyasal analizler kapsamında yemlerin protein analizi Velp Scientifica NDA 701 Dumas Azot Protein Analiz Cihazında gerçekleştirilmiştir. Yağ analizi, ise Soxhlet yöntemiyle, kuru madde ve rutubet tayini ise nem tayin cihazı (AND MX 50, Japonya) ile ölçülmüştür.

Geliştirilen Yemlerin Mikrobiyolojik Analizleri

Araştırmada yemlerin mikrobiyolojik kalitesi sekiz aylık depolama süresi boyunca izlenmiştir. Bu bağlamda, Tablo 3 ve Tablo 4'te listelenen ilgili ISO protokolüne göre mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Mikrobiyolojik testler, geliştirilen üç farklı

konsantrasyondaki yağlı yemlerin (%24, %35 ve %45) tümü için gerçekleştirilmiştir. Toplam aerobik mezofilik koloni sayısını belirlemek için ISO 4833 kullanılmıştır. Yem numunelerinde koliform bakteri sayımı için ISO 4832 uygulanmıştır. *Salmonella*'nın tespiti için ISO 6579, *Listeria* spp. ve *L. monocytogenes* tespiti için ISO 11290-1 uygulanmıştır. Çalışmada koagülaz pozitif stafilkokların (*Staphylococcus aureus* ve diğer türler) sayımına yönelik olarak ise ISO 6888 protokolü uygulanmıştır.

Hayvan Deneyi Dizayını

Üretilen yemlerin beğeni düzeyi ve obeziteyi artırıcı özellikleri bu kriterler için referans alınan ithal ticari yemlerle kıyaslanmıştır. Bu amaçla besleme deneyleri Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, Hüseyin Aytemiz Deneysel Araştırma ve Uygulama Laboratuvarlarında uluslararası standartlara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Besleme deneylerinde her grupta 200-250 gr ağırlığında 7 adet erkek Wistar albino kullanılmış olup deney gruplarına %35 diyet kaynaklı obezite yemi (%25 protein, %35 yağ ve %40 karbonhidrat) ve kontrol yemi (%24 protein, %11 yağ ve %65 karbonhidrat) verilmiştir.



Şekil 1. %35 yağlı pelet yem

Çalışmada kullanılan hayvanların başlangıç ağırlıkları kaydedilmiş olup 8 hafta boyunca belirlenen formülle serbest olarak beslenmeleri sağlanmıştır. Aynı deneyler 2 farklı grupta gerçekleştirilmiştir.

Birinci gruptaki besleme deneylerinde 10-12 haftalık ratlar, ikinci gruptaki besleme deneylerinde 10-11 haftalık ratlar kullanılmıştır. Her hayvan grubuna yemler verilerek hayvanların hangi yemi tercih ettiği kaydedilmiştir, bu işleme diyetin kendi kendine seçimi adı verilmektedir.

Deney Hayvanlarının Ağırlık ve Kan Şekeri Düzeylerinin Analizi

Araştırmada deney gruplarının beslenme sırasında ve sonunda ağırlıkları ve kan değerleri belirlenmiştir. Burada hayvanların ağırlıklarını ve kan şekeri seviyelerini analiz etmek amacıyla, streptozotikin enjeksiyonundan 72 saat sonra açlık kan şekeri ölçümü ratların kuyruk damarından alınan kan örneklerinde glikoz tespiti glikometre (ile yapılmış olup 200 mg/dL ve üzeri değerlere sahip ratlar diyabetik olarak kabul edilmiştir (Movahedian vd., 2010).

BULGULAR

Çalışmada üç farklı oranda yağ içeren kazein bazlı deney hayvanı yemleri üretilmiştir. Yemler pellet formunda hazırlanmıştır. Farklı yağ içeriklerine sahip yemlere ait fiziksel parametreler Tablo 1’de listelenmiştir.

