



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**ESANSİYEL YAĞ (ADAÇAYI YAĞI, LAVANTA YAĞI,  
ÖLMEZ ÇİÇEĞİ YAĞI) VE BOR İLAVESİNİN İN VİTRO  
RUMEN ORTAMINDA MİKROBİYAL FERMANTASYON  
VE METAN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Ali NİHAT**

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gültekin YILDIZ**

**ANKARA  
2025**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ESANSİYEL YAĞ (ADAÇAYI YAĞI, LAVANTA YAĞI,  
ÖLMEZ ÇİÇEĞİ YAĞI) VE BOR İLAVESİNİN İN VİTRO  
RUMEN ORTAMINDA MİKROBİYAL FERMANTASYON  
VE METAN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI

Ali NİHAT

HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Gültekin YILDIZ

ANKARA  
2025

## ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Esansiyel Yağ (Adaçayı Yağı, Lavanta Yağı, Ölmez Çiçeği Yağı) ve Bor İlavesinin İn-Vitro Rumen Ortamında Mikrobiyal Fermantasyon ve Metan Üretimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanlarım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ali NİHAT

Tarih:

İmza:

## KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında  
Ali NİHAT tarafından hazırlanan ‘‘Esansiyel Yağ (Adaçayı Yağı, Lavanta Yağı, Ölmez  
Çiçeği Yağı) ve Bor İlavesinin İn- Vitro Rumen Ortamında Mikrobiyal Fermantasyon ve  
Metan Üretimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması’’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından  
DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 29/01/2025

Prof. Dr. İsmail BAYRAM  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Özge SIZMAZ  
Ankara Üniversitesi  
Raportör

Prof. Dr. Gültekin YILDIZ  
Ankara Üniversitesi  
Üye

Prof. Dr. Hakan ÖZTÜRK  
Ankara Üniversitesi  
Üye

Prof. Dr. İlkyay AYDOĞAN  
Kırıkkale Üniversitesi  
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fügen AKTAN  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### **Esansiyel Yağ (Adaçayı Yağı, Lavanta Yağı, Ölmez Çiçeği Yağı) ve Bor İlavésinin İn Vitro Rumen Ortamında Mikrobiyal Fermentasyon ve Metan Üretimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Yemlerin rumende mikrobiyel sindirimi ile net enerjinin %2-15'i metan gazına dönüşmektedir. Metan gazının ekolojik boyuttaki zararları yanında, hayvanın verim için kullanabileceği ciddi miktarda bir enerji metan gazı oluşumu için harcanarak ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Çalışmalarda bitki ekstraktlarından elde edilen esansiyel (esans, eterik) yağ kullanımının metan gazı üretimini azaltan etkileri olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada metan gazı üretimi azaltacağı düşünülen adaçayı yağı, lavanta yağı, ölmez çiçeği esans yağları ve bunların bor elementi ile karıştırılarak rumen fermentasyon parametrelerine etkisi, yem maddelerinin rumen yıkımlanabilirliklerinin in-vitro ortamda değerlendirilmesi için *in vitro* gaz üretim tekniği kullanılmıştır. In-vitro gaz üretim tekniğinde substrat olarak kaba yem: konsantre yem 50:50 olacak şekilde ayarlanmıştır. Yem katkı maddesi olarak lavanta (*Lavandula angustifolia*) yağı, ölmez çiçeği (*Helichrysum italicum*) yağı, adaçayı (*Salvia officinalis*) yağı içeren esans yağlar kullanılmıştır. Aynı esans yağlara 100 ppm bor ilave edilerek 48 saatlik inkubasyonun sonucunda toplam gaz hacmi kayıt edilmiş, alınan örneklerde pH, amonyak azotu, uçucu yağ asidi (UYA) düzeyleri ve metan gazı miktarı tespit edilmiştir. Ayrıca ANKOM tekniği kullanılarak aynı düzende oluşturulmuş grupların kuru madde, organik madde ve NDF sindirilebilirlikleri ortaya konmuştur. Gruplar arasında üretilen metan gazı miktarı anlamlı farklılık göstermiş ( $p<0,000$ ), adaçayı yağı 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm, ölmez çiçeği yağı 1000 ppm ve lavanta yağı 1000 ppm + bor katkısı metan düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır. Fermentasyonun 48. saatinde amonyak azotu yoğunluğu farklılıkları gruplar arasında önemli bulunmuştur ( $p<0,000$ ). Adaçayı yağı 100 ppm, lavanta yağı 100 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar amonyak miktarını artırmıştır. Bor katkısının genel olarak pH değerlerinde bir artışa sebep olduğu gözlemlenmiştir. Esans yağ katkılı gruplarda NDF sindirilebilirliği önemli ölçüde düşmüştür ( $p<0,000$ ). Ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 1000 ppm + bor katkılı gruplar NDF sindirilebilirliğini önemli ölçüde düşürmüştür. Toplam net gaz miktarı gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık göstermiştir ( $p<0,000$ ). En düşük değer adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grupta görülmüştür. Fermentasyonun 48. saatinde adaçayı yağı 1000 ppm katkılı grubun asetik asit miktarını önemli ölçüde düşürdüğü ( $p<0,000$ ); propiyonik asit miktarını ise önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir. Adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grubun ise propiyonik asit miktarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir ( $p<0,002$ ). Adaçayı yağı 1000 ppm + bor ve lavanta yağı 1000 ppm katkılı grubun bütirik asit miktarını önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir ( $p<0,000$ ). Toplam uçucu yağ asidi (UYA) miktarı gruplar arasında farklılık göstermiştir ( $p<0,004$ ). Adaçayı yağı 1000 ppm + bor, lavanta yağı 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 1000 ppm + bor katkılı gruplar UYA miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. Sonuç olarak adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği esansiyel yağlarının 1000 ppm dozda katkılarının in vitro rumen fermentasyonunda ciddi olumsuz etkilere yol açmadan metan üretimini baskılayabileceği, ayrıca rumen ortamında bulunan amonyak azotu miktarlarını da düşürerek rasyon ile alınan proteinlerin daha verimli kullanılmasına yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca adaçayı yağı 1000 ppm dozunun UYA konsantrasyonlarını istenilen oranda değiştirerek enerji metabolizmasına da olumlu etkileri olabileceği saptanmıştır. Borik asidin ise esansiyel yağlar ile sinerjetik ve antagonist etkileri olduğu görülmüştür. Yapılan bazı diğer araştırmalarda borik asidin metan üretimini baskılamada etkili olduğu saptansada deneyde kullanılan dozda metan üretimi üzerinde net bir etkisi görülmemiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Adaçayı Yağı, Bor, İn-Vitro, Lavanta Yağı, Metan, Ölmez Çiçeği Yağı

## SUMMARY

### **Investigation of the Effects of Essential Oil (Sage Oil, Lavander Oil, Immortelle Flower Oil) and Boron on In Vitro Rumen Microbial Fermentation and Methane Production**

During the microbial digestion of feed in the rumen, 2-15% of net energy is converted into methane gas. In addition to its ecological damages, methane gas production leads to economic losses as a significant amount of energy that could be used for animal productivity is expended in its formation. Studies have determined that the use of essential (aromatic, etheric) oils obtained from plant extracts has an effect in reducing methane gas production. In this study, the essential oils of sage, lavender, and immortelle, which are thought to reduce methane gas production, were mixed with the boron element, and their effects on rumen fermentation parameters were evaluated. The in-vitro gas production technique was used to assess the ruminal degradability of feed materials under in-vitro conditions. In the in-vitro gas production technique, the substrate ratio was adjusted to 50:50 roughage to concentrate feed. Essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*), immortelle (*Helichrysum italicum*), and sage (*Salvia officinalis*) were used as feed additives. The same essential oils were supplemented with 100 ppm boron, and after 48 hours of incubation, the total gas volume was recorded. Additionally, pH levels, ammonia nitrogen, volatile fatty acids (VFA), and methane gas levels were measured in the collected samples. Using the ANKOM technique, the digestibility of dry matter, organic matter, and neutral detergent fiber (NDF) was determined for the groups formed under the same experimental conditions. The amount of methane gas produced among the groups showed a significant difference ( $p < 0.000$ ), with sage oil 1000 ppm, lavender oil 1000 ppm, immortelle oil 1000 ppm, and lavender oil 1000 ppm + boron significantly reducing methane levels. At the 48th hour of fermentation, the differences in ammonia nitrogen concentration were found to be significant among the groups ( $p < 0.000$ ). The groups supplemented with sage oil 100 ppm, lavender oil 100 ppm + boron, and immortelle oil 100 ppm + boron increased ammonia levels. It was observed that boron supplementation generally led to an increase in pH values. The NDF digestibility significantly decreased in groups supplemented with essential oils ( $p < 0.000$ ). The groups supplemented with immortelle oil 100 ppm + boron and immortelle oil 1000 ppm + boron significantly reduced NDF digestibility. The total net gas production among the groups showed statistically significant differences ( $p < 0.000$ ), with the lowest value observed in the group supplemented with sage oil 1000 ppm + boron. At the 48th hour of fermentation, the group supplemented with sage oil 1000 ppm significantly reduced acetic acid levels ( $p < 0.000$ ) while significantly increasing propionic acid levels. However, the group supplemented with sage oil 1000 ppm + boron significantly reduced propionic acid levels ( $p < 0.002$ ). The groups supplemented with sage oil 1000 ppm + boron and lavender oil 1000 ppm significantly increased butyric acid levels ( $p < 0.000$ ). The total volatile fatty acid (VFA) levels varied among the groups ( $p < 0.004$ ), with the groups supplemented with sage oil 1000 ppm + boron, lavender oil 1000 ppm, lavender oil 1000 ppm + boron, and immortelle oil 1000 ppm + boron significantly reducing VFA levels. In conclusion, it was determined that sage, lavender, and immortelle essential oils at a 1000 ppm dose could suppress methane production in in-vitro rumen fermentation without causing serious adverse effects and may help improve the efficiency of dietary protein utilization by reducing ammonia nitrogen levels in the rumen. Additionally, it was found that the 1000 ppm dose of sage oil could have positive effects on energy metabolism by modifying VFA concentrations to the desired level. Boric acid, on the other hand, exhibited both synergistic and antagonistic effects with essential oils. Although some other studies have found that boric acid is effective in suppressing methane production, no definitive effect was observed on methane production at the dosage used in this experiment.

**Keywords:** Boron, Immortelle Oil, In-Vitro, Lavander Oil, Methane, Sage Oil

# İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
Özet	iv
Summary	v
İçindekiler	vi
Önsöz	viii
Simgeler ve Kısaltmalar	ix
Şekiller	x
Çizelgeler	xi
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Esansiyel Yağlar ve Etki Mekanizmaları	2
1.1.1. Tanım ve Genel Özellikleri	2
1.1.2. Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Özellikleri	3
1.1.3. Esansiyel Yağların Rumen Mikrobiyal Fermantasyonu Üzerine Etkileri	5
1.1.3.1. Esansiyel Yağların Metan Üretimi Üzerine Etkileri	6
1.1.3.2. Esansiyel Yağların UYA Konsantrasyonu Üzerine Etkileri	7
1.1.3.3. Esansiyel Yağların Amonyak Konsantrasyonu Üzerine Etkileri	8
1.1.3.4. Esansiyel Yağların Besin Yıkımlanılabilirliği Üzerine Etkileri	8
1.2. Bor	11
1.2.1. Borun Tanımı ve Genel Özellikleri	11
1.2.2. Borun Antimikrobiyal Özellikleri	11
1.2.3. Borun Rumen Mikrobiyal Fermantasyonu Üzerine Etkileri	12
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>13</b>
2.1. Gereç	13
2.1.1. Hayvan Materyali	13
2.1.2. Yem Materyali	13
2.1.3. Esansiyel Yağ ve Bor Materyali	13
2.2. Yöntem	14
2.2.1. Yem Materyalinin Hazırlanması ve Deneme Grupları	14
2.2.2. İn Vitro Fermantasyon ve Gaz Üretimi Tekniğinin Uygulanması	15
2.2.3. İn Vitro Ruminal Fermantasyon Sonucu Ortaya Çıkan Gazda Metan Tayini	16
2.2.4. Yem Maddelerinin İn Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi	16
2.2.5. Yem Maddelerinin ve İn Vitro Fermantasyondan Çıkan Yem Maddelerinin Besin Madde Miktarlarının Belirlenmesi	17
2.2.6. Rumen Sıvısında UYA Analizi	18
2.2.7. Rumen Sıvısında pH Tayini	18
2.2.8. Rumen Sıvısında NH <sub>3</sub> -N Tayini	18
2.2.9. İstatistik Analizler	18
<b>3. BULGULAR</b>	<b>19</b>
3.1. Adaçayı, Lavanta ve Ölmez Çiçeğine Ait Esans Yağların Bileşimi	19
3.2. Fistüllü İneklerin Tükettiği ve Şıngıngalarada Konan Yemlerin Bileşimi	24
3.3. Metan Gazı Üretim Miktarı	25
3.4. Rumen Sıvısında NH <sub>3</sub> -N Tayini	26
3.5. Rumen Sıvısında pH Tayini	28
3.6. Yem Maddelerinin İn Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi	29

3.6.1. İn Vitro Toplam Sindirilebilirlik	29
3.6.2. İn Vitro Organik Madde Sindirilebilirliği	30
3.6.3. İn Vitro Kuru Madde Sindirilebilirliği	31
3.6.4. İn Vitro NDF Sindirilebilirliği	32
3.7. Üretilen Gaz Miktarı	33
3.8. Rumen Sıvısı Uçucu Yağ Asidi Yoğunluğu	36
3.8.1. Asetik Asit	36
3.8.2. Propiyonik Asit	37
3.8.3. İsobütirik Asit	39
3.8.4. Bütirik Asit	40
3.8.5. İsovalerik Asit	41
3.8.6. Valerik Asit	42
3.8.7. Kaproik Asit	43
3.8.8. Toplam UYA	44
<b>4. TARTIŞMA</b>	46
<b>5. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	54
<b>KAYNAKLAR</b>	56
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	66

## ÖNSÖZ

Ruminantlar diğer hayvanların sindiremediği yapısal karbonhidratları ve protein olmayan nitrojenli birleşikleri sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmalar sayesinde et ve süt gibi değerli besin maddelerine dönüştürebilirler. Bu bileşiklerin sindirim sürecinde rasyon ile alınan net enerjinin %2-15'i gibi küçümsenemeyecek boyuttaki bir kısmı metan gazına dönüşmektedir. Metan gazı küresel ısınmada karbon dioksitten sonra en zararlı sera gazı etkisine sahip gazlardan biri olduğu bilinmektedir. Metan gazının ekolojik boyuttaki zararları yanında hayvanın verim için kullanabileceği ciddi miktarda enerji metan gazı oluşumunda harcanarak ekonomik kayıplar ortaya çıkmaktadır.

Metan gazı oluşumunu azaltmak ve kontrol etmek amacıyla uzun süre iyonofor antibiyotikler yem katkı maddesi olarak kullanılmıştır. Fakat antibiyotik dirençli bakterilere karşı artan endişe sonucu çevre ve insan sağlığına karşı olumsuz etkileri ele alınarak Avrupa Birliği ülkelerini takiben 2006 yılından itibaren Türkiye'de de büyütme faktörü olarak hayvan yemlerine katılmaları yasaklanmıştır. Antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımının yasaklanmasını takiben bu amaçla kullanılabilecek farklı yem katkı maddeleri arayışına girilmiş ve bitki ekstraktlarından elde edilen esansiyel yağların böyle etkileri olduğu saptanmıştır.

Gerçekleştirilen bu araştırma ile metan gazı üretimi azaltılması üzerinde olumlu etkileri olduğu bilinen esansiyel yağlar birbirleri ile ve bor elementi ile karıştırılarak rumen fermantasyon parametreleri ve çeşitli yem maddelerinin rumen yıkımlanılabilirliklerinin in-vitro ortamda değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve oluşumunda ilgi ve desteği ile her zaman yanımda olan, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım saygıdeğer doktora danışmanım Sayın Prof. Dr. Gültekin YILDIZ hocama, tez çalışmamı yürütürken yapılan deneylerde bize yol gösteren Sayın Prof. Dr. Özge SIZMAZ'a ve deneylerimize katkı sağlayan Arş. Gör. Atakan BUNDUR'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu Tezin gerçekleşebilmesi için maddi katkı sağlayan Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve rumen sıvısı için numune aldığımız T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak tüm eğitim ve öğretim hayatım boyunca maddi ve manevi hiç bir yardımını benden esirgemeyen Sevgili Anne, Babama ve Anneanneme teşekkürlerimi sunarım.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
GC	Gaz Kromotografisi
HFT	Hohenheim Futterwert Test
MI	Mililitre
NDF	Neutral Detergent Fibre
OM	Organik Madde
ppm	Partspermillion
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
UYA	Uçucu Yağ Asidi
$\mu$ L	Mikrolitre

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.1.</b> Rumende UYA ve metan oluşumunun şeması	6
<b>Şekil 3.1.</b> Ölmez Çiçek yağı bileşimi, (%)	23
<b>Şekil 3.2.</b> Adaçayı yağı bileşimi, (%)	23
<b>Şekil 3.3.</b> Lavanta yağı bileşimi, (%)	24
<b>Şekil 3.4.</b> Kullanılan yem maddelerinin bileşimi ve besin madde içeriği	25
<b>Şekil 3.5.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının her gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu fermantasyonun 48. saatinde ortaya çıkan metan miktarına (ml) etkisi	26
<b>Şekil 3.6.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan amonyak azotu yoğunluğuna (mmol/l) etkisi	27
<b>Şekil 3.7.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortam pH değeri üzerine etkisi	29
<b>Şekil 3.8.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro toplam sindirilebilirlik (%) üzerine etkisi	30
<b>Şekil 3.9.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro organik madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi	31
<b>Şekil 3.10.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro kuru madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi	32
<b>Şekil 3.11.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro NDF sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi	33
<b>Şekil 3.12.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerde 1 g yem maddesinin fermantasyonu sonucu ortaya çıkan toplam net gaz miktarına (ml) etkisi	36
<b>Şekil 3.13.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının 48. saatde fermantasyon ortamında bulunan asetik asit miktarına etkileri	37
<b>Şekil 3.14.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan propiyonik asit miktarına etkileri	38
<b>Şekil 3.15.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan isobütirik asit miktarına etkileri	40
<b>Şekil 3.16.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan bütirik asit miktarına etkileri	41
<b>Şekil 3.17.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan isovalerik asit miktarına etkileri	42
<b>Şekil 3.18.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan valerik asit miktarına etkileri	43
<b>Şekil 3.19.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyon 48. saatinde ortamda bulunan kaproik asit miktarına etkileri	44
<b>Şekil 3.20.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyon 48. saatinde ortamda bulunan toplam uçucu yağ asidi miktarına etkileri	45

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.1.</b> Bazı esansiyel yağlar ve etkili olduğu mikroorganizmalar	4
<b>Çizelge 2.1.</b> Deneyde kullanılan gruplar	14
<b>Çizelge 3.1.</b> Ölmez çiçek yağ bileşimi	19
<b>Çizelge 3.2.</b> Adaçayı yağı bileşimi	21
<b>Çizelge 3.3.</b> Lavanta yağı bileşimi	21
<b>Çizelge 3.4.</b> Kullanılan yem maddeleri bileşimi ve besin madde içeriği	24
<b>Çizelge 3.5.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının her gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu fermantasyonun 48. saatinde ortaya çıkan metan miktarına (ml) etkisi	25
<b>Çizelge 3.6.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan amonyak azot (NH <sub>3</sub> -N) yoğunluğuna (mmol/l) etkileri	27
<b>Çizelge 3.7.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortam pH değeri üzerine etkisi	28
<b>Çizelge 3.8.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro toplam sindirilebilirlik (%) üzerine etkisi	29
<b>Çizelge 3.9.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro organik madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi	30
<b>Çizelge 3.10.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro kuru madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi	31
<b>Çizelge 3.11.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro NDF sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi	33
<b>Çizelge 3.12.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerinde her gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu ortaya çıkan toplam net gaz miktarına(ml) etkisi	35
<b>Çizelge 3.13.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan asetik asit miktarına etkileri	37
<b>Çizelge 3.14.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan propiyonik asit miktarına etkileri	38
<b>Çizelge 3.15.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan isobütirik asit miktarına etkileri	39
<b>Çizelge 3.16.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan bütirik asit miktarına etkileri	40
<b>Çizelge 3.17.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan isovalerik asit miktarına etkileri	41
<b>Çizelge 3.18.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan valerik asit miktarına etkileri	42
<b>Çizelge 3.19.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan kaproik asit miktarına etkileri	43
<b>Çizelge 3.20.</b> Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan toplam uçucu yağ asidi miktarına etkileri	45

# 1. GİRİŞ

Kimyasal yem katkı maddeleri geçmişten günümüze ruminal fermantasyon sonucu oluşan metan gazı miktarlarını azaltmak için kullanılmıştır. Bu kimyasallardan en yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerdi. Yakın dönemde antibiyotiklerin insan, çevre ve hayvan sağlığına karşı olası zararlarının öngörülmesi ayrıca bunlara ek olarak antibiyotik dirençli organizmalara karşı artan endişe ile birlikte yem katkısı olarak kullanılması yasaklanmıştır. Bu gelişmeyi takiben yem katkı endüstrisinde doğal katkı maddelerine karşı ilgi artmıştır (Moss vd., 2000; Wallace, 2004). Aromatik ve tıbbi bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar geleneksel tıp alanında geçmiş dönemlerden beri antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri için kullanılmaktadır. Bu etkilerinin yanı sıra hayvanlarda sindirim sistemini olumlu yönde etkileyerek yemden yararlanmayı da artırabildiği bildirilmiştir (Adıyaman ve Ayhan, 2010). Bu özelliklerinden yola çıkarak esansiyel yağların antibiyotiklere kıyasla hayvan ve çevre sağlığı için daha iyi bir alternatif olarak kullanılabilineceği düşünülmüştür ve bu konuda çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Calsamiglia vd., 2006).

