

# Farklı Yem Formundaki Broyler Diyetlerine Bir Bitki Ekstrakt İçeriği Olan Cynarin İlavesinin Kemik Yapı ve Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi<sup>#</sup>

Kazım YARGELDI<sup>1\*</sup>, İsmail ABAŞ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pak Tavuk Gıda Sanayi A.Ş. Güzelyalı Mah. Sahil Yolu Cad. Nergis Sk. No: 1 Pendik, İstanbul

<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 34320 Avcılar, İstanbul

\*Sorumlu Yazar: Kazım YARGELDI Pak Tavuk Gıda San. A.Ş. Güzelyalı Mah. Sahil Yolu Cad. Nergis Sk. No: 1 Pendik, İstanbul  
e-posta: kazimyargeldi@hotmail.com

Geliş Tarihi / Received: 23.09.2011

## ÖZET

Bu çalışmada, diyetlerine bir bitki ekstrakt içeriği olan Cynarin ilavesinin broylerlerde kemik yapı ile bazı kan parametreleri üzerine etkileri ve bu etkide yem formunun rolü incelenmiştir. Araştırmada 480 adet günlük broyler civciv (Ross 308) kullanılmıştır. Her grupta 120 hayvan olacak şekilde 4 eşit gruba ayrılan hayvanlarda çalışma 6 tekrarlı yapılmıştır. Hayvanlara verilen diyetler başlangıç, civciv ve piliç dönemleri için ayrı ayrı hazırlanmıştır. Deneme grupları yem formuna göre iki ana gruba ve her ana grup kendi arasında iki alt gruba ayrılmıştır. Bu gruplar; Toz formu (D1), Pelet Formu (D2), Toz formu+Cynarin (0,25 g/kg yem) (D3) ve Pelet Formu+Cynarin (D4)'dir. Deneme 42 gün sürmüştür. Çalışmada, tibia ağırlığı, kül oranı ile kemik kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) içerikleri ile birlikte bazı kan parametreleri değerlendirilmiştir. Deneme grupların ortalama tibia ağırlıklarının yem formuna göre değiştiği saptanmış (P<0,005) ancak tibia kül oranları ve kemik mineral içerikleri üzerine ise etkisinin olmadığı bulunmuştur. Çalışmanın 21. gününde serum üre değerleri üzerine yem formu ve Cynarin arasındaki etkileşimin etkili olduğu saptanmıştır (P<0,05). Serum trigliserit oranında ise diyetle Cynarin ilave edilmesine bağlı olarak bir azalış göstermiş (P<0,001), diyet formunun da bu azalışta önemli olduğu saptanmıştır (P<0,03). Araştırmanın 42. gününde ise uygulamaların seçilen kan parametreleri üzerine bir etkisi belirlenmemiştir. Denemenin 21. gününde diyetle Cynarin ilavesi ile serum fosfor (iP) (P<0,0001) ve Ca değerlerinin düştüğü (P<0,006) ve bu düşüşte yemin toz formda olmasının da önemli olduğu saptanmıştır (P<0,002). Aynı dönemde serum Alkalın fosfataz düzeyi de diyet formuna bağlı olarak değişim göstermiştir (P<0,036). Çalışmanın 42. gününde Cynarin ilavesinin iP konsantrasyonu üzerine olan olumsuz etkisi devam etmiştir (P<0,0001). Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada yeme Cynarin ilavesinin serum trigliserit oranını düşürücü etkisi saptanmış ve kemik yapısı üzerine yem formunun daha etkin olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Broyler, cynarin, yem formu, tibia, bazı kan parametreleri

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF CYNARIN, A PLANT EXTRACT INGREDIENT, SUPPLEMENTATION ON BONE STRUCTURE AND SOME SERUM INDICES IN BROILERS FED DIFFERENT FEED FORMS

In this study, the effects of Cynarin, a plant extract ingredient, supplementation on bone structure and some blood parameters and the role of the form of feed on this effect was examined. Four hundred eight one day old hatched broiler chicks (Ross 308) were used in the research. The research was repeated 6 times with 4 equal groups having 120 animals each group. The diets of animals were prepared individually for each group as prestarter, starter, and grower period. There were 4

<sup>#</sup> Bu çalışma, K. Yargeldi'nin "Bir Bitki Ekstrakt İçeriği Olan Cynarin'in Broylerler Performansı Üzerine Etkisi ve Yem Formunun Bu Etkideki Rolü" konulu Doktora Tezinden hazırlanmıştır.

treatment arranged factorially with 2 feed form (mash and pellet) and 2 cynarin doses (none, 0.25g/kg). These groups were; mash form (D1), pellet form (D2), mash form+Cynarin (0.25g/kg feed) (D3), and pellet form+Cynarin (D4). The duration of the trials was 42 days. In this study, tibia weight, ash rate, tibia Ca and P concentration and some blood parameters were evaluated. The average tibia weight of the groups differed depending on the form of the feed ( $P<0.05$ ), however it was observed that tibia ash ratio and bone mineral content have not changed depending on the diets. On day 21 it was determined that interaction between feed form and cynarin effected on serum urea values ( $P<0.05$ ). Serum triglyceride value decreased ( $P<0.001$ ) depending on the Cynarin supplementation in the diets and the form of the feed had an important role in this effect ( $P<0.03$ ). On day 42, there were no effects of applications on selected serum parameters. Cynarin supplementation decreased serum phosphor (iP) ( $P<0.0001$ ) and calcium (Ca) ( $P<0.006$ ) values on day 21 and the form of the feed was also found important in this changes ( $P<0.002$ ). During the same period, serum Alkaline phosphatase values also differed depending on the form of the diet ( $P<0.036$ ). On day 42, negative effect of cynarin supplementation on iP concentration continued ( $P<0.0001$ ). In conclusion, it was determined that cynarin supplementation decreased serum triglyceride concentration, however, the form of feed was more effective on the bone structure.