Tablo 1. Yüksek yağlı yemlerin fiziksel analiz sonuçları

Parametre	%24 yağlı yem	%35 yağlı yem	%45 yağlı yem
Pelet formu	Pelet formu	Pelet formu	Pelet formu
Sertlik	Orta	Orta	Orta
Uzunluk ve çap	Çeşitli uzunluklar 1.2 cm	Çeşitli uzunluklar 1.2 cm	Çeşitli uzunluklar 1.2 cm
Tozluuluk	Tozsuz	Tozsuz	Tozsuz
Dış yüzey	Mat	Mat	Mat
Renk	Kırmızı	Mavi	Yeşil

Fiziksel analiz sonuçlarına göre pelet formunda tozsuz bir yem başarıyla elde edilmiştir (Tablo 1). Yapılan deneylere göre diyet gruplarının hiçbirinde renk değişimi (küf oluşumu dâhil), yağ sızıntısı veya anormal koku gözlenmemiştir. Farklı yağ içeriğine sahip yemlerin duyu analizi sonuçları (küf, renk değişimi, yağ sızıntısı ve koku özellikleri) Tablo 2’de verilmiştir.

Depolama sırasında tüm yemlerin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri izlenmiştir.

Tablo 2. Yüksek yağlı yemlerin bazı fiziksel gözlem sonuçları

Parametre	%24 yağlı yem 6 ay	%35 yağlı yem 6 ay	%45 yağlı yem 6 ay
Kalıp	Yok	Yok	Yok
Renk/değişimi	Kırmızı/yok	Mavi/yok	Yeşil/yok
Yağ sızıntısı	Yok	Yok	Yok
Anormal koku	Yok	Yok	Yok

Mikrobiyolojik analizlerin sonuçları Tablo 3 ve 4’te gösterilmiştir. Yapılan mikrobiyolojik analizlere göre yem türlerinin hiçbirinde (%24, %35 ve %45) 3 aylık deneme süresi boyunca patojen ve fekal indikatör olan koliform bakteriye rastlanmamıştır. Ancak 4 °C’de 3 aylık depolama süresince aerob koloni sayısında artış eğilimi görülmüştür.

Tablo 3. Yüksek yağlı yemlerin mikrobiyolojik analiz sonuçları

Parametre	Yem 1. gün	%24 yağlı yem 3. ay	%35 yağlı yem 3. ay	%45 yağlı yem 3. ay
Total aerob bakteri (ISO 4833)	1,2x10 ¹ kob/g	8,7x10 ² kob/g	2,0x10 ³ kob/g	4,8x10 ³ kob/g
Koliform bakteri (ISO 4832)	TE**	TE**	TE**	TE**
<i>Salmonella</i> spp. (ISO 6579)	TE	TE	TE	TE
<i>L. monocytogenes</i> (ISO 11290-1)	TE	TE	TE	TE
<i>S. aureus</i> (ISO 6888)	TE**	TE**	TE**	TE**

*Kob: Koloni oluşturan birim. **TE: Tespit edilmedi, tespit limiti 1,0 x 10¹ kob/g’dir.

Mikrobiyolojik analiz sonuçlarına göre %35 oranında yağ içeren grupta patojen ve koliform bakteriye 8 aylık deneme süresince rastlanmamıştır. Ancak 4 °C’de 8 aylık depolama süresince aerob koloni sayısında artış eğilimi görülmüştür.

Tablo 4. Yüksek yağlı yemlerin mikrobiyolojik analiz sonuçları

Parametre	Yem 1. gün	%35 yağlı yem 1. ay	%35 yağlı yem 3. ay	%35 yağlı yem 6. ay	%35 yağlı yem 8. ay
Total aerob bakteri (ISO 4833)	2,0 x 10 ¹ kob/g	8,0 x 10 ² kob/g	4,0 x 10 ³ kob/g	8,0 x 10 ⁴ kob/g	1,2 x 10 ⁶ kob/g
Koliform bakteri (ISO 4832)	TE**	TE**	TE**	TE**	TE**
<i>Salmonella</i> spp. (ISO 6579)	TE	TE	TE	TE	TE
<i>L. monocytogenes</i> (ISO 11290-1)	TE	TE	TE	TE	TE
<i>S. aureus</i> (ISO 6888)	TE**	TE**	TE**	TE**	TE**

*Kob: Koloni oluşturan birim. **TE: Tespit edilmedi, tespit limiti 1,0 x 10¹ kob/g’dir.