Esansiyel yağlar hayvanlar üzerindeki olumlu etkilerini antimikrobiyal özelliklerine borçludurlar. Olumlu etkilerini sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmaların sayılarını azaltırken, besinlerin sindirim ve emilimini olumlu yönde etkileyen mikroorganizmaların sayılarını artırarak gösterirler (Turan vd., 2012). Esans yağların antimikrobiyal özellikleri bakteri, protozoa ve mantar gibi çeşitli mikroorganizmalar üzerinde denenmiştir (Benchaar vd., 2007).

Bor insan ve hayvanların yaşamlarında önemli rolleri olan bir iz elementtir (Sharma vd., 2021). Borun lipid, yağ ve enerji metabolizmalarında etkili olduğu, immun sistem ve endokrin sistem üzerinde önemli etkileri olduğu, büyümeyi ve kemik gelişimini olumlu yönde etkilediği, ayrıca antiinflamatuvar ve antioksidan özellikleri olduğu bilinmektedir (Abdelnour vd., 2018; Yeşilbağ, 2008). Bu özelliklerine ek olarak yapılan araştırmalarda *Escherichia coli*, *Staphylococcus aerus* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi çeşitli bakteriler üzerinde antibakteriyel etkileri olduğu ve antibiyotik dirençli bakteriler üzerinde etkili olabileceği saptanmıştır (Yılmaz, 2012).

## 1.1. Esansiyel Yağlar ve Etki Mekanizmaları

### 1.1.1. Tanım ve Genel Özellikleri

Esansiyel yağlar bitkilerin kabuk, meyve, yaprak ve kök gibi kısımlarından distilasyon, ekstraksiyon, mekanik yöntemler veya bu yöntemlerin kombinasyonu ile elde edilirler. Oda sıcaklığında genellikle sıvı halde, renksiz veya açık sarı renkli olup kolaylıkla kristalleşebilen esansiyel yağlar, esans yağ, eterik yağ, kokulu yağ, uçucu yağ gibi isimlerle de anılırlar (Dorman ve Deans, 2000; Şengezer ve Güngör, 2008). Esans terimi koku veya tat anlamına gelen esans kelimesinden türemiştir, birçok bitki kendine has tat ve kokusunu içeriğindeki esansiyel yağlardan alır (Calsamiglia vd., 2007).

Esansiyel yağlar bileşimleri temel olarak terpenoidlerden oluşmaktadır. Terpenoidlerle birlikte bileşimlerinde değişen miktarlarda alkoller, aldehytlar, ketonlar, esterler, fenoller, azotlu ve kükürtlü bileşikler yer alır. İçerdikleri kimyasal bileşikler sayesinde antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar gibi çeşitli etkileri vardır ve gıda, kozmetik, sağlık sektörlerinde yaygın olarak kullanılırlar (Beyaz, 2014; Dhifi vd., 2016).

*Lamiaceae* familyasından çok değerli bir uçucu yağ bitkisi olan lavanta uzun yıllardır antibakteriyel, antifungal ve antidepresif özelliklerinden dolayı çeşitli terapötik ve kozmetik amaçlarla kullanılmaktadır (Küçükylmaz vd., 2017). *Lavandula angustifolia*'dan elde edilen esansiyel yağın çeşitli bakteriler, mantar ve maya üzerinde yüksek etkileri olduğu ve belirli konsantrasyonlarda bu mikroorganizmaların üremelerini engellediği bildirilmiştir (Smigielski vd., 2018). Lavanta esansiyel yağının ana bileşenleri arasında linalil asetat, linalol, kamfor ve 1,8-sineol yer alır. Lavanta esansiyel yağının etkisi, içerdiği bileşenlerin birlikte çalışması sonucu oluşur (Woronuk vd., 2010). Yapılan çalışmalarda belirli oranlarda rasyona eklenen lavanta esansiyel yağının ruminal fermantasyon ve metan gazı üretiminin azaltılmasında olumlu etkileri olabileceği saptanmıştır (Coşkuntuna vd., 2023).

*Lamiaceae* familyasına ait bir bitki türü olan adaçayı (*Salvia officinalis*) aromatik bitkilerin kraliçesi olarak kabul edilir. Akdeniz bölgesinde yaygın olarak görülen adaçayı daha çok baharat, aroma ve tad verici olarak gıda alanında kullanılır. Antiinflamatuvar, antioksidan ve antimikrobiyal gibi özellikleri ile sağlık alanında yara antiseptiği, mide ve ağızda oluşan bazı ülserlerin tedavisinde, bazı dolaşım sistemi ve sinir sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılır (Margetts vd., 2022; Walker vd., 2004).

Sağlık açısından yararlı etkilerini bileşiminde bulunan polifenoller, rosmarinik asit, kamfur, 1,8 sineol, karnasol gibi maddelerin sağladığı düşünülmektedir (Alessandra vd., 2013). Yapılan bazı çalışmalar adaçayının *E. coli*, *S. typhi*, *S. sonnei* gibi bazı bakteriler üzerinde antibakteriyel ve *Candida albicans* gibi bazı mantarlar üzerinde antifungal etkileri olduğunu göstermiştir (Bozin vd., 2007; Wu vd., 2012). Zmora (2012) tarafından yürütülen çalışmada adaçayı esansiyel yağının ruminal fermantasyonu iyileştirebileceği ve uygun dozlarda verildiğinde metan gazı üretimini azaltabileceği görülmüştür.

Ölmez çiçeği *Asteraceae* familyasının *Helichrysum* cinsi bitkilerine verilen genel isimdir (Perrini vd., 2009). Akdeniz bölgesinde yaygın olarak bulunan ölmez çiçeği İber yarımadasında geleneksel tıpta grip ve nezle gibi bazı hastalıkların tedavisinde, ayrıca bazı üriner ve sindirim sistemi rahatsızlıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lesá vd., 2017). Biyolojik çalışmalar ölmez çiçeğinin antimikrobiyal, antienflamatuar ve antioksidan özellikleri olduğunu ortaya koymuştur. İçeriğinde bulunan fenolik ve flavonoid bileşenlerin patojenlere karşı antibakteriyel ve antioksidan özellikler sağladığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Czinner vd., 2000).

### **1.1.2. Esansiyel Yağların Antimikrobiyal Özellikleri**

Esansiyel yağların antienflamatuar ve antioksidan gibi hayvan sağlığını ve bir çok sistemi olumlu yönde etkileyebilecek özelliği olmasına rağmen hayvan besleme alanında öne çıkan en önemli etkisi patojenlere karşı antimikrobiyal ve antiseptik etkiler gösterebilmesidir (Calsamiglia vd., 2007). Esans yağlar kokusu, tadı antiseptik ve koruyucu özellikleri için yüzyıllardır üretilip kullanılır (Burt, 2004). Yirminci yüzyıla kadar geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan esansiyel yağların kullanımı yeni ve sentetik ilaçların üretilmesi ile azalmıştır. Fakat antibiyotik dirençli bakterilerin endişe uyandırması ile tekrar gündeme gelmişlerdir. Antibakteriyel etkisi birçok Gram (+) ve Gram (-) bakteri üzerinde kanıtlanan esansiyel yağların antibiyotiklere bir alternatif olarak hayvan beslemede kullanımı söz konusu olmuştur ve bu konuda birçok araştırma yapılmıştır (Benchaar vd., 2007).

Esans yağlarının antibakteriyel etkinliğini bileşiminde bulunan terpenler ve fenoller gibi biyoaktif bileşimlerden kaynaklanır. Etkinlikleri bakteri türüne, kullanılan esansiyel yağın konsantrasyonuna ve kalitesine bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Yeşilbağ vd., 2008). Hidrofobik ve lipofilik yapıları sonucu bakterilerin hücre duvarında bulunan lipitlere yüksek affiniteleri vardır. Bu özellikleri sayesinde hücre duvarında bulunan lipidlere

bağlanırlar ve hücre duvarının stabilitesini bozup hücre geçirgenliğini artırır (Calsamiglia vd., 2007; Tekce vd., 2016). Hücre geçirgenliğinin artması sitoplazmik enzimlerin aktivasyonu, ozmotik basıncın ayarlanması ve hücre içi pH'nın ayarlanması gibi görevleri olan K<sup>+</sup> iyonu başta olmak üzere bazı iyonların hücre dışına sızdırılması ile sonuçlanır. Ayrıca diğer iyonların transferi ve protein transferi gibi işlemlerde etkilenir. Hücre sitoplazmasının kontrolsüzce hücre dışına akmasının başlaması halinde hücre ölümü şekillenir (Benchaar vd., 2008; İpçak vd., 2017). Bahsedilen etki mekanizmaları sonucu esansiyel yağlar Gram (+) bakterilere Gram (-) bakterilere kıyasla daha iyi etki gösterirler. Bunun ana sebebi Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin hücre duvarlarında yapısal bazı farklılıklar olmasıdır. Bakterilerin hücre duvarı peptidoglikan yapıda olan bir tabaka ile çevrilidir. Lipid içerikli olan ve esansiyel yağların hücre içine penetre etmesini kolaylaştıran bu tabaka Gram (+) bakterilerde kalın bir tabaka halinde bulunurken Gram (-) bakterilerde ince bir tabaka halindedir. Lipofilik yapıda olan esans yağlar bu nedenle Gram (+) bakterileri daha iyi penetre edebilir. Ayrıca Gram (-) bakterilerin hücre duvarı hidrofilik yapıda lipofilik maddelerin girişini zorlaştıran ek bir zarf ile çevrilidir (Çimrin, 2018; Evren ve Tekgüler, 2011; Helander vd., 1998). Bazı esansiyel yağlar ve etkili oldukları mikroorganizmalar Çizelge 1.1' de gösterilmiştir.

Yapılan bazı çalışmalarda esansiyel yağların *Eimeria tenella* ookistleri, *Tetratrichomonas gallinorum* ve *Histomonas mellagritis* gibi bazı parazit türleri üzerinde de etkili olduğu saptanmıştır (Giannenas vd., 2003; Zenner vd, 2003). Ayrıca bazı parazitlerin antiprotozoal etkilere sahip olduğu Hristov vd. (2003) tarafından gösterilmiştir.

**Çizelge 1.1.** Bazı esansiyel yağlar ve etkili olduğu mikroorganizmalar

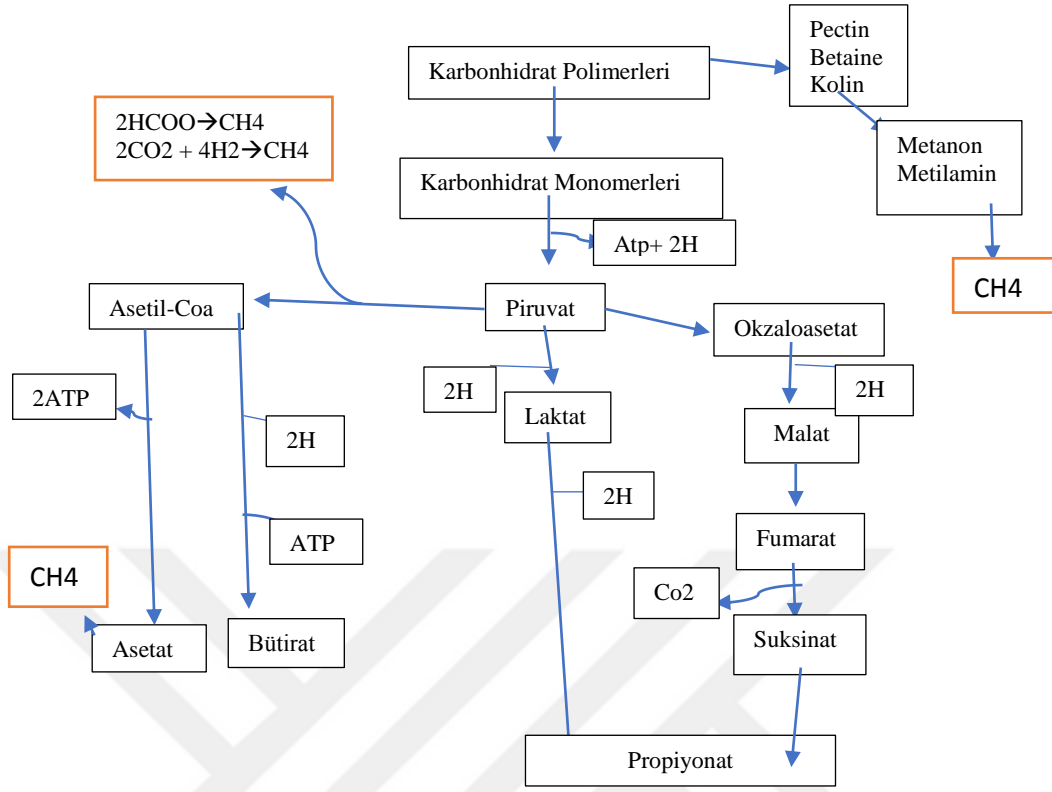
Esans Yağ	Etkili olduğu mikroorganizmalar	Referans
Adaçayı	<i>Klepsiella pneumoniae</i> , <i>Photobacterium damsela</i> <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella paratyphi A</i>	Yazgan H, 2020
Lavanta	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i>	Beetham ve Entwistle, 1982
Ölmez çiçek	<i>Staphylococcus aureus</i>	Cushine ve Lamb, 2005
Kişniş	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> ,	Momin vd, 2012
Karanfil	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Clostridium. perfinges</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Clostridium albicans</i> , <i>Klepsiella pneumoniae</i>	Briozzo vd., 1989
Biberiye	<i>Salmonella indiana</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria innocua</i>	(Mathlouthi vd., 2011
Anason	<i>Brevibacterium linens</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Brochothrics thermosphacta</i>	Deans ve Ritchie, 1987
Zencefil	Gram (+) ve Gram (-) bakteriler	Chao ve Young, 2000
Kekik	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ,	Lambert vd., 2001

### 1.1.3. Esansiyel Yağların Rumen Mikrobiyal Fermantasyonu Üzerine Etkileri

Ruminantların sindirim sistemi anatomisi ve fizyolojisi tek mideli hayvanlardan farklılık gösterir. Ruminantlarda tek mideli hayvanların yararlanamadığı yapısal karbonhidratların sindirilmesine olanak sağlayan rumen, reticulum ve abomasum olmak üzere ek 3 mide bulunur (Dehority, 2003). Ruminantlar bitki hücre duvarı polimerlerini rumen ekosisteminde bulunan bakteri, mantar ve protozoa gibi mikroorganizmalar sayesinde değerlendirebilirler. Rumen bu mikroorganizmalara yaşamaları için uygun bir ortam sağlar, mikroorganizmalar da hayvana protein, vitamin ve uçucu yağ asitleri gibi temel besin maddeleri sağlar. Mikrobiyal fermentasyon sonucu oluşan mikrobiyal protein ince bağırsaklara ulaşan amino asitlerin %50-90 kadarını karşılarken uçucu yağ asitleri de hayvan metabolizması için gerekli enerjinin önemli bir miktarını karşılar (France ve Siddon, 1993; Rode, 2000). Bu simbiyotik ilişki ruminantların yüksek lifli ve düşük proteinli besinleri et ve süt gibi değerli besinlere dönüştürmelerini sağlar. Fakat bu fermentasyon süreci metan gibi istenmeyen atıkların üretilmesine neden olur (Moss vd., 2000).

Rumen iç sıcaklığı normal şartlarda 39-41 °C, pH'sı ise 5,5-7,0 arasında değişiklik gösterebilir. Ekosisteminde başta protozoalar ve bakteriler olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar bulunmaktadır. Bu mikroorganizmalar selülitik, hemiselülotik, pektinolitik, üreolitik, lipolitik, amilolitik, metan ve amonyak üreten karakterlerde olup genellikle anaerobik veya fakültatif anaerobik yapıdadırlar. Bakteriler gerek sayı gerekse fizyolojik olarak en önemlileridir. Mikroorganizma popülasyonu çok yoğun olup, mikrobiyel protoplazma rumen sıvısının %10'una kadar çıkabilmektedir (Choudhury vd., 2015; Perez vd., 2024; Weimer, 2015).

Rumende gerçekleşen mikrobiyal fermentasyon sonucu mikrobiyal protein ve uçucu yağ asitlerinin yanında metanın ana prekursorları olan CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> dle üretilir. Bu prekursorlar daha sonra rumende bulunan metanojen bakteriler tarafından metana dönüştürülür (Mitsumori ve Sun, 2008, Ueno vd., 2006). Rumende UYA ve metan oluşumunun şeması Şekil 1.1'de verilmiştir.



Şekil 1.1 Rumende UYA ve metan oluşumunun şeması

Oluşan metan gazı ruktus yolu ile atılırken mikrobiyal protein ve uçucu yağ asitleri ince bağırsaklara ulaşarak burda emilime uğrar (Rode, 2000).

### 1.1.3.1. Esansiyel Yağların Metan Üretimi Üzerine Etkileri

Şekil 1.1’de gösterildiği gibi rumende karbonhidrat fermentasyonunun sonucu rumen ortamında biriken hidrojen iyonları rumende bulunan metanojenik arkeler tarafından metan oluşturularak kullanılır. Metan üretimi rumende biriken hidrojen iyonlarının dış ortama salınmasını sağlayarak, fermentasyonun devam etmesi için rumenin uygun koşullarını korunmasını sağlar. Metan üretimi dışında rumen ortamında bulunursa fumarat, nitrat ve sülfat da hidrojen iyonlarının tüketilmesinden kullanılır. Metan üretimi için kullanılan ana substratlar hidrojen, karbondioksit ve formattır, üretilen metanın major bir kısmı bu 3 susbrat kullanılarak üretilir (Khairunisa vd., 2023). Bunun dışında ayrıca asetat, metanol, metilamin, dimetilamin ve trimetilamin de metan üretiminde subrsat olarak kullanılabilir (Nagaraja, 2016). Oluşan metan gazı küresel ısınmaya neden olan en önemli sera gazlarından biridir. Ayrıca rasyon enerjisinin %2-12 gibi küçümsenemeyecek bir kısmı

metan üretim aşamasında harcanır ve ekolojik zararları yanında ekonomik kayıplara da neden olur (Rodrigues, 2016).

Esansiyel yağların antimikrobiyal etkilerinin üretilen metan miktarının azaltmakta olumlu etkileri olacağı düşünülmüştür. Kişniş, tarçın, kekik, dere otu, fesleğen, kimyon gibi birçok bitkiden elde edilen esansiyel yağların metan üretimini ciddi şekilde baskıladığı yapılan in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Azizabadi vd., 2011). Busquet vd. (2005) yaptıkları çalışmada sarımsak yağının metan üretimini %74 oranında azalttığını ve bunu rumendeki metanojenik arkleri direk olarak inhibe ederek başardığını gözlemlemiştir. Agarwal vd. (2008) yaptıkları çalışmada buffalo rumen sıvısına nane yağının 0, 33, 1 ve 2 µl/ml olmak üzere farklı dozlarda katılmasının metan üretimi üzerine etkisini incelemiştir. Metan üretimi sırası ile %19,46 ve 75,6 oranlarında azalmıştır. Patra vd. (2012) in vitro ortamda karanfil, okaliptus, sarımsak, kekik ve nane yağlarının 0,25, 0,5 ve 1 g/litre olacak şekilde 3 farklı dozda metan üretimi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Bütün esansiyel yağlar her 3 dozda da metan üretimini azaltmıştır. Yüksek dozların metan üretimini baskılamada daha etkili olduğu fakat artan dozların kuru madde ve NDF yıkımlanabilirliğini olumsuz şekilde etkilediği tespit edilmiştir. Metan üretimini azaltacak katkının besin sindirilebilirliğini olumsuz yönde etkilememeli, aynı zamanda toplam UYA miktarını azaltmadan asetat miktarını azaltmalı ve propiyonat miktarını artırabilmelidir (Calsamiglia vd., 2007).

### **1.1.3.2. Esansiyel Yağların UYA Konsantrasyonu Üzerine Etkileri**

Uçucu yağ asitleri rumen fermentasyonunun bir sonucu olarak rumende oluşur (oluşum mekanizması Şekil 1.1'de gösterilmiştir). Asetik asit, propiyonik asit ve butirik asit en baskın olarak bulunanlardır. Oluşan uçucu yağ asitleri rumen duvarından emilime uğrar ve portal kana karışır. Asetat ve butirat lipid biyogenezinde prekursor olarak kullanılırken propiyonik asit ise glukoz sentezi için prekursor olarak kullanıldığından ruminantların enerji metabolizması için farklı bir önemi vardır (Dijkstra, 1994). Rumende UYA üretimi alınan yemin miktarı ve türü, hayvanın fizyolojik durumu, rumen pH'ı ve rumen mikrobiyal popülasyonu gibi birçok faktör tarafından etkilenir (Sutton, 1985). Rumen pH'ı ve rumen mikrobiyal popülasyonunda değişiklikler yapma özelliğine sahip esans yağlar UYA konsantrasyonu ve çeşitliliğinde değişiklikler yapabildiği bazı çalışmalarda gösterilmiştir. Bazı araştırmacılar esansiyel yağ karışımının in vitro ortamda rumen sıvısına uygulandığında toplam UYA konsantrasyonunu artırdığını ve bazı esansiyel yağların propiyonat miktarlarını

artırdığını gözlemlemiştir (Castillejos vd., 2007; Tatsuoka vd., 2008). Diğer yandan günümüze kadar konu ile yapılan bir çok çalışmada esansiyel yağların toplam UYA konsantrasyonunda bir etkisinin görülmediğini ya da UYA konsantrasyonunu olumsuz etkilediğini gözlemlemiştir (Joch vd., 2016; Khorrami vd., 2015; Lin vd., 2012). UYA Konsantrasyonundaki azalma olumsuz bir etki olarak görülürken UYA konsantrasyonunun sabit kalırken propiyonat miktarının artması ve asetat miktarlarında azalma olması, toplam amonyak miktarının ve metan üretiminde azalma eşlik etmesi olumlu olarak değerlendirilebilir (McGuffey vd., 2001).