**Key Words:** Broiler, cynarin, feed form, tibia, some serum indices

### Giriş

Genetik ve beslenme alanındaki gelişmeler verim artışı sağlarken aynı zamanda hayvanlarda stres oluşumuna ve beslenme yönünden bazı hassasiyetlerin gelişmesine neden olmaktadır. Yoğun yetiştiricilik programı uygulanan bu hayvanlarda, bazı organların, özellikle karaciğerin, kapasitelerinin sınırlı olması nedeniyle vücut için önemli olan dengeleri kurmada yetersiz kaldığı tespit edilmiştir. Broiler yetiştiriciliğinde hayvanların ihtiyaç duydukları besin maddeleri ve enerji yanında vücut dengelerini kurmada yardımcı olacak bazı katkı maddelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu katkı maddelerinden biri de Cynarindir ve en yaygın kaynağı enginar bitkisinin yaprağıdır.

Enginar bitkisinin yaprağı, fenolik asitler ile bu ekstraktın ana izomeri olan cynarin adlı madde içermektedir (Moglia ve ark., 2008). Cynarin genel olarak organizmada karaciğerdeki sentez ve sekresyon fonksiyonlarını doğrudan etkileyerek karaciğer fonksiyonlarını düzenleme yönünde etki göstermekte böylece organizmadaki normal şartların devamını sağlamaktadır (Gebhardt, 1997; Kraft, 1997; Llorach ve ark., 2002; Zhu ve ark., 2004). Enginar yaprağı ekstraktı aynı zamanda antioksidatif özelliği de sergilediği (Schütz ve ark., 2004) ve bu etkinliğini de kan lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonunu koruyarak var olan oksidasyon riskini azaltarak gösterdiği bildirilmiştir (Gebhardt, 1997). Bunun yanında kan üre konsantrasyonunu azaltmakta ve karaciğer kolesterol biyosentezini

inhibe ederek kan kolesterol ve yağ seviyesini düşürmektedir. Aynı zamanda safra salgısını da arttırarak karaciğer üzerinde önemli bir etki oluşturmaktadır (Stoev ve ark., 2002).

Enginar yaprağı ekstraktı ilavesinin karaciğerden safra salgılamasını uyararak total safra asit konsantrasyonunu arttırdığı (Saenz ve ark., 2002), safra salgısındaki artışın da sindirimin daha etkin olarak yapılmasına olanak sağladığı ve aynı zamanda yağları emülsifiye ederek yağ sindirimi ile yağ metabolizmasını olumlu etkileyerek rasyon enerjisinin daha iyi kullanılmasını dolaylı olarak yardımcı olduğu bildirilmiştir (Kraft, 1997). Abdo ve ark. (2007) broylerler üzerine yaptıkları çalışmalarında düşük enerji değerleri içeren başlangıç ve büyütme rasyonlarına %4 düzeyinde enginar yaprağı unu ilavesinin yağ ve enerji kullanımını iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada yağ sindiriminde gözlenen iyileşmenin enginar yaprağının civcivlerde safra tuzları salgısını arttırması nedeniyle olabileceği ileri sürülmüştür. Yumurta tavukları üzerine yapılan bir çalışmada (Radwan ve ark., 2007) ise rasyonlara enginar ekstraktı ve enginar yaprağı unu ilavesi yapılmış ve %8 düzeyinde enginar yaprağı ilavesinin yumurta verimi, yemden yararlanma oranlarını iyileştirdiği, kontrol grubuna göre deneme gruplarında yağ sindiriminin yüksek olduğu ayrıca yine kontrol grubuna göre bütün deneme gruplarının ekonomik olarak daha etkin oldukları da saptanmıştır.

Antimikrobiyal maddelerin yasaklanması beslenme üzerine çalışanları broylerlerde sindirim etkinliğini ve sağlığını iyileştirici

yönündeki yemleme stratejileri üzerine çalışmalara yönlendirmiştir. Bu çalışmalardan biri de hayvanlara farklı formda yem verilmesidir. Yem formunun farklı olmasının broiler performansını etkilediği ve pelet formdaki yemlerle beslenen hayvanların toz formdaki yemle beslenenlere göre performanslarında iyileşme görüldüğü değişik çalışmalarda bildirilmiştir (Engberg ve ark., 2002; Svihus ve ark., 2004). İki yem formu arasında görülen bu farklılığın, peletleme süresince uygulanan işlemlerin nişasta sindirilebilirliğini iyileştirmesi ve besin maddeleri yoğunluğunu artırması nedeniyle olduğu ileri sürülmüştür. Bunun da besin maddeleri alımını arttırdığı, yem israfını ve yem tüketimi için harcanan enerjiyi azalttığı bildirilmiştir (Amerah ve ark., 2007).

Büyüme ilerletici maddelerden antibiyotiklerin yasaklanması özellikle bitkisel kökenli yem katkı maddelerine karşı olan ilgiyi de arttırmıştır. Cynarin maddesinin bitki ekstraktından elde edilmesi ve insan hekimliğinde de karaciğer koruyucu olarak kullanılması özellikle kanatlı yetiştiriciliğinde kullanım alanı bulmuştur. Öte yandan yoğun yetiştiricilik yapılan broilerlerde karaciğer fonksiyonlarının istenilen düzeylerde tutulma isteği bu tür katkıların önemini arttırmıştır. Ayrıca ticari kanatlı yetiştiriciliğinde pelet formundaki yemler yoğun olmakla beraber toz formundaki yemlerde tercih edilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada cynarin maddesinin farklı yem formlarıyla (toz ve pelet) verilmesinin kemik yapı ile bazı kan parametreleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## Gereç ve Yöntem

### Hayvan Materyali ve Diyetler

Hayvan materyali olarak ticari damızlık işletmesinden sağlanan günlük yaşta 480 adet broiler civciv kullanılmıştır. Araştırma Kandıra Kocaeli'de bulunan ticari bir broiler yetiştirme kümesinde yapılmıştır. Denemenin gerçekleştirildiği küme ölçüleri 1,5 x 1 m ebatlarında ve etrafları tellerle çevrili 24 adet metal bölmeler oluşturulmuş ve bölmelerde altlık olarak pirinç kavuzu kullanılmıştır.