Geliştirilen yemlerin kimyasal analizlerde yemlerin yağ ve protein içeriği beklendiği gibi tespit edilmiştir. Kimyasal değerlendirmeler, deneme yemlerine göre yağ oranlarına göre belirlenmiştir (Tablo 5).

Tablo 5. Yüksek yağlı yemlerin kimyasal analiz sonuçları

Parametre	%24 yağ	%35 yağ	%45 yağ
Yağ % kuru maddede	%23.6	%34.9	%44.98
Protein % kuru maddede	%23-24	%25-26	%23-24
Kuru madde	%17,9	%17,96	%18,2

Yüksek yağlı yemlerin sekiz aylık muhafaza süresince tiyobarbitürik asit (TBA) düzeyleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Yüksek yağlı yemlerin tiyobarbitürik asit analiz sonuçları

Parametre	%24 yağlı yem	%35 yağlı yem	%45 yağlı yem	Maksimum değer
TBA değeri (mgMA/kg)				
1. gün	0,146	0,214	0,280	1
1. ay	0,174	0,284	0,312	
3. ay	0,196	0,302	0,380	
6. ay	0,294	0,460	0,606	
8. ay	1,306	1,400	2,532	
11. ay	2,350	2,526	3,624	

Ayrıca bu çalışmada üretilen yüksek yağlı yemlerin hiçbiri (%24, %35 ve %45) yağ salmamıştır, depolama sırasında stabil bir pelet formuna ve yapısına sahip değildir. Hayvan deneylerinin birinci aşamasında yemlerin tat ve sertliğinin hayvanların tüketimine uygun olduğu ve tercih edildiği gözlemlenmiştir. Çalışma kapsamında üretilen yemin hedeflere uygun olarak kısa sürede hayvanlarda kilo artışı ve obeziteye neden olduğu tespit edilmiştir. Öte yandan kontrol yemi aynı dönemde hayvanlarda obeziteye neden olmamıştır. Tablo 7 ve 8'de belirtilen tarihlerde %35 yağlı yemle beslenen deney hayvanlarının (sıçan) ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri gösterilmektedir.

Tablo 7. Yüksek yağlı yemle (%35) beslenen deney hayvanlarının (rat) belirli tarihlerdeki vücut ağırlıkları

Hayvan No	Deney hayvanlarının belirtilen tarihlerdeki ağırlıkları (g)					
	1. gün	2. hafta	3. hafta	4. hafta	5. hafta	6. hafta
1	608	679	703	724	742	740
2	626	668	699	711	722	730
3	602	657	677	702	719	717
4	635	666	700	726	728	734
5	731	772	861	815	835	829
6	602	672	700	715	727	731
7	620	674	695	723	732	733
8	421	460	479	477	477	489
9	449	501	527	539	552	554

Tablo 8. Yüksek yağlı yemle (%35) beslenen deney hayvanlarının (rat) ağırlıkları ve kan şekeri düzeyleri

Hayvan No	Ağırlık (g)					Kan şekeri düzeyi (mg/dL)		
	1. gün	33. gün	40. gün	47. gün	53. gün	1. gün	47. gün	53. gün
1	501	611	628	-	-	95	323*	-
2	570	670	675	682	693	92		191
3	525	671	684	694	701	83		119
4	569	720	730	739	739	95		142
5	558	648	666	677	680	90		141
6	502	588	597	605	609	90		141
7	634	725	742	750	756	90		97
8	474	573	573	585	600	88		120
9	574	602	610	618	625	85		104