### **1.1.3.3. Esansiyel Yağların Amonyak Konsantrasyonu Üzerine Etkileri**

Rumen mikroorganizmaları ile olan simbiotik ilişkileri ruminantlara protein tabiatında olmayan azotlu maddelerden protein sentezleyebilme gibi eşsiz bir özellik kazandırır. Rumene ulaşan proteinler önce aminoasitlere daha sonrada amonyağa parçalanır, ayrıca protein tabiatında olmayan azotlu birleşiklerin parçalanmasıyla da amonyak açığa çıkar. Amonyak daha sonra rumen ortamındaki serbest aminoasitler ile birlikte bakteriler ve protozoalar tarafından mikrobiyel proteine dönüştürülür (Öğüt vd., 2020). Mikrobiyel proteinlerin yapısına giren miktarın üzerindeki amino asitler de deaminasyona uğrayarak amonyağa parçalanır (Patterson, 1992). Rumen mikroorganizmaları mikrobiyel protein sentezi için amonyağa ihtiyaç duysada fazla miktarda amonyak mikroorganizmaların aktivitelerini olumsuz şekilde etkileyebilir, rumen duvarına, karaciğer ve diğer organlara zarar verebilir. Ayrıca fazla miktarda amonyak rumen duvarından emilip karaciğerde üreye çevirilip üre olarak atılıp ekolojik zararlara ve ekonomik kayıplara neden olabilir (Lapierre vd., 2005). Bu sebeplerden dolayı rumen amonyak miktarının belirli limitlerde bulunması ve arzu edilen miktarların üzerine çıkmasının baskılanması önemlidir. Esans yağların antimikrobiyal etkileri sayesinde amonyak üreten bakterileri (HAP-ammonia-hyperproducing) inhibe edebildiklerinden dolayı rumen amonyak miktarlarının ve deaminaz aktivitenin azaltabildiği yapılan bir çok çalışmada gösterilmiştir (Newbold vd., 2004; Russel vd., 1988; Wallace, 2004).

### **1.1.3.4. Esansiyel Yağların Besin Yıkımlanılabilirliği Üzerine Etkileri**

Esansiyel yağların rumen mikroflorasında yaptığı değişiklikler ile organik madde, kuru madde ve NDF yıkımlanılabilirliği üzerinde çeşitli etkileri olabileceği bazı araştırmalarda görülmüştür. Yapılan çalışmaların bazıları kuru madde ve NDF

yıkımlanabilirliğini olumsuz etkilediği (Pirondoni vd., 2015), bazıları olumsuz ya da olumlu hiçbir etkinin olmadığı (Nanon vd., 2014), bazıları ise olumlu etkileri olduğu yönündedir (Tekippe vd., 2013). Metwally vd. (2016) tarafından 6 adet fistüllü süt ineğinin rasyonlarına günde 1 g ticari bir esansiyel yağ karışımı eklemiştir. 45. gün sonucu alınan rumen sıvısı ile yapılan çalışmalarda esansiyel yağ karışımının rasyonda bulunan mısır silajının kuru madde yıkımlanabilirliğini düşürdüğü, soya fasülyesi ve kanolanın ise kuru madde ve ham protein yıkımlanabilirliğinin artırdığı saptanmıştır. Rasyonda genel olarak ise kuru madde, organik madde ve NDF yıkımlanabilirliğinde bir farklılık olmadığı saptanmıştır. Yapılan birçok in vitro araştırmada yüksek dozlarda esansiyel yağ kullanmanın besin madde sindirilebilirliğini olumsuz etkilediğini, doz arttıkça kuru madde ve NDF yıkımlanabilirliğinin olumsuz etkilediği saptanmıştır (Yang vd., 2010).

Özetlenecek olursa yukarıdaki başlıklarda bahsedildiği gibi rumende gerçekleşen fermentasyonu iyileştirmekdeki ana amaç propiyanat miktarını artırmak, metan oluşumunu azaltmak, aminoasitlerin deaminasyonunu baskılayarak azot kaybını minimize etmek, amonyak miktarlarını azaltmak ve yemlerin sindirilebilirliğini artırarak oluşacak olan besin ve enerji kayıplarını mümkün olan en az miktara indirgeyerek performansı artırmaktır (Öztürk, 2008). Esans yağların rumen mikrobiyal fermentasyonu üzerindeki olası faydalarının ilk araştırılmaları Borchers (1965), Nagy ve Tengerdy (1968) ve Oh vd. (1967) tarafından yapılan çalışmalardır. Oh vd. (1967) Douglas köknerinden elde edilen esansiyel yağın yüksek dozlarda ruminal fermentasyon üzerinden olumlu etkileri olduğunu, fermentasyon ile açığa çıkan gaz miktarının azaldığını saptamıştır. Ayrıca Nagy ve Tengerdy (1968) adaçayından elde edilen esansiyel yağın ruminal bakterileri inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Yapılan ilk çalışmalar esansiyel yağların rumen fermentasyonu üzerinde olumlu etkileri olduğu saptanmıştır ve özellikle antibiyotiklerin bu amaçla kullanımının yasaklanmasının ardından bu konuya olan ilgi artmıştır ve günümüze kadar bu alanda çeşitli sonuçlar elde edilen denemeler yapılmıştır.

Yadeghari vd. (2015) lavanta esansiyel yağının 250, 500 ve 1000 µl/L dozlarda rumen fermentasyonu, ruminal sindirim, metan üretimi ve rumen asidozu üzerine etkilerini incelemiştir. Lavanta esansiyel yağının dozu arttıkça metan gazı üretiminde %11, %44 ve %60 oranlarında azalmalar gözlemlenmiştir fakat artan dozdan organik madde sindirilebilirliği olumsuz etkilenmiştir. Propiyanat miktarı bütün dozlarda artarken, pH değerlerinde düşüş gözlemlenmiştir. Sonuç olarak artan dozlar üretilen metan gazı miktarını

düşürse de besin maddelerinin sindirilebilirliğini olumsuz etkileyebileceği ve rumen asidozunu artırabileceği tespit edilmiştir.

Kekik, biberiye, tarçın, tarçın yaprakları, çin tarçını, dere otu ve okaliptusdan elde edilen esansiyel yağların in vitro ortamda rumen fermentasyonu, metan üretimi, amonyak üretimi ve rumen mikrobiotası üzerine etkileri incelenmiştir. Tek tek ve üçlü karışımlar şeklinde kullanılan bütün esansiyel yağlar ve karışımlarının üretilen toplam gaz, metan ve amonyak miktarlarını azaltırken kuru madde sindirilebilirliğini olumsuz yönde etkilediği gözlemlenmiştir (tarçın-dere otu-okaliptus esansiyel yağlarının karışımı hariç). Esans yağ karışımları rumen de bulunun protozoa ve seçili bakterilerin miktarlarını da azaltmıştır. Bahsi geçen bitkilerden elde edilen esansiyel yağların kombinasyonlarının düşük dozlarda kullanıldığında fermentasyon ve sindirilebilirlik üzerine olumsuz etkileri olmadığı, rumende oluşan metan ve amonyak miktarlarını azaltmak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Cobellis vd., 2016).

Holstein ırkı buzağuların yemlerine ilave edilen tarçın ve kekik esansiyel yağlarının kuru madde tüketimi, besin sindirilebilirliği, rumen pH'sı, amonyak miktarı ve toplam UYA üzerindeki etkisi olmadığı görülmüştür. Esans yağlar sadece UYA ların kompozisyonlarında farklılıklara neden olmuştur. Tarçın esansiyel yağı eklenen grupta bütirik asit miktarı ciddi oranda artarken, kekik yağı eklenen grupta bir farklılık görülmemiştir. Propiyonat miktarları her iki grupta ciddi oranlarda artmıştır (Vakili vd., 2013).

Buğday samanı ağırlıklı (%50 buğday samanı: %50 konsatre yem) rasyon ile beslenen bufaloların rumen sıvısı ile in vitro ortamda yapılan bir çalışmada, rumen sıvısına katılan tarçın, sarımsak, kekik ve biberiye esansiyel yağlarının metan üretimi, besin sindirilebilirliği, UYA üretimi ve amonyak konsantrasyonları üzerine etkileri incelenmiştir. Esans yağlar 30, 300 ve 600 ppm dozlarında rumen sıvısına eklenmiş ve 600 ppm'lik dozun toplam gaz üretimini ciddi derecede düşürdüğü tespit edilmiştir. Metan üretiminde en çok azalmanın yüksek dozlarda olduğu, amonyak oranlarının da ciddi oranlarda azaldığı görülmüştür. Yüksek doz grupların kuru madde yıkımlanılabilirliğini ve toplam UYA konsantrasyonunu da ciddi oranda artırdığı saptanarak esansiyel yağ katkısının buğday samanı ağırlıklı rasyonlar ile beslenen hayvanlarda ruminal fermentasyon üzerinde olumlu etkileri olduğu, metan ve amonyak miktarlarını azaltılabileceği sonucuna varılmıştır (Roy vd., 2014). Esans yağların rumen mikrobiyal fermentasyonu üzerine etkilerinin incelenmesi

amacı ile yapılmış 74 bilimsel çalışmanın metaanalizi Iturbide vd. (2022) tarafından yapılmış ve 74 çalışmanın belirli parametreler üzerine etkilerinin ortalama değerleri bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre esansiyel yağların kuru madde tüketimi, sindirilebilirliği ve canlı ağırlık artışını artırdığı, amonyak ve metan miktarlarını azalttığını. UYA molar konsantrasyonunu değiştirerek propiyonat miktarlarını artırdığı gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda esansiyel yağların rumen fermentasyonunu iyileştirdiği ve fermentasyonun çevreye olan zararlı etkilerini azaltabileceği sonucunu varılmıştır.

## **1.2. Bor**

### **1.2.1. Borun Tanımı ve Genel Özellikleri**

Atom numarası 5 olan, metalle ametal arası yarı iletken ve yüksek ısılara dayanabilen bor elementi ve türevleri deterjan, ilaç, gübre, yanmayı önleyici madde, hidrolik fren ve benzeri birçok maddenin üretiminde kimya sanayisinde yaygın olarak kullanılır. (Barth,1998; Yıldız, 2008). Borun bitkiler için esansiyel bir element olduğu uzun yıllardır bilinmesiyle beraber hayvanlar ve insanlar için esansiyel olmadığı düşünülmektedir. Bor ile ilgili yapılan araştırmaların büyük çoğunlu endüstriyel amaçlarla gerçekleştirilmektedir. 1980'li yılların başında borun hayvan ve insan sağlığına etkilerine olan ilgi artmış ve o dönemden günümüze hayvan sağlığına etkileri ile ilgili bazı araştırmalar yapılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucunda borun hayvanlarda kemik gelişimini artırdığı, beyin ve bağışıklık fonksiyonlarını iyileştirebileceği ayrıca enerji substratlarının kullanım ve metabolizmalarını etkileyebileceği bildirilmiştir (Hunt ve Herbel 1991; Nielsen 1997). Ayrıca borun antioksidan ve antimikrobiyal etkileri olduğu bildirilmiştir. Coban vd. (2015) diabetik ratlar üzerinde yaptığı bir çalışmada borun organizmanın antioksidan defans sistemini artırabildiği, DNA hasarlarını inhibe edebildiği ve hücre çoğalmasını koruyarak antioksidan özellikler gösterdiğini saptamıştır. Bor bileşiklerinin bir örneği olan borik asit antifungal olarak obsteristik ve jinekoloji alanında ve otomikoz enfeksiyonların tedavisinde, ayrıca göz enfeksiyonlarında sterilizasyon gereci olarak yaygın bir kullanım alanına sahiptir (Javanovic vd, 1991; Karaarslan vd., 2005; Yakıncı ve Kök, 2016).

### **1.2.2. Borun Antimikrobiyal Özellikleri**

Borun bakteriler üzerindeki etkisini hücre zarı proteinlerini ya da hücre içerisinde bulunan enzim ve ko-enzimleri etkileyerek gösterdiği düşünülmektedir. Hücre zarı bütünlüğünün bozulması ile beraber bakteri yaşaması için gerekli besinleri almakta zorlanır,

hücre sitoplazmasında bulunan enzimlerin yapısının bozulması ile beraber hücrenin protein sentezlenmesi gibi birçok faaliyeti engellenir ve hücre ölümü gerçekleşir (Borokhov ve Schubert, 2007).

### **1.2.3. Borun Rumen Mikrobiyal Fermantasyonu Üzerine Etkileri**

Borun rumen fermentasyonu üzerine etkileri ile ilgili yapılmış çalışmalar yok denecek kadar azdır. Antimikrobiyal etkilerinin esansiyel yağlara benzer bir etki mekanizması ile rumen mikrobiyal fermentasyonu üzerine etkileri olabileceği düşünülmüştür. İn vitro ortamda rumen sıvısına eklenen 50, 100, 200 ve 500 ppm borik asidin rumen fermentasyonu ve metan gazı üretimi üzerine etkileri incelenmiştir. Metan gazı üretiminin borik asidin artan dozları ile aynı oranda azaldığı, asetik asidin miktarlarının artan borik asit dozlar ile azaldığı, propiyonik ve bütirik asit miktarları ile birlikte toplam UYA konsantrasyonunda arttığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda organik madde sindirilebilirliğinde olumlu şekilde etkilenmiştir ve borik asidin metan gazı üretimini azaltmak için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Yıldız vd., 2022).

Sızmaz vd. (2017) tarafından yapılan bir diğer çalışmada borik asit ilavesinin rumen fermentasyonu üzerinde olası etkileri incelenmiştir. Yapılan denemede 3 adet damızlık koç kullanılmış, koçlardan birinin rasyonuna 180 ppm borik asit katkısı eklenmiştir. 42 günlük süren deneme sonucunda borik asit ilavesinin rumen amonyak konsantrasyonu, pH değeri, protozoa sayısı, UYA bileşimi ve ortalama metan üretimi üzerinde önemli bir değişiklik göstermediği ve rumen ortamında değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır.

Bu çalışmada lavanta yağı, ölmez çiçeği yağı, adaçayı yağının aynı kaba konsantre yem oranına sahip rasyonlarda kullanılması halinde in vitro rumen fermantasyon parametreleri ve in vitro rumen sindirilebilirlikleri üzerine oluşacak etkileri incelenecektir. Söz konusu esansiyel yağların ve bor mineralinin in vitro rumen inkübasyonunda yem maddelerinin in vitro besin maddeleri yıkımlanabilirliği üzerine olan etkisi (organik madde yıkımlanabilirliği, kuru madde yıkımlanabilirliği, NDF yıkımlanabilirliği), açığa çıkan metan gazı miktarına etkisi, oluşan uçucu yağ asidi konsantrasyonuna ve uçucu yağ asitlerinin oransal miktarlarına etkisi, oluşan NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonuna etkisi, fermantasyon ortamı pH değerlerine etkisi incelenecektir, elde edilen bilgiler ışığında ruminantların beslenmesinde metan üretimini azaltmaya yönelik besleme yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. Hayvan Materyali

Araştırmada kullanılan rumen içeriği Lalahan- Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğünde bulunan 2 adet kanüllü inekden, sabah yemlemesinden 3 saat sonra alındı. Rumen içerikleri daha önceden 39 °C'ye ısıtılmış termosaya aktarılarak laboratuvara getirildi.

#### 2.1.2. Yem Materyali

Araştırmada kullanılan yem materyali Lalahan Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğünden temin edildi. In-vitro yıkımlanabilirlik ve gaz üretim tekniğinde substrat olarak kanüllü hayvanların yediği yemler kullanıldı. Çalışma için kullanılan yem kaba yem (Buğdaygil kuru otu, fiğ kuru otu): konsantre yem 50:50 olacak şekilde ayarlandı.

#### 2.1.3. Esansiyel Yağ ve Bor Matertali

Yem katkı maddesi olarak lavanta (*Lavandula angustifolia*) yağı, ölmez çiçeği (*Helichrysum italicum*) yağı, tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis*) yağı içeren esansiyel yağ ve bor kullanıldı. Esans yağlar Yıldız vd. (2022) çalışmalarına istinaden 100 ve 1000 ppm dozlarında, bor ise sadece 100 ppm dozunda kullanıldı. Esansiyel yağlar Burdur, Karamanlı bölgesinde yerel olarak üreticilik yapan Dr. Aynur Ece Onur tarafından temin edildi. Bor olarak da yapısında %17,5 bor minerali içeren Merck firmasının borik asidi kullanıldı (Darmstadt, Almanya).

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Yem Materyalinin Hazırlanması ve Deneme Grupları

Çalışma dizaynına göre kullanılan yem öğütüldü ve kaba yem: konsantre yem 50:50 olacak şekilde ayarlandı. Çalışma başladığında kullanılan yem maddeleri alındı bileşimi ve besin madde içeriği analiz edildi (AOAC, 2000). İn vitro test sisteminde kullanılan yem maddelerinin bileşimleri ve besin madde içerikleri Çizelge 3.4’de verilmiştir.

İki aşamalı olarak yürütülen araştırmanın birinci aşamasında in-vitro gaz üretim tekniği kullanılmıştır. Bu teknik ile rumen sıvısına karıştırılan adaçayı, lavanta ve ölmez çiçek esansiyel yağlarının 100 ve 1000 ppm dozlarının, bu dozlara bor ilavesinin ve yalnızca bor ilavesinin yem maddelerinin in vitro gaz üretimi, metan gazı ve rumen sıvısı parametreleri (rumen pH, NH<sub>3</sub>-N, uçucu yağ asitleri) üzerine etkileri belirlenmiştir. İkinci aşamada Daisy İnkubatör cihazı kullanılarak adaçayı, lavanta ve ölmez çiçek esansiyel yağının 100 ve 1000 ppm dozları ve bu dozlara ayrı denemelerde bor ilavesinin ve yalnızca bor ilavesinin yem maddelerinin NDF, kuru madde, organik madde ve total sindirilebilirlik üzerine etkileri saptanmıştır. Araştırmada kullanılan gruplar Çizelge 2.1’de verilmiştir.

**Çizelge 2.1.** Deneyde kullanılan gruplar

Kullanılan yem katkı	Kullanılan doz	Grup adı
ÖLMEZ ÇİÇEĞİ	100 ppm (20 mikrolitre) yağ	A1 A2 A3
	1000 ppm (200 mikrolitre) yağ	B1 B2 B3
LAVANTA	100 ppm (20 mikrolitre) yağ	C1 C2 C3
	1000 ppm (200 mikrolitre) yağ	D1 D2 D3
ADA ÇAYI	100 ppm (20 mikrolitre) yağ	E1 E2 E3
	1000 ppm (200 mikrolitre) yağ	F1 F2 F3
ÖLMEZ ÇİÇEĞİ+BOR	100 ppm (20 mikrolitre) yağ + 100 ppm borik asit	G1 G2 G3
	1000 ppm (200 mikrolitre) yağ + 100 ppm borik asit	H1 H2 H3
LAVANTA + BOR	100 ppm (20 mikrolitre) yağ + 100 ppm borik asit	K1 K2 K3
	1000 ppm (200 mikrolitre) yağ + 100 ppm borik asit	L1 L2 L3
ADAÇAYI+BOR	100 ppm (20 mikrolitre) yağ + 100 ppm borik asit	M1 M2 M3
	1000 ppm (200 mikrolitre) yağ + 100 ppm borik asit	O1 O2 O3
SADECE YEM (KONTROL)		P1 P2 P3
BOR	100 ppm borik asit	R1 R2 R3

## 2.2.2. In vitro Fermentasyon ve Gaz Üretim Tekniğinin Uygulanması

Fermentasyon ve gaz oluşum işlemi Menke vd. (1979)'nın belirttiği şekilde HFT (Hohenheim Futterwert Test) tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. İn vitro çalışma Yıldız vd. (2015) tarafından bildirildiği şekilde dizayn edildi. Uygulamada kullanılan yem materyali ve katkı maddeleri (esansiyel yağlar ve bor) Çizelge 2.1'de belirtildiği oranlarda 100 ml hacimli cam şırıngalara eklenmiştir. Daha sonra laboratuvar ortamında hazırlanan tamponlu rumen sıvısı cam şırıngalara eklenmiştir. Silikon bir aparat ile ağzı kapatılan cam şırıngalar içerisinde yapay bir rumen ortamı oluşturulmuştur ve in vitro gaz üretim tekniğiyle fermentasyona tabi tutulmuştur.