Deneme kümesine getirilen hayvanlar rastgele olacak şekilde her birinde 120 hayvan bulunan 4 ana gruba ayrılmış ve her ana grup her birinde 20 hayvan bulunan 6 tekrarlamalı gruba ayrılmıştır. Hayvanlara toz ve pelet formdaki bazal diyetler verilmiştir. Deneme diyetleri hazırlanmasında broilerlerin başlangıç ve büyütme dönemi gereksinimleri göz önünde bulundurulmuştur (NRC, 1994). Denemeye alınan hayvanlar için 0-12. günlerde broiler başlangıç, 12-21. günlerde broiler civciv ve 21-42. günlerde ise broiler piliç yemleri hazırlanmış ve diyetlerin besin maddeleri ve içerikleri Tablo1 ve 2'de verilmiştir. Her üç dönemde kullanılan yem toz formu, mikserde karıştırılarak hazırlanmış, pelet formu ise Pak Tavuk A.Ş. yem fabrikasında hazırlanmıştır. Deneme grupları; D1; bazal diyet (kontrol grubu, toz formda), D2; bazal diyet (kontrol grubu, pelet formda), D3; D1+Cynarin (toz formdaki yeme ilave edilmiş), D4; D2+Cynarin (pelet formdaki yeme ilave edilmiş) olarak dizayn edilmiştir. Hem toz formdaki hem de pelet formdaki yeme ilave edilen cynarinin (Cynarin, bir enginar yaprağı ekstraktı olup ticari olarak hazırlanmıştır. Denemede kullanılan Cynarin (Medicavet Ltd. Şirketi) dozu kg yemde 0,25 g olacak şekilde hesaplanmıştır. Civcivler buldukları bölmelerde gruplar halinde beslenmiş ve yemler hayvanlara günlük olarak tartılarak *ad libitum* olarak verilmiştir. Hayvanların bölmelerinde yer alan suluklar düzenli kontrol edilmiş ve günlük temizlikleri yapılarak hayvanların her zaman taze su almaları sağlanmıştır. Hayvanların yem ve su ihtiyaçları için denemenin ilk 12 günlük döneminde civciv yemlikleri ve sulukları kullanılmış ve daha sonra askılı suluk ve yemliklere geçilmiştir. Deneme 42 gün sürmüştür.

### Örneklerin Alımı ve Analizler

Denemedeki hayvanlarda Cynarin'in kemik yapı ile kemik Ca ve P düzeyleri üzerine etkisini tespit etmek amacıyla her tekrar gruptan denemenin 6. haftasında 3 her ana grup için toplam 18 adet civciv seçilmiş ve kesilerek sol tibiaları alınmıştır. Alınan tibiaların mineral madde ve kül tayinleri için hazırlanması Wisser

ve ark. (1990)'na göre yapılmıştır. Bu işlemin sonunda kemikler tartılmış ve tibia ağırlıkları (tibia ağırlığı, g/1000g canlı ağırlık) tespit edilmiştir. Kemikler değirmenden geçirildikten sonra 600°C'ye ayarlanmış kül fırınında 12 saat boyunca yakılmış ve kül elde edilmiştir. Elde edilen bu kül miktarından tibia kül oranı saptanmıştır. Tibia kemiklerinin P düzeyi spektrofotometrik olarak, kemik Ca düzeyi ise kolorimetrik olarak tayin edilmiştir (AOAC, 1994).

Cynarin'in bazı kan parametreleri üzerine olan etkilerini sınamak amacıyla her tekrar gruptan denemenin 3. haftasında 3 ve 6. haftasında 3 olmak üzere her ana grup ve her dönem için toplam 18 adet civciv seçilerek kanat altı venalarından kan örnekleri alınmış ve santrifüj (4000 rpm/dak) edilerek serum hazırlanmıştır. Serumda; Total kolesterol, Trigliserit, Total protein, Üre, Kalsiyum (Ca), Fosfor (iP) (Biomaxima) ve Alkalın Fosfataz (AMP Diagnostic) analizleri otoanalizörde ticari kitler yardımıyla yapılmıştır.

Araştırmada kullanılan tüm diyetlerin ham besin madde analizleri AOAC (1994)'de bildirilen şekilde Pak Tavuk Yem Fabrikası Laboratuvarında yapılmıştır. Yemdeki Ca kolorimetrik, P ise spektrofotometrik (AOAC, 1994) olarak tespit edilmiştir.

### İstatistik Analizler

Deneme süresince elde edilen ham değerler istatistik paket programı yardımıyla General Linear Models kullanılarak ANOVA ile analiz edilmişlerdir (SPSS, 1999). Sonuçlar 2 x 2 faktöriyel deneme düzenine göre yem formu (toz ve pellet) ve Cynarin'in (0 ve 0.25) ana etkileri ile bunların tibia ağırlığı, tibia kül ve mineral konsantrasyonu ile kan parametreleri düzeyi üzerine olan etkileşimleri değerlendirilmiştir. Gruplar arası önemlilik kontrolü için "Tukey" testi uygulanmış ve istatistiki farklılıklar  $P < 0.05$ 'e göre tanımlanmıştır (Snedecor ve Cochran, 1980).

