



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

***İN-VİTRO* YÖNTEMLERLE BAZI ESANSİYEL YAĞLARIN
RUMEN FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oğuzhan ŞEN

**Samsun
Haziran-2019**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

***İN-VİTRO* YÖNTEMLERLE BAZI ESANSİYEL YAĞLARIN
RUMEN FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oğuzhan ŞEN

**Danışman
Doç. Dr. Mustafa SALMAN**

**Samsun
Haziran-2019**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek lisans öğrencisi Oğuzhan ŞEN tarafından Doç. Dr. Mustafa SALMAN Danışmanlığında hazırlanan “***İN VİTRO* YÖNTEMLERLE BAZI ESANSİYEL YAĞLARIN RUMEN FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 24/06/2019 tarihinde yapılan sınav ile Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI

Ankara Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Zehra SELÇUK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Mustafa SALMAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

.... / /.....

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bana gerekli tüm desteği sağlayan saygı değer tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Mustafa SALMAN'a,

Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı yüksek lisans eğitimim sürecinde emeği geçen hocalarım Sayın Prof. Dr. Nurcan ÇETİNKAYA, Sayın Prof. Dr. İsmail KAYA, Sayın Doç. Dr. Zehra SELÇUK, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Buğra GENÇ'e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Habip MURUZ'a,

Gösterdiği sabır ve verdiği her türlü destek için aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma, PYO.VET.1904.15.006 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesine Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

***İN-VİTRO* YÖNTEMLERLE BAZI ESANSİYEL YAĞLARIN RUMEN FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Amaç: Bu çalışmanın amacı, pirinç samanına kuminaldehit, eugenol ve timol ilavesinin gaz üretim tekniği ile *in vitro* organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerini belirlenmesinin yanında suni rumen tekniği ile de *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliğini saptamaktır.

Materyal ve Metot: Araştırmada esansiyel yağ olarak kuminaldehit, eugenol ve timol kullanıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. Deneme grubu 1, 2 ve 3'e sırasıyla 100 ppm, 200 ppm ve 300 ppm düzeylerinde her bir esansiyel yağ için (timol, eugenol ve kuminaldehit) deneme grupları oluşturuldu. Rumen sıvısı %40 kaba yem ve %60 konsantre yemden oluşan bir rasyonla beslenen üç adet besi sığırından alındı. Örnekler gaz üretiminde üç tekrar ve suni rumen tekniğinde 16 tekrar halinde test edildi.

Bulgular: Pirinç samanına 100, 200 ve 300 ppm düzeylerinde ilave edilen kuminaldehit, eugenol ve timol tüm gruplarda kümülatif gaz üretim miktarları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemliydi ($P<0,05$). *In vitro* gaz üretimi yem maddelerinin parçalanması ile ilişkilidir. *In vitro* organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değeri kuminaldehit, eugenol ve timolün artan düzeylerinin ilavesi ile azaldı. Pirinç samanına farklı düzeylerde (100, 200 and 300 ppm) ilave edilen kuminaldehit, eugenol ve timol *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$) bulundu.

Sonuç: Kuminaldehit, eugenol and timolün kümülatif gaz üretim miktarı, metabolize olabilir enerji değeri ve *in vitro* gerçek sindirilebilirlik üzerinde azaltıcı yönde bir etki göstermiştir. Bununla birlikte, daha fazla çalışma *in vivo* ruminal fermentasyon ve performans üzerine kuminaldehit, eugenol and timol etkileri araştırılmalıdır.

Anahtar kelimeler: Eugenol; gaz üretimi; kuminaldehit; metabolize olabilir enerji; sindirilebilirlik; pirinç samanı; timol

**Oğuzhan ŞEN, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Haziran-2019**

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME ESSENTIAL OILS ON RUMEN FERMANTATION BY IN-VITRO METHODS

Aim: The aim of this study was to investigate the effects of cuminaldehyde, eugenol and thymol supplementation on *in vitro* organic matter digestibility and metabolic energy of rice straw using gas production technique, and on *in vitro* true digestibility and NDF digestibility of rice straw using artificial rumen technique.

Material and Method: Cuminaldehyde, eugenol and thymol were used as essential oils in the study. This study was formed a control (no treatment) and three treatment groups. The treatment groups 1, 2 and 3 were supplemented in 100, 200 and 300 ppm levels for each essential oils (cuminaldehyde, eugenol and thymol), respectively. The rumen fluid was obtained from 3 beef cattle fed a diet composed of roughage (40%) and concentrates (60%). All samples were tested with three replicate for gas production technique and 16 replicate for artificial rumen technique.

Results: Cuminaldehyde, eugenol ve thymol added to rice straw at different levels (100, 200 and 300 ppm) were statistically significant ($P < 0.05$) cumulative gas production values in comparison with control group. *In vitro* cumulative gas production is associated with feedstuff degradation. However, gas production alone does not provide direct information on either the extent of degradation or the quantity of fermentative end products. *In vitro* organic matter digestibility and metabolic energy values in treatment groups were decreased ($P < 0.01$) by addition of increasing levels of cuminaldehyde, eugenol and thymol. *In vitro* true digestibility and NDF digestibility in treatment groups were statistically significant ($P < 0.05$) in comparison with control group.

Conclusion: The results showed that the treatment groups decreased significantly ($P < 0.05$) on the cumulative gas production, metabolizable energy value and *in vitro* true digestibility. However, further studies are required to investigate the effects of each essential oils on *in vivo* ruminal fermentation and animal productivity

Keywords: Eugenol; gas production; cuminaldehyde; digestibility; rice straw; thymol

Oğuzhan ŞEN, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, June-2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADF	: Asit Deterjan Fiber
ADL	: Asit Deterjan Lignin
HK	: Ham Kül
HP	: Ham Protein
HS	: Ham Selüloz
HY	: Ham Yağ
KM	: Kuru Madde
NDF	: Nötral Deterjan Fiber
IVTD	: İn Vitro Gerçek Sindirilebilirlik
IVTNDFD	: İn Vitro Gerçek NDF sindirilebilirliği
UYA	: Uçucu Yağ Asiti

TABLÖLAR

Tablo 1. Bazı esansiyel yağların elde edildikleri bitkiler, önemli bileşikleri ve yağ miktarları	7
Tablo 2. Bazı aromatik bitkilerin içerdikleri aktif maddeler ve etkileri	11
Tablo 3. Tablo 3. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehitin kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi (ml/g KM).....	18
Tablo 4. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen eugenolün kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi(ml/g KM).....	19
Tablo 5. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen timolün kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi(ml/g KM).....	20
Tablo 6. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehit, eugenol ve timolün sindirilebilir organik madde (SOM) miktarı üzerine etkisi (%).....	21
Tablo 7. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehit, timol ve eugenolün metabolik enerji miktarı üzerine etkisi(MJ/kg KM).....	21
Tablo 8. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehitin in vitro gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi	22
Tablo 9. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen eugenolün in vitro gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi	23
Tablo 10. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen timolün in vitro gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi.....	24

ŞEKİLLER

Şekil 1.Bazı terpenlerin Kimyasal Yapısı.....	5
---	---



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
TABLolar	vii
ŞEKİLLER	viii
İÇİNDEKİLER	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Esansiyel Yağlar	3
2.2. Esansiyel Yağların Kimyasal Yapısı	4
2.3. Esansiyel Yağların Elde Edilme Yöntemleri.....	5
2.4. Esansiyel Yağların Etkileri ve Kullanım Alanları	8
2.5. Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Etkileri.....	8
2.6. Esansiyel Yağların Rumen Metabolizması Üzerine Etkileri.....	8
2.7. Ruminant Beslemede Esansiyel Yağların Kullanımı.....	11
3. MATERYAL-YÖNTEM	13
3.1. Hayvan Materyali.....	13
3.2. Yem Materyali.....	13
3.3. Yemlerin Kimyasal Analizleri.....	13
3.4. İn vitro Gaz Üretim Miktarının Belirlenmesi.....	14
3.5. İn vitro Gerçek Sindirilebilirliğin Belirlenmesi	14
3.6. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması.....	15
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	16
5. BULGULAR	17
6. TARTIŞMA	25
7. SONUÇ ve ÖNERİLER	29
8. KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	38

1. GİRİŞ

Hayvanların Ruminant beslemede büyüme faktörü antibiyotiklerin 2006 yılında Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımının yasaklanması, araştırmacıları alternatif katkı maddeleri aramaya zorlamıştır. Günümüzde yem ve gıda üretim sürecinde güvenilir gıda tedariki önem kazanarak doğal katkı maddelerin kullanımı önem arz etmiştir. Rumen fermantasyonu, metan emisyonu ve amonyanın doğaya serbest bırakılması gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Sığırlar, yem ile alınan enerjinin %2-15'ini geçirme yoluyla kaybederken, günlük yaklaşık 250-500 L metan üretmektedir. Metan güçlü bir sera gazıdır. Metanın küresel ısınma potansiyeli karbondioksitten yaklaşık 25 kat daha fazladır. Evcil ruminantlarda, toplam metan emisyonu her yıl 65-100 milyon ton arasında hesaplanmıştır. Ruminantlarda metan emisyonu global üretimin yaklaşık %15'i olarak belirtilmektedir (IPCC, 1996). Bu düzeyi yem tüketim miktarı, yemlerin sindirilebilirliği, yemlerin işlenmesi ve yağların (doymamış yağ asitleri) ilavesi etkilemektedir (Johnson ve Johnson, 1995; Boadi ve ark., 2004; Steinfeld ve ark., 2006). Ayrıca bu gazların küresel ısınma üzerinde de etkileri söz konusudur (Hu ve ark., 2005). Çiftlik hayvanları içerisinde metan gazı üretiminin %18'lik kısmını ruminantlar oluşturmaktadır (Hu ve ark., 2005). Bu yüzden, ruminant besleme uzmanları uzun zamandır metan ve amonyak azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) emisyonlarının azaltılması için enerji ve proteinin kullanım etkinliğinin artırılması ile ilgilenmiştir. Bu amaçla, alternatif doğal bitkisel yem katkıları kullanarak ruminantlarda metan emisyonunu düşürmek amacıyla önemli sonuçlar elde edilmiştir. Aromatik bitkilerdeki aktif metabolitler (carvacrol, cinnamaldehit, eugenol, timol) metan üretimini düşürmüştür. Evans ve Martin (2000), yaptıkları çalışmada 45 $\mu\text{g/ml}$ ve 90 $\mu\text{g/ml}$ timol kullanımının laktat üretimi ve *Streptococcus Bovis* (*S. Bovis*) üzerine etkisinin olduğunu belirtmiştir. Oysaki 180 $\mu\text{g/ml}$ düzeyinde timol kullanımının bakteri büyümesi ve laktat üretimini tamamen baskılamıştır. Ayrıca 45 $\mu\text{g/ml}$ timol kullanımı *Selenomonas Ruminantium* (*S. Ruminantium*) çok az etkilerken 90 $\mu\text{g/ml}$ kullanımda ise büyüme tamamen durdurduğu belirtilmiştir. Busquet ve ark. (2006), *in vitro* olarak yaptıkları çalışmada rumen mikrobiyal fermantasyonu üzerinde ardıç, kırmızı biber, dereotu, çemen, zencefil ve yukkanın etkisi olmazken anason, tarçın, karanfil, sarımsak, kekik ve çay ağacı yağlarının toplam uçucu yağ konsantrasyonunu etkilemiştir. Rumende uçucu yağların amonyak üreten bakterilerin gelişimini baskıladığını ve buna bağlı olarak