Kanüllü hayvanlardan rumen sıvısı örnekleri alındı. Alınan rumen sıvısı önceden ısıtılan termosaya aktarılıp laboratuvara taşındı ve 4 kat filtreden geçirildikten sonra CO<sub>2</sub> ile muamele edildi. Rumen sıvısı elde edilirken bir diğer yandan da rumen sıvısının karıştırılacağı tampon sıvısı laboratuvar ortamında hazırlandı. Tampon çözeltisini hazırlamak için öncelikle 1 litre distile suya 5,7 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 6,2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 0,6 g MgSO<sub>4</sub> eklenerek makromineral çözeltisi, 1 litre distile suya 13,2 g CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 10 g MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 1 g CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O ve 0,8 g FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O karıştırılarak mikromineral çözeltisi, 1 litre distile suya 35 g NaHCO<sub>3</sub> ve 4 g NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> karıştırılarak yapay salya ve 100 mg/100 ml rezazurin hazırlandı. Daha sonra hazırlanan bu çözeltiler 475 ml/L distile su, 240 ml/L makromineral çözelti, 240 ml/L yapay salya, 0,12 ml/L mikromineral çözelti ve 1.22 ml/L rezazurin olacak şekilde karıştırılarak 39 dereceye ısıtılıp indirgeyici çözeltilerden eklendi (1 litre tampon çözelti için 47,5ml distile su, 2 ml 1M NaOH, 336 mg Na<sub>2</sub>S.9H<sub>2</sub>O) ve rengi berrak olana kadar CO<sub>2</sub> uygulandı.

Rumen sıvısı (500ml) ve tamponlu mineral sıvısı (1000ml) karıştırıldı. Cam şırıngalar içerisine öncelikle 200 mg yem materyali, ardından yaklaşık 30 ml tamponlu rumen sıvısı eklendi (Yıldız vd., 2015). Yem katkı maddesi olarak lavanta yağı, ölmez çiçeği yağı, adaçayı yağı içeren esansiyel yağlar rasyonlara farklı dozlarda (0, 100, 1000 ppm) ve aynı esansiyel yağlara 100 ppm borik asit (Kullanılan borik asit yapısında %17,5 bor içerir) ilave edilerek gruplar oluşturuldu. Çalışma bütün gruplarda üç tekrar gerçekleştirildi. Gruplar çizelge 2.1'de ayrıntılı olarak gösterilmiştir. 100 ml kapasiteli cam şırıngalar içerisine hazırlanan tamponlu rumen sıvısı karışımı, yem materyali ve çalışma grubuna göre katkıları eklendi ve 39 °C'de dakikada bir tur dönen inkübatörde 48 saat boyunca inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda pH, NH<sub>3</sub>N ve UYA asitlerinin saptanması için fermantasyon sıvısından örnek alındı.

Üretilen toplam gaz miktarının belirlenmesi için 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerde şırıngalarda oluşan gaz düzeyleri ölçülmüştür ve 48. saatte metan gaz tayini için gaz numunesi alınmıştır.

### **2.2.3. İn-Vitro Ruminal Fermantasyon Sonucu Ortaya Çıkan Gazda Metan Tayini**

48 saat süren inkübasyon sonunda cam şırıngalarda biriken gazdan 10 ml örnek Tekeli vd. (2017) belirttiği gibi alınarak Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan Shimadzu gaz kromatografi cihazında (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) 30 m x 0,53 mm ebatlarında Carboxen-1006 PLOT kolon kullanılarak analiz edildi. Analiz öncesi kalibrasyon fluka metan standardı kullanılarak gerçekleştirildi.

### **2.2.4. Yem Maddelerinin İn vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi**

Daisy II inkübatörü (ANKOM Teknoloji, Fairport, New York, Amerika Birleşik Devletleri) ve Ankom F57 adlı filtre keseleri yem materyalinde bulunan bazı besin maddelerinin (OM, NDF) ve kuru maddelerinin in vitro olarak rumen yıkımlanabilirliklerinin belirlenebilmesi amacı ile kullanılmıştır. İçerisine dört adet dört litre hacminde kavanozların yerleştirebildiği Daisy II inkübatörü 48 cm x 55 cm x 30 cm boyutlarında, ısıtıcılı bir inkübatördür. İnkübatöre yerleştirilen kavanozlar bir dakikada 0,95 tur tamamlamaktadırlar. 25 µm'den büyük partikülleri içerisinde tutacak şekilde tasarlanan keseler polyester ve polietilen yapıdadır. Her kese için 0,5 g yem numunesi tartılmıştır ve her inkübasyon kavanozu için 25 kese olacak şekilde toplam 2 adet inkübatör kavanozu kullanılmıştır. Denemenin bu aşamasındada in vitro gaz üretim tekniği aşamasında kullanılan aynı gruplar kullanılmıştır.

Robinson vd. (1999) belirttiği şekilde öncelikle yem örneklerinin içerisine konacağı filtre torbalara (F57) aseton ile ön durulama yapıldı ve kurutulup numaralandırıldı. Filtre torbalar içerisine 0,5 g yem hamedesi ve deneme dizaynına göre yem katkıları katıldı. (Çizelge 2.1'e göre). Daha sonra laboratuvar ortamında A çözeltisi (10,0 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g

MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,5 g NaCl, 0,1 g CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O ve 0,5 g üre 1 litre saf suda çözdürülerek hazırlanır) ve B çözeltisi (15,0 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 1,0 g Na<sub>2</sub>S·9H<sub>2</sub>O 1 litre saf suda çözdürülerek hazırlanır) hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler 39 °C'ye ısıtılmıştır. B çözeltisinden 266 ml, A çözeltisinden ise 1300 ml alınarak Daisy inkubatörünün yem örneği koyma kavanozuna ilave edilmiştir. Daha sonra hazırlanan bu tampon çözelti içerisine filtre torbalar ve 400 ml rumen sıvısı ilave edilmiştir. Hazırlanan kavanozlara 30 saniye CO<sub>2</sub> gazı verilip akabine inkubatörde 48 saat boyunca 39 °C'de inkubasyona bırakılmıştır. 48 saatin sonunda kavanozlar inkubatörden alınıp içerisindeki sıvı boşaltılıp içerisinde bulunan keseler önce buzlu suda beklemeye alınıp ardından yıkandılar. Yıkanan keselerin içeriği ANKOM Fiber anlyzer'da belirtilen methodlar ile analiz edilmiştir.

### 2.2.5. Yem Maddelerinin ve İn vitro Fermentasyondan Çıkan Yem Maddelerinin Besin Madde Miktarlarının Belirlenmesi

Ankara Ü. Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında çalışmada kullanılan ve in vitro fermentasyon sonrası geriye kalan yem maddelerinin besin madde bileşenleri analiz edilmiştir. Toplanan keseler yıkama işleminin ardından Ankom Fiber Analayzer'da NDF analizine tabi tutulmuştur. AOAC (2000)'de bildirilen metotlara göre kuru madde belirlenmiştir. Gerçekleştirilen analizler sonucunda fermentasyona bağlı gerçekleşen besin madde kayıpları yüzdesel olarak ortaya konulmuştur.

Hesaplamalar:

$$\%IVTD: 100 - ((W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100 / W_2)$$

$$\%IVTD_{KM}: \frac{100 - ((W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100)}{W_2 \times KM}$$

$$\%IVTD_{OM}: \frac{100 \times (W_2 \times Q) - (W_3 - W_1) \times Z}{W_2 \times Q}$$

$$\%IVTD_{NDF}: \frac{100 \times (W_2 \times A / 100) - (W_3 - W_1)}{W_2 \times A / 100}$$

W1: Torba ağırlığıdır, W2: Numune ağırlığıdır, W3: İn vitro NDF analizleri sonucunda elde edilen torba ağırlığıdır, C1: Boş torba düzeltme faktörüdür (etüvde kurutma sonrasındaki ağırlık veya boş torbanın kendi ağırlığıdır), A: Yem inkubasyonu Öncesi yüzdelik olarak NDF değeridir, Q: Yem inkubasyonu öncesi yüzdelik olarak organik maddedir, Z: yem inkubasyonu sonrası yüzdelik olarak organik madde.

### **2.2.6. Rumen Sıvısında UYA Analizi**

Uçucu yağ asiti analizi için fermentasyon sonrasında her bir şırıngadan 1 ml örnek toplandı, alınan rumen sıvısı örnekleri önceden içine 0,2 ml %25 meta-fosforik asit konulan eppendorf tüplerine alındı ve -20 °C’de donduruldu. Analiz edileceği gün +5 °C’de çözdürülen rumen sıvısı örnekleri Yıldız vd. (2015)’de gösterdiği gibi gaz kromatografi analizine hazırlandı ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan Shimadzu gaz kromatografi cihazında (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) 30m x 0.50 um ebatlarında Teknokroma kolon (TRB-FFAP PART NUMBER TR-150535) ile analiz edildi. Analiz öncesi Volatile Free Acid Mix (ACCUSTANDARD Volatile Acid Standard Solution 10 mM each in Water 100 mL, Kat No: FAMQ-004) standardı kullanılarak cihaz kalibre edildi.

### **2.2.7. Rumen Sıvısında pH Tayini**

Fermentasyon sonucu alınan rumen sıvısı örneklerinin pH değeri, dijital pH metre (Mettler Toledo, S220 pH/ion metre, Ohio, ABD) ile belirlenmiştir.

### **2.2.8. Rumen Sıvısında NH<sub>3</sub>-N Tayini**

Fermentasyon sonucu oluşan amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) miktarlarının belirlenmesi için 20 mililitrelik kaplara rumen sıvısı örnekleri alındı. Rumen sıvılarına üç ila dört damla % 98’lik sülfirik asit damlatıldı. Toplanan örnekler 2590 rpm’de 20 dakika santrifüj edildi ve 1 ml alınarak -20 °C’de muhafaza edildi. NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonu analizlerin yapılacağı gün +4 °C ‘de çözdürülen numunelerde, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında bulunan Shimadzu spektrofotometre (UV-1208) cihazı kullanılarak indefenol mavisi yöntemi ile kolorimetrik olarak 546 nm’de dalga boyunda ölçüldü (McCullough, 1967).

### **2.2.9. İstatistik Analizler**

Rumen fermentasyon ve gaz parametre değerlerinden elde edilen sonuçların istatistik analizleri için SPSS 14.1 paket program kullanılmıştır. Varyans analiz metodu gruplara ait istatistiksel hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemliliğini tespit etmek için kullanılmıştır. Gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için de Duncan testi uygulanmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Adaçayı, Lavanta ve Ölmez Çiçeğine Ait Esans Yağların Bileşimi

Çalışmada ele alınan adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeğine ait esansiyel yağların bileşimi Çizelge ve Şekil 3.1, 3.2, ve 3.3’de verilmiştir. Öncelikle çalışmada kullanılan adaçayı yağı, lavanta yağı ve ölmez çiçeği esansiyel yağları Dr. Ece Aynur ONUR IŞILDAR işletmesinden temin edilmiş, yağlar Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Araştırma Ve Uygulama Merkezi Temel Ve Uygulamalı Bilimler GC MS Biriminde analiz ettirilmiştir (Çizelge ve Şekil 3.1, 3.2, 3.3).

Ölmez (altın otu) çiçeği bileşiminde ağırlıklı olarak %23,74 ile alfa pinen, %13,03 beta-Himachlene, %7,50 beta-Selinen, %5,46 limonen, %5,32 karyofilen yer almaktadır. Adaçayı yağı bileşiminde ağırlıklı olarak %21,91 ökaliptol (1,8-cineole), %20,22 alpha thujone, %13,27 karyofilen, %7,43 bicyclo, %6,08 kamfur yer almaktadır. Lavanta yağı bileşiminde ağırlıklı olarak %28,23 Linalil asetat, %22,48 Linalool, %8,22 cis-Ocimene, %5,80 Lavandulil asetat, %5,80 karyofilen yer almaktadır.

Çizelge 3.1. Ölmez çiçek yağı bileşimi

Peak	R.Time	İsim	Area	Area %
1	6.725	ALPHA PINENE	31065792	23,74
2	7.188	Bicyclo [2.2..1]heptane,2,2-dimethyl-3-methylene (IR)	726444	0,56
3	7.255	Camphene	187953	0,14
4	8.293	Bicyclo[3.1.1]heptane,6,6-dimethyl-2-methylene (IS)	1361960	1,04
5	8.731	beta.-Myrcene	160051	0,12
6	9.304	Butanoic acid,2-methyl-,2-methylpropyl ester (CAS) Isobutyl 2-methylbutyrate	97764	0,07
7	9.409	Hex-3(Z)-enyl acetate	90724	0,07
8	9.466	l-Phellandrene	83443	0,06
9	9.964	ALPHA. TERPINENE	674092	0,52
10	10.312	Benzene,methyl(1-methylethyl)- (CAS) Cymol	295212	0,23
11	10.563	Limonene	7142562	5,46
12	10.715	EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE)	763517	0,58
13	10.869	cis-Ocimene	55857	0,04
14	11.400	1,3,6-Octatriene,3,7-dimethyl-,(E)- (CAS) .BETA. OCIMENE Y	59929	0,05
15	11.574	Angelate <isobutyl->	609053	0,47
16	11.993	gamma.-Terpinene	1251260	0,96
17	13.436	ALPHA.-TERPINOLENE	366659	0,2E
18	14.305	Linalool	1613615	1,23
19	14.480	Butyrate <2-methylbutyl-,2-methyl->	196910	0,15
20	17.338	2-Butenoic acid,3-methyl-,pentyl ester	1673124	1,28
21	19.079	3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4-Terpineol	521136	0,40

**Çizelge 3.1. Devam. Ölmez çiçek yağı bileşimi**

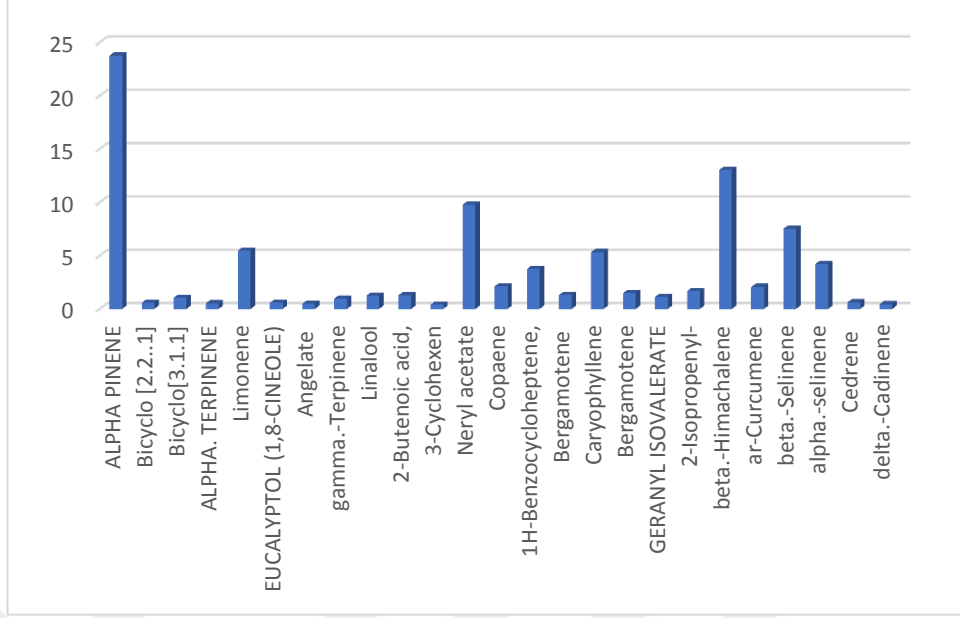
Peak	R.Time	İsim	Area	Area %
22	19.210	<i>2,2-Dimethylpropanoic anhydride</i>	113639	0,09
23	20.027	<i>BETA. FENCHYL ALCOHOL</i>	380851	0,29
24	20.737	<i>Decanal (CAS) n-Decanal</i>	55133	0,04
25	25.881	<i>HEXYL SENEIOATE</i>	376233	0,29
26	30.878	<i>Neryl acetate</i>	12785028	9,77
27	31.095	<i>alpha.-Amorphene</i>	327394	0,25
2S	31.210	<i>alpha.-Ylangene</i>	271878	0,21
29	31.646	<i>Copaene &lt;alpha-&gt;</i>	2774917	2,12
30	32.558	<i>Himachalene &lt;alpha-&gt;</i>	90157	0,07
31	33.485	<i>1H-Benzocycloheptene,2,4a,5,6,7,8-hexahydro-3,5,5,9-tetramethyl(R)-</i>	4896815	3,74
32	34.131	<i>Bergamotene &lt;alpha-trans-&gt;</i>	1683885	1,29
33	34.380	<i>Caryophyllene</i>	6958501	5,32
34	35.395	<i>Bergamotene &lt;alpha-trans-&gt;</i>	1927100	1,47
35	35.812	<i>Aristolene</i>	188364	0,14
36	36.550	<i>GERANYL ISOVALERATE</i>	1549160	1,13
37	36.796	<i>Farnesene &lt;(E)-,beta-&gt;</i>	392059	0,30
3S	37.339	<i>UNKNOWN FROM LIME OIL</i>	377257	0,29
39	37.854	<i>alpha.-Amorphene</i>	117226	0,09
40	37.827	<i>2-Isopropenyl-4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene</i>	2175591	1,66
41	38.355	<i>beta.-Himachalene</i>	23662222	13,03
42	38.475	<i>ar-Curcumene</i>	2693636	2,06
43	3S.771	<i>beta.-Selinene</i>	9819202	7,50
44	39.239	<i>alpha.-selinene</i>	5514421	4,21
45	39.446	<i>alpha.-Muurolene(-)</i>	91886	0,07
46	39.705	<i>delta.-Cadinene</i>	310891	0,24
47	40.110	<i>beta.-Bisabolene</i>	140957	0,11
4S	40.220	<i>Cedrene &lt;alpha-&gt;</i>	802075	0,61
49	40.657	<i>delta.-Cadinene</i>	627246	0,43
50	41.226	<i>Patchoulene &lt;alpha-&gt;</i>	79718	0,06
52	42.099	<i>CIS-.ALPHA.-BISABOLENE</i>	82456	0,06
53	44.296	<i>Aromadendrene</i>	86916	0,07
54	45.995	<i>2,4,6-Triethyl-5-propylcyclohex-2-en-1-one</i>	145651	0,11
55	46.200	<i>ethanol,2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-.alpha.,.alpha.,4a,8-tetramethyl-, [2R-(2.alpha</i>	211700	0,16
56	46.900	<i>R(+)-LIMONEN</i>	14639	0,01
57	48.811	<i>.alpha.-selinene</i>	130631	0,10
			130865192	100,00

**Çizelge 3.2.** Adaçayı yağı bileşimi

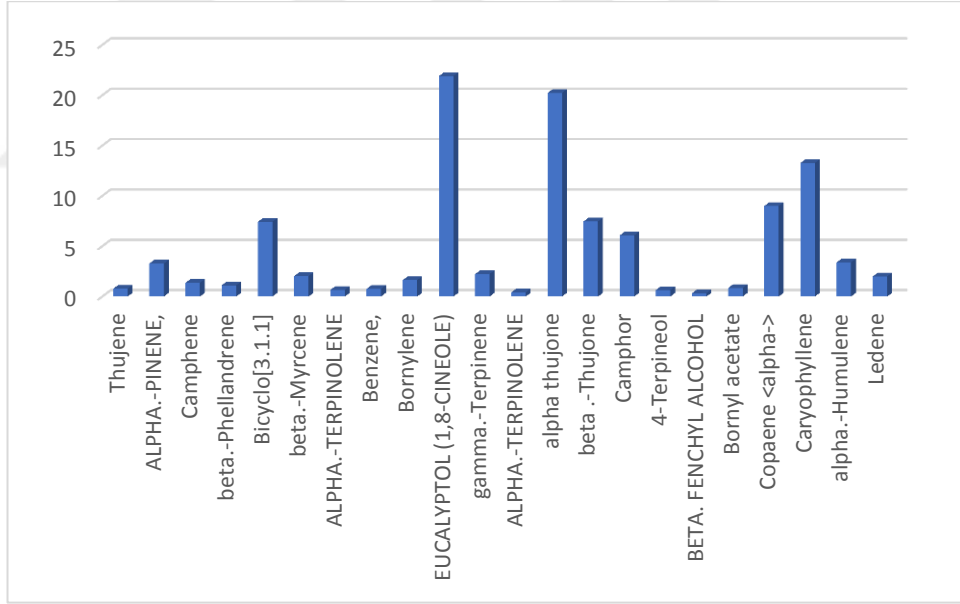
Peak	R. Time	İsim	Area	Area,%
1	6.389	<i>Thujene &lt;alpha-&gt;</i>	1239223	0,77
2	6.654	<i>ALPHA.-PINENE,(-)-</i>	5270252	3,28
3	7.222	<i>Camphene</i>	2210684	1,37
4	8.062	<i>beta.-Phellandrene</i>	1804053	1,12
5	8.287	<i>Bicyclo[3.1.1]heptane,6,6-dimethyl-2-methylene-,(1S)-</i>	119448081	7,43
6	8.532	<i>3-Octanone (CAS) EAK</i>	166710	0,10
7	8.709	<i>beta.-Myrcene</i>	3258892	2,03
8	3.449	<i>l-Phellandrene</i>	96684	0,06
9	9.937	<i>ALPHA.-TERPINOLENE</i>	1055277	0,66
10	10.296	<i>Benzene,methyl(1-methylethyl)- (CAS) Cymol</i>	1228331	0,76
11	10.542	<i>Bornylene</i>	2620144	1,63
12	10.756	<i>EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE)</i>	35250689	21,91
13	10.847	<i>cis-Ocimene</i>	234693	0,15
14	11.366	<i>1,3,6-Octatriene,3,7-dimethyl-,(E)- (CAS) .BETA. OCIMENE Y</i>	108271	0,07
15	11.971	<i>gamma.-Terpinene</i>	3580664	2,23
16	12.634	<i>trans-Sabinene hydrate</i>	221935	0,14
17	13.408	<i>ALPHA.-TERPINOLENE</i>	679222	0,42
18	14.432	<i>Linalool</i>	385235	0,24
19	14.733	<i>alpha thujone</i>	32534540	20,22
20	15312	<i>beta.-Thujone</i>	12017265	7,47
21	16.959	<i>Camphor</i>	9784072	6,08
22	11417	<i>p-menth-1-en-8-ol</i>	219360	0,14
23	19.041	<i>4-Terpineol</i>	1049872	0,65
24	19.993	<i>BETA. FENCHYL ALCOHOL</i>	538851	0,33
25	25.743	<i>Bornyl acetate</i>	1365251	0,85
26	26.230	<i>1-P-MENTHEN-8-YL ACETATE</i>	60181	0,04
27	31.584	<i>Copaene &lt;alpha-&gt;</i>	148297	0,09
28	32.060	<i>alpha.-Bourbonene</i>	124129	0,08
29	33.415	<i>trans-Caryophyllene</i>	57424	0,04
30	34.432	<i>Caryophyllene</i>	21347290	13,27
31	35.345	<i>trans-alpha.-Bergamotene</i>	59459	0,04
32	35.511	<i>(+)-Aromadendrene</i>	207207	0,13
33	36.600	<i>alpha.-Humulene</i>	5455008	3,39
34	36.859	<i>Alloaromadendrene</i>	145790	0,09
35	37.901	<i>alpha.-Amorphene</i>	194435	0,12
36	38.863	<i>Ledene</i>	49646	0,03
37	39.129	<i>beta.-Chamigrene</i>	44482	0,03
38	40.236	<i>Cadinene &lt;gamma-&gt;</i>	67007	0,04
39	40.629	<i>.delta.-Cadinene</i>	285471	0,18
40	44.290	<i>(-)-Caryophyllene oxide</i>	335301	0,21
41	45.114	<i>Ledene</i>	3218716	2,00
42	69.475	<i>Sclareol</i>	227533	0,14
			160895627	100,00