**Tablo 1.** Deneme diyetlerinin bileşimi.

**Table 1.** Composition of experimental diets.

Hammaddeler %	Başlangıç (0-12 gün)	Civciv (12-21 gün)	Piliç (21-42 gün)
Mısır	48,40	46,42	39,40
SFK % 45,5 Ham Protein (HP)	23,22	20,51	3,33
Fullfat Soya	10,00	15,00	27,00
Mısır Gluteni % 60 HP	6,00	2,81	-
Ayçiçeği Küspesi % 34,5 HP	1,00	1,00	4,00
Damıtık Yan ürünü (DDGS, mısır)	-	-	4,00
Bonkalit	3,00	3,00	4,00
Buğday	-	3,00	8,00
Bitkisel Yağ	4,02	4,10	1,00
Tavuk Yağı	-	-	1,07
Tavuk Unu ve Tüy Unu	-	0,50	5,00
Dikalsiyum fosfat	1,64	1,27	0,90
Mermer Tozu	0,99	0,83	0,90
Tuz	0,18	0,21	0,17
Sodyum Bikarbonat	0,18	0,13	0,08
L-Lysine	0,42	0,31	0,28
Metiyonin (Alimet %85)	0,32	0,32	0,35
L-Threonine	0,11	0,08	-
Kolin Klorid 60	0,07	0,06	0,07
Enzim	0,10	0,10	0,10
Vitamin Mineral Premiksi*	0,30	0,30	0,30
Antikoksidial	0,05	0,05	0,05

\*Premiks/kg: Vitamin A; 10.000.000 IU, vitamin D<sub>3</sub>; 1.500.000 IU, vitamin E;40.000 mg, vitamin K<sub>3</sub>; 3000 mg, vitamin B<sub>1</sub>; 2200 mg, vitamin B<sub>2</sub>; 4500 mg, Niasin; 30.000 mg, Cal.D-Pant.;13.000 mg, vitamin B<sub>6</sub>; 3000 mg, vitamin B<sub>12</sub>;15 mg, folik asit; 1500 mg, Biotin; 100 mg, kolin klorid; 250.000 mg, vitamin C; 12.000 mg, Mn; 80.000 mg, Zn; 60.000 mg, Fe; 30.000 mg, Cu; 5000 mg, I; 1000 mg, Co; 200 mg, Se; 150 mg.

**Tablo 2.** Diyetlerin besin maddeleri ve enerji düzeyleri.

**Table 2.** Nutrient content and energy levels of broiler diets.

Besin Maddeleri	Başlangıç (0-12 gün)	Cıvcıv (12-21 gün)	Piliç (21-42 gün)
Kuru Madde, %	87,80	87,86	88,29
ME, (Kkal/kg)	3,035	3,16	3,23
Ham Protein, %	23,00	22,00	21,00
Ham Yağ, %	5,27	6,20	11,30
Ham Selüloz, %	3,57	3,65	4,07
Ham Kül, %	3,66	5,17	4,77
Metionin, %	0,65	0,61	0,61
Lizin, %	1,39	1,32	1,20
Kalsiyum, %	1,05	0,89	0,85
Fosfor, %	0,82	0,75	0,71

### Bulgular

Araştırmanın 6. haftasında toz ve pelet formdaki yemler ve bu yemlere Cynarin ilave edilmiş grupların ortalama tibia ağırlıkları arasında görülen farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve bu farklılığın yem formuna ( $P<0,05$ ) bağlı olduğu saptanmıştır. Diyete Cynarin ilavesinin ise tibia ağırlığını rakamsal olarak düşürdüğü ancak bu durumun istatistiksel olarak bir önemlilik göstermediği saptanmıştır (Tablo 3).

Denemenin 6. haftasında alınan tibia örneklerinin kül oranları tespit edilmiş ve ortalama değerleri Tablo 3’de sunulmuştur. Tibia örneklerinin kül oranlarında gruplar arasında gözlenen farklılığın anlamlı olmadığı ve uygulamaların tibia kül oranı üzerine bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Çalışma sonunda elde edilen tibia kemiklerinin kalsiyum (Ca) ve fosfor (P) mineralleri açısından konsantrasyonu belirlenmiş ve Tablo 3’de verilmiştir. Pelet formdaki diyete Cynarin ilave edilmesi kemik Ca oranını yükseltmiş ancak bu istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Yine aynı dönemde yemin pelet formda olması da P konsantrasyonunu diğer deneme gruplarına göre rakamsal olarak arttırıcı bir etkisinin olduğu saptanmış ancak istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır.

Diyet formu ve diyete Cynarin ilave edilmesinin denemenin 3. haftasında serum üre, total protein, total kolestrerol ve trigliserit

üzerine etkileri Tablo 4’ de sunulmuştur. Çalışmanın bu döneminde uygulamalara bağlı olarak serum üre üzerine yemin toz formda olması ve Cynarin ilave edilmesinin bu parametre üzerine azaltıcı bir etkisinin olduğu saptanmıştır ( $P<0,05$ ). Öte yandan serum trigliserit oranı diyete Cynarin ilave edilmesine bağlı olarak bir azalış gösterdiği ve bu azalışın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuş ( $P<0,001$ ), diyet formunun bu azalışta önemli olduğu da saptanmıştır ( $P<0,03$ ). Deneme sonunda elde edilen kan parametreleri irdelendiğinde ise diyet formu ve Cynarin ilavesinin değerlendirilen parametreler üzerine bir etkisinin olmadığı saptanmıştır (Tablo 4).

Denemenin 3. ve 6. haftalarındaki kalsiyum ve fosfor konsantrasyonları ile ALP düzeyleri Tablo 5’de verilmiştir. Denemenin 3. haftasında, diyete Cynarin ilave edilmesinin iP ( $P<0,0001$ ) ve Ca değerlerini düşürdüğü ( $P<0,006$ ) ve bu düşüşte yemin toz formda olmasının da önemli olduğu saptanmıştır ( $P<0,002$ ). Aynı dönemde serum ALP düzeyi de diyet formuna bağlı olarak değişim gösterirken ( $P<0,036$ ), Cynarin ilavesinin bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Deneme sonunda elde edilen serum değerleri incelendiğinde Cynarin ilavesinin iP konsantrasyonu üzerine olan düşürücü etkisinin devam ettiği izlenmiş ( $P<0,0001$ ) ancak bir önceki dönemden farklı olarak Ca konsantrasyonu ise rakamsal olarak arttırmıştır. Serum ALP değeri ise uygulamalara bağlı olarak değişim göstermemiştir.

**Table 3.** Yem formu ile diyetle ilave edilen cynarin'in kemik yapı üzerine etkileri.  
**Table 3.** The effects of feed form and cynarin on bone structure of broilers.