aminoasitlerin deaminasyonunu düşürdüğünü belirtmiştir (Wallace, 2004). Düşük düzeylerde kullanılan uçucu yağların amonyak üreten bakterilerin gelişimini önemli düzeyde baskımlarken yüksek düzeydeki kullanımları ise bütün bakteriler üzerinde etkili olduğunu ifade etmiştir (Patra, 2011). Yapısal polisakkaritlerin sindirimi üzerine uçucu yağların etkisi bulunmazken amilolitik ve proteolitik bakteriler tarafından kullanılan substratların sindirimini baskılamaktadır (Wallace, 2002). Juven ve ark. (1994), tarçın uçucu yağı ile ilgili yaptıkları çalışmada pH değerinin 6.5'ten 5.5'e düşürülmesi ile tarçın uçucu yağının antimikrobiyal etkisinin arttığını belirlemişlerdir. Konsantre yem ağırlıklı beslemede rumende oluşan düşük pH'da cinnamaldehit kullanımının besin madde kullanılabilirliği üzerinde olumlu etkisi olmuştur (Cardozo ve ark., 2005; Calsamiglia ve ark., 2007).

Busquet ve ark. (2006), cinnamaldehit kullanımının (3000 mg/L) amonyak konsantrasyonu üzerinde düşürücü etkisi olmuştur. Chaves ve ark. (2008), arpa ağırlıklı rasyonlara cinnamaldehit ilavesinin amonyak konsantrasyonunu düşürdüğünü, mısır ağırlıklı rasyonlarda ise azalttığını belirtmiştir. Chaves ve ark. (2008), *in vitro* olarak tarçın yaprak uçucu yağı (%76 eugenol) kullanımının amonyak düzeyini ve deaminasyonu artırmıştır. Wallace (2004), uçucu yağların antibakteriyal aktivitedeki seçiciliği rumende protein yıkımlanmasını baskılayarak by-pass protein/amino asit oranını artırdığını belirtmiştir. Sekonder bitki bileşenleri olan terpenoidler (carvacrol, carvone, timol, terpinen-4-ol) ve phenylpropanoidler (cinnamaldehyde, eugenol, anethol) antimikrobiyal aktivite gösterirler (Helander ve ark., 1998). *In vitro* çalışmalarda kekik ekstraktında bulunan timol metan üretimini düşürmüştür (Calsamiglia ve ark., 2007).

Türkiye'de ekilen çeltik 1 108 844 dekar alan, toplam 830 ton üretim elde edilmektedir. Dekar alana düşen verim ortalama 749 kg olarak belirlenmiştir (TÜİK, 2014). Bu proje ile ülkemizde önemli bir kaynak olan çeltik samanının kullanılacak esansiyel yağlar ile rumen fermantasyonu sonucu açığa çıkan ve sera gazı etkisi olan toplam gaz miktarının belirlenmesi ve yemin organik madde, NDF ve metabolik enerji değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

Yaşamın her döneminde insanlar bitkilerden faydalanmıştır. Tarihsel süreçte insanlar bitkilerden şifa bulmak amacıyla kullanımını geliştirerek günümüze kadar aktarabilmiştir (Altan ve ark., 1999).

Türkiye dünya üzerindeki coğrafi konumu ile hem iklim hem de bitki çeşitliliği (özellikle tıbbi ve aromatik bitkiler) yönünden dünya üretiminde önemli bir yere sahiptir. Bu bitkiler ilaç, kozmetik, parfümeri ve katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. Tıbbi amaçlı yaklaşık 20.000 adet bitki türü kullanılmaktadır (Başer, 1997; Lange, 2006). Ülkemiz bitki florasında yaklaşık % 30'u aromatik bitki olan toplam 9.000 bitki türü bulunmaktadır. Esansiyel yağ bakımından en zengin bitki florası Batı ve Güneydoğu Anadolu bölgeleridir. Bu bitkilerin yılda 60 milyar dolarlık bir piyasa değeri bulunmaktadır (Kumar, 2009).

Hayvan beslemede büyütme faktörü antibiyotiklerin 2006 yılında Avrupa Birliği ülkelerinde kullanımının yasaklanması, araştırmacıları alternatif katkı maddeleri aramaya zorlamıştır. Günümüzde doğal katkı maddelerinin kullanımı özellikle gıda üretim güvenilirliği bakımından değer kazanmıştır. Dorman ve Deans (2000), mikrobiyal aktivitelerinden dolayı birçok esansiyel yağın hastalıkların tedavisinde kullanıldığını belirtmiştir.

Antibiyotiklere alternatif olarak esansiyel yağların rumen fermentasyonu üzerine etkileri ile ilgili birçok araştırma yapılmaktadır (Tekeli ve ark., 2007). Newbold ve ark. (2004), esansiyel yağların rumendeki mikrobiyal aktivite üzerine farklı sonuçların elde edildiğini, kimi çalışmalarda mikrobiyal aktiviteyi uyardığını ya da baskıladığını belirtmiştir.

2.1. Esansiyel Yağlar

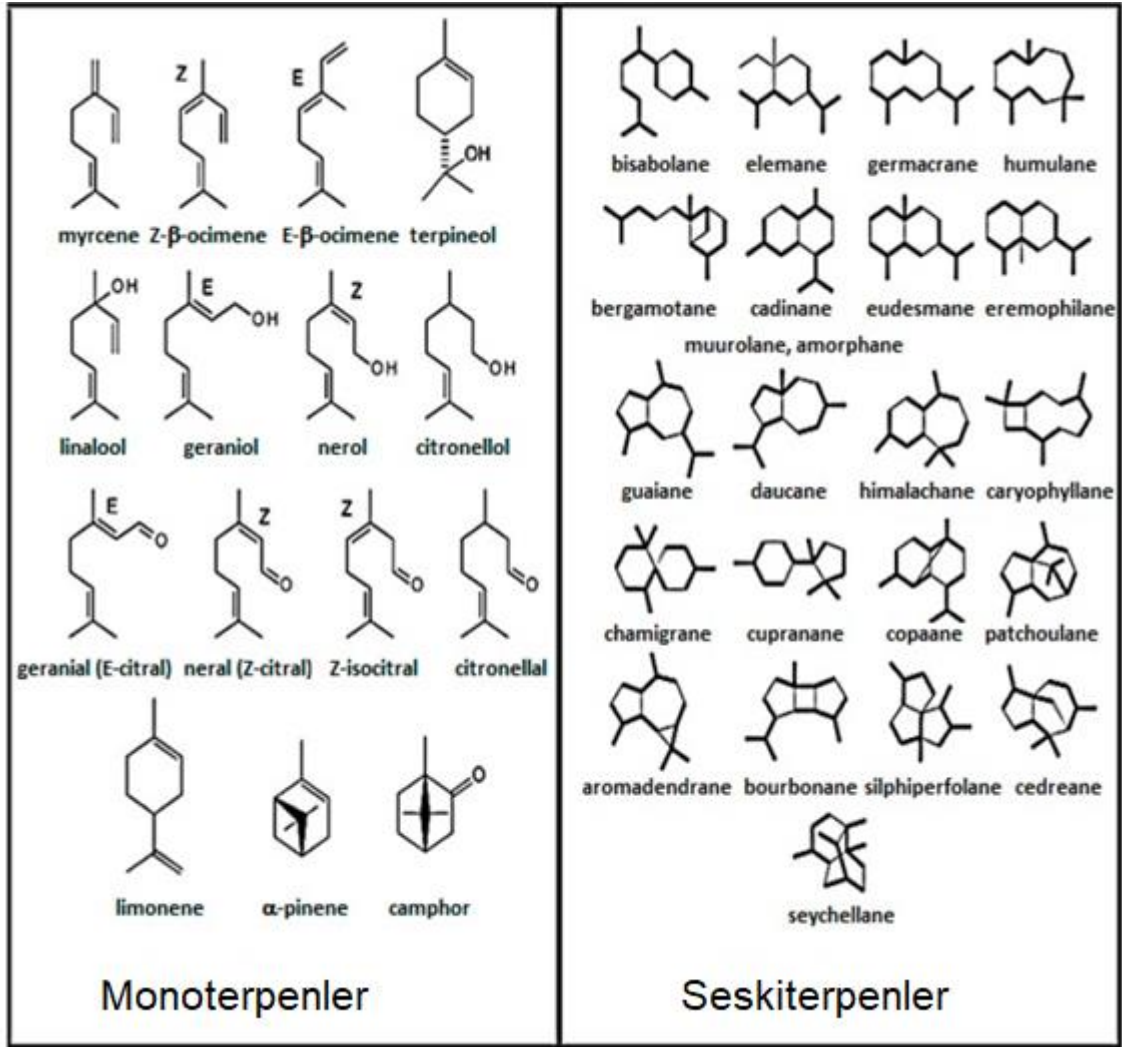
Esansiyel yağlar, bitkilerin uçucu aroma bileşiklerini içeren konsantre hidrofobik sıvılardır. Buharda uçucu olduklarından dolayı uçucu veya eterik yağlar olarak da bilinirler. Bitkilerin yaprak, çiçek, kabuk, tohum ve köklerinde bulunan bu yağlar kendine has kokuları kapsamındaki uçucu yağlardan kaynaklanmaktadır. Fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından sabit yağlardan farklıdır. Uçucu yağlar oda sıcaklığında bile buharlaşma özelliğine sahip olup trigliserit yapısı bulundurmazlar (Ceylan, 1997). Kimyasal yapılarının önemli bir kısmını terpenler ve terpen derivatları oluşturur. Bununla

birlikte yapılarında azda olsa fenoller, esterler, alkoller, aldehitler, kükürt ve azot bulunur. Terapik özellikleri ile koku ve tat terpenlerin oksitlenmesi sonucu oluşur (Linskens ve Jackson, 1997).