**Çizelge 3.3.** Lavanta yağı bileşimi

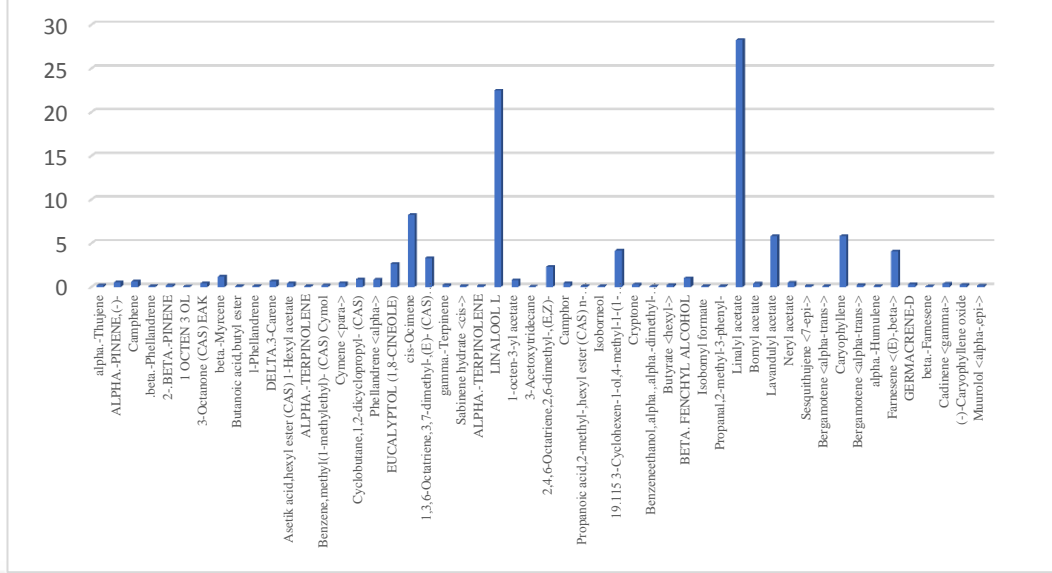
Peak	R-Time	İsim	Area	Area,%
1	6.419	<i>alpha.-Thujene</i>	185741	0,16
2	6.679	<i>ALPHA.-PINENE,(-)-</i>	595942	0,53
3	7.253	<i>Camphene</i>	696541	0,61
4	8.089	<i>.beta.-Phellandrene</i>	108841	0,10
5	8.297	<i>2-.BETA.-PINENE</i>	182261	0,16
6	8.395	<i>1 OCTEN 3 OL</i>	43685	0,04
7	8.561	<i>3-Octanone (CAS) EAK</i>	490534	0,43
8	8.740	<i>beta.-Myrcene</i>	1309277	1,16
9	9.008	<i>Butanoic acid,butyl ester</i>	80439	0,07
10	9.475	<i>l-Phellandrene</i>	97213	0,09
11	9.605	<i>DELTA.3-Carene</i>	754508	0,67
12	9.737	<i>Asetik acid,hexyl ester (CAS) 1-Hexyl acetate</i>	438486	0,39
13	9.969	<i>ALPHA.-TERPINOLENE</i>	75547	0,07
14	10.085	<i>Benzene,methyl(1-methylethyl)- (CAS) Cymol</i>	182959	0,16
15	10.325	<i>Cymene &lt;para-&gt;</i>	521572	0,46
16	10.557	<i>Cyclobutane,1,2-dicyclopropyl- (CAS)</i>	989230	0,87
17	10.620	<i>Phellandrene &lt;alpha-&gt;</i>	924263	0,82
18	10.718	<i>EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE)</i>	3001876	2,65
19	10.911	<i>cis-Ocimene</i>	9312350	8,22
20	11.417	<i>1,3,6-Octatriene,3,7-dimethyl-,(E)- (CAS) .BETA. OCIMENE Y</i>	3743213	3,30
21	11.996	<i>gamma.-Terpinene</i>	240877	0,21
22	12.689	<i>Sabinene hydrate &lt;cis-&gt;</i>	147077	0,13
23	13.436	<i>ALPHA.-TERPINOLENE</i>	149823	0,13
24	14.464	<i>LINALOOL L</i>	25475121	22,48
25	14.790	<i>1-octen-3-yl acetate</i>	892674	0,79
26	15.497	<i>3-Acetoxytridecane</i>	44536	0,04
27	15.928	<i>2,4,6-Octatriene,2,6-dimethyl-,(E,Z)-</i>	2599085	2,29
28	16.943	<i>Camphor</i>	514011	0,45
29	17.145	<i>Propanoic acid,2-methyl-,hexyl ester (CAS) n-Hexyl isobutyrate</i>	94643	0,08
30	18.571	<i>Isoborneol</i>	67669	0,06
31	19.115	<i>19.115 3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4-Terpineol</i>	4737524	4,18
32	19.434	<i>Cryptone</i>	307532	0,27
33	19.570	<i>Benzeneethanol,.alpha.,.alpha.-dimethyl-,acetate (CAS) DMBCA</i>	55447	0,05
34	19.936	<i>Butyrate &lt;hexyl-&gt;</i>	273255	0,24
35	20.041	<i>BETA. FENCHYL ALCOHOL</i>	1159287	1,02
36	22.079	<i>Isobornyl formate</i>	98075	0,09
31	22.964	<i>Propanal,2-methyl-3-phenyl-</i>	99603	0,09
38	23.852	<i>Linalyl acetate</i>	31986597	28,23
39	25.780	<i>Bornyl acetate</i>	427410	0,38
40	25.977	<i>Lavandulyl acetate</i>	6570413	5,80
41	30.785	<i>Neryl acetate</i>	541591	0,48
42	32.543	<i>Sesquithujene &lt;7-epi-&gt;</i>	142071	0,13
43	34.120	<i>Bergamotene &lt;alpha-trans-&gt;</i>	65654	0,06
44	34.373	<i>Caryophyllene</i>	6576898	5,80
45	35.380	<i>Bergamotene &lt;alpha-trans-&gt;</i>	243789	0,22
46	36.586	<i>alpha.-Humulene</i>	120905	0,11
47	36.789	<i>Farnesene &lt;(E)-,beta-&gt;</i>	4636263	4,09
48	38.222	<i>GERMACRENE-D</i>	386471	0,34
49	38.520	<i>beta.-Farnesene</i>	58997	0,05
50	40.249	<i>Cadinene &lt;gamma-&gt;</i>	419164	0,37
51	44.304	<i>(-)-Caryophyllene oxide</i>	278966	0,25
52	47.982	<i>Muurolol &lt;alpha-,epi-&gt;</i>	174423	0,15
			113320329	100,00



Şekil 3.1. Ölmez çiçek yağı bileşimi, (%)



Şekil 3.2. Adaçayı yağı bileşimi, (%)



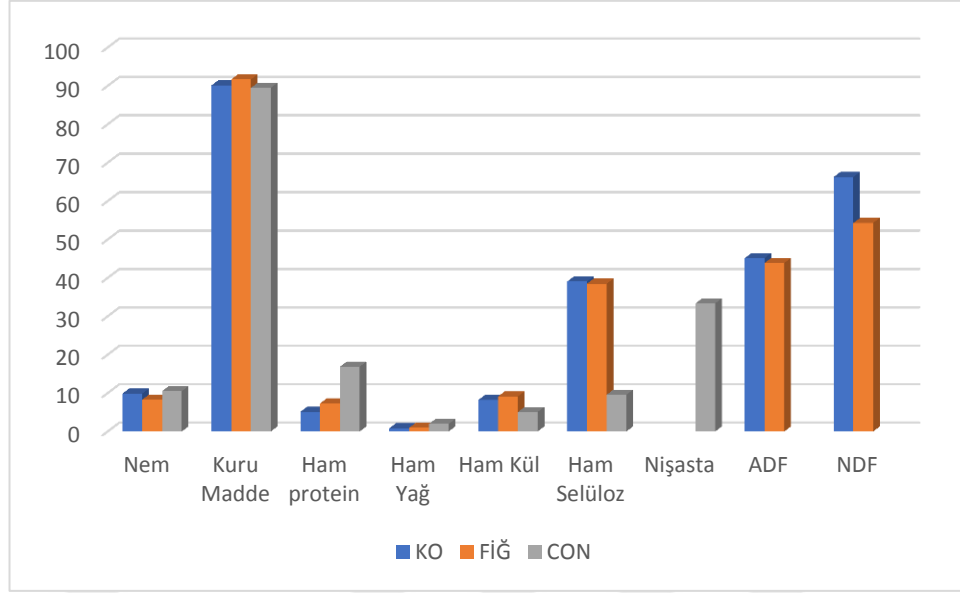
Şekil 3.3. Lavanta yağı bileşimi, (%)

### 3.2. Fistüllü İneklerin Tükettiği ve Şıngırlara da Konan Yemlerin Bileşimi

İnvitro test sisteminde şıngırlara yerleştirilen yem maddelerinin bileşimleri ve besin madde içerikleri Çizelge ve Şekil 3.4’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. Kullanılan yem maddeleri bileşimi ve besin madde içeriği

BUĞDAYGİL KURU OTU		FİĞ OTU		KONSANTRE YEM	
İsim	Değer, %	İsim	Değer, %	İsim	Değer, %
Nem	9,88	Nem	8,31	Nem	10,51
Kuru Madde	90,12	Kuru Madde	91,69	Kuru Madde	89,49
Ham protein	5,13	Ham Protein	7,33	Ham Protein	16,87
Ham Yağ	0,86	Ham Yağ	0,96	Ham Yağ	1,96
Ham Kül	8,21	Ham Kül	9,14	Ham Kül	5,06
Ham Selüloz	39,05	Ham Selüloz	38,47	Ham Selüloz	9,58
ADF	45,15	ADF	43,88	Nişasta	33,36
NDF	66,27	NDF	54,30		



Şekil 3.4. Kullanılan yem maddeleri bileşimi ve besin madde içeriği

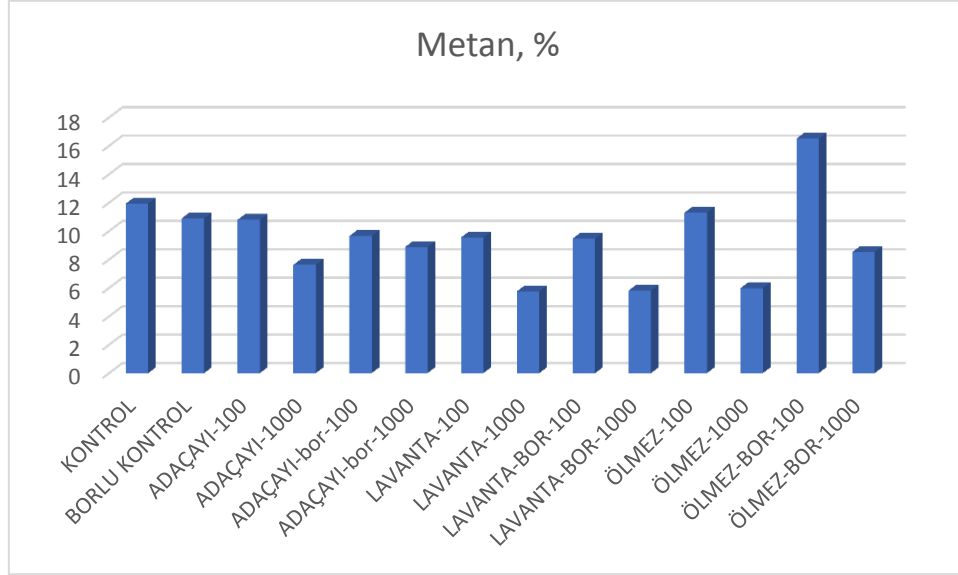
### 3.3. Metan Gazı Üretim Miktarı

Her gram yem maddesinin fermantasyonu için üretilen metan gazı miktarı, in-vitro gaz üretim metodu kullanılarak inkübasyonun 48. saatinde hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge ve Şekil 3.5’de gösterilmektedir.

**Çizelge 3.5.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının her gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu fermantasyonun 48. saatinde ortaya çıkan metan miktarına (ml) etkisi<sup>1</sup>

METAN %	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	11,94±0,27b
BORLU KONTROL	3	10,90±0,05bc
ADAÇAYI-100	3	10,85±0,54bc
ADAÇAYI-1000	3	7,63±1,24cd
ADAÇAYI-bor-100	3	9,65±0,93bcd
ADAÇAYI-bor-1000	3	8,88±1,03bcd
LAVANTA-100	3	9,55±2,53bcd
LAVANTA-1000	3	5,76±1,02d
LAVANTA-BOR-100	3	9,48±0,69bcd
LAVANTA-BOR-1000	3	5,82±0,72d
ÖLMEZ-100	3	11,30±1,70bc
ÖLMEZ-1000	3	5,98±1,15d
ÖLMEZ-BOR-100	3	16,58±1,78a
ÖLMEZ-BOR-1000	3	8,52±1,48bcd
P		0,000

a, b, c ve d; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.<sup>1</sup> İn-Vitro gaz üretim metodu kullanılarak 48.saatte her gram yem maddesinin fermentasyonu sonucu oluşan toplam net metan gazı ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hatası ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.5.** Farklı dozlardaki Adaçayı, Lavanta ve Ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının her bir gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu fermantasyonun 48. saatinde ortaya çıkan metan miktarına (ml) etkisi<sup>1</sup>

Gruplar arasında üretilen metan gazı miktarı yönünden anlamlı bir farklılık gözlemlenmiştir ( $p < 0,000$ ). En yüksek değer Ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupta, en düşük değer ise lavanta yağı 1000 ppm katkılı grupta gözlemlenmiştir. Yapılan ölçümlerde sadece Ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grup metan miktarını artırmıştır. Adaçayı yağı 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm, ölmez çiçeği yağı 1000 ppm ve lavanta yağı 1000 ppm + bor katkılı gruplar ise metan düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır. Bor katkılı kontrol grubu metan düzeyinde önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Aynı bitkinin aynı dozda sadece esansiyel yağ ve esansiyel yağ + bor katkılı grupları birbirleri arasında karşılaştırıldığında ise ölmez çiçeği yağı 100 ppm ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar hariç önemli bir farklılık görülmemiştir.

### 3.4. Rumen Sıvısında $\text{NH}_3\text{-N}$ Tayini

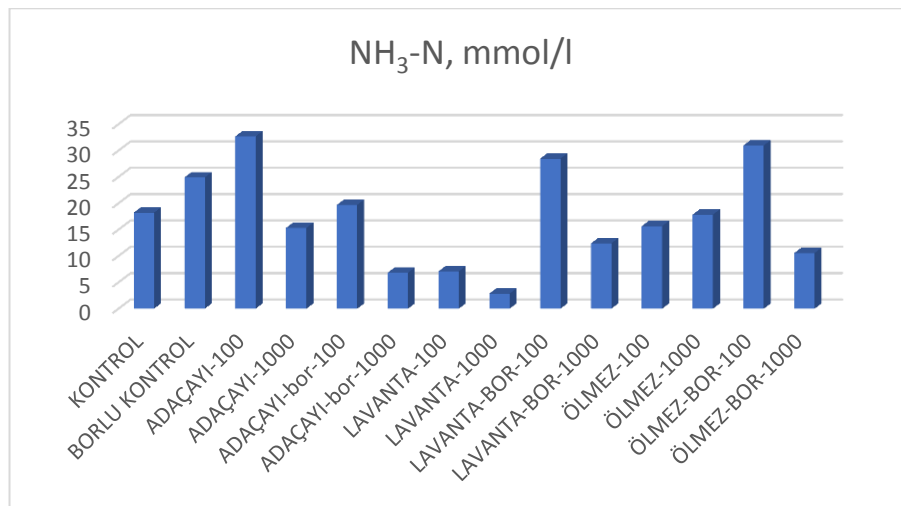
Yapılan araştırmada fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan amonyak azotu yoğunluğu değerleri Çizelge ve Şekil 3.6'da gösterilmektedir. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0,000$ ). Adaçayı yağı 100 ppm, lavanta yağı 100 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar amonyak miktarını önemli miktarda artırdığı gözlemlenmiştir. Adaçayı yağı 1000 ppm + bor, lavanta yağı 100 ppm, lavanta yağı 1000 ppm ve ölmez çiçeği yağı 1000 ppm + bor ilaveli grupların ise amonyak miktarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile borlu kontrol grubu arasında istatistiksel olarak bir fark gözlemlenmemiştir.

Adaçayı yağı 100 ve 1000 ppm içeren gruplara bor ilavesinin amonyak miktarlarını önemli düzeyde düşürdüğü, lavanta yağı 100 ve 1000 ppm içeren gruplara bor ilavesinin amonyak miktarlarını önemli düzeyde artırdığı gözlemlenmiştir. Ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupta bor içermeyen gruba kıyasla amonyak miktarının daha yüksek çıktığı, 1000 ppm + bor katkılı grupta ise bor katkısız gruba kıyasla önemli ölçüde daha düşük olduğu gözlemlenmektedir.

**Çizelge 3.6.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) yoğunluğuna (mmol/l) etkileri<sup>1</sup>

AMONYAK	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	18,22±2,52cd
BORLU KONTROL	3	24,92±0,75bc
ADAÇAYI-100	3	32,70±3,12a
ADAÇAYI-1000	3	15,34±2,67de
ADAÇAYI-bor-100	3	19,70±1,78cd
ADAÇAYI-bor-1000	3	6,84±2,58fg
LAVANTA-100	3	7,09±1,80fg
LAVANTA-1000	3	2,86±0,22g
LAVANTA-BOR-100	3	28,47±0,85ab
LAVANTA-BOR-1000	3	12,39±2,99def
ÖLMEZ-100	3	15,67±2,36de
ÖLMEZ-1000	3	17,86±2,10cd
ÖLMEZ-BOR-100	3	30,98±2,36ab
ÖLMEZ-BOR-1000	3	10,57±3,15ef
P		0,000

a, b, c, d, e, f ve g; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.<sup>1</sup> İn-Vitro gaz üretim metodu kullanılarak 48. saatte her gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu oluşan toplam amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hatası ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.6.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) yoğunluğuna (mmol/l) etkileri

### 3.5. Rumen Sıvısında pH Tayini

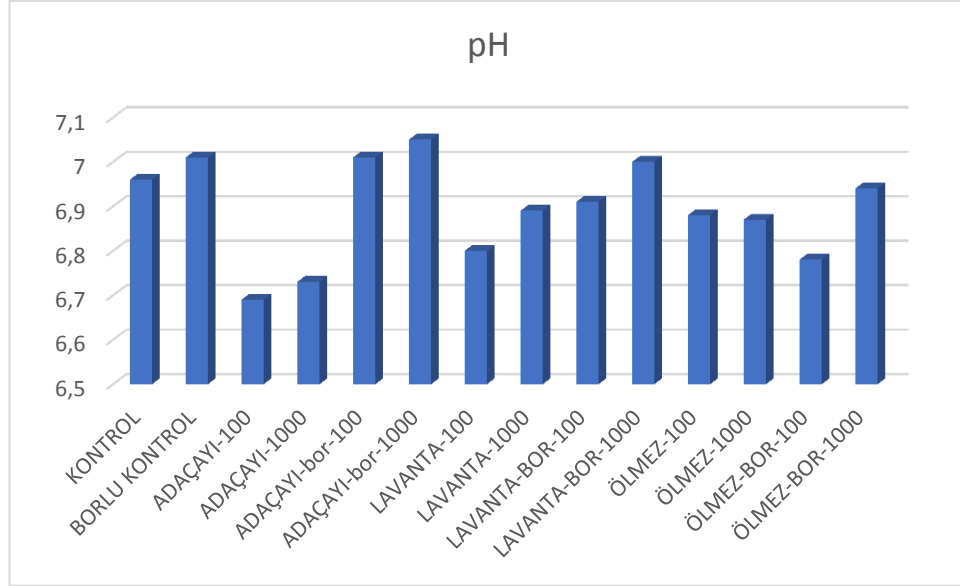
Fermantasyonun 48. saatinde ölçülen pH değerleri Çizelge ve Şekil 3.7’de gösterilmiştir. Elde edilen değerler arasında anlamlı bir farklılık saptanmıştır.