Diyet	Yem Formu	Cynarin	Parametre			
			Tibia Ağırlığı, (g/1000g canlı ağı.)	Tibia Kül, %	Ca %	P %
D1	Toz	0	2,026 <sup>a</sup>	53,51	33,68	15,64
D2	Pelet	0	1,886 <sup>ab</sup>	54,22	32,78	16,06
D3	Toz	0,25	1,948 <sup>ab</sup>	54,09	33,32	15,76
D4	Pelet	0,25	1,813 <sup>b</sup>	53,60	35,02	15,23
SEM			0,036	0,211	0,587	0,288
<b>YEM FORMU</b>						
	Toz		1,987	53,80	33,50	15,70
	Pelet		1,850	53,91	33,90	15,65
<b>CYNARIN</b>						
	0		1,956	53,87	33,23	15,85
	0,25		1,881	53,84	34,17	15,50
<b>VARYASYON KAYNAĞI</b>						
	Form		P<0,05	ÖD	ÖD	ÖD
	Cynarin		ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
	Form X Cynarin		ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

<sup>a, b</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler birbirinden önemli derecede farklıdır (P<0,05).  
 ÖD: Önemli değil (P>0,05).

### Tartışma

Bu çalışmada iki farklı yem formu ve bu yem formlarına Cynarin ilavesinin tibia ve bazı kan parametreleri üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

Deneme sonunda alınan tibia örneklerinde en yüksek kemik ağırlığının toz ilave edilen grupta bulunurken en düşük ağırlık ise pelet+Cynarin verilen grupta saptanmıştır. Tibia ağırlıkları üzerine yem formunun etkili olduğu belirlenmiştir (P<0,05).

Araştırmada toz yemle beslemeye bağlı olarak görülen yüksek kemik ağırlığının bu gruptaki hayvanların düşük büyüme eğrisine sahip olmasına bağlanılabileceği düşünülmektedir. Bu konuda yapılmış çalışmalarda toz formundaki diyetle beslenen hayvanların pelet yemle beslenenlere göre daha düşük bir büyüme yüzdesine sahip oldukları bildirilmiştir (Engberg ve ark., 2002; Scott, 2002).

Tibia kül oranı değerleri yem formu ya da Cynarin ilavesini göre istatistiksel olarak değişim göstermemiştir. En düşük kül oranı %53,51 ile toz yemle beslenenlerde en yüksek

oran ise %54,22 ile pelet yem verilen grupta bulunmuştur (P>0,05).

Değişik partikül büyüklüğündeki mısırın farklı yem formunda verilmesinin broylerlerdeki yanıtının izlendiği bir çalışmada (Kilburn ve Edwards, 2001) tibia kemik kültü üzerine partikül büyüklüğü ve yem formu arasında bir interaksiyon olduğu ve toz diyetin pelet yeme göre kemik kültünü arttırıcı bir etkisinin olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar fitat fosfor retensiyonun pelet yeme göre toz yemde daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. Benzer bir araştırma sonucu da Brickett ve ark., (2007) tarafından ileri sürülmüştür. Araştırmacılar toz yemle beslenen hayvanlarda kemik kültünün daha yüksek olduğu (%50,58), pelet yemde ise bu oranın düştüğü (%49,78) ve bunun gerekçesi olarak da besleme sistemi ile ilgili aktiviteyi göstermişlerdir. Çünkü broylerler toz yem verildiğinde daha az dinlenirken (%47,4) daha fazla yem yeme için zaman ayırmaktadırlar (%18,8). Oysa pelet yemle beslemede bu durum tersine dönmekte ve bu aktiviteleri sırasıyla %62,5 ve %4,3 olarak gerçekleşmektedir (Skinner-Noble ve ark., 2005).

Nir ve ark. (1994) ise pelet ya da crumble diyetlerin toz yeme göre civcivlerin sindirim sistemlerine daha uyumlu olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada pelet yeme bağlı olarak görülen kül oranındaki artışın bu şekildeki yem formu ile beslemenin hayvanlar için uygun olduğu ve mineral emiliminin de daha yüksek olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Çünkü tibia kül oranındaki

artışın birçok araştırmacı tarafından kanatlılarda kemik minerilizasyonun değerlendirilmesi açısından iyi bir gösterge olduğu (Ahmad ve ark., 2000; Qian ve ark., 1996), ayrıca tibia kül oranındaki artışın, Ca, P ve Zn minerallerin retensiyonundaki artış ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir (Brenes ve ark., 2003; Viveros ve ark., 2002).

**Tablo 4.** Yem formu ile diyetle ilave edilen cynarin'in bazı kan parametreleri üzerine etkileri.  
**Table 4.** The effects of feed form and cynarin on some serum indices.

0 - 3. HAFTA						
Diyet	Yem Formu	Cynarin	Üre mg/dl	Total Protein g/dl	Total Kolesterol mg/dl	Trigliserit mg/dl
D1	Toz	0	5,75 ab	3,26	100,75	83,92 a
D2	Pelet	0	4,75 b	3,18	96,58	56,33 b
D3	Toz	0,25	4,33 b	2,71	93,83	39,42 b
D4	Pelet	0,25	7,17 a	3,27	111,67	53,50 b
SEM			0,325	0,803	3,914	3,288
<b>Yem Formu</b>						
	Toz		5,04	3,00	100,29	61,67
	Pelet		5,96	3,22	104,13	54,92
<b>Cynarin</b>						
	0		5,25	3,22	101,67	70,12
	0,25		5,27	2,99	102,75	46,46
<b>Varyasyon Kaynağı</b>						
	Form		ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
	Cynarin		ÖD	ÖD	ÖD	0,001
	Form × Cynarin		0,005	ÖD	ÖD	0,03
3 - 6. HAFTA						
Diyet	Yem Formu	Cynarin	Üre mg/dl	Total Protein g/dl	Total Kolesterol mg/dl	Trigliserit mg/dl
D1	Toz	0	8,58	3,49	106,08	37,92
D2	Pelet	0	9,50	3,30	106,07	35,75
D3	Toz	0,25	10,42	3,33	95,17	34,50
D4	Pelet	0,25	16,21	3,35	106,18	37,09
SEM			1,905	0,058	2,282	2,839
<b>Yem Formu</b>						
	Toz		9,05	3,41	100,63	36,21
	Pelet		12,85	3,32	106,13	36,42
<b>Cynarin</b>						
	0		9,04	3,39	106,08	36,83
	0,25		13,12	3,34	100,67	35,79
<b>Varyasyon Kaynağı</b>						
	Form		ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
	Cynarin		ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
	Form × Cynarin		ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

<sup>a, b</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler birbirinden önemli derecede farklıdır (P<0,05).  
ÖD: Önemli değil (P>0,05).