TARTIŞMA

Dünyada olduğu gibi Türkiye'de de obezite oranları hızla artmakta olup obezite ve beraberindeki metabolik hastalıklar çağımızın en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. Sağlık Bakanlığı'nın verilerine göre Türkiye'de her 100 kişiden 32'si obez, her 1000 kişiden 5 ila 10'u ise ileri derecede (morbid - ölümcül) obezdir. Obezite önlenemez en önemli ölüm nedenidir (Donohue, 2004). Başta şeker hastalığı olmak üzere, hipertansiyon, kalp rahatsızlıkları gibi pek çok metabolik hastalığı oluşumuna neden olmaktadır (Şekerli ve Güneş Bayır, 2024; Warden ve Fisler, 2008). Bu bağlamda obezite ve metabolik hastalıklara ilişkin çalışmalara önem verilmektedir. Rodentler üzerine yapılan ilk obezite araştırmalarında bilim adamları kafeterya diyeti olarak bilinen diyeti kullanmışlardır (Moore, 1987). Bu modelde, hayvanlara genellikle kurabiye, şeker, çikolata, cips, işlenmiş kuru yemişler, peynir ve et gibi gıdalar yedirilmiştir. Bu gıdalar, önemli ölçüde tuz, şeker ve yağ içermektedir. Bu deney modelindeki en önemli kusur hayvanların karışım içerisinde en çok hangi besin unsurunu tükettiğinin tam olarak anlaşılabilmesidir. Ayrıca, hayvanların her gün farklı bir gıda seçebilmesi de önemli bir belirsizliktir. Bu belirsizlikler bu tür diyetlerin bilimsel çalışmalar için zayıf bir seçenek haline gelmesine neden olmuştur (Moore, 1987; Van Heek vd., 1997). Bu nedenle yüksek yağlı (HF) diyetlerde saflaştırma yoluna gidilmiştir. Kazein bazlı yüksek yağlı yemler (diyet kaynaklı obezite), laboratuvar

hayvanlarında (rat ve fare) obezite, diyabet ve diğer metabolik bozukluklar gibi çeşitli hastalıkları incelemek için araştırma materyalleri olarak üretilmekte ve araştırmacılara sunulmaktadır. Bu çalışmada üretilen yemlerin besin değerleri metabolik sendromu (diyabet ve obezite) tetiklemek üzere hesaplanmıştır. Geliştirilen yöntem ile yemler istenilen protein oranlarında üretilmiştir. Bunda lesitin kullanımı ile istenilen emülsiyon sağlanabildiğinden protein oranında arzu edilen değişikliklerin yapılabilmesi etkili olmuştur. Bu çalışmada kullanılan yemlerin geliştirilmesinde protein kaynağı olarak rennet kazein ve metiyonin karbonhidrat kaynağı olarak maltodekstrin, sukroz ve mısır nişastası kullanılmıştır. Çalışmada aynı üretim teknolojisi ile yüksek yağlı yemin yanı sıra yüksek şekerli veya fruktozlu yemlerin de üretilme imkânı bulunmaktadır. Hastalık modeline göre yemlerdeki sakkaroz ve fruktoz oranları değiştirilebilmektedir.

Yaklaşık 80 yıl önce, yağ olarak %70 enerji içeren bir diyet ile beslenen sıçanların obezite geliştirdiğini ve bu diyetin bazal ve yemek sonrası kan şekeri değerlerini yükselttiği belirtilmiştir (Samuels vd., 1942; 1948). Yağ içeriği % 30'dan fazla olan bu tür HF diyet etkileri daha sonra farklı hayvan türleri, yağ türleri ve diyet uzunlukları açısından da araştırılmıştır (Budohoski vd., 1993; Harris ve Kor, 1992). Bu çalışmalarda kullanılan yemler incelendiğinde yağ kaynağı olarak daha çok domuz yağının kullanıldığı dikkati çekmektedir. Bu nedenle ülkemiz ve diğer Müslüman ülkelerin beslenme tipinin dışında olan bu içerik ile hazırlanmış hayvan yemleri deneysel çalışmalarda gerçekçi bir model oluşturamamaktadır (Buettner vd., 2007). Bu nedenle mevcut çalışmada üretilen yemlerde yağ kaynağı olarak palm yağı kullanılmış olmakla birlikte ihtiyaç halinde sığır iç yağının yanı sıra soya yağı ve mısır yağı da kullanılabilir. Laboratuvar hayvanlarının mineral ihtiyaçları, Laboratuvar Hayvanları Bilimi kitabının temel prensiplerine göre uygulanmıştır (İde, 2003). Buna göre; dikalsiyum fosfat, kalsiyum karbonat, potasyum sitrat, sodyum sitrat, çinko magnezyum oksit, magnezyum sülfat heptahidrat, amonyum molibdat tetrahidrat, bakır karbonat, ferrik sitrat,