**Çizelge 3.7.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortam pH değeri üzerine etkisi<sup>1</sup>

pH	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	6,96±0,02abc
BORLU KONTROL	3	7,01±0,01ab
ADAÇAYI-100	3	6,69±0,02g
ADAÇAYI-1000	3	6,73±0,03fg
ADAÇAYI-bor-100	3	7,01±0,02ab
ADAÇAYI-bor-1000	3	7,05±0,00a
LAVANTA-100	3	6,80±0,02def
LAVANTA-1000	3	6,89±0,02c
LAVANTA-BOR-100	3	6,91±0,01c
LAVANTA-BOR-1000	3	7,00±0,00ab
ÖLMEZ-100	3	6,88±0,04cd
ÖLMEZ-1000	3	6,87±0,04cde
ÖLMEZ-BOR-100	3	6,78±0,03ef
ÖLMEZ-BOR-1000	3	6,94±0,06bc
P		0,000

a, b, c, d, e, f, ve g; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. <sup>1</sup>Değerler her bir grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamının pH değeri ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hatasını ( $S\bar{x}$ ) göstermektedir.

En yüksek pH değeri adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grupta, en düşük pH değeri de adaçayı yağı 100 ppm katkılı grupta bulunmuştur. Adaçayı yağı 100 ppm, adaçayı yağı 1000 ppm, lavanta yağı 100 ppm ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar pH değerini önemli ölçüde düşürmüştür. Bor katkılı kontrol grubu ile kontrol grubu arasında önemli bir farklılık görülmemiştir. Bor katkısının ise genel olarak pH değerlerinde bir artışa sebep olduğu gözlemlenmiştir.



**Şekil 3.7.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortam ph değeri üzerine etkisi

### 3.6. Yem Maddelerinin İn-vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi

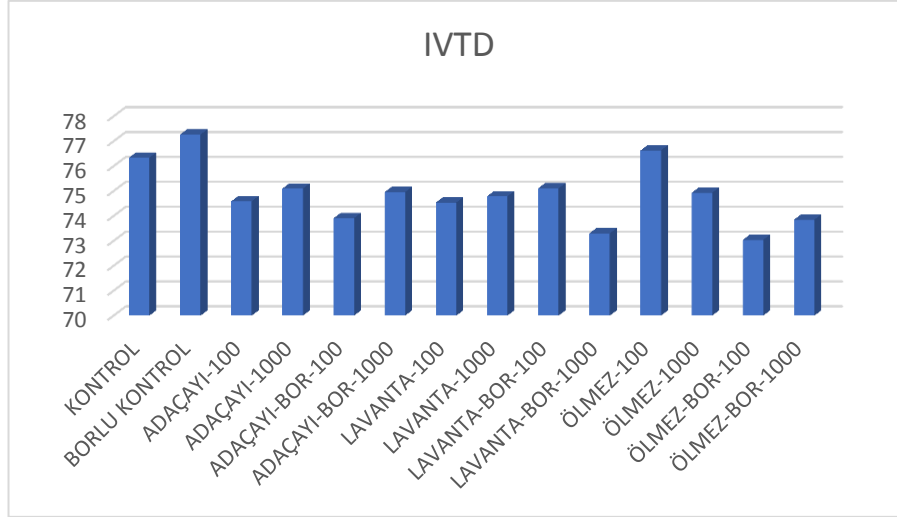
#### 3.6.1. İn-vitro Toplam Sindirilebilirlik

Yem maddelerinin in-vitro ortamda adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağları ve bor gibi farklı katkı maddelerinin ile birlikte inkübasyonu sonucu şekillenen in-vitro toplam sindirilebilirlik değerleri Çizelge ve Şekil 3.8'de gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=0,466$ ).

**Çizelge 3.8.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro toplam sindirilebilirlik (%) üzerine etkisi<sup>1</sup>

IVTD	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	76,34±2,84
BORLU KONTROL	3	77,27±2,18
ADAÇAYI-100	3	74,59±0,22
ADAÇAYI-1000	3	75,10±0,29
ADAÇAYI-BOR-100	3	73,91±0,36
ADAÇAYI-BOR-1000	3	74,96±0,22
LAVANTA-100	3	74,54±1,23
LAVANTA-1000	3	74,79±0,65
LAVANTA-BOR-100	3	75,11±1,30
LAVANTA-BOR-1000	3	73,30±1,04
ÖLMEZ-100	3	76,63±0,82
ÖLMEZ-1000	3	74,93±0,13
ÖLMEZ-BOR-100	3	73,04±1,12
ÖLMEZ-BOR-1000	3	73,85±0,71
P		0,466

Her grup için İn Vitro Toplam Sindirilebilirlik ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.8.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro toplam sindirilebilirlik (%) üzerine etkisi

Sayısal olarak en yüksek sindirilebilirlik borlu kontrol grubunda görülürken, en düşük sindirilebilirlik ise ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupta görülmüştür.

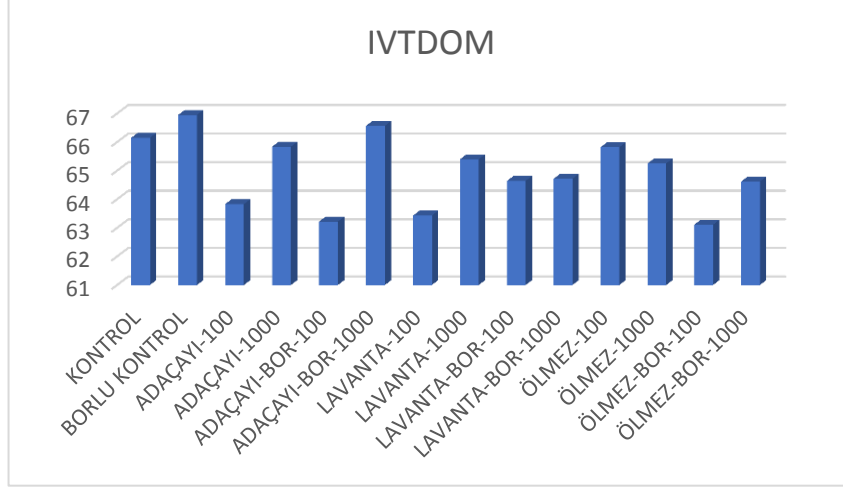
### 3.6.2. İn Vitro Organik Madde Sindirilebilirliği

Yem maddelerinin in-vitro ortamda adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağları ve bor gibi farklı katkı maddelerinin ile birlikte inkübasyonu sonucu şekillenen in-vitro organik madde sindirilebilirliği değerleri Çizelge ve Şekil 3.9'da gösterilmiştir.

**Çizelge 3.9.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro organik madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi<sup>1</sup>

IVTOMS, %	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	66,15±3,24
BORLU KONTROL	3	66,95±2,55
ADAÇAYI-100	3	63,83±0,08
ADAÇAYI-1000	3	65,84±0,30
ADAÇAYI-BOR-100	3	63,22±0,72
ADAÇAYI-BOR-1000	3	66,57±0,52
LAVANTA-100	3	63,43±1,29
LAVANTA-1000	3	65,40±0,76
LAVANTA-BOR-100	3	64,64±1,72
LAVANTA-BOR-1000	3	64,72±1,07
ÖLMEZ-100	3	65,82±1,10
ÖLMEZ-1000	3	65,25±0,30
ÖLMEZ-BOR-100	3	63,11±1,14
ÖLMEZ-BOR-1000	3	64,62±0,62
P		0,660

<sup>1</sup> Her grup için İn Vitro Organik Madde Sindirilebilirliği ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.9.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro organik madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p=0,660$ ). Sayısal olarak en yüksek organik madde sindirilebilirliği borlu kontrol grubunda gözlemlenirken, en düşük sindirilebilirlik ise ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupta gözlemlenmiştir.

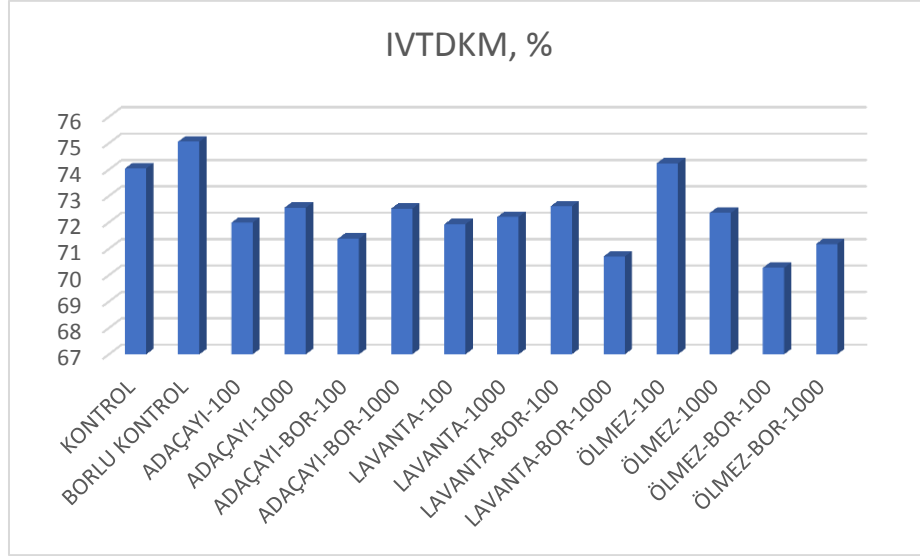
### 3.6.3. İn Vitro Kuru Madde Sindirilebilirliği

Yem maddelerinin in-vitro ortamda adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağları ve bor gibi farklı katkı maddelerinin ile birlikte inkübasyonu sonucu şekillenen in-vitro kuru madde sindirilebilirliği değerleri Çizelge ve Şekil 3.10'da gösterilmiştir.

**Çizelge 3.10.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro kuru madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi<sup>1</sup>

IVTDM, %	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	74,04±3,1
BORLU KONTROL	3	75,06±2,39
ADAÇAYI-100	3	71,99±0,24
ADAÇAYI-1000	3	72,56±0,32
ADAÇAYI-BOR-100	3	71,38±0,40
ADAÇAYI-BOR-1000	3	72,52±0,25
LAVANTA-100	3	71,93±1,36
LAVANTA-1000	3	72,21±0,72
LAVANTA-BOR-100	3	72,61±1,40
LAVANTA-BOR-1000	3	70,71±1,14
ÖLMEZ-100	3	74,24±0,90
ÖLMEZ-1000	3	72,36±0,14
ÖLMEZ-BOR-100	3	70,28±1,23
ÖLMEZ-BOR-1000	3	71,18±0,78
P		0,446

<sup>1</sup> Her grup için İn Vitro Kuru Madde Sindirilebilirliği ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.10.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro kuru madde sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi

Çalışma sonucunda elde edilen değerler arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $p=0,446$ ). Sayısal olarak en yüksek kuru madde sindirilebilirliği borlu kontrol grubunda, en düşük kuru madde sindirilebilirliği ise ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupta görülmüştür.

#### 3.6.4. İn Vitro NDF Sindirilebilirliği

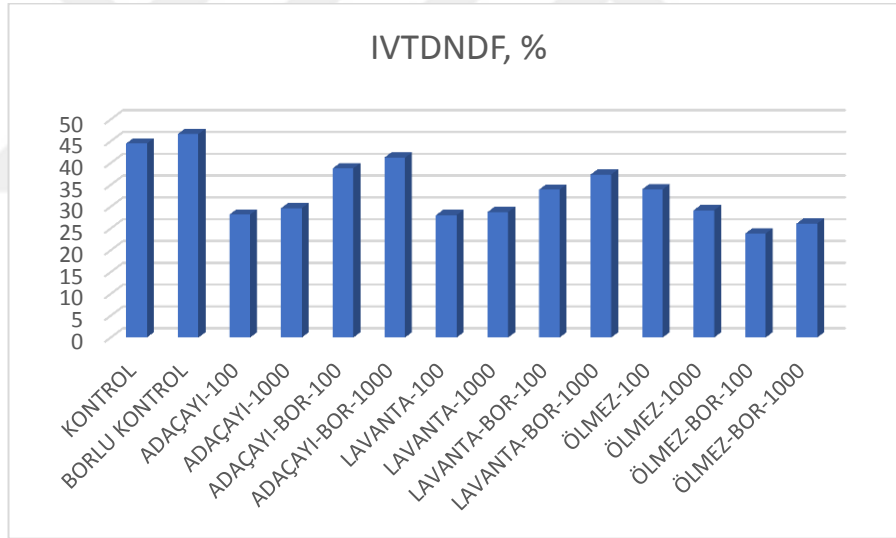
Yem maddelerinin in-vitro ortamda adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağları ve bor gibi farklı katkı maddelerinin ile birlikte inkübasyonu sonucu şekillenen in-vitro kuru madde sindirilebilirliği değerleri Çizelge ve Şekil 3.11.'de gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur ( $p<0,000$ ). Sayısal olarak en yüksek NDF sindirilebilirliği borlu kontrol grubunda, en düşük sindirilebilirlik ise Ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupta görülmüştür. Sadece esansiyel yağ katkılı bütün grupların NDF sindirilebilirliğini önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir.

Bor ve yağ katkılı gruplardan ise lavanta yağı 100 ppm + bor, ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 1000 ppm + bor katkılı gruplar NDF sindirilebilirliğini önemli ölçüde düşürmüştür. Bahsi geçmeyen diğer gruplar da kontrol grubuna kıyasla (Borlu kontrol grubu hariç) NDF sindirilebilirliğini sayısal olarak düşürmüş olsa da aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Aynı bitkinin aynı dozdaki sadece yağ ve yağ + bor katkılı grupları birbirleri arasında karşılaştırıldığında sadece ölmez çiçeği yağı 100 ppm ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar arasında önemli bir farklılık tespit edilmiştir.

**Çizelge 3.11.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro NDFsindirilebilirliği (%) üzerine etkisi<sup>1</sup>

IVTDNDF	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	44,48±6,67a
BORLU KONTROL	3	46,66±5,12a
ADAÇAYI-100	3	28,19±0,61def
ADAÇAYI-1000	3	29,66±0,83cdef
ADAÇAYI-BOR-100	3	38,79±0,84abc
ADAÇAYI-BOR-1000	3	41,24±0,53ab
LAVANTA-100	3	28,06±3,48def
LAVANTA-1000	3	28,77±1,85def
LAVANTA-BOR-100	3	33,92±3,41bcde
LAVANTA-BOR-1000	3	37,36±2,43abcd
ÖLMEZ-100	3	33,96±2,30bcde
ÖLMEZ-1000	3	29,16±0,36cdef
ÖLMEZ-BOR-100	3	23,82±3,15f
ÖLMEZ-BOR-1000	3	26,13±2,01ef
P		0,000

a, b, c, d, e, f ve g; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur<sup>1</sup> Her grup için in vitro NDF Sindirilebilirliği ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir



**Şekil 3.11.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının in vitro ndf sindirilebilirliği (%) üzerine etkisi<sup>1</sup>

### 3.7. Üretilen Gaz Miktarı

Çizelge ve Şekil 3.12, in-vitro gaz üretim tekniği kullanılarak inkubasyonun 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerinde her gram yem kuru maddesinin fermantasyonu sonucu üretilen toplam gaz miktarlarını göstermektedir.

Her saat ölçümü için gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık saptanmıştır ( $p<0,000$ ). Toplam gaz üretim miktarı değerlendirildiğinde sayısal olarak en yüksek değer kontrol grubunda, en düşük değer ise adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grupta görülmüştür. Deneme sonucunda adaçayı yağı 100 ppm, lavanta yağı 100 ppm + bor, ölmez çiçeği yağı 100 ppm ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar hariç diğer tüm gruplar 48. saatte üretilen toplam gaz miktarını önemli düzeyde düşürmüştür. Diğer saat ölçümlerinde de istatistiksel olarak benzerlik görülmüştür.

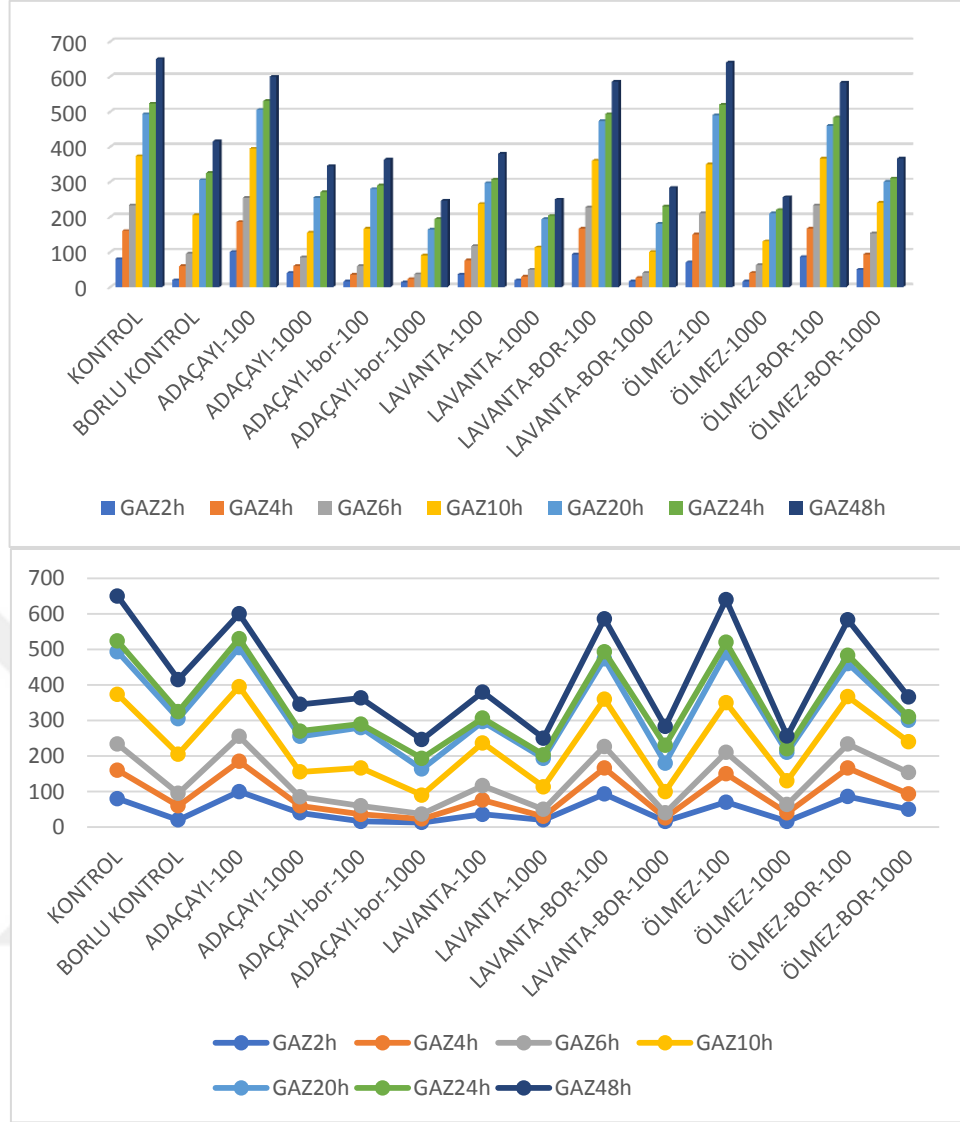
Bor katkılı kontrol grubu üretilen gaz miktarını önemli oranda azaltmıştır. Adaçayı yağı 100 ppm katkılı grup gaz miktarını önemli derece değiştirmemiş, adaçayı yağı 100 ppm + bor katkılı grup üretilen gaz miktarını önemli ölçüde düşürmüştür. Adaçayı yağı 1000 ppm ve adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grup arasında önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Lavanta yağı 100 ppm katkılı grup üretilen gaz miktarını önemli ölçüde düşürmüş, lavanta yağı 100 ppm + bor katkılı grup ise önemli bir azalmaya neden olmamıştır. Lavanta yağı 1000 ppm ve lavanta yağı 1000 ppm + bor katkılı gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ölmez çiçeğin her iki dozunda da borlu ve borsuz gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir.