**Tablo 5.** Yem formu ile diyetle ilave edilen Cynarin'in kan Ca ve iP konsantrasyonu ile ALP düzeyi üzerine etkileri.  
**Table 5.** The effects of feed form and Cynarin on blood Ca and P concentration and ALP levels.

Diyet	Yem Formu	Cynarin	0 - 3. HAFTA			3 - 6. HAFTA		
			iP mg/dl	Ca mg/dl	ALP U/L	iP mg/dl	Ca mg/dl	ALP U/L
<b>D1</b>	Toz	0	6,98 <sup>a</sup>	10,25 <sup>a</sup>	90,59 <sup>b</sup>	7,44 <sup>a</sup>	8,03	234,15
<b>D2</b>	Pelet	0	6,00 <sup>ab</sup>	9,07 <sup>ab</sup>	151,57 <sup>a</sup>	7,46 <sup>a</sup>	7,61	157,48
<b>D3</b>	Toz	0,25	4,67 <sup>c</sup>	7,29 <sup>b</sup>	121,56 <sup>ab</sup>	5,71 <sup>b</sup>	8,93	222,47
<b>D4</b>	Pelet	0,25	5,28 <sup>b</sup>	9,08 <sup>ab</sup>	155,41 <sup>a</sup>	5,39 <sup>b</sup>	8,59	238,75
SEM			0,158	0,254	10,977	0,221	0,250	21,874
<b>Yem formu</b>								
	Toz		5,82	8,77	106,08	6,58	8,48	228,31
	Pelet		5,90	9,08	153,52	6,42	8,10	198,12
<b>Cynarin</b>								
	0		6,50	9,67	121,11	7,45	7,82	195,81
	0,25		5,22	8,18	138,49	5,50	8,76	230,61
<b>Varyasyon Kaynağı</b>								
	Form		ÖD	ÖD	0,036	ÖD	ÖD	ÖD
	Cynarin		0,0001	0,006	ÖD	0,0001	ÖD	ÖD
	Form × Cynarin		0,002	0,006	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

<sup>a, b</sup>: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler birbirinden önemli derecede farklıdır (P<0,05).  
 ÖD: Önemli değil (P>0,05).

Deneme sonu tibia örneklerinden elde edilen Ca ve P konsantrasyon değerleri Tablo 3'de verilmiştir. Kemik yapının temel iki minerali olan Ca ve P değerleri yem formu ya da diyetle Cynarin ilavesine göre değişim göstermemiştir. Tibia Ca ve P düzeylerinin uygulamalara ve Cynarin ilavesine bağlı olarak değişim göstermemesi, diyetdeki minerallerin erişebilirliğinde yani Ca, P ve Zn minerallerin retensiyonun değişmemesi ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Brenes ve ark., 2003; Viveros ve ark., 2002).

Denemenin 3. ve 6. haftalarındaki kan parametreleri ile ilgili sonuçlar Tablo 4'de sunulmuştur. Elde edilen kan parametre değerleri incelendiğinde 3. hafta kan üre, total kolesterol konsantrasyonlarındaki değişimin Form × Cynarin etkileşimine bağlı olarak istatistiksel önemi olduğu (P<0,05), kan trigliserit düzeyinin diyetle Cynarin ilavesi ile düştüğü saptanmıştır (P<0,001). Denemenin 6. haftasında diyet formu ve Cynarin ilavesinin seçilen kan parametrelerini etkilemediği tespit edilmiştir. Broiler civcivlerle yapılan bir çalışmada diyetle %4 enginar yaprağı ilavesinin 0-28 günlük dönemde kan total protein oranını arttırdığı ve kan lipid ve total kolesterol düzeyini ise düşürdüğü ancak bu etkinin

istatistiksel olarak önemli olmadığı bildirilmiştir (Abdo ve ark., 2007). Bu çalışmada Cynarin ilavesi total protein ve total kolesterol düzeyi üzerine bir etkisi olmamış ancak trigliserit düzeyini ise düşürmüştür. Yumurta tavukları ile yapılan bir çalışmada ise diyetle ilave edilen enginar yaprağı ekstraktı ve kurutulmuş enginar yaprağının genel olarak kan parametrelerini etkilemediği ancak %10 düzeyinde enginar yaprağı ilavesinin kan lipid ve kolesterol düzeyini anlamlı olarak düşürdüğünü bildirmişlerdir (Radwan ve ark., 2007).

Kan parametreleri ile ilgili çalışma bulgularımız değerlendirildiğinde denemenin 0-21 günlük bölümünde Cynarin ilavesinin trigliserit düzeyini düşürdüğü bunun da Cynarinin karaciğer fonksiyonları üzerine etkili olması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çünkü bu konuda yapılan birçok çalışmada, enginar yaprağı ekstraktında bulunan fenollerin ve polifenollerin safra salgısını arttırmada oldukça etkili oldukları bunun da yağ sindirimini olumlu etkilediği ileri sürülmüştür (Kraft, 1997; Speroni ve ark., 2003). Enginar yaprağı ekstraktı ilavesinin karaciğerden safra salgılamasını uyararak total safra asit konsantrasyonunu arttırdığı (Saenz ve ark., 2002), safra salgısındaki artışın da sindirim



daha etkin olarak yapılmasına olanak sağladığı bildirilmiştir (Kraft, 1997). Birçok araştırmacı civcivlerde lipaz aktivitesinin yumurta çıkımından sonraki ilk altı gün boyunca düşük düzeyde olduğu ancak 21 günlük olduğunda istenilen düzeye ulaştığını bildirmişlerdir (Krogdahl ve Sell, 1989; Uni ve ark., 1995). Ayrıca safra salgısının da benzer olarak 3 haftalık yaşın altındaki civcivlerde yağ kullanımı için yetersiz olduğu ileri sürülmüştür (Katongole ve March, 1980).