manganez karbonat hidrat, potasyum iyodat, sodyum, florür, sodyum selenit, çinko karbonat dikalsiyum fosfat ve kalsiyum karbonat kullanılmıştır. Potasyum sitrat monohidrat, potasyum kaynağı ve emülsifiye edici tuz olarak kullanılmıştır (Hoffmann vd., 2012; Schatz vd., 2014). Trisodyum sitrat ve sodyum sitrat trihidrat ise sodyum kaynağı ve ikinci emülsifiye edici tuz olarak kullanılmıştır. Böylece bu çalışma kapsamında deney hayvanı yemi üretiminde ilk kez iki emülsifiye edici tuz ve lesitin yüksek yağ içeren yapının stabil bir şekilde oluşturulması için birlikte kullanılmıştır.

Test yemlerinin üretilmesinin ardından yağ oranlarına göre fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Bu değerlendirmelere göre üretilen yemlerin ithal muadilleri ile benzer özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Öte yandan fiziksel analiz sonuçları, pelet formunda tozsuz bir yemin başarıyla elde edildiğini ortaya koymuştur. Yapılan mikrobiyolojik analizlere göre depolama süreleri boyunca farklı yemlerde patojen mikroorganizmalara rastlanmamıştır. TBA analizi ise 6 aya kadar üç farklı yağ içeriğine sahip yemler için uygun bir sonuç göstermiştir. Ticari olarak ihraç edilen diğer kontrol grubu yemleriyle karşılaştırıldığında diyete bağlı obezite yemlerinin deney hayvanları tarafından daha çok tercih edildiği gözlenmiştir. Çalışmada üretilen yemler açık kaynak formda, diğer kontrol grubu ise kapalı kaynak formda hazırlanmış olmasına rağmen, sonuçlar yemlerimizin hayvana daha kısa sürede daha fazla obezite ve diyabet kazandırdığını ayrıca kendi kendine tercih çalışmasında başarı sağladığını göstermiştir (Bellush ve Rowland, 1986).

Kimyasal analiz sonuçları, çalışmada üretilen yemlerin farklı zaman dilimlerinde kontrol grubuna kıyasla protein ve yağ oranları açısından daha zengin olduğunu göstermiştir (%24 yağlı yem: %23,6 yağ ve %23-24 protein; %35 yağlı yem: %34,9 yağ ve %25-26 protein; %45 yağlı yem: %44,98 yağ ve %23-24 protein). Daha spesifik ve ileri sonuçlar elde edebilmek için karbonhidratın analizine ilişkin daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerektiği ortaya çıkmıştır.

Çalışmada geliştirilen yemlerde sekiz aylık muhafazanın ardından herhangi

bir küf, renk değişimi, yağ sızıntısı veya anormal koku tespit edilmemiştir. Yemlerdeki yağların acılaştırılması önlemek amacıyla antioksidan olarak BHA-BHT kullanılmıştır. Mikrobiyal küf mantarı oluşumunu engellemek ve ürünlerin raf ömrünü uzatmak amacıyla metil paraben kullanılmıştır. Ayrıca deney hayvanlarının ağırlık ve kan şekeri düzeylerine ilişkin analiz sonuçları, kontrol yemleriyle karşılaştırıldığında amaca yönelik daha güçlü sonuçlar ortaya koymuştur.