**Çizelge 3.12.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerde her gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu ortaya çıkan toplam net gaz miktarına (ml) etkisi<sup>1</sup>

	n	GAZ2h	GAZ4h	GAZ6h	GAZ10h	GAZ20h	GAZ24h	GAZ48h
		$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	80,00±0,00ab	160,00±0,00a	233,33±6,67ab	373,33±17,64a	493,33±17,64a	523,33±17,64a	650,00±20,00a
BORLU KONTROL	3	20,00±0,00d	60,00±0,00c	95,00±2,89cd	205,00±2,89bc	305,00±2,89b	325,00±2,89b	415,00±2,89b
ADAÇAYI-100	3	100,00±0,00a	185,00±2,89a	255,00±8,66a	395,00±20,21a	505,00±37,53a	530,00±46,19a	600,00±51,96a
ADAÇAYI-1000	3	40,00±11,57cd	60,00±5,77c	85,00±14,43cd	155,00±8,66bcd	255,00±2,89bc	270,00±5,77b	345,00±25,98bc
ADAÇAYI-bor-100	3	16,67±3,33d	36,67±3,33c	60,00±5,77d	166,67±12,02bcd	280,00±5,77bc	290,00±5,77b	363,33±3,33bc
ADAÇAYI-bor-1000	3	13,33±3,33d	23,33±3,33c	36,67±6,67d	90,00±20,00d	163,33±17,64c	193,33±6,67b	246,67±13,33c
LAVANTA-100	3	36,67±3,33cd	76,67±3,33c	116,67±3,33cd	236,67±12,02b	296,67±31,80bc	306,67±31,80b	380,00±32,15bc
LAVANTA-1000	3	20,00±0,00d	30,00±0,00d	50,00±10,00d	113,33±18,56cd	193,33±18,56bc	203,33±18,56b	250,00±25,17c
LAVANTA-BOR-100	3	93,33±26,67a	166,67±43,72a	226,67±54,57ab	360,00±68,07ab	473,33±74,46a	493,33±74,46a	586,67±84,52a
LAVANTA-BOR-1000	3	16,67±3,33d	26,67±3,33c	40,00±5,77d	100,00±15,28cd	180,00±15,28bc	230,00±55,08b	283,33±38,44bc
ÖLMEZ-100	3	70,00±28,87abc	150,00±51,96ab	210,00±63,51ab	350,00±75,05ab	490,00±86,60a	520,00±92,38a	640,00±92,38a
ÖLMEZ-1000	3	16,67±3,33d	40,00±11,55c	63,33±14,53d	130,00±15,28bcd	210,00±25,17bc	220,00±25,17b	256,67±28,48c
ÖLMEZ-BOR-100	3	86,67±6,67ab	166,67±6,67a	233,33±6,67ab	366,67±6,67a	460,00±11,55a	483,33±8,82a	583,33±8,82a
ÖLMEZ-BOR-1000	3	50,00±20,82bcd	93,33±35,28bc	153,33±46,67bc	240,00±64,29b	300,00±75,72b	310,00±75,72b	366,67±89,88bc
P		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

a, b, c ve d; Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir. <sup>1</sup> Her grup için bir gram yem kuru maddesinin fermantasyonu sonucu 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerde açığa çıkan toplam net gaz miktarı (ml) ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.12.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerde her gram yem maddesinin fermantasyonu sonucu ortaya çıkan toplam net gaz miktarına (ml) etkisi

### 3.8. Rumen Sıvısı Uçucu Yağ Asidi Yoğunluğu

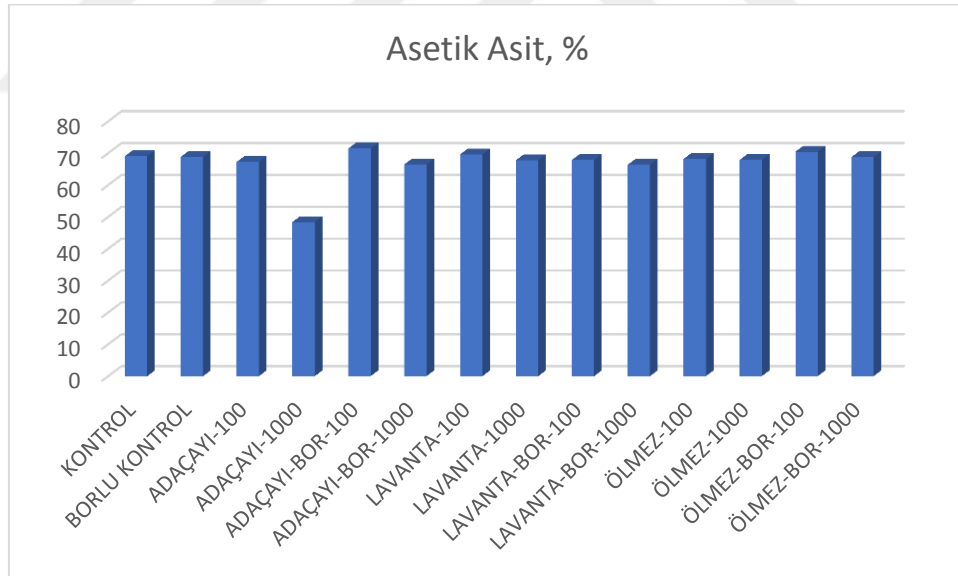
#### 3.8.1. Asetik Asit

Fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan toplam asetik asit miktarı Çizelge ve Şekil 3.13'de gösterilmektedir. Adaçayı yağı 1000 ppm katkılı grubun asetik asit miktarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenirken ( $p < 0,000$ ) diğer gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır.

**Çizelge 3.13.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının 48. Saatinde fermantasyon ortamında bulunan asetik asit miktarına etkileri <sup>1</sup>

Asetik Asit	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	69,07±0,61a
BORLU KONTROL	3	68,83±1,70a
ADAÇAYI-100	3	67,25±0,82a
ADAÇAYI-1000	3	48,41±6,55b
ADAÇAYI-BOR-100	3	71,48±1,60a
ADAÇAYI-BOR-1000	3	66,46±1,81a
LAVANTA-100	3	69,60±0,66a
LAVANTA-1000	3	67,79±1,59a
LAVANTA-BOR-100	3	67,86±0,82a
LAVANTA-BOR-1000	3	66,37±1,21a
ÖLMEZ-100	3	68,21±0,69a
ÖLMEZ-1000	3	67,85±0,30a
ÖLMEZ-BOR-100	3	70,47±1,25a
ÖLMEZ-BOR-1000	3	68,74±0,42a
P		0,000

a ve b; Farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir. Değerler her grupta fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan asetik asit yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hatasını ( $S\bar{x}$ ) göstermektedir.



**Şekil 3.13.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının 48. saatte fermantasyon ortamında bulunan asetik asit miktarına etkileri

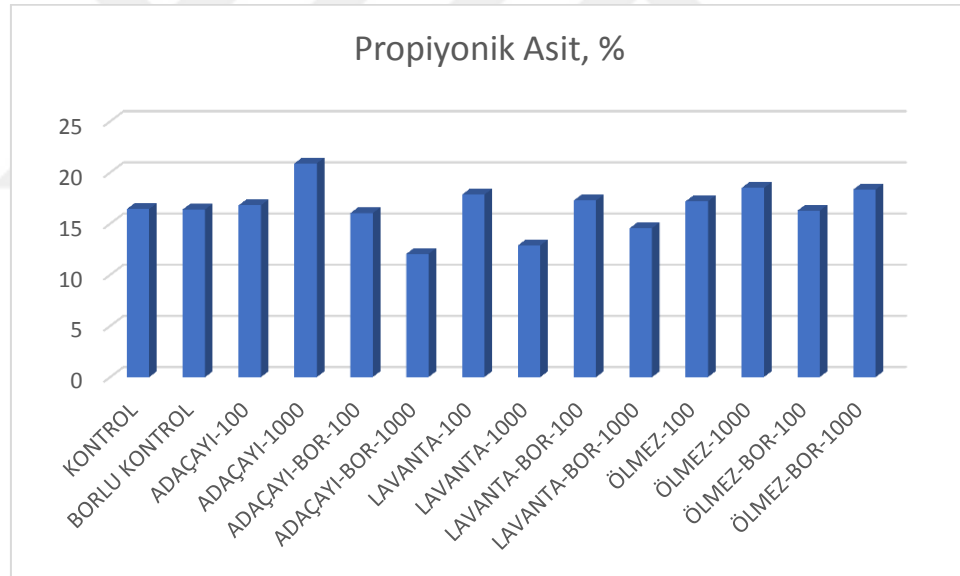
### 3.8.2. Propiyonik Asit

Fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam propiyonik asit miktarı Çizelge 3.14'de ve Şekil 3.14'de gösterilmektedir.

**Çizelge 3.14.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan propiyonik asit miktarına etkileri <sup>1</sup>

Propiyonik Asit	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	16,44±0,78bc
BORLU KONTROL	3	16,40±0,02bc
ADAÇAYI-100	3	16,80±1,01b
ADAÇAYI-1000	3	20,90±2,84a
ADAÇAYI-BOR-100	3	16,03±1,14bc
ADAÇAYI-BOR-1000	3	12,04±0,97d
LAVANTA-100	3	17,84±0,53ab
LAVANTA-1000	3	12,88±0,47cd
LAVANTA-BOR-100	3	17,27±1,73ab
LAVANTA-BOR-1000	3	14,56±0,58bcd
ÖLMEZ-100	3	17,19±1,26ab
ÖLMEZ-1000	3	18,49±1,23ab
ÖLMEZ-BOR-100	3	16,27±0,40bc
ÖLMEZ-BOR-1000	3	18,34±0,68ab
P		0,002

a, b, c ve d; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan propiyonik asit yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hatası ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.14.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan propiyonik asit miktarına etkileri

Adaçayı yağı 1000 ppm katkılı grubun propiyonik asit miktarını önemli ölçüde artırdığı, adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grubun ise propiyonik asit miktarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir ( $p < 0,002$ ).

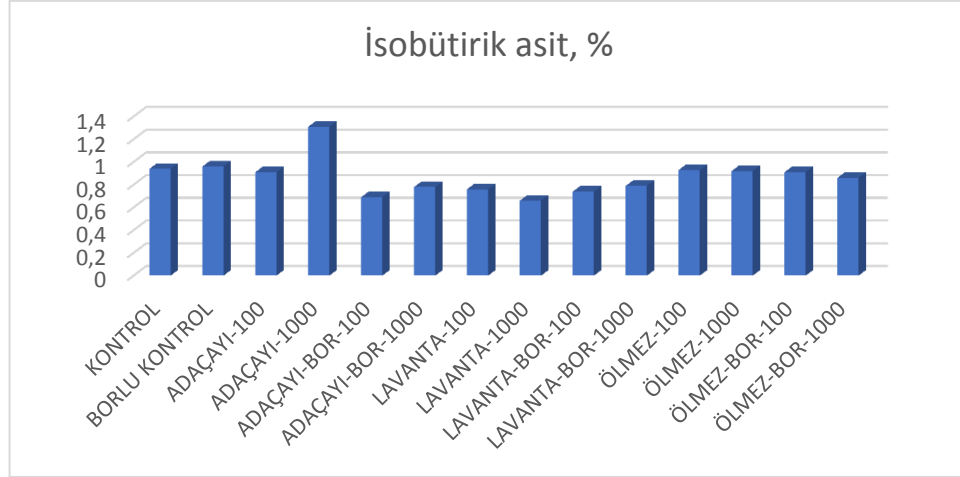
### 3.8.3. İsobütirik Asit

Fermantasyonun 48. Saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam isobütirik asit miktarı Çizelge 3.15’de ve Şekil 3.15’de gösterilmektedir. Adaçayı yağı 1000 ppm katkılı grubun isobütirik asit miktarını önemli ölçüde artırdığı gözlemlenirken ( $p<0.028$ ) diğer gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır.

**Çizelge 3.15.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan isobütirik asit miktarına etkileri <sup>1</sup>

İsobütirik Asit	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	0,94±0,14b
BORLU KONTROL	3	0,96±0,09b
ADAÇAYI-100	3	0,91±0,01b
ADAÇAYI-1000	3	1,31±0,17a
ADAÇAYI-BOR-100	3	0,69±0,08b
ADAÇAYI-BOR-1000	3	0,78±0,08b
LAVANTA-100	3	0,76±0,02b
LAVANTA-1000	3	0,66±0,11b
LAVANTA-BOR-100	3	0,74±0,12b
LAVANTA-BOR-1000	3	0,79±0,21b
ÖLMEZ-100	3	0,93±0,09b
ÖLMEZ-1000	3	0,92±0,03b
ÖLMEZ-BOR-100	3	0,91±0,07b
ÖLMEZ-BOR-1000	3	0,86±0,08b
P		0,028

a ve b; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan İsobütirik asit yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.15.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. Saatinde ortamda bulunan isobütirik asit miktarına etkileri

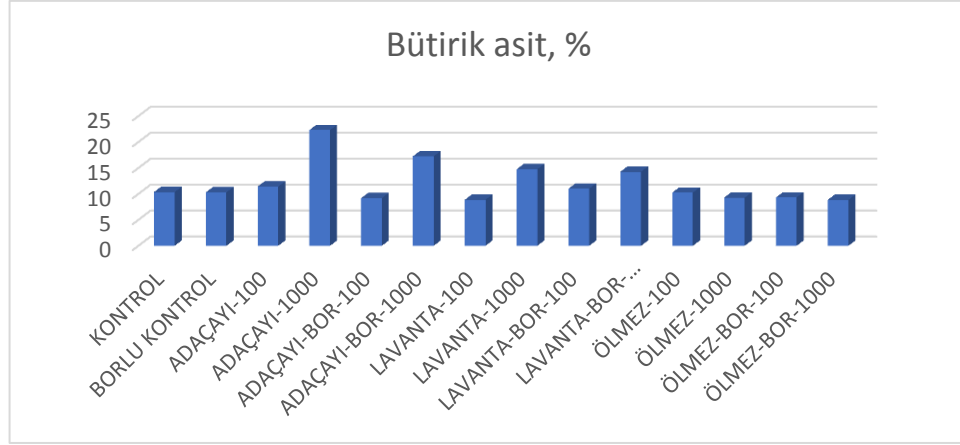
### 3.8.4. Bütirik Asit

Fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam Bütirik asit miktarı Çizelge 3.16’de ve Şekil 3.16’de gösterilmektedir. Adaçayı yağı 1000 ppm, adaçayı yağı 1000 ppm + bor ve lavanta yağı 1000 ppm katkılı grubun bütirik asit miktarını önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir ( $p < 0,000$ ).

**Çizelge 3.16.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan bütirik asit miktarına etkileri <sup>1</sup>

Bütirik Asit	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	10,35±0,64de
BORLU KONTROL	3	10,30±0,66de
ADAÇAYI-100	3	11,41±0,66cde
ADAÇAYI-1000	3	22,31±2,81 <b>a</b>
ADAÇAYI-BOR-100	3	9,19±0,50e
ADAÇAYI-BOR-1000	3	17,26±1,18 <b>b</b>
LAVANTA-100	3	8,87±0,10e
LAVANTA-1000	3	14,75±0,98 <b>bc</b>
LAVANTA-BOR-100	3	11,01±2,29cde
LAVANTA-BOR-1000	3	14,27±1,66 <b>bcd</b>
ÖLMEZ-100	3	10,25±1,29de
ÖLMEZ-1000	3	9,27±1,00e
ÖLMEZ-BOR-100	3	9,31±0,62e
ÖLMEZ-BOR-1000	3	8,85±0,71e
P		0,000

a, b, c, d ve e; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan bütirik asit yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.16.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan bütirik asit miktarına etkileri

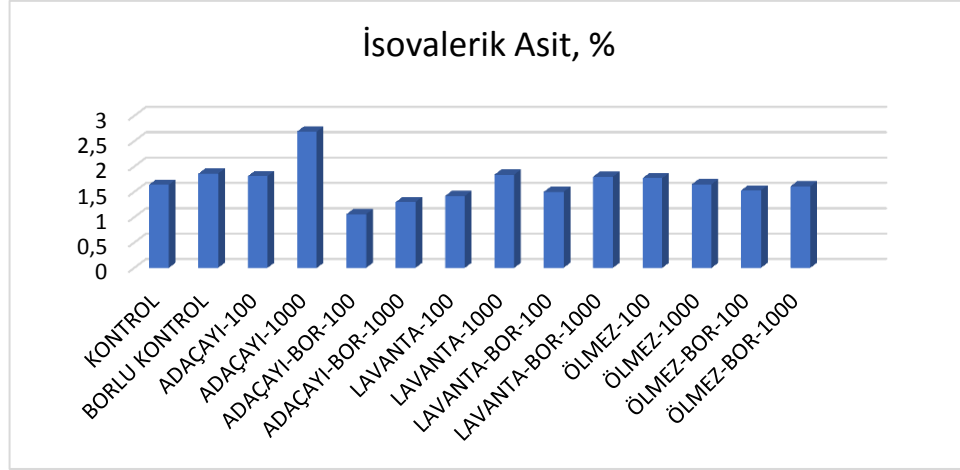
### 3.8.5. İsovalerik Asit

Fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam İsovalerik asit miktarı Çizelge 3.17’de ve Şekil 3.17’de gösterilmektedir. Adaçayı yağı 1000 ppm katkılı grubun İsovalerik asit miktarını önemli ölçüde artırdığı, adaçayı yağı 100 ppm + bor katkılı grubun ise isovalerik asit miktarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir ( $p < 0,000$ ). Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır.

**Çizelge 3.17.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan isovalerik asit miktarına etkileri<sup>1</sup>

İsovalerik Asit	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	1,64±0,13bc
BORLU KONTROL	3	1,86±0,392b
ADAÇAYI-100	3	1,81±0,07bc
ADAÇAYI-1000	3	2,69±0,22a
ADAÇAYI-BOR-100	3	1,06±0,12d
ADAÇAYI-BOR-1000	3	1,30±0,14cd
LAVANTA-100	3	1,42±0,03bcd
LAVANTA-1000	3	1,84±0,29b
LAVANTA-BOR-100	3	1,50±0,03bcd
LAVANTA-BOR-1000	3	1,80±0,16bc
ÖLMEZ-100	3	1,77±0,25bc
ÖLMEZ-1000	3	1,65±0,09bc
ÖLMEZ-BOR-100	3	1,53±0,12bcd
ÖLMEZ-BOR-1000	3	1,61±0,07bc
P		0,000

a, b, c ve d; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan İsovalerik asit yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.17.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan isovalerik asit miktarına etkileri

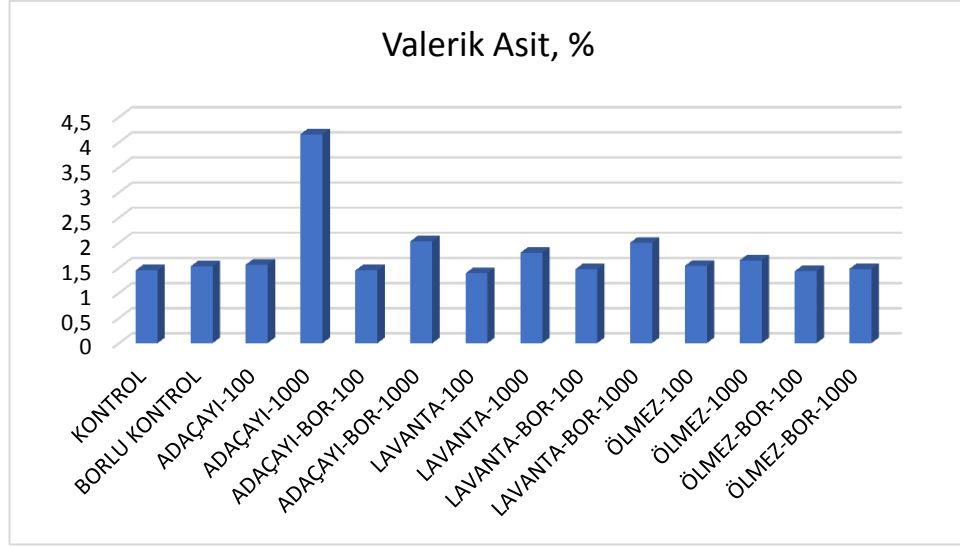
### 3.8.6. Valerik Asit

Fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam valerik asit miktarı Çizelge 3.18’de Şekil 3.18’de gösterilmektedir. Adaçayı yağı 1000 ppm katkı grubun valerik asit miktarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenirken ( $p < 0,028$ ) diğer gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır.

**Çizelge 3.18.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan valerik asit miktarına etkileri

Valerik Asit	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	1,45±0,10b
BORLU KONTROL	3	1,53±0,04b
ADAÇAYI-100	3	1,56±0,07b
ADAÇAYI-1000	3	4,16±0,49a
ADAÇAYI-BOR-100	3	1,45±0,14b
ADAÇAYI-BOR-1000	3	2,03±0,11b
LAVANTA-100	3	1,39±0,02b
LAVANTA-1000	3	1,80±0,37b
LAVANTA-BOR-100	3	1,47±0,27b
LAVANTA-BOR-1000	3	2,00±0,22b
ÖLMEZ-100	3	1,54±0,01b
ÖLMEZ-1000	3	1,65±0,08b
ÖLMEZ-BOR-100	3	1,43±0,09b
ÖLMEZ-BOR-1000	3	1,48±0,14b
P		0,000

a ve b; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan valerik asit yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.18.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan valerik asit miktarına etkileri

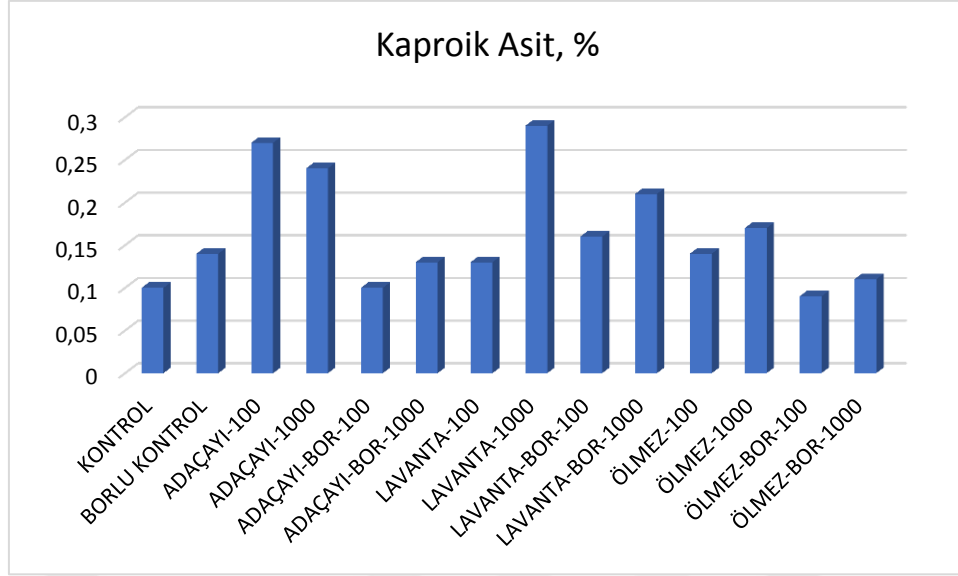
### 3.8.7. Kaproik Asit

Fermantasyonun 48. Saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam Kaproik asit miktarı Çizelge 3.19'de ve Şekil 3.19'de gösterilmektedir.