Alternatif tıpta esansiyel yağlar kullanım alanı bulmuştur. Bu yağlar, ilaç endüstrisinde bakterisit, analjezik, antifungal, stimulan, antioksidan gibi etkilerinden faydalanılmaktadır. İlaçların koku ve tatlarını iyileştirmek için eczacılıkta kullanılır. Ayrıca terapi amacıyla uygulanacak masajlar yanında rahatlatıcı banyolarda da kullanılır. Bunun yanında böcek kovucu (sedir ve lavanta) özellikleri de bulunmaktadır (Kılıç, 2008). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde uçucu yağ kârlı bir üretim olarak yapılmaktadır. Uçucu yağların üretimleri teknik açıdan kolay olmasına rağmen Türkiye flora çeşitliliği bakımından zengin olmasına rağmen gül dışında büyük bir üretime sahip değildir (Ceylan, 1997).

2.2. Esansiyel Yağların Kimyasal Yapısı

Esansiyel yağ komponentleri esas olarak terpen ailesinin büyük çoğunluğuna oluşturur (Şekil 1). Terpen ailesine ait binlerce bileşik, şimdiye kadar alkollerin (geraniol, α -bisabolol), aldehitlerin (sitronellal, sinensal) ketonların (menthone, p-vetivon), esterlerin (γ -tepinil asetat, çiril asetat) ve fenollerin (timol) işlevselleştirilmiş türevleri gibi esansiyel yağlarda (Modzelewska ve ark., 2005) tanımlanmıştır. Bu yağlar suda çözünmezler. Bunu yanında eter, kloroform ve benzen gibi organik çözücülerde çözünürler. Yapısında çoğunlukla monoterpenler, seskiterpenler diterpenler ve hidrokarbonlar azotlu türevleri bulunur (Tanker ve Tanker, 1985). Alternatif tedavilerin ana etken maddelerini oluştururlar (Yıldız ve Çetin, 2004). Esansiyel yağların metabolik dönüşümleri hızlı olduğundan vücut dokularında birikim olmamaktadır (Bozkurt, 2005).



Şekil 1. Bazı terpenlerin kimyasal yapısı

Esansiyel yağlar kimyasal bileşimlerine göre (Bakkali ve ark., 2008). terpenik maddeler, aromatik maddeler, düz zincirli hidrokarbonlar ve azot ve kükürt taşıyan bileşikler olarak sınıflandırılabilir. Uçucu yağlarda terpenik maddelerden sonra en fazla bulunan bileşikler aromatik maddelerdir. Bunların yapısında benzen, propilbenzen, fonksiyonel grup olarak da alkol, fenol, keton, lakton aldehit bulundurulur. Esansiyel yağlar antienflamatuar, antiromatizmal ve diüretik gibi farmakolojik etkilere sahiptir (Ali ve Blunden, 2003).

2.3. Esansiyel Yağların Elde Edilme Yöntemleri

Bitki kısmı ve miktarına bağlı olarak farklı yöntemlerle elde edilmektedir. Esansiyel yağlar distilasyon, presleme ve ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilir.

Portakal, bergamot, greyfurt gibi taze kabuklu narenciyeler presleme yöntemi ile elde edilirken, diğerleri distilasyon yöntemi ile elde edilir. Bazı esansiyel yağların elde edildikleri bitkiler ve uçucu yağ miktarları Tablo 1’de gösterilmiştir (Burt, 2004).



Tablo 1. Bazı esansiyel yağların elde edildikleri bitkiler, önemli bileşikleri ve yağ miktarları (Burt, 2004'den uyarlanmıştır)

Bitki adı	Elde edildiği bitki	Önemli bileşikleri	Uçucu yağ miktarı %
Ada çayı	Salvia Officinalis L.	Camphor	4-10
		α -Pinenejane	2-10
		1,8-cineole	6-14
		α -tujone	20-42
Ardıç	Juniperus communis L. (yumuşak meyveleri)	α -pinene	34
		sabinene	28
		myrcene	6
Bergamot	Citrus bergamia (meyveleri)	β -Pinene	8
		limonene+ β -phellondrene	39
		linalool	11
		Linelylacetate	26
Biberiye	Rosmarinus officinalis	α -Pinene	2-25
		Bamylacetela	0-17
		Camphor	2-14
		1,8-cineol	3-89
Karabiber	Pipernigrum L.	α -Pinene	9
		β -Pinene	10
		Sabinene	19
		Limonene	18
		β -coryophylene	15
Kekik	Thymus vulgaris	Tymol	10-64
		Carvaerol	2-11
		α -Terpinene	2-31
		p-cymene	10-56
Kekik otu	Origanum vulgare	Carvacrol	iz-80
Güvey otu		Thymol	iz-64
		α -terpinene	2-52
		p-cymene	iz-52
Tarçın	Cinnamonum zeylancicum	Trans-cimomeldehyde	65-77
		Eugenol	7

2.4. Esansiyel Yağların Etkileri ve Kullanım Alanları

Esansiyel yağların yapısında bulunan alil, allisin ve izotiyosiyanat gibi bileşikler ile sarımsak, tarçın, karanfil, kekik, yukka gibi şifalı bitkilerin antimikrobiyal etkileri üzerine birçok araştırma yapılmaktadır. Esansiyel yağlar; patojenlerin sindirim sisteminde çoğalmalarını inhibe etmek, enzimlerin aktivitelerini artırmak, immunitiyi uyarmak, yemin lezzetini ve yemden yararlanmayı iyileştirmek gibi etkileri söz konusudur. Ancak elde edilen sonuçlara rağmen yem katkısı olarak henüz ticari bir değere ulaşamamıştır. (Kutlu, 2001).

2.5. Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Etkileri

Esansiyel yağların antimikrobiyal etkileri; bu yağların lipofilik özellikleri ile kimyasal yapılarının etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca mikroorganizmaların hücre duvarındaki enzimlerin aktivasyonunu düşürerek mikroorganizmaların gelişimini sınırlamaktadır (Benchaar ve ark., 2006).

Esansiyel yağların antimikrobiyal etkileri ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır. O’Gara ve ark. (2000), fesleğen, defne, karanfil, kekik ve biberiye uçucu yağlarının *Listeria Monocytogenes*’e karşı bakterisit etki gösterdiğini araştırmalarında ortaya koymuştur. Akgül ve Kıvanç (1989), nane, rezene, kimyon ve defne uçucu yağların patojenlerin (*Eschericia Coli*, *Staphilococcus Aureus* ve *Bacillus Subtilis* gibi) gelişimini engellediğini bildirmiştir. Schelz ve ark. (2006), yaptıkları çalışma ile nane yağı ve biberiye yağının bazı mantar suşları (*Saccharomyces Cerevisia*) üzerinde etkili olduğunu, ayrıca biberiye yağının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus Epidermitis* üzerinde önemli bir etki oluşturmadığını rapor etmiştir. Kekik yağı, *Aspergillus Niger*’e karşı önleyici etkisini hücre organelleri ile hücre duvarına zarar vererek gösterir (Rasooli ve ark., 2006). Esansiyel yağların yüksek dozlarda kullanımı enterositlerdeki Na⁺ ve K⁺ iyonlarının derişimini etkilemesi, adenosin trifosfataz enziminin aktivitesini engellemesi sonucunda bağırsaktaki besin maddelerinin taşınmaları zorlaşır (Bozkurt, 2005).

2.6. Esansiyel Yağların Rumen Metabolizması Üzerine Etkileri

Ruminantlar, sahip olduğu rumendeki bakteri, protozoa ve mantarlar sayesinde alınan besinlerin yıkımlanması sonucunda oluşan ürünlere bağlı olarak bir nevi

fermantasyon tankı olarak ele alınabilir. Yemlerin yapısında bulunan karbonhidrat, protein ve yağ gibi besin maddeleri rumende mikroorganizmalar tarafından fermente edilerek uçucu yağ asitlerine (UYA), H_2 ve CO_2 'e yıkımlanır. Rumendeki mikrobiyal faaliyetle karbonhidratların yıkımlanması sonucunda oluşan H^+ iyonları metan üretimine katkı sağlar. Bu durum araştırmacıları karbonhidrat sindirimi sonucu oluşan ve önemli bir enerji kaybına neden olan metan üretimini azaltmaya yöneltmiştir. Rasyonla alınan karbonhidratlar rumendeki mikrobiyal fermentasyonla UYA, CO_2 ve CH_4 gibi son ürünlere dönüşür (Mitsumori ve Sun, 2008). Asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit rumende oluşan baskın uçucu yağ asitleridir (Wolin, 1979). Yem katkı maddeleri rumende oluşan metan üretimini düşürmek için uzun yıllar kullanılmıştır. Bu maddeler metanogenezis üzerinde kalıcı etki oluşturamadığı gibi hayvanlar üzerinde de toksisiteye sebep olmuştur (Moss ve ark., 2000). Bu amaçla kullanılan antibiyotiklerin hayvansal dokularda kalıntı bırakması ve dirençli bakterilerin oluşumuna neden olmasından dolayı doğal katkı maddelerine yönelimi artırmıştır. Bitkilerde bulunan esansiyel yağların, saponinlerin, taninlerin ve organasülfürlerin rumendeki mikrobiyal popülasyon üzerindeki olumlu etkisi, azot metabolizmasını iyileştirmesi, metan oluşumunu düşürmesi, rumen sağlığı ve hayvan verimini artırması ile beslenmeye bağlı oluşan hastalık (asidosiz ve timpani) risklerini azaltmaya yönelik katkıları söz konusudur (Wallace, 2004; Kamra ve ark., 2006; Rochfort ve ark., 2008; Patra ve Saxena, 2009). Yapılan araştırmalarda (Mueller ve Harvey, 2006; Benchaar ve ark., 2006) bazı bitkilerde bulunan bioaktif maddelerin metanogenesiz üzerindeki olumlu etkileri tespit edilmiştir. Rumende yaşayan protozoonların metabolizmaları sonucunda oluşan hidrojen iyonları metanojenler tarafından kullanılarak CH_4 üretilir (Krumholz, 1983). Ayrıca saponin ve tanin bakımından zengin bitkilerin rumende protozoonların çoğalmalarını baskıladığından metan oluşumunu düşürmüştür (Newbold ve ark., 2004; Moss ve ark., 2000). Yem katkısı olarak kullanılan alternatif doğal bitkilerin metan emisyonu üzerinde azaltıcı yönde etkisi olmuştur (Wallace, 2004). Bitkilerin sahip olduğu saponin, tanin ve esansiyel yağ gibi sekonder metabolitlerin metan üretimini düşürebileceğini rapor etmiştir (Kamra ve ark., Patra ve ark., 2006). Beauchemin ve McGinn (2006), rasyona ilave edilen eterik yağın toplam metan emisyonunu düşürmediğini ve tüketilen her kg kuru maddede metan üretimi ile alınan brüt enerji yüzdesinin metan ile kaybedilen enerji arasında bir farklılık olmadığını ifade etmiştir. Meyer ve ark. (2009), rasyona ilave edilen esansiyel yağ