Araştırmamızda yem formu ve Cynarin ilavesinin denemenin 6. haftasında serum total protein, total kolesterol ve trigliserit üzerine bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuç Abdo ve ark. (2007) yaptığı ve enginar yaprağı ilavesinin deneme sonu serum total protein, total kolesterol ve total lipidler üzerine etkisinin olmadığı yönündeki çalışma bulguları ile uyumludur. Civcivlerin sindirim sistemindeki ilk 3 haftada görülen yağ sindirimi ile ilgili yetersizliğin yaş ile birlikte giderildiğinden diyetteki yağ kullanımında artış gerçekleşmektedir (Jin ve ark., 1998). Bu da Cynarinin deneme başında safra salgısını arttırması bunun da yağ metabolizması üzerine olan olumlu etkinin 3. haftadan sonra azalmasını açıklamaktadır.

Denemenin 3. haftasındaki kan fosfor (iP) düzeyi irdelendiğinde (Tablo 5) Cynarin ilavesine bağlı olarak düştüğü ( $P<0,001$ ) görülmüştür. Bu tür sonuçlar, yetersiz fosfor (P) içeren diyetlerle beslenen hayvanlarda P retensiyonundaki artışa bağlı olarak kan P düzeyinin düştüğü yönündeki araştırmalarda görülmüştür (Brenes ve ark., 2003; Ravindran ve ark., 2000). Diyete ilave edilen katkı maddelerinden Cynarin kan iP düzeyini azaltan bir etki gösterdiği ve bu etkinin sadece 0–21 günlük periyotta değil 21-42 günlük periyotta da devam ettiği tespit edilmiştir. Ravindran ve ark. (2000), diyet P düzeyinin düşük olması ya da P kullanımını olumsuz etkileyen nedenler hayvanlarda P retensiyonundaki artışa bağlı olarak kan P düzeyini düşürdüğü ve bununla hayvanlarda P tutma etkinliğindeki artışın bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Deneme sonuçlarımıza bakıldığında Cynarin ilavesinin P

metabolizması üzerine tüm deneme boyunca olumsuz etki gösterdiği ve ancak hayvanların bu duruma P tutulumunu geliştirerek yanıt verdiği anlaşılmaktadır. Diyet formuna bağlı olarak kan iP değerleri arasında bir farklılık görülmemiş ancak toz yemle beslemenin iP düzeyini arttırdığı görülmüştür. Bu konuda yapılan bir çalışmada toz formula beslenen broyler civcivlerin plazma fosfor düzeylerinin yükseldiği, pelet yemle beslenen hayvanların ise yavaşça düştüğü bunun nedeni olarak toz yemin fitat P retensiyonu üzerine pelet yeme göre daha etkili olduğu yönünde sonuç bildirilen (Kilburn ve Edwards, 2001) çalışma bulguları ile uyumludur.

Araştırmada kan Ca düzeyinin denemenin ilk 3 haftasında diyete Cynarin ilave edilmesine bağlı olarak düştüğü ( $P<0,006$ ), bu etkinin denemenin son döneminde ise görülmediği saptanmıştır. Bu durum, diyet Ca ya da P düzeylerinden herhangi birinin optimal değerinin altında olması durumunda fitat P retensiyonunun arttığı bunun da Ca retensiyonunu düşürdüğü (Kilburn ve Edwards, 2001) sonucuyla açıklanabilir. Ancak Cynarinin buradaki rolü açıklanamamıştır.

Farklı uygulamalara bağlı olarak kan ALP düzeyinin değiştiği tespit edilmiştir. Görülen bu değişiklikler 3. haftada diyet yem formunun toz olmasına bağlı olarak azalış gösterdiği saptanmış ( $P<0,036$ ), 6. haftada ise gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. ALP organizmada minerilizasyon süresince önemli rol oynayan bir enzimdir (Moss, 1982). Ancak denemelerde görülen ALP düzeyindeki artışın iskelet bozukluğu ya da karaciğer fonksiyon yetersizliği ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Brenes ve ark., 2003).

Sonuç olarak; tibia ağırlığının toz yem verilen grupta daha yüksek olduğu görülmüş ancak kül oranı ve kemik Ca ve P düzeyi üzerine Cynarin ve yem formunun bir etkisi görülmemiştir. Cynarinin denemenin 3. haftasında trigliserit düzeyini düşürdüğü ancak bu etkinin sadece bu dönemle sınırlı kaldığı saptanmıştır. Kan fosfor düzeyinin Cynarin ilavesi ile düştüğü 6. haftada Ca düzeyinde artış

yönünde bir eğilim olduğu izlenmesinin mineral metabolizması üzerine etkisinin sorgulanması gerekliliği düşünülmektedir.