**Çizelge 3.19.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan kaproik asit miktarına etkileri <sup>1</sup>

Kaproik Asit	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	0,10±0,03d
BORLU KONTROL	3	0,14±0,03cd
ADAÇAYI-100	3	0,27±0,03ab
ADAÇAYI-1000	3	0,24±0,03abc
ADAÇAYI-BOR-100	3	0,10±0,04d
ADAÇAYI-BOR-1000	3	0,13±0,04cd
LAVANTA-100	3	0,13±0,01cd
LAVANTA-1000	3	0,29±0,06a
LAVANTA-BOR-100	3	0,16±0,04bcd
LAVANTA-BOR-1000	3	0,21±0,09abcd
ÖLMEZ-100	3	0,14±0,03cd
ÖLMEZ-1000	3	0,17±0,02abcd
ÖLMEZ-BOR-100	3	0,09±0,01d
ÖLMEZ-BOR-1000	3	0,11±0,02cd
P		0,012

a, b, c ve d; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan kaproik asit yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hatası ( $S\bar{x}$ ) değerleri göstermektedir.



**Şekil 3.19.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan kaproik asit miktarına etkileri

Adaçayı yağı 100 ppm, adaçayı yağı 1000 ppm ve lavanta yağı 1000 ppm katkılı gruplar kaproik asit miktarını önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir ( $p < 0,012$ ). Kontrol grubu ve diğer gruplar arasında önemli bir farklılık saptanmamıştır.

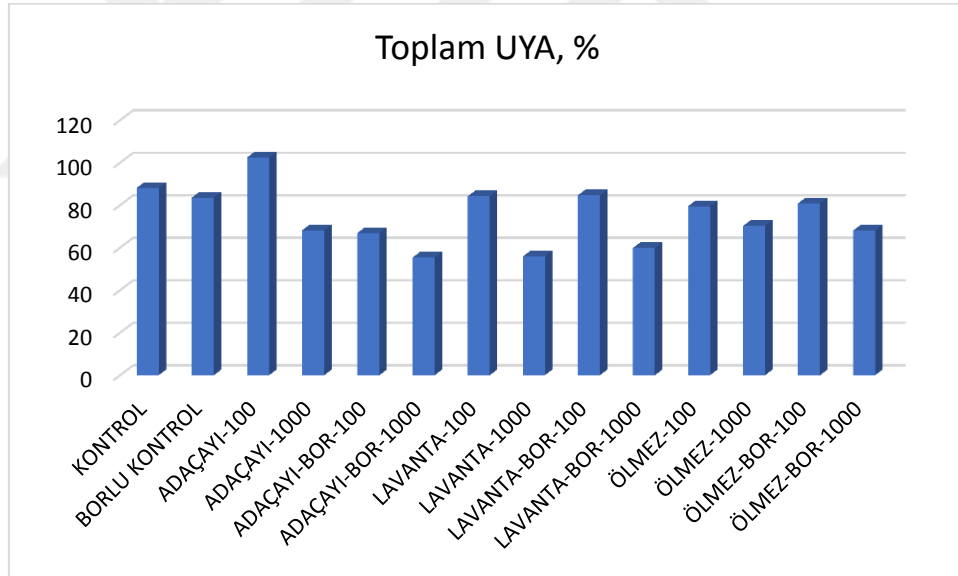
### 3.8.8. Toplam UYA

Fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam uçucu yağ asidi miktarı Çizelge 3.20’de ve Şekil 3.20’de gösterilmektedir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmektedir ( $p < 0,004$ ). Sayısal olarak en yüksek UYA miktarı adaçayı yağı 100 ppm katkılı grupta, en düşük değer ise adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grupta gözlemlenmiştir. Adaçayı yağı 1000 ppm + bor, lavanta yağı 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 1000 ppm + bor katkılı grupların toplam UYA miktarını önemli düzeyde düşürdüğü görülmüştür.

**Çizelge 3.20.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan toplam uçucu yağ asidi miktarına etkileri

Toplam UYA	n	$\bar{x} \pm S\bar{x}$
KONTROL	3	88,15±9,70ab
BORLU KONTROL	3	83,60±8,78abc
ADAÇAYI-100	3	102,46±0,06a
ADAÇAYI-1000	3	68,24±6,60bcd
ADAÇAYI-BOR-100	3	66,93±6,91bcd
ADAÇAYI-BOR-1000	3	55,40±6,64d
LAVANTA-100	3	84,21±6,88abc
LAVANTA-1000	3	55,89±2,08d
LAVANTA-BOR-100	3	84,68±5,90abc
LAVANTA-BOR-1000	3	59,89±3,67cd
ÖLMEZ-100	3	79,51±17,02abc
ÖLMEZ-1000	3	70,23±5,53bcd
ÖLMEZ-BOR-100	3	80,92±7,15abc
ÖLMEZ-BOR-1000	3	68,08±1,50cde
P		0,004

a, b, c, d ve e; Birbirinden farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Her grupta fermantasyonun 48. saatinde fermantasyon ortamında bulunan toplam uçucu yağ asidi yoğunluğu ortalaması ( $\bar{x}$ ) ve standart hata ( $S\bar{x}$ ) değerleri gösterilmektedir.



**Şekil 3.20.** Farklı dozlardaki adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği yağı ile bu yağların borik asit ile karışımlarının fermantasyonun 48. saatinde ortamda bulunan toplam UYA miktarına etkileri

## 4. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada esansiyel yağlar, ekstraktlar ve minerallerin küresel ısınmada önemli rol oynayan ruminant metan üretimine etkisi ele alınmıştır. İnsan beslenmesi yönünden önemli olan ruminant yetiştiriciliğini çevre bakımından olumsuz etkiye koyan sonuçların eliminasyonu çok önemlidir. Aynı zamanda hayvan beslenmede %2-15 düzeyinde net enerji kaybına yol açan bu metan üretimini ve çevreye salınan gazları azaltmak, yetiştiricinin yem tüketimi kayıplarını sınırlandırmak, ülke kaynaklarının heba olmasını önlemek açısından elde edilen sonuçlar değerlidir.

Çalışmada kullanılan Burdur, Karamanlı üretimi Ölmez (Altın otu) çiçeği bileşiminde ağırlıklı olarak %23,74 ile alfa pinen yer alırken Isparta Aksu yöresinden ana bileşenler trans-karyofillen (%24,33), Adana Feka bölgesinden trans-karyofillen (%24,57) olmuştur. Adaçayı yağı bileşiminde ağırlıklı olarak %21,91 ökaliptol (1,8-cineole), %20,22 alpha thujone, %13,27 karyofillen, %7,43 bicyclo, %6,08 kamfur yer almaktadır. Lavanta yağı bileşiminde ağırlıklı olarak %28,23 Linalil asetat, %22,48 Linalool, %8,22 cis-Osimen, %5,80 Lavandulil asetat, %5,80 karyofillen yer almaktadır. Toskana ürünlerinde ise ilk sırada 1,8-sineol olmuştur (Garzoli vd., 2021). El-Akhal vd. (2021) *L. angustifolia* subsp. uçucu yağlar arasında linalool, linalil asetat, geraniol, lavandulil asetat, kamfur,  $\beta$ -karyofillen, terpinen-4-ol,  $\beta$ - mirsen ve 1,8-sineol bulunurken, *L. dentata* spp. esas olarak 1,8-sineol, kafur,  $\alpha$ -pinene, trans--pinocarveol, linalool ve borneol bileşenlerini sıralamıştır. Elmas ve Elmas (2021) çalışmalarında belirttiği gibi bitkilerde esansiyel yağların ana bileşenleri yetiştirilen bölgeler bağlı olarak değişim gösterebilmektedir.

İn vitro fermentasyon sonucu ölmez çiçeği yağı (100 ppm) + bor ilaveli grup metan miktarını arttırmış, lavanta yağı (1000 ppm) katkısı ise metan gazı miktarını en düşük seviyeye indirmiştir ( $p < 0,000$ ) (Şekil 3.3). Adaçayı yağı 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm, ölmez çiçeği yağı 1000 ppm ve lavanta yağı 1000 ppm + bor katkısı da metan düzeylerini önemli ölçüde azaltmıştır. Metan gazı küresel ısınmaya neden olan en zararlı sera gazlardan biridir. Ruminantlarda enterik metan üretiminin azaltılması için hidrojen üretiminin azaltılması ve metanojenlerin inhibisyonu yolları denenmektedir. Esans yağların metan salınımını organik madde sindirimini azaltarak, mikroorganizmaların aktivite ve çoğalmalarını baskılayıp uçucu yağ asit miktarını azaltarak, metan üretimi için gerekli olan CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub> miktarını azaltarak sağladığı, bunun yanında antimikrobiyal özelliklerinden

dolayı metanojenik bakterilerin sayıca azalmasına neden olup üretilen metan miktarlarını baskıladığı ifade edilmiştir (Tana vd., 2011). Sunulan çalışmada metan gazında gerçekleşen düşüşün kullanılan katkıların antimikrobiyal etkilerinden dolayı metanojenik bakterileri baskılayıcı etkilerinden öne geldiği düşünülmektedir. Esans yağların üretilen metan gaz miktar ve yoğunluklarını azalttığı birçok in-vitro çalışmada gösterilmiştir (Benchaar ve Greathead, 2011; Busquet vd., 2005; Chaves vd., 2008; Evans ve Martin, 2000; Macheboeuf vd., 2008). Sunulan çalışmada benzer sonuçlar vermiştir. Kullanılan her 3 esansiyel yağın 1000 ppm dozlarının üretilen metan miktarını önemli derecede düşürdüğü gözlemlenmiştir. Yadeghari vd. (2015) tarafından yürütülen in vitro çalışmada lavanta esansiyel yağının 250, 500, 750 ve 1000 µl/l dozlarda rumen fermentasyonu ve metan üretime üzerine etkileri incelendi. Çalışma da elde edilen veriler sunulan bu çalışma ile benzer sonuçlar göstermiş olup, 250 ml doz hariç diğer bütün dozların 24 saatlik fermentasyon sonucunda metan üretimini ve toplam gaz üretimini önemli derecede düşürdüğü gözlemlenmiş ve artan dozların metan üretimini daha çok baskıladığı saptanmıştır.

Yapılan diğer bir invitro çalışmada (Yıldız ve Toygar, 2013), ruminal ortama 10 mg adaçayı tozu ilavesi ile metan konsantrasyonu artmış, adaçayı ekstraktının 100 µl/şırınga dozunda ilavesinde metan üretimi adaçayı tozuna göre önemli oranda düşmüştür ( $p<0,001$ ). Kontrol grubuna (yonca kuru otu/kaba yem) göre 200 ve 500 ul/şırınga dozunda adaçayı esans yağı ilavesi metan sentezini düşürmüştür ( $p<0,001$ ). Aynı şekilde Patra vd. (2006) zencefil, rezene, sarımsak, karanfil ve soğan esans yağlarının in-vitro fermentasyon sonucunda üretilen metan miktarlarını azalttığını saptamışlardır. Benzer sonuçlara manda rumen sıvısına Agarwal vd. (2008) tarafından yürütülen in vitro çalışmada nane esans yağı katkısı ile ulaşılmıştır. Çalışmada 3 farklı nane yağı dozu kullanılmıştır. Her doz üretilen metan miktarlarında azalmalara neden olsa da en düşük metan miktarları en yüksek dozun kullanıldığı grupta görülmüştür nane yağı katkılı grup azaltmıştır. Canbolat vd. (2011) rumen sıvısına 0, 400, 800 ve 1200 mg/l kekik, nane ve portakal esans yağlarının ilavesi durumunda, tüm yağ çeşitlerinin ve yağ dozlarının metan salınımını azalttığı tespit edilmiştir.

Bor mineralinin geniş getiren hayvanlardan kaynaklanan metan emisyonlarını azaltma potansiyeline sahip olduğu vurgulanmıştır (Yıldız vd, 2022). Yıldız vd. (2022) yaptıkları çalışmada, artan dozlarda bor ilavesinde (B1: 25 ppm borik asit, B2: 50 ppm borik asit, B3: 100 ppm borik asit, B4: 200 ppm borik asit, B5: 500 ppm borik asit) metan düzeyindeki azalmalar önemli bulunmuştur. Bor ilaveli gruplardan ise sadece lavanta yağı 1000 ppm + borik asidin kombinasyonunun üretilen metan miktarını önemli derecede

düşürdüğü, Ölmez çiçeği yağı 100ppm + bor katkılı grubun ürettiği metan miktarının ise kontrol grubuna kıyasla önemli derecede daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Çalışma yapılan diğer bütün gruplarda ise üretilen metan miktarı sayısal olarak azalmış olsa da kontrol grubu ile kıyaslandığında önemli bir farklılık görülmemiştir. Yapılan çalışmanın aksine Yıldız vd. (2022) tarafından yürütülen çalışmada borik asit katkısının metan üretimini baskıladığı gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada esansiyel yağların 1000 ppm dozda metan üretimini baskılamada etkili olduğu gözlemlenmiş, esansiyel yağ katkılı gruplara 100 ppm borik asit ilavesinin ise metan üretimini baskılamada ilave bir katkısı olmadığı gözlemlenmiştir. Evans ve Martin (2000) rumen sıvısına 400 µg ml<sup>-1</sup> düzeyinde timol ilavesi ile; Busquet vd. (2006) rumen sıvısına 3, 30, 300 ve 3000 mglt<sup>-1</sup> kekik yağı ilavesinin kekik yağı dozunun artışına bağlı olarak CH<sub>4</sub> gazı üretimini azalttığını saptamışlardır. Benchaar ve Greathead (2011) esansiyel yağların (nane, kekik, tarçın, timol, portakal yağı) metan üretimini, amonyak azotu miktarını ve toplam uçucu yağ asitlerini azalttığını bildirmişlerdir.

Rumende aşırı amonyak üretimi rasyon ile alınan proteinin verimsiz kullanılmasına ve dışkı ile fazla miktarda azot atılımına neden olur (Hailemariam vd., 2021). Rumen fermentasyonu sonucu üretilen amonyak azotu miktarının azaltılması protein metabolizmasının iyileştirerek ve azot atıklarının azaltılmasına sebep olarak, hayvan verimini artırıp, çevre kirliliğinin azaltılmasına neden olur. Sunulan çalışmada katkılardan bazılarının amonyak miktarlarında artışa, bazı katkıların ise kontrol grubuna kıyasla amonyak miktarlarında azalmalara neden olduğu gözlemlenmiştir. Adaçayı yağı 100 ppm, lavanta yağı 100 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupların amonyak miktarını önemli miktarda artırdığı gözlemlenmiştir. Adaçayı yağı 1000 ppm + bor, lavanta yağı 100 ppm, lavanta yağı 1000 ppm ve ölmez çiçeği yağı 1000 ppm + bor ilaveli grupların ise amonyak miktarını önemli ölçüde düşürdüğü gözlemlenmiştir (Çizelge 3.4). Sunulan çalışmada esansiyel yağların yüksek dozlarda eklendiği grupların amonyak üreten bakteriler üzerinde baskılayıcı etki yaratıp amonyak miktarlarını düşürdüğü gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmanın aksine Yadeghari vd. (2015) tarafından yürütülen çalışmada lavanta esansiyel yağının in vitro rumen fermentasyonu üzerindeki etkileri incelenmiş ve artan dozlarda lavanta yağı ilavesinin amonyak miktarlarında artışa neden olduğu saptanmıştır. Canbolat vd. (2011) tarafından yapılan deneyde ise kekik yağının 50, 100, 200, 400, 600 ve 800 mg/l ilavesinin in vitro rumen ortamında amonyak miktarlarında azalmalara neden olduğu gözlemlenmiştir. Merinos koç rasyonlarına artan dozlarda (0, 35, 52,5, 70mg) bor eklendiğinde (Sızmaç vd., 2017) rumen sıvısında amonyak konsantrasyonunun düştüğü

görülmüştür. Esans yağları ilavesinin amonyak miktarını azalttığı birkaç çalışmada bildirilmiştir. Benchaar ve Greathead (2011) ile Canbolat vd. (2011), esansiyel yağların (nane, kekik, tarçın, timol, portakal yağı) toplam uçucu yağ asitleri, amonyak azotu, metan üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Sharma vd. (2021), gebe manda diyetinde artan dozlarda (200 ila 400 ppm) B kullandıklarını ve doğum sonrası dönemde N kullanımı ve N dengesi üzerinde bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Kabu ve Civelek (2012), 12 gebe ineğe oral yoldan uygulanan sodyum boratın ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 30 g/gün) kan üre nitrojeni (BUN) düzeylerini etkilemediğini bildirmişlerdir.

Normal olarak 5,5-7 değerleri arasında değişkenlik gösteren rumen sıvısı pH değerlerinin bu aralıkta olması rumen ortamının sağlık ve dengesi açısından önem taşımaktadır (Kumar vd., 2013). Yapılan çalışma sonucunda en yüksek pH değeri adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı grupta, en düşük pH değeri de adaçayı yağı 100 ppm katkılı grupta bulunmuştur ( $p < 0,000$ ). Adaçayı 100 ppm, adaçayı 1000 ppm, lavanta yağı 100 ppm ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar pH değerini önemli ölçüde düşürmüştür. Kontrol grubu ile bor katkılı kontrol grubu arasında pH değerleri bakımından bir farklılık görülmemiştir (Çizelge 3.5). Bor katkısının ise genel olarak pH değerlerinde bir artışa sebep olduğu gözlemlenmiştir. Katkıların rumen ortamındaki uçucu yağ asitleri ve amonyak azotu miktarları üzerinde yaptığı değişiklikler pH değerlerindeki artış ve azalışlara etki etmektedir. pH değeri önemli derecede düşen gruplara bakıldığında adaçayı yağı 100 ppm katkılı grubun UYA değerlerinin sayısal olarak arttığı gözlemlenirken, diğer gruplarda UYA değerleri kontrol grubuna kıyasla daha düşük olmuştur. Diğer gruplarda ise amonyak miktarlarının kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu gözlemlenmektedir. Yapılan çalışmanın aksine Evans ve Martin (2000), Patra ve Yu (2012) ve Canbolat (2012) yürüttükleri çalışmada esansiyel yağ katkısının pH değerlerinde önemli miktarda artışa neden olduğu yönündedir. Castillejos vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada ise esansiyel yağların rumen pH değerleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Sızmaz vd. (2017), koçlarda yaptıkları çalışmada ise borik asit takviyesi (200, 300, 400 mg/kg) (0, 35, 52,5, 70 mg/kg bor) ile rumen mikrobiyal fermentasyon parametrelerinde artan doz ile pH düzeyindeki azalmanın önemsiz olduğunu bildirmişlerdir ( $p < 0,07$ ).

Yapılan araştırmada adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği esansiyel yağlarının 100 ppm ve 1000 ppm olmak üzere iki farklı dozda ve bu dozların borik asit ilavesi ile kombinasyonlarının in-vitro kuru madde, organik madde ve toplam sindirilebilirliği etkilemediği gözlemlenmiştir. Her 3 parametre için de benzer

sonuçların çıktığı gözlemlenmiştir. Borlu kontrol grubu sindirilebilirlikleri sayısal olarak artırırken diğer bütün grupların sindirilebilirlikleri sayısal olarak düşürdüğü gözlemlenmiştir. Fakat çalışma sonucunda elde edilen değerler arasında kuru madde, organik madde ve toplam sindirilebilirlik açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Yapılan araştırmanın aksine esansiyel yağların özellikle yüksek dozlarda uygulandığında sindirilebilirlik üzerinde baskılayıcı etkileri olduğu yürütülen birçok çalışmada gözlemlenmiştir (Brice vd, 2022; Metwally vd., 2016). Beyzi (2020) yürüttüğü çalışmada düşük doz lavanta esansiyel yağ katkısının in-vitro kuru madde sindirilebilirliğini etkilemediği, organik madde sindirilebilirliğini ise artırdığını gözlemiştir. Yüksek dozda lavanta yağı katkısının ise in-vitro kuru madde ve organik madde sindirilebilirliğini baskıladığını gözlemiştir. Yapılan çalışmanın aksine Yıldız vd. (2022) tarafından yürütülen in vitro çalışmada yemlere artan bor ilavesi organik madde sindirilebilirliğini olumlu yönde etkilediği gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmada in-vitro organik madde ( $p<0,660$ ) (Çizelge 3.7), kuru madde ( $p<0,446$ ) (Çizelge 3.8) ve toplam sindirilebilirliğin ( $p<0,466$ ) aksine NDF sindirilebilirliğin (Çizelge 3.9) önemli derece baskılandığı gözlemlenmiştir ( $p=0,000$ ). Sayısal olarak kontrol grubuna kıyasla sadece borlu kontrol grup daha yüksek NDF sindirilebilirliğine sahipken diğer tüm deneme gruplarında in-vitro NDF sindirilebilirliğinin sayısal olarak daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Akıncı ve Önenç (2021) tarafından yulaf silajı rasyonlarına eklenen 200 mg/kg, 300 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarında kimyon esansiyel yağlarından 300 mg/kg ve 500 mg/kg dozlarında eklenen kimyon esansiyel yağının NDF yıkımlanılabilirliğini yapılan çalışma ile benzer olarak önemli derecede baskıladığını gözlemiştir.

Yapılan çalışmada