karışımının asetik asit düzeyi üzerinde azaltıcı yönde bir etki gösterirken propiyonik ve bütirik asit düzeyi üzerinde herhangi bir değişime neden olmamıştır. Bunun yanında asetik asit ile propiyonik asit oranında bir daralmaya neden olmuştur. Rasyona katılan kekik, nane ve portakal yağlarının artan düzeylerde kullanımı CH₄ ve CO₂ gaz üretimini düşürmüştür (Canbolat ve ark., 2011). Bu yağların antimikrobiyal etkilerinin metanojenlere zarar vererek CH₄ ve CO₂ gaz üretimini düşürmüştür. Benzer bir çalışmada (Evans ve Martin, 2000), 400µg/ml düzeyinde timol kullanımının CH₄ üretimini düşürmüştür. Agarwal ve ark. (2009), *in vitro* olarak kullanılan manda rumen sıvısına 0.33, 1.0 ve 2.0 µl/ml düzeylerinde nane yağı kullanımının metan emisyonunda yine aynı sırayla %19.9, % 46.0 ve %75.6 oranında düşürmüştür. Yüksek düzeyde kullanılan nane yağının rumendeki mikroorganizmalar üzerinde toksik bir etki oluşturmuştur. Bu nedenle metanogenezisi düşürmek için nane yağının *in vivo* çalışmalarda kullanılabilmesi ancak düşük düzeylerle sağlanabilir. Ülkemizde mevcut bitki esansiyel yağlarının enterik metan oluşumu üzerindeki azaltıcı etkileri saptanmalıdır. Bazı aromatik bitkilere ait aktif maddeler ve etki şekilleri Tablo 2’de verilmiştir (Çabuk ve ark., 2003).

Tablo 2. Bazı aromatik bitkilerin içerdikleri aktif maddeler ve etkileri (Çabuk ve ark., 2003'den uyarlanmıştır)

Bitki adı	Bitki bölümü	Aktif madde	Etki Şekli
Adaçayı	Yaprak	Cineole	Sindirim uyarıcı, antiseptik
Anason	Tohum	Anothole	Sindirim uyarıcı
Bayır turpu	Kök	Allylisoithiocyanate	İştah artırıcı
Biber	Tohum	Sabinene	Sindirim uyarıcı, ishal önleyici
Biberiye	Yaprak	Cineole	Sindirim uyarıcı, antiseptik
Defne	Yaprak	Cineole	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı, antiseptik
Hardal	Tohum	Allylisoithiocyanate	Sindirim uyarıcı
Hindistan cevizi	Tohum	Sabinene	Sindirim uyarıcı, ishal önleyici
Karabiber	Meyve	Piperine	Sindirim uyarıcı
Karanfil	Çiçek	Eugenol	İştah arttırıcı, sindirim uyarıcı,antiseptik
Kekik	Tüm bitki	Thymol, carvacrol	Sindirim uyarıcı, antiseptik, antioksidan
Kereviz	Yaprak, kök	Phtalides	İştah arttırıcı, sindirim uyarıcı
Kimyon	Tohum	Cuminaldehyde	Sindirim uyarıcı
Kişniş	Yaprak,Tohum	Linalol	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı,
Maydanoz	Yaprak	Sindirim uyarıcı,antiseptik	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı,antiseptik
Nane	Yaprak	Menthol	İştah artırıcı,sindirim uyarıcı,antiseptik
Sarımsak	Soğan	Alicin	
Tarçın	Kabuk	Cinnamaldehyde	İştah artırıcı,sindirim uyarıcı,antiseptik
Zencefil	Rhizoma	Zingorole	Sindirim uyarıcı

2.7. Ruminant Beslemede Esansiyel Yağların Kullanımı

Süt ineği rasyonlarına ilave edilen esansiyel yağ katkısının rumende deaminasyonu azalttığını, rumendeki protozoa ve mantarlar üzerinde etkisinin olmadığını belirtmiştir (Mcintosh ve ark., 2003). Yem katkı maddesi olarak tarçın, sarımsak, kekik ve anason kullanımı rumen fermentasyon son ürünleri olan asetat/bütirat oranı artmış, propiyonat düzeyi azalmıştır. Deaminasyonun anason ve sarımsak kullanımından engellendiğini belirtmiştir (Cardozo ve ark., 2004). Başer (2008), anason yağının stres

durumunda ineklerin üzerine püskürtülerek kullanımının faydalı olacağını belirtmiştir.

Laktasyondaki Holştayn ineklerin rasyonlarına artan miktarda esansiyel yağ (0, 200, 400 ve 600 mg/gün) ilavesinin süt kompozisyonunu etkilememiştir. Genel olarak rumen fermantasyon özellikleri bakımından kontrol grubu ile deneme grupları arasında da tüm esansiyel yağ düzeyleri ile bütirat konsantrasyonları %13 artış göstermiştir. Esansiyel yağ olarak 200 mg ve 400 mg ilave edilen gruplarda rumende amonyak ve azot konsantrasyonu yüksek tespit edilmiştir. Buna ek olarak 200 mg/g esansiyel yağ eklenen rasyonlarda ham protein parçalanabilirliği azalmıştır (Angela ve ark., 1995).

Besi sığırlarında rumende oluşan enerjinin daha etkin kullanımı için bitki ekstraktlarının rumendeki mikrobiyal faaliyet üzerindeki etkisi pH değişimine bağlıdır (Cardozo ve ark.,2005). Hayvanların gübreleriyle oluşturacağı çevre kirliliğini önlemek maksadıyla kullanılabilir (Varel ve Miller, 2001).

Kuzu besisinde kullanılan kekik yağı besi performansını etkilememiştir. Bunun yanında *in vitro* gaz üretimi, rumen sıvısında uçucu yağ düzeyi ile metabolik enerji miktarı üzerinde olumsuz bir etkisi omuştur (Canbolat, 2006). Bir çok araştırmacı (Benchaa ve ark., 2006; Evans ve Martin, 2000; Castillejos ve ark., 2008) esansiyel yağların mikroorganizmaların aktivitelerini engelleyerek rumen fermantasyonunu sınırladığını belirtmiştir. Bir başka çalışmada (Bozkurt ve ark., 2007) kekik yağı ve çörek otu yağı kullanımının kuru madde tüketimini ve NDF sindirilebilirliğini düşürmüştür.

3. MATERYAL-YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Araştırmada kullanılan rumen sıvısı Samsun Florya Mezbahanesinde kesilen sığırlardan elde edildi. Rumen sıvısı termosaya alınmadan önce 39°C sıcaklık ve anaerobik ortam (CO₂ verilerek) sağlandı. Termosa alınan rumen sıvısı en kısa süre içerisinde Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Ruminant Yem Değerlendirme Laboratuvarına getirildi. *In vitro* çalışmalarda kullanılmak üzere rumen sıvısı dört katlı sargı bezinden süzüldü. Çalışma süresince 39°C sıcaklık ve anaerob ortam sağlandı.

3.2. Yem Materyali

Araştırmanın yem materyalini Samsun ilinin Bafra ilçesinde yoğun olarak tarımı yapılan çeltiğin bir yan ürünü olan çeltik samanı kullanıldı. Araştırmayı bir kontrol ve üç deneme grubu oluşturdu. Kontrol grubuna herhangi bir esansiyel yağ katılmadı. Araştırmada esansiyel yağ olarak timol, eugenol ve kuminaldehit kullanıldı. Her bir esansiyel yağ için ayrı deneme grupları oluşturuldu. Timol, eugenol ve kuminaldehit için deneme grubu 1, 2 ve 3'e sırasıyla 100 ppm, 200 ppm ve 300 ppm düzeylerinde kullanıldı.

3.3. Yemlerin Kimyasal Analizleri

Yemlerin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarındaki mevcut cihazlardan faydalanıldı. Yemler elek çapı 1 mm olan değirmende öğütüldü. Yemler, 105°C'de 4 saat kuru madde dolabında kurutularak kuru maddeleri, 550°C'de 4 saat kül fırınında yakılarak ham kül içerikler saptandı. Azot (N) içeriğinin saptanmasında Kjeldahl metodu kullanılarak yemdeki azot içeriği belirlendi. Yemdeki ham protein miktarı %16 N esas alınarak hesaplandı. Soxhlet extraction cihazından faydalanılarak ham yağ analizi yapıldı (AOAC, 2006). ANKOM 200 Fiber Analyzer cihazı kullanılarak nötral deterjan fiber (NDF), asit deterjan fiber (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) içerikleri saptandı (Van Soest ve ark., 1991).

3.4. *İn Vitro* Gaz Üretim Miktarının Belirlenmesi

Ankom Gaz Üretim sisteminden (AnkomRF Gas Production System, Ankom Technology, NY, USA) faydalınarak yemlerin *in vitro* gaz üretim miktarı belirlendi. Yemlerin gaz üretim miktarlarını belirlemek için 250 ml hacimli cam şişelerden (modül) faydalanıldı. Rumen sıvısı ve çözelti karışımlarına 1 g deneme yemi örnekleri üç tekerrürlü 250 mL hacimli cam şişelerin içerisine ilave edildi. Araştırma planında her bir esansiyel yağ için (timol, eugenol ve cuminaldehid) kontrol, 100 ppm, 200 ppm ve 300 ppm düzeylerinde olacak şekilde düzenlendi. Şişeler 39°C’de su banyosunda 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saat sürelerle inkübe edilerek ve açığa çıkan gaz miktarları, modüllerden gelen veriler bilgisayarda kaydedildi. Organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerlerini belirlemek için aşağıdaki formüllerden faydalanıldı (Menke ve Steingass, 1988).

$$ME \text{ (MJ/kg KM)} = 2.20 + 0.1357 \times G\ddot{U}_{24200} + 0.0057 \times HP + 0.0002859 \times HY^2$$

$G\ddot{U}_{24200}$: 200 g yem numunesi için 24h’de üretilen gaz miktarı,

HP: Ham protein (g/kg KM),

HY: Ham Yağ (g/kg KM)

$$\text{Organik madde sindirilebilirliği SOM (\%)} = 57.2 + 0.365 G\ddot{U} + 0.304 HP - 1.98 ADL$$

Tampon ve çözeltilerin hazırlanması: Bu amaçla resazurin (yapay tükürük), *in vitro* tampon çözeltisi, makro ve mikro mineral çözeltisi ve reduksiyon çözeltilerinden faydalanıldı (Goering ve Soest, 1970). Yapay tükürüğün hazırlanması: 0.1 g resaruzin 100 ml distile su içerisinde çözüldü. *İn vitro* tampon çözeltisi: 35 g $NaHCO_3$ + 4 g NH_4HCO_3 saf su kullanılarak 1000 ml’ye tamamlandı. *İn vitro* makro mineral çözeltisi: 5.7 g susuz Na_2HPO_4 + 6.2 g susuz KH_2PO_4 + 0.6 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ saf su kullanılarak 1 litreye tamamladı. *In vitro* mikro element çözeltisi: 13.2 g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ + 10.0 g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ + 1.0 g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ + 8 g $FeCl_2 \cdot 6H_2O$ saf su kullanılarak 100 ml’ye tamamlandı. Redüksiyon çözeltisi: 4 ml 1.0 N NaOH + 625 mg $Na_2S \cdot 9H_2O$ + 625 mg Cysteine HCl distilesu kullanılarak 100 ml’ye tamamlanır. Bu çözelti taze olarak hazırlandı.