#### KAYNAKLAR

- Abdo, Z.M.A., Radvan, N.L., Selim, N.A., 2007.** The effect of artichoke leaves meal on utilization of dietary energy for broiler chicks. *International Journal of Poultry Science* 6, 973-982.
- Ahmad, T., Rasool, M., Sarwar, M., Haq, A., Zia ul Hasan., 2000.** Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 83, 103-114.
- Amerah, A.M., Ravindran, V., Lentle, R.G. Thomas, D.G., 2007.** Feed particle size: Implications on the digestion and performance of poultry. *World's Poultry Science Journal* 63, 439-451.
- AOAC, 1994.** Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.
- Brenes, A., Viveros, A., Arija, I., Centeno, C., Pizarro, M., Bravo, C., 2003.** The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology* 110, 201-219.
- Brickett, K.E., Dahiya, J.P., Classen, H.L., Annet, C.B., Gomis, S., 2007.** The impact of nutrient density, feed form, and photoperiod on walking ability and skeletal quality of broiler chickens. *Poultry Science* 86, 2117-2125.
- Engberg, R.M., Hedemann, M.S., Jensen, B.B., 2002.** The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *British Poultry Science* 43, 569-579.
- Gebhardt, R., 1997.** Antioxidative and protective properties of extract from leaves of the artichoke (*Cynara scolymus* L.) against hydroperoxide-induced oxidative stress in cultured rat hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology* 144, 286-297.
- Jin, S.H., Corless, A., Sell, J.L., 1998.** Digestive system development in post-hatch poultry. *World's Poultry Science Journal* 54, 335-340.
- Katongole, J.B.D., March, B.E., 1980.** Fat utilization in relation to intestinal fatty acid binding protein and bile salts in chicks of different ages and different genetic sources. *Poultry Science* 59, 819-827.
- Kilburn, J., Edwards, H.M., 2001.** The response of broilers to the feeding of mash or pelleted diets containing maize of varying particle size. *British Poultry Science* 42, 484-492.
- Krogdahl, A., 1985.** Digestion and absorption of lipid in poultry. *Journal of Nutrition* 115, 675-685.
- Kraft, K., 1997.** Artichoke leaf extract-recent findings reflecting effects on lipid metabolism, liver, and gastrointestinal tracts. *Phytomedicine* 4, 369-378.
- Llorach, R., Espin, J.C., Tomas-Barberan, F.A., Ferreres, F., 2002.** Artichoke (*Cynara scolymus* L.) by products as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3458-3464.
- Moglia, A., Lanteri, S., Comino, C., Acquadro, A., De Vos, R., Beekwilder, J., 2008.** Stress-induced biosynthesis of dicaffeoylquinic acids in globe artichoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 8641-8649.
- Moss, D.W., 1982.** Alkaline phosphatase isoenzymes. *Clinical Chemistry* 28, 2007-2016.
- Nir, I., Twina, Y., Grossman, E., Nitsan, Z., 1994.** Quantitative effect of peleting on performance gastrointestinal tract and behavior of meat type chickens. *British Poultry Science* 35, 589-602.
- National Research Council (NRC), 1994.** Nutrient Requirements of Poultry. 9<sup>th</sup> rev. Ed. National Academy Press, Washington DC.
- Qian, H., Kornegay, E.T., Denbow, D.M., 1996.** Phosphorus equivalence of microbial phytase in turkey diets as influenced by calcium to phosphorus ratios and phosphorus levels. *Poultry Science* 75, 69-81.
- Radwan, N.L., Abdo, Z.M.A., Hassan, R.A., 2007.** Effect of feeding artichoke leaves meal on productive and reproductive performance of Mandarrah Hens. *International Journal of Poultry Science* 6, 826-834.
- Ravindran, V., Cabahug, S., Ravindran, G., Selle, P.H., Bryden, V.L., 2000.** Responses of broiler chickens to microbial phytase supplementation as influenced by dietary phytic acid and non phytate phosphorus levels. II. Effects on apparent metabolizable energy, nutrient

- digestibility and nutrient retention. *British Poultry Science* 41, 193-200.
- Saenz, R.T., Garcia, G.D., dela Puerta, V.R., 2002.** Choleric activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats. *Phytomedicine* 9, 687-693.
- Scott, T.A., 2002.** Evaluation of lighting programs, diet density, and short-term use of mash as compared to crumbled starter to reduce incidence of sudden death syndrome in broiler chicks to 35 days of age. *Canadian Journal of Animal Science* 82, 375-383.
- Schütz, K., Kammerer, D., Carle, R., Schieber, A., 2004.** Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*Cynara scolymus*) heads, juice and pomace by HPLC-DAD-ESI/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 4090-4096.
- Skinner-Noble, D.O., McKinney, L.J., Teeter, R.G., 2005.** Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: III. Feed form affects broiler performance by modifying behavior patterns. *Poultry Science* 84, 403-411.
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G., 1980.** *Statistical Methods*, 7<sup>th</sup> ed., The Iowa State Univ. Press. Ames., Iowa.
- Speroni, E., Cervellati, R., Govoni, P., Guizzardi, S., Renzulli, C., Guerra, M.C., 2003.** Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints. *Journal of Ethnopharmacology* 86, 203-211.
- SPSS, 1999.** SPSS for Windows. Base System User's Guide, Release 10.1, SPSS Inc. Chicago IL, USA, 1999.
- Stoev, S.D., Djuvinov, D., Mirtchevac, T., Pavlov, D., Mantlee, P., 2002.** Studies on some feed additives giving partial protection against ochratoxin A toxicity in chicks. *Toxicology Letter* 135, 33-50.
- Svihus, B., Klovstad, K.H., Perez, V., Zimonja, O., Sahlstrom, S., Schuller, R.B., 2004.** Physical and nutritional effects of pelleting of broiler chicken diets made from wheat ground to different coarsenesses by the use of roller mill and hammermill. *Animal Feed Science and Technology* 117, 281-293.
- Uni, Z., Noy, Y., Sklan, D., 1995.** Posthatch changes in morphology and function of the small intestine in heavy and light strain chicks. *Poultry Science* 74, 1622-1629.
- Viveros, A., Brenes, A., Arija, I., Centeno, C., 2002.** Effects of phytase supplementation on mineral utilization and serum enzyme activities in broiler chicks fed different levels of phosphorus. *Poultry Science* 81, 1172-1183.
- Wisser, L.A., Heinrichs, B.S., Leach, R.M., 1990.** Effect aluminum on performance and mineral metabolism in young chicks and laying hens. *Journal of Nutrition* 120, 493-498.
- Zhu, X., Zhang, H., Lo, R., 2004.** Phenolic compounds from leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus*) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7272-7278.