SONUÇ

Çalışmada kazein bazlı kemirgenlerin beslenme ihtiyaçları doğrultusunda makro ve mikro besin elementlerini içeren %24, %35 ve %45 oranında yağlı pelet yemler geliştirilmiştir. Elde edilen yemlerin 8 aylık muhafaza süresince yapılan fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerinde herhangi olumsuz bir durum tespit edilmemiş olup ithal muadilleri ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca deney hayvanları ile gerçekleştirilen denemelerde yemlerin deney hayvanları tarafından tercih edildiği ayrıca üretilen %35'lik yemin beklentiler doğrultusunda kısa sürede kilo artışı ve obeziteye neden olduğu ortaya konmuştur. Böylelikle çalışma kapsamında; kullanımı pratik ve yerli olması nedeniyle erişimi kolay, çalışma amaçları doğrultusunda modifikasyona açık, ithal muadillerine göre daha ekonomik yüksek yağlı yeni bir yem geliştirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, yerli olarak geliştirilen kazein bazlı yüksek yağlı pelet AEF (Arden Experimental Feed) serisi (AEF24, AEF35, AEF45) yemlerin, deney hayvanlarında obezite ve metabolik bozukluklar oluşturma çalışmalarında güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

AÇIKLAMALAR

Çıkar Çatışması

Yazarların açıklayacak hiçbir şeyi yok.

Deney Hayvanları Etik Kurulu Kararları ve İzinleri

Araştırmada Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar

Uygulama ve Araştırma Merkezi, Hüseyin Aytemiz Deneysel Araştırma ve Uygulama Laboratuvarlarında deney hayvanı çalışmaları yapılmış olup, Kırıkkale Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı (No: 2018-04-28) ile hayvan deneyleri gerçekleştirilmiştir.

Teşekkür

Bu çalışma “Laboratuvar hayvanlarında (rat ve fare) obezite, diabet, metabolik bozukluk hastalıkları oluşturan kazein bazlı yüksek yağlı emülsiyon tipi yemlerin üretimi” başlıklı proje ile KOSGEB tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Aydin, S., Aksoy, A., Aydin, S., Kalayci, M., Yilmaz, M., Kuloglu, T., Citil, C. ve Catak, Z. (2014). Today's and yesterday's of pathophysiology: Biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition*, 30(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.05.013>
- Bellush, L. L. ve Rowland, N. E. (1986). Dietary self-selection in diabetic rats: An overview. *Brain Research Bulletin*, 17(5), 653–661. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(86\)90197-8](https://doi.org/10.1016/0361-9230(86)90197-8)
- Bhatti, J. S., Bhatti, G. K. ve Reddy, P. H. (2017). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders — A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1863(5), 1066–1077. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2016.11.010>
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J. ve Trakatellis, A. G. (1994). Rapid, Sensitive, and Specific Thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Peroxidation in Animal Tissue, Food, and Feedstuff Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(9), 1931–1937. <https://doi.org/10.1021/jf00045a019>
- Budohoski, L., Panczenko-Kresowska, B., Langfort, J., Zernicka, E., Dubaniewicz, A., Ziemiński, S.,