3.5. *İn Vitro* Gerçek Sindirilebilirliğin Belirlenmesi

İn vitro gerçek sindirilebilirlik analizi için yapay rumen görevini gören Daisy inkübatör (D200, D200I) cihazı kullanıldı. İnkübatörün içerisinde dört adet üç litrelik kavanoz bulunmaktadır. Taze rumen içeriğindeki katı ve sıvı kısımları birbirinden

ayırmak için üç katlı gazlı bez kullanıldı. Elde edilen sıvı kısım fermentörlerde inkubasyona bırakıldı (Czerkowski ve Breckenridge, 1977). Anaerobik koşulların devamlılığı sağlandı.

Yem örneklerinin konulacağı F57 torbaların mikrobiyal faaliyeti engelleyecek maddelerin ortamdan uzaklaştırmak amacıyla 3-5 dakika aseton içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra asetonun uçması için açık havada bekletildi. Torbaların nem içermemesi için 105°C'deki kurutma dolabında 3 saat bekletildikten sonra desikatöre konularak soğumaya bırakıldı. Torbaların daraları alındıktan sonra içerisine yemlerden 0.5 ± 0.05 g örnek tartıldı. Sıcak damgalama ile torbaların ağızları kapatıldı. Kullanılan maddelerin herbir dozu için 14 paralel ve 2 adet kör olmak üzere toplam 16 torba hazırlandı.

3.6. Tampon Çözeltilerin Hazırlanması

Çalışmada iki ayrı tampon çözelti kullanıldı. Tampon Çözelti A: KH_2PO_4 :10,0 g/litre; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g/L; NaCl : 0.5g/L; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:0.1 g/L; üre:0.5 g/L ve Tampon Çözelti B: Na_2CO_3 :15.0 g/L; $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$: 1.0 g/L kullanılarak hazırlandı. A ve B çözeltilerinin karışımdaki oranı 5:1 olarak hazırlandı. Her bir fermentöre (kavanoz) oluşturulan karışımdan 1600 ml inkübatöre (Ankom Daisy II-200/220) eklendi. Fermentörlere konulan tampon çözeltilerin *pH* değerinin 6.8 ve sıcaklık 39°C ulaştıktan sonra hazırlanan rumen sıvısı herbir fermentöre 400 ml konuldu. Araştırma sürecinde her bir fermentör eşzamanlı olarak çalıştırıldı. Çalışma sürecinde anaerobik ortam CO_2 tüpü ile sağlandı. Çalışmada kullanılan esansiyel yağlar ve her dozları ayrı fermentörlerde gerçekleştirildi. Fermentörlerden biri kontrol grubu (esansiyel yağ ilave edilmeyen grup) olarak kullanıldı. Daha sonra 2 lt'lik (1600ml solusyon+ 400 ml rumen sıvısı) inkübasyon sıvılarına 100 ppm doz verilen fermentöre 200 mikrolitre esansiyel yağ konuldu. 200 ppm doz verilen fermentöre 400 mikrolitre, 300 ppm doz verilen kavanoza 600 mikrolitre esansiyel yağı ilave edildi. Bu işlem her bir esansiyel yağ (euganol, cuminaldehid ve timol) için ayrı ayrı gerçekleştirildi. Fermentörlerdeki ayıracın her iki tarafına eşit şekilde torbalar yerleştirildi. İnkübatördeki örnekler 48 saat sonunda çıkarılarak çeşme suyu altında berrak su gelene kadar torbalar bekletildikten sonra kurutma dolabında 105 °C'de 3 saat bekletildi. Daha sonra örneklerin NDF analizleri için ANKOMP²⁰⁰ Fiber Analyzer cihazı kullanıldı.

$$\% \text{ IVTD (doğal halde)} = 100 - (W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100 / W_2$$

$$\% \text{IVTD}_{\text{KM}} (\text{KM bazında}) = 100 - (W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100 / (W_2 \times \text{KM})$$

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin normallik varsayımı Kolmogorov Smirnov testi ve varyansların homojenliği Levene testi ile incelendi. Sonuçlar tek yönlü varyans analizi ile %5 önem seviyesine göre incelendi. Ortalamaların karşılaştırılması için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Analizler Ondokuz Mayıs Üniversitesi lisanslı IBM SPSS istatistik versiyon 21.0 paket programı kullanıldı (SPSS, 2012).



4. BULGULAR

Araştırmada kullanılan piriń samanının kuru madde, ham protein, ham yağ, ham kül, NDF, ADF ve ADL içerikleri sırasıyla %97.5%, %6.10, %3.07, %14.67, %64.70, %39.68 ve %4,94 olarak belirlendi. Piriń samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehit, euganol ve timolün kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi sırasıyla Tablo 3, 4 ve 5’te verilmiştir. Piriń samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehit, euganol ve timolün sindirilebilir organik madde miktarı üzerine etkisi Tablo 6, metabolik enerji miktarı üzerine etkisi Tablo 7’de verilmiştir.

Piriń samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehit, euganol ve timolün *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi sırasıyla Tablo 8, 9 ve 10’da sunulmuştur.

Tablo 3. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehitin kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi (ml/g KM)

Saat	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
3	21.88±0.755a	17.27±1.970ab	15.62±1.335ab	11.14±0.328b	**
6	48.95±2.012a	48.52±4.042a	42.81±2.814a	31.16±0.418b	**
9	79.72±3.048a	70.97±5.068a	53.17±4.345b	42.86±0.571b	**
12	105.80±2.680a	81.80±6.646b	63.08±5.634c	51.35±1.607c	**
24	165.65±3.020a	132.00±7.680b	107.51±5.425c	86.62±1.127d	**
36	183.69±1.542a	155.29±7.709b	131.75±5.099c	115.39±1.904c	*
48	195.95±0.775a	164.03±7.769b	146.40±4.932c	127.08±2.758d	*
72	206.81±1.687a	181.56±6.869b	163.06±5.286c	145.38±2.741d	**
96	210.87±2.736a	188.52±5.912b	172.83±5.066c	153.39±2.499d	*

*P<0.05; **P<0.01; ^{a,b,c,d} Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

Tablo 4. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen euganolün kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi (ml/g KM)

Saat	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
3	32.90±0.446	30.19±1.242	29.25±3.230	32.21±3.454	ÖS
6	46.37±1.344b	56.10±1.439a	57.24±3.423a	54.02±3.304ab	*
9	72.82±5.771	75.96±5.205	66.25±3.789	66.27±1.335	ÖS
12	87.53±6.109b	89.55±5.139a	75.42±3.621b	76.34±1.710b	*
24	154.87±6.746a	133.68±7.479b	116.26±3.382c	110.07±2.480c	*
36	173.50±10.614a	158.76±5.922b	130.15±2.910bc	123.63±2.454c	*
48	192.42±8.506a	174.01±5.681b	148.27±3.839c	134.11±3.014c	*
72	215.56±6.620a	188.32±4.549b	162.08±3.513c	151.35±0.423c	**
96	221.25±7.323a	189.18±3.939b	162.59±3.561c	151.97±0.516c	**

*P<0.05; **P<0.01; ÖS: önemsiz; ^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

Tablo 5. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen timolün kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi (ml/g KM)

Saat	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
3	28.34±2.775a	16.90±3.960b	17.52±2.213b	17.79±0.813b	**
6	39.05±6.681a	28.74±3.106b	30.79±3.076ab	31.53±0.942ab	*
9	51.77±4.313a	55.71±1.889a	45.13±3.352ab	40.24±1.610b	*
12	62.39±7.315 ab	70.89±1.822a	59.54±5.988ab	52.73±2.700b	*
24	109.57±7.726ab	116.07±4.054a	94.60±6.096b	66.74±5.099c	*
36	139.13±9.990a	133.49±6.536ab	117.27±8.949b	96.08±3.092c	*
48	186.32±6.338a	154.96±5.872b	142.18±4.606b	118.66±8.598c	**
72	201.71±4.239a	166.36±5.330b	169.57±1.555b	146.96±6.740c	**
96	214.70±4.632a	183.37±1.567b	173.32±3.882b	152.61±4.546c	**

*P<0.05; **P<0.01; ÖS: önemsiz; a,b,c: Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

Tablo 6. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehit, euganol ve timolün sindirilebilir organik madde (SOM) miktarı üzerine etkisi (%)

	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
Kuminaldehit	64.89±0.276a	61.82±0.701b	59.59±0.495c	57.68±0.103c	*
Euganol	63.91±0.616a	61.97±0.683b	60.39±0.309bc	59.82±0.226c	*
Timol	59.78±0.705ab	60.37±0.370a	58.41±0.556b	55.87±0.465c	*

*P<0.05; ^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

Tablo 7. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehit, timol ve euganolün metabolik enerji miktarı üzerine etkisi (MJ/kg KM)

	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
Kuminaldehit	8.29±0.102a	7.15±0.261b	6.32±0.184c	5.61±0.038c	*
Euganol	7.92±0.229a	7.21±0.254b	6.61±0.115bc	6.41±0.084c	*
Timol	6.29±0.262ab	6.51±.138a	5.78±0.207b	4.83±0.173c	*

*P<0.05; ^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

Tablo 8. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehitin in vitro gerçek sindirilebilirlik ve in vitro gerçek NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi

	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
IVTD _{YEM}	62.48±0.541a	60.81±1.266a	60.14±1.133a	53.95±0.908b	*
IVTD _{KM}	61.52±0.555a	59.81±1.298a	59.12±1.162a	52.77±0.931b	*
IVTDOM _{KM}	63.65±0.584a	62.53±1.019a	60.89±1.127a	55.93±0.886b	*
IVTNDFD _{KM}	27.88±0.555a	26.17±1.298a	25.48±1.163a	19.13±0.931b	*
IVTNDFD _{NDFYEM}	42.01±0.836a	39.44±1.957a	38.39±1.752a	28.83±1.403b	*
IVTNDF _{NDFOM}	35.33±0.687a	34.01±1.200a	32.07±1.326a	26.24±1.043b	*

*P<0.05; ^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

Tablo 9. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen eugenolün in vitro gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi

	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
IVTD _{YEM}	60.11±0.632a	54.55±0.302b	51.65±1.167b	45.28±0.606c	*
IVTD _{KM}	59.08±0.648a	53.38±0.310b	50.41±1.197b	43.87±0.622c	*
IVTDOM _{KM}	62.37±0.559a	55.83±0.464b	53.42±1.137b	46.30±0.505c	*
IVTNDFD _{KM}	25.44±0.648a	19.74±0.310b	16.77±1.197b	10.23±0.622c	*
IVTNDF _{NDFYEM}	38.34±0.977a	29.75±0.467b	25.27±1.803b	15.42±0.937c	*
IVTNDF _{NDFOM}	33.82±0.658a	26.12±0.546b	23.28±1.339b	14.90±0.595c	*

*P<0.05; ^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

Tablo 10. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen timolün in vitro gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi

	Kontrol	Deneme grubu 1	Deneme grubu 2	Deneme grubu 3	P
IVTD _{YEM}	58.09±0.247a	46.21±0.241b	43.92±0.644c	42.78±0.369c	*
IVTD _{KM}	57.01±0.253a	44.83±0.248b	42.48±0.661c	41.32±0.378c	*
IVTDOM _{KM}	59.95±0.387a	48.05±0.122b	45.67±0.506c	44.02±0.611c	*
IVTNDFD _{KM}	23.37±0.253a	11.19±0.248b	8.84±0.661c	7.68±0.378c	*
IVTNDF _{NDFYEM}	35.22±0.382a	16.86±0.373b	13.32±0.996c	11.57±0.570c	*
IVTNDF _{NDFOM}	30.97±0.456a	16.96±0.143b	14.16±0.596c	12.22±0.720c	*

*P<0.05; ^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir

5. TARTIŞMA

Esansiyel yağların ruminantlarda etkilerini belirlemeye yönelik çalışma sayısı giderek artmasına rağmen bu konuda henüz tatmin edici sonuçlar ortaya konulamamıştır. Bunda farklı esansiyel yağ türlerinin kullanımı, içerdiği etken maddeler, kullanım düzeyleri, yemler ile aralarındaki etkileşim, *in vivo* ve *in vitro* uygulama yöntemleri, bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri düşünülebilir.

Çeltik samanının kimyasal analiz metotları ile kimyasal kompozisyonu belirlenerek besin değerleri ortaya çıkarılabilmektedir. Çeltik samanının organik madde içeriği % 82.80 olarak tespit edilmiştir. Rahman ve ark. (2010), çeltik samanının farklı varyetelerinin organik madde içeriği % 81.21-86.24 aralığında olduğunu rapor etmiştir. Bu sonuçlar şimdiki çalışma ile benzerlik göstermektedir. Mao ve ark. (2013), çeltik samanının ham protein değeri % 6.78 olarak tespit etmiştir. Bu değer şimdiki çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Selçuk ve ark. (2016) ile Rahman ve ark. (2010), çeltik samanının ham protein, NDF, lignin değerleri şimdiki çalışmanın sonuçları ile farklılık gösterirken, ADF değerleri benzerlik göstermiştir.

Organik maddelerin rumende parçalanabilirliğinin belirlenmesi için *in vitro* teknikler rutin yem analizlerinde zaman ve kaynakların korunması yönünde önemli avantajlara sahiptir. *In vitro* gaz üretim tekniği ruminantlar için yemlerin *in vivo* sindirilebilirliğini yansıtmak için önemlidir. Şimdiki çalışmada kullanılan kuminaldehitin 96. saatteki kümülatif gaz üretim miktarı (ml/gKM) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $210.87 \pm 2.736a$, $188.52 \pm 5.912b$, $172.83 \pm 5.066c$ ve $153.39 \pm 2.499d$ olarak belirlendi. Pirinç samanına artan düzeylerde kuminaldehit ilavesinin kümülatif gaz üretim miktarı üzerinde azaltıcı yönde etki göstermiştir. Eugenolün 96. saatteki kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $221.25 \pm 7.323a$, $89.18 \pm 3.939b$, $162.59 \pm 3.561c$ ve $151.97 \pm 0.516c$ olarak belirlendi. Eugenolün ilavesinin kümülatif gaz üretim miktarını istatistiksel olarak önemli bir şekilde düşürmüştür. Yine aynı sıra ile timolün 96. saatteki gaz üretim miktarı üzerine etkisi $214.70 \pm 4.632a$, $183.37 \pm 1.567b$, $173.32 \pm 3.882b$ ve $152.61 \pm 4.546c$ olarak tespit edildi. Pirinç samanına artan düzeylerde timol ilavesinin kümülatif gaz üretim miktarını düşürdü. Şimdiki çalışmada kullanılan esansiyel yağların kümülatif gaz üretim miktarı üzerindeki baskılayıcı etkisi özellikle yapılarındaki sekonder metabolitlerin muhtemelen antimikrobiyal etkilerinden dolayı olabilir. Selçuk

ve ark. (2016), çeltik samanına selülaz ve ksilanaz enzimleri ile yapılan muamelelerde 40 °C’ de inkubasyona bırakılan gruplarda 24 saat sonunda üretilen gaz miktarı daha yüksek buldu. Araştırmacıların elde ettikleri sonuçlar şimdiki çalışmada 24 saat sonunda üretilen gaz üretim miktarı ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Bu farklılığın nedenlerini yemlerin elde edildiği toprağın yapısı, mevsim ve kullanılan rumen sıvısı oluşturabilir. Canbolat ve ark. (2011), esansiyel yağların inkübasyon süresince gaz üretim miktarını önemli düzeyde ($P<0.05$) düşürmesi şimdiki çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Rumen sıvısına artan düzeylerde kuminaldehit, eugenol ve timol ilavesinin *in vitro* gaz üretimindeki azalmanın esansiyel yağlar ve aktif bileşenlerinin antimikrobiyal özellik göstermesinden kaynaklanmaktadır (Greathead, 2003; Benchaar ve ark., 2007; Evans ve Martin, 2000; Agarwal ve ark. 2009; Shekhar ve ark., 2009). Bu nedenle rumen mikroorganizmalarındaki sayısal azalma fonksiyonlarını da kısıtlayacaktır (Newbold ve ark., 2004). Şimdiki araştırmada esansiyel yağların artan düzeylerde kullanımının *in vitro* gaz üretim miktarını düşürmesi ile ilgili elde edilen bulgular, birçok araştırmacının (Benchaar ve ark., 2007; Canbolat ve ark., 2010; Agarwal ve ark., 2009) bulguları ile benzer bulunmuştur.

Pirinç samanının sindirilebilir organik madde düzeyleri (%) kuminaldehit için kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3’de sırasıyla $64.89 \pm 0.276a$, $61.82 \pm 0.701b$, $59.59 \pm 0.495c$ ve $57.68 \pm 0.103c$; eugenol için $63.91 \pm 0.616a$, $61.97 \pm 0.683b$, $60.39 \pm 0.309bc$ ve $59.82 \pm 0.226c$; timol için $59.78 \pm 0.705ab$, $60.37 \pm 0.370a$, $58.41 \pm 0.556b$ ve $55.87 \pm 0.465c$ olarak belirlendi. Kuminaldehit ve eugenolün herbir düzeyinin *in vitro* organik madde sindirilebilirliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bulundu. Pirinç samanına 100 ve 200 ppm düzeyinde ilave edilen timolün organik madde sindirilebilirliği üzerinde olumsuz bir etkisi gözlenmezken, 300 ppm düzeyinde timol kullanımının organik madde sindirilebilirliğini azaltmıştır. Rahman ve ark. (2010), çeltik samanının farklı varyetelerinin *in vitro* gaz üretim tekniği ile elde ettikleri organik madde sindirilebilirliği %37.53-44.58 aralığında olduğunu rapor etmiştir. Bu sonuçlar şimdiki çalışmadan elde edilen sonuçlardan düşük bulundu. Selçuk ve ark. (2016), çeltik samanına ait organik madde sindirilebilirliği şimdiki çalışmadaki 300 ppm düzeyinde kullanılan kuminaldehit, eugenol ve timol kullanılan gruplarla benzerlik gösterdi. Tang ve ark. (2008), fibrolitik enzim sapslementasyonlarının çeltik samanının organik madde sindirilebilirliğini geliştirdiğini rapor etmiştir. Esansiyel yağ olarak

kuminaldehit, eugenol ve timol ve dozlarının artışına bağlı olarak organik madde sindirilebilirliğindeki azalmanın başlıca nedeni rumen fermantasyonunun sınırlandırılmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca hesaplamalarda kullanılan yöntemlerinde etkisi olabilir.

Pirinç samanının metabolik enerji miktarları (MJ/kg KM) kuminaldehit için kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $8.29 \pm 0.102a$, $7.15 \pm 0.261b$, $6.32 \pm 0.184c$ ve $5.61 \pm 0.038c$; eugenol için $7.92 \pm 0.229a$, $7.21 \pm 0.254b$, $6.61 \pm 0.115bc$ ve $6.41 \pm 0.084c$; timol için $6.29 \pm 0.262ab$, $6.51 \pm 0.138a$, $5.78 \pm 0.207b$ ve $4.83 \pm 0.173c$ olarak belirlendi. Küminaldehit ve eugenolün kullanılan herbir düzeyinin metabolik enerji değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulundu. Pirinç samanına 100 ve 200 ppm düzeyinde ilave edilen timolün metabolik enerji değerleri üzerinde olumsuz bir etkisi gözlenmezken, 300 ppm düzeyinde timol kullanımının metabolik enerji değerleri azaltmıştır. Balch (1977), pirinç samanının metabolik enerji değerinin 7.5 MJ ME/kg KM miktarından daha düşük olduğunu belirtmiştir. Rahman ve ark. (2010), çeltik samanının farklı varyetelerinin ME değerlerini 5.61-6.68 MJ ME/kg KM aralığında bulmuştur. Timol uygulanan gruplardaki metabolik enerji değerlerini hem Rahman ve ark. (2010), hem de NRC (1984), raporları ile uyumludur. Her bir esansiyel yağın (kuminaldehit, eugenol ve timol) artan düzeylerde kullanımı metabolik enerji değerini düşürmesi birçok araştırmacının (Benchaar ve ark., 2007; Canbolat ve ark., 2010; Agarwal ve ark., 2009; McIntosh ve ark., 2003) sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Yemlerin besin değerinin ölçümünde kullanılan yöntemlerden biri de suni rumen ortamı sağlanarak yemlerin *in vitro* gerçek sindirilebilirliğinin tespit edilmesidir. Yapraklar pirinç samanının önemli bir kısmını (%70) oluşturur. Düşük yaprak sindirilebilirliği pirinç samanının kalitesini ve hayvan yemi olarak kullanımını sınırlamaktadır (Vadiveloo, 1995). Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehitin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD_{KM}) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $61.52 \pm 0.555a$, $59.81 \pm 1.298a$, $59.12 \pm 1.162a$ ve $52.77 \pm 0.931b$ olarak belirlendi. Aynı sıra ile *in vitro* gerçek sindirilebilirliği (IVNDF_{KM}) üzerine etkisi ise $27.88 \pm 0.555a$, $26.17 \pm 1.298a$, $25.48 \pm 1.163a$ ve $19.13 \pm 0.931b$ olarak saptandı.

Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen euganolün *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD_{KM}) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'te sırasıyla 59.08±0.648a, 53.38±0.310b, 50.41±1.197b ve 43.87±0.622c olarak bulundu. Aynı sıra ile *in vitro* gerçek sindirilebilirliği (IVTND_{KM}) üzerine etkisi ise 25.44±0.648a, 19.74±0.310b, 16.77±1.197b ve 10.23±0.622c olarak belirlendi. Timolün *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD_{KM}) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla 57.01±0.253a, 44.83±0.248b, 42.48±0.661c ve 41.32±0.378c; *in vitro* gerçek sindirilebilirliği (IVNDF_{KM}) üzerine etkisi ise 23.37±0.253a, 11.19±0.248b, 8.84±0.661c ve 7.68±0.378c olarak saptandı. Selçuk ve ark. (2016), selüloz enzimi ile muamele edilen ve edilmeyen çeltik samanının 40 °C ve oda sıcaklığında (22°C) 30 günlük inkübasyon sonucunda yemin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değerleri şimdiki çalışma ile benzerlik göstermiştir. Aynı araştırmacıların *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değerleri şimdiki çalışmanın kontrol grubu ile 100 ve 200 ppm kuminaldehit kullanılan gruplarla benzerlik gösterirken, eugenol ve timol kullanılan gruplara göre yüksek bulunmuştur.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Esansiyel yağlar, geviş getiren hayvanlarda besin maddelerin yararlanabilirliğini artırmak ve üretimin çevreye olan etkisini azaltmak için yararlı bir araç olabilir. Bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğu laboratuvar bazlı (*in vitro*) ve kısa süreli bir yapıya sahip olmakla birlikte, esansiyel yağlar ve aktif bileşenlerinin, rumen fermentasyonunu olumlu yönde etkileyebileceğini göstermektedir. Organik maddelerin rumende parçalanabilirliğinin belirlenmesi için *in vitro* teknikler rutin yem analizlerinde zaman ve kaynakların korunması yönünde önemli avantajlara sahiptir. *In vitro* gaz üretim tekniği ruminantlar için yemlerin *in vivo* sindirilebilirliğini yansıtmak için önemlidir.

In vitro gaz üretim tekniği ile kuminaldehitin 96. saatteki kümülatif gaz üretim miktarı (ml/gKM) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $210.87 \pm 2.736a$, $188.52 \pm 5.912b$, $172.83 \pm 5.066c$ ve $153.39 \pm 2.499d$ olarak belirlendi. Eugenolün 96. saatteki kümülatif gaz üretim miktarı üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $221.25 \pm 7.323a$, $189.18 \pm 3.939b$, $162.59 \pm 3.561c$ ve $151.97 \pm 0.516c$ olarak belirlendi. Yine aynı sıra ile timolün 96. saatteki timolün gaz üretim miktarı üzerine etkisi $214.70 \pm 4.632a$, $183.37 \pm 1.567b$, $173.32 \pm 3.882b$ ve $152.61 \pm 4.546c$ olarak tespit edildi. Esansiyel yağ olarak kullanılan kuminaldehit, eugenol ve timol kümülatif gaz üretim miktarı üzerinde baskılayıcı bir etki göstermiştir. Bu etkileri de özellikle yapılarındaki sekonder metabolitlerin antimikrobiyal etkilerinden kaynaklanabilir.

Pirinç samanının sindirilebilir organik madde düzeyleri (%) kuminaldehit için kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $64.89 \pm 0.276a$, $61.82 \pm 0.701b$, $59.59 \pm 0.495c$ ve $57.68 \pm 0.103c$; eugenol için $63.91 \pm 0.616a$, $61.97 \pm 0.683b$, $60.39 \pm 0.309bc$ ve $59.82 \pm 0.226c$; timol için $59.78 \pm 0.705ab$, $60.37 \pm 0.370a$, $58.41 \pm 0.556b$ ve $55.87 \pm 0.465c$ olarak belirlendi. Kuminaldehit ve eugenolün herbir düzeyinin *in vitro* organik madde sindirilebilirliği kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) bulundu. Pirinç samanına 100 ve 200 ppm düzeyinde ilave edilen timolün organik madde sindirilebilirliği üzerinde olumsuz bir etkisi gözlenmezken, 300 ppm düzeyinde timol kullanımının organik madde sindirilebilirliğini azaltmıştır. Kuminaldehit, eugenol ve timolün 300 ppm düzeyinde kullanımı organik madde sindirilebilirliğindeki azaltıcı etkisi rumen fermentasyonu üzerindeki baskılayıcı etkisinden kaynaklanmaktadır.

Pirinç samanının metabolik enerji miktarları (MJ/kg KM) kuminaldehit için kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $8.29 \pm 0.102a$, $7.15 \pm 0.261b$, $6.32 \pm 0.184c$ ve $5.61 \pm 0.038c$; eugenol için $7.92 \pm 0.229a$, $7.21 \pm 0.254b$, $6.61 \pm 0.115bc$ ve $6.41 \pm 0.084c$; timol için $6.29 \pm 0.262ab$, $6.51 \pm 0.138a$, $5.78 \pm 0.207b$ ve $4.83 \pm 0.173c$ olarak belirlendi. Kuminaldehit ve eugenolün kullanılan her bir düzeyinin metabolik enerji değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli ($p < 0.05$) bulundu. Pirinç samanına 100 ve 200 ppm düzeyinde ilave edilen timolün metabolik enerji değerleri üzerinde olumsuz bir etkisi gözlenmezken, 300 ppm düzeyinde timol kullanımının metabolik enerji düzeyini azaltmıştır.

Yemlerin besin değerinin ölçümünde kullanılan yöntemlerden biri de suni rumen ortamı sağlanarak yemlerin *in vitro* gerçek sindirilebilirliğinin tespit edilmesidir. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen kuminaldehitin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD_{KM}) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $61.52 \pm 0.555a$, $59.81 \pm 1.298a$, $59.12 \pm 1.162a$ ve $52.77 \pm 0.931b$ olarak belirlendi. Aynı sıra ile *in vitro* gerçek sindirilebilirliği (IVTND_{F_{KM}}) üzerine etkisi ise $27.88 \pm 0.555a$, $26.17 \pm 1.298a$, $25.48 \pm 1.163a$ ve $19.13 \pm 0.931b$ olarak saptandı. Pirinç samanına farklı düzeylerde ilave edilen eugenolün *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD_{KM}) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'te sırasıyla $59.08 \pm 0.648a$, $53.38 \pm 0.310b$, $50.41 \pm 1.197b$ ve $43.87 \pm 0.622c$ olarak bulundu. Aynı sıra ile *in vitro* gerçek sindirilebilirliği (IVTND_{F_{KM}}) üzerine etkisi ise $25.44 \pm 0.648a$, $19.74 \pm 0.310b$, $16.77 \pm 1.197b$ ve $10.23 \pm 0.622c$ olarak belirlendi. Timolün *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVTD_{KM}) üzerine etkisi kontrol ve deneme grubu 1, 2 ve 3'de sırasıyla $57.01 \pm 0.253a$, $44.83 \pm 0.248b$, $42.48 \pm 0.661c$ ve $41.32 \pm 0.378c$; *in vitro* gerçek sindirilebilirliği (IVTND_{F_{KM}}) üzerine etkisi ise $23.37 \pm 0.253a$, $11.19 \pm 0.248b$, $8.84 \pm 0.661c$ ve $7.68 \pm 0.378c$ olarak saptandı.

Sonuç olarak pirinç samanına farklı düzeylerde (100, 200 ve 300 ppm) ilave edilen kuminaldehit, eugenol ve timolün 96. saatte kümülatif gaz üretim miktarını düşürücü bir etkisi olmuştur. Bununla beraber, esansiyel yağların gaz üretim miktarı yanında yemlerin parçalanabilirliği ya da fermentasyonu üzerine etkileri bulunmaktadır. Esansiyel yağların 300 ppm düzeyinde kullanımı *in vitro* organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerlerini azaltmıştır. Rumen simulasyon tekniği (Daisy İnkübatör) kullanılarak pirinç samanına ilave edilen kuminaldehit, eugenol ve timolün artan düzeylerde kullanımı *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliğini önemli bir

düzeyde düşürmüştür. Her bir esansiyel yağın rumende açığa çıkan ve atmosfere serbest bırakılan ve sera etkisi bulunan gaz üretim miktarını düşürmesi önemlidir. Ancak bu esansiyel yağların *in vivo* çalışmalarla yem tüketimi, ruminal fermentasyon ve performans üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla daha kapsamlı çalışmalar yapılmasına gereksinim duyulmaktadır.