- Challiss, R. A. J. ve Newsholme, E. A. (1993). Effects of saturated and polyunsaturated fat enriched diet on the skeletal muscle insulin sensitivity in young rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 44(4), 391–398.
- Buettner, R. (2006). Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types. *Journal of Molecular Endocrinology*, 36(3), 485–501. <https://doi.org/10.1677/jme.1.01909>
- Buettner, R., Schölmerich, J. ve Bollheimer, L. C. (2007). High-fat Diets: Modeling the Metabolic Disorders of Human Obesity in Rodents*. *Obesity*, 15(4), 798–808. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.608>
- Donohoue, P. A. (2004). Obesity. In: Behrman, R. E., Kliegman, R. M., Jenson, H. B., eds. *Nelson Textbook of Pediatrics* 17th ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 173-177.
- Grundty, S. M. (2005). A constellation of complications: The metabolic syndrome. *Clinical Cornerstone*, 7(2-3), 36–45. [https://doi.org/10.1016/s1098-3597\(05\)80066-3](https://doi.org/10.1016/s1098-3597(05)80066-3)
- Harris, R. B. S. ve Kor, H. (1992). Insulin Insensitivity Is Rapidly Reversed in Rats by Reducing Dietary Fat from 40 to 30% of Energy. *The Journal of Nutrition*, 122(9), 1811–1822. <https://doi.org/10.1093/jn/122.9.1811>
- Hoffmann, W., Gärtner, J., Lück, K., Johannsen, N. ve Maurer, A. (2012). Effect of emulsifying salts containing potassium on the quality of block-type processed cheese. *International Dairy Journal*, 25(1), 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.11.010>
- İde, T. (2003). The Effect of Animal Nutrition on Experimental Findings. *Basic Principles of Laboratory Animal Science*, 6, 109-125.
- Lingohr, M. K., Buettner, R. ve Rhodes, C. J. (2002). Pancreatic β -cell growth and survival – a role in obesity-linked type 2 diabetes? *Trends in Molecular Medicine*, 8(8), 375–384. [https://doi.org/10.1016/s1471-4914\(02\)02377-8](https://doi.org/10.1016/s1471-4914(02)02377-8)
- Merone, L. ve McDermott, R. (2017). Nutritional anti-inflammatories in the treatment and prevention of type 2 diabetes mellitus and the metabolic syndrome. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 127, 238–253. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.02.019>
- Moore, B. J. (1987). The Cafeteria Diet—An Inappropriate Tool for Studies of Thermogenesis. *The Journal of Nutrition*, 117(2), 227–231. <https://doi.org/10.1093/jn/117.2.227>
- Movahedian, A., Zolfaghari, B., Sajjadi, S. E., Moknatjou, R. (2010). Antihyperlipidemic effect of *Peucedanum pastinacifolium* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinics (Sao Paulo)*, 65, 629–633. <https://doi.org/10.1590/S1807-59322010001200029>
- Oakes, N. D., Cooney, G. J., Camilleri, S., Chisholm, D. J. ve Kraegen, E. W. (1997). Mechanisms of Liver and Muscle Insulin Resistance Induced by Chronic High-Fat Feeding. *Diabetes*, 46(11), 1768–1774. <https://doi.org/10.2337/diab.46.11.1768>
- Panchal, S. K. ve Brown, L. (2011). Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2011/351982>
- Roberts, C. K., Barnard, R. J., Sindhu, R. K., Jurczak, M., Ehdaie, A. ve Vaziri, N. D. (2006). Oxidative stress and dysregulation of NAD(P)H oxidase and antioxidant enzymes in diet-induced metabolic syndrome. *Metabolism*, 55(7), 928–934. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2006.02.022>
- Samuels, L. T., Gilmore, R. C. ve Reinecke, R. M. (1948). The Effect of Previous Diet on the Ability of Animals to do Work During Subsequent Fasting. *The Journal of Nutrition*, 36(5), 639–651. <https://doi.org/10.1093/jn/36.5.639>
- Samuels, L. T., Reinecke, R. M. ve Ball, H. A. (1942). Effect of diet on glucose tolerance and liver and muscle glycogen of hypophysectomized and

- normal rats. *Endocrinology*, 31(1), 42–45. <https://doi.org/10.1210/endo-31-1-42>
- Şekerli, Z. ve Güneş Bayır, A. (2024). Sindirim Sistemindeki Mikroorganizmaların Obezite, Hipertansiyon ve İnsülin Direncine Etkileri, “Sağlık Biliminde Araştırmalar ve Değerlendirmeler”, Prof. Dr. Engin ŞAHNA, Prof. Dr. Hasan AKGÜL, Prof. Dr. Zeliha SELAMOĞLU, Editör, Gece Kitaplığı, Ankara, ss.111-124.
- Schatz, K., Hoffmann, W., Schrader, K. ve Maurer, A. (2014). Effect of emulsifying salts containing potassium on the melting properties of block-type dairy cheese analogue. *International Journal of Dairy Technology*, 67(2), 202–210. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12119>
- Van Heek, M., Compton, D. S., France, C. F., Tedesco, R. P., Fawzi, A. B., Graziano, M. P., Sybertz, E. J., Strader, C. D. ve Davis, H. R. (1997). Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *Journal of Clinical Investigation*, 99(3), 385–390. <https://doi.org/10.1172/jci119171>
- Warden, C. H. ve Fisler, J. S. (2008). Comparisons of Diets Used in Animal Models of High-Fat Feeding. *Cell Metabolism*, 7(4), 277. <https://doi.org/j.cmet.2008.03.014>