7. KAYNAKLAR

- Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC, Karma DN. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim Feed Sci Technol*. 2009;148:321-327.
- Akgül A, Kıvanç M.. Sensitivity four foodborne moulds to essential oils from Turkish spices, herbs and citrus peel. *J Sci Food Agric* 1989;47:129-132.
- Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res* 2003;17:299-305.
- Altan Y, Uğurlu E, Gücel S. Şenkata (Erzurum) ve çevresinin etnobotanik özellikleri. 1st International Symposium on Protection of Natural Environment and Ehlami Karaçam, Kütahya-Türkiye, 1999;132-139.
- Angela RM, Gvens DL, Garnsworthy PC. The effect of supplementing gras silage with barley on digestibility, rumen fermentation and methanproduction in sheep at two levels of intake. *Anim Feed Sci and Tech* 1995;55: 9-33.
- AOAC. Official Methods of Analysis, 18th edn. Association of Official Analytical Chemists, Inc, Arlington, VA, 2006.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils- A review. *Food Chem Toxicol* 2008;46(2): 446- 475.
- Balch CC. The potential of poor quality agricultural roughages for animal feeding. *Animal production and Health, New Feed Resources*, FAO, Rome, 1977.
- Başer KHC. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin İlaç ve Alkollü İçki Sanayinde Kullanımı, İstanbul Ticaret Odası Yayın No: 39, 1997.
- Beauchemin KA, Mc Ginn SM. Methane emissions from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil and canola oil. *J Anim Sci* 2006;84: 1489-1496.
- Benchaar C, Duynisveld JL, Charmley E. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Can J Anim Sci*. 86: 91-96.
- Benchaar C, Petit HV, Berthiaume R, Ouellet DR, Chiquette J, Chouinard PY. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J Dairy Sci*, 2007;90:886-897.
- Boadi D., Benchaar C., Chiquette J., Masse D. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: update review. *Can. J. Anim Sci*. 2004; 84:319–335.

- Bozkurt M. Eterik Yağların Kanatlı Hayvan Yemlerine Katılmasının Etkileri. İnfovet 2005;18: 40-44.
- Bozkurt Z, Görgülü M, Çelik L. Kekik (*Origanum vulgare*) ve çörekotu (*Nilgella arvensis*) esansiyel yağı ile propolisin buğday samanının in vitro geçek kuru madde, organik madde ve NDF sindirilebilirliğine etkisi. IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, Bursa, 2007;94-97.
- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. Int J Food Microbiol 2004;94: 223-253.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. Plant extracts affect in vitro rumen microbial fermentation. J Dairy Sci 2006;89:761-771.
- Çabuk M, Alcicek A, Bozkurt M, Imre N. Antimicrobial properties of the essential oils isolated from aromatic plants and using possibility as alternative feed additives. 11. National Animal Nutrition Congress, 18-20 September 2003:184-187.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. J Dairy Sci 2007;90:2580-2595.
- Canbolat O, Filya İ, Karaman S. The Effect of Different Doses of Oregano Oil on Corn Silage Digestive and Rumen Fermentation Kafkas Univ Vet Fak Derg 2010;16 (6): 933-939.
- Canbolat Ö. Seçmeli yemlemenin kuzularda besi performansı, karkas özellikleri, bazı rumen sıvısı ve kan parametreleri üzerine etkileri. Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa 2006.
- Canbolat Ö, Kalkan H, Karaman Ş, Filya İ. Esansiyel yağların sindirim, rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. 2011;17:1 557-565.
- Cardozo PW, S Calsamiglia, A Ferret, C Camel. Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and profiles in fermentation continuous culture. J. Anim. Sci 2004;82: 3230-3236.
- Cardozo PW, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. J. Anim. Sci. 2005;83:2572-2579.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Martin-Tereso J, Ter Wijlen H. In vitro evaluation of effects of essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. Anim Feed Sci Tech 2008;145: 259-270.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. Anim Feed Sci Technol 2007;132:186-201.

- Ceylan A. Tıbbi bitkiler - II (Uçucu yağ bitkileri). Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayını, No: 481 1997;1-27.
- Chaves, AV, Stanford K, Gibson LL, McAllister TA, Benchaar C. Effects of carvacrol and cinnaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. Anim. Feed Sci. and Technol. 2008;145: 396-408.
- Czerkawski JW, Breckenridge G. Design and development of long-term rumen simulation technique (RUSITEC). Br J Nutr. 1977;38:271–384.
- Dorman HJD, Deans SG: Antimicrobial agents from plants: anti-bacterial activity of plant volatile oils. J Appl Microbiol 2000;88, 308-316.
- Evans JD, Martin SA. Effects of thymol on ruminal microorganisms. Curr. Microbiol. 2000;41:336–340.
- Greathead H. Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proc Nutr Soc. 2003;62:79-290.
- Goering HK, Van Soest PJ. Forage Fiber Analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications). Agriculture. Handbook No. 379, USDA-ARS, Washington DC, 1970.
- IPCC (Intergovernment Panel on Climate Change): Guidelines for national greenhouse gas inventories-Greenhouse gas inventory reference manual. IPCC WGI Technical Support Unit, Bracknell, UK, 1996.
- Helander IM, Alakomi H-L, Latva-Kala K, Mattila-Sandholm T, Pol I, Smid EJ, Gorris, LGM, Von Wright A. Characterization of the action of selected essential oil components on gramnegative bacteria. J Agric and Food Chem. 1998;46: 3590-3595.
- Hu WL, Liu JX, Ye JA, Wu YM, Guo YQ. Effect of tea saponin on rumen fermentation *in vitro*. Anim Feed Sci Technol. 2005;120:333-339.
- Johnson KA, Johnson DE. Methane emissions from cattle. J Anim Sci 1995;73:2483-2492.
- Juven BJ, Kanner F, Schved F, Weisslowicz H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and active constituents. J Appl Bacteriol 1994;76: 626-631.
- Kamra DN, Agarwal N, Chaudhary LC, Inhibition of ruminal methano genesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series 2006;1293: 156-163.
- Kılıç A. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri, Bartın Orman Fakültesi Dergisi, cilt:10, sayı:13, 2008;37-45.

- Kumar SA. Plants-Based Medicines in India. 2009
- Kutlu HR, Görgülü M. Kanatlı Yemlerinde Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Antibiyotik-Büyütme Faktörü İçin Alternatifler. Yem Magazin Dergisi 2001;27:45-62.
- Krumholz LR, Forsberg CW, Veira DM. Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. Can J Microbiol 1983;29: 676-680.
- Lange D. International Trade in Medicinal and Aromatic Plants, Medicinal and Aromatic Plants 2006;155-170.
- Linskens HF, Jackson JF. Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 12: Essential Oils and waxes, Springer, Germany 1997.
- Mao HL, Wu CH, Wang JK, Liu JX. Synergistic effect of cellulase and xylanase on In vitro rumen fermentation and microbial population with rice straw as substrate. Anim Nutr Feed Technol 2013;13:477-487.
- Mcintosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beever DA, Newbold CJ. Effects of Essential Oil on Rumeninal Microorganism and Their Protein Metabolism. Applied and Environmental Microbiology. 2003;5011-5014.
- Menke KH, Steingass H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. Anim. Res. Devel. Separate Print, 28: 7-55.
- Meyer NF, Erickson GE, Klopfenstein TJ, Greenquist MA, Luebke MK, Williams P, Engstrom MA. Effect of essential oils, tylosin and monensin on finishing steer performance, carcass characteristics, liver abscesses, ruminal fermentation, and digestibility. J Anim Sci 2009;87: 2346-2354.
- Mitsumori M, Sun W. Control of Rumen Microbial Fermentation for Mitigating Methane Emissions from the Rumen. Asian-Aust. J Anim Sci 2008;21: 1 144-154.
- Modzelewska A, Sur S, Kumar KS, Khan SR. Sesquiterpenes: Natural products that decrease cancer growth. Curr. Med. Chem. Anti-Cancer Agents 2005;54, 477-499.
- Moss AR, Jouany JP, Newbold CJ, Methane production by ruminants: its contribution to global warming. Ann Zootech 2000;49: 231-235.
- Mueller-Harvey I. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. J Sci Food Agric 2006;86: 2010-2037.
- Newbold CJ, McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ. Effect of a specific and of essential oil compounds on rumen fermentation. Anim Feed Sci Technol 2004;114, 105-112.

- NRC. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 6th revised edn. National Academy of Science, Washington, DC, USA, 1984.
- O'gara EA, Hill DJ, Masun DJ. Activities of garlic oil, garlic powder and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol* 2000;66: 2269-2273.
- Patra AK. Effects of essential oils on rumen fermentation, microbial ecology and ruminant production. *Asian J. Anim. and Veterinary Advances*. 2011;6(5): 416-428.
- Patra AK, Kamra DN, Agarwal N. Effect of plant extract on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo, *Anim Feed Sci Technol* 2006;128: 276-291.
- Rahman MM, Alam MR, Amin MR, Das NG. Comparative study of the nutritive values of the different varieties of rice straw. *Bang J Anim Sci* 2010; 39(1-2):75-82.
- Rasooli I, Rezaei MB, Allameh A. Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. *International J. of Infections Diseases* 2006;10(3):236-241.
- Rochfort S, Parker AJ, Dunshea FR. Plant bioactives for ruminal health and productivity. *Phytochemistry* 2008;69: 299-322.
- Scholz Z, Molnar J, Hohmann J. Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils *Fitoterapia* 2006;77(4):279-285.
- Selçuk Z, Çetinkaya N, Salman M, Genç B. The determination of in vitro gas production and metabolizable energy value of rice straw treated with exogenous fibrolytic enzymes. *Turk J Vet Anim Sci* 2016;40:707-713.
- Steinfeld H, Gerber P, Wassenaar T, Castel V, Rosales M, De Haan C. *Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options*. FAO, Rome, Italy, 2006.
- SPSS. IBM SPSS statistics for Windows, version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp, 2012.
- Tang SX, Tayo GO, Tan ZL, Sun ZH, Shen LX, Zhou CS, Xiao WJ, Ren GP, Han XF, Shen SB. Effect of yeast culture and fibrolytic enzymes supplementation on in-vitro fermentation characteristics of low quality cereal straws. *J Anim Sci* 2008;86:1164-1172.
- Tanker M, N Tanker. *Herba Hyperici, Sarı Kantaron*. *Farmakognozi I. Ankara Üniv., Eczacılık Fak.*, No:58 1985;177-179.
- TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu: <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>, 2014. Erişim tarihi:01.01.2015
- Vadiveloo J. Factors contributing to varietal differences in the nutritive value of rice

- straw. Anim Feed Sci Tech 1995;54: 45-53
- Varel VH, Miller DN. Plant derved oils reduce pathogens and gaseous emissions from stored cattle waste, Appl Environ Microbiol 2001;67, 1366-1370.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 1991;74:3583.
- Wallace RJ. Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc. Nutr. Soc. 2004;63: 621-629.
- Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh M, Teferedegne B, Newbold CJ. Natural products as manipulators of rumen fermentation. AsianAustralas J Anim Sci 2002;15 (10): 1458-1468.
- Wolin MJ. The rumen fermentation: a model for microbial interactions in anaerobic ecosystems. Adv Microbial Ecol 1979;3: 49-77.
- Yıldız G, Çetin T. Esansiyel yağların yem katkı maddesi olarak kullanımı. Yem Magazin 2004;38: 41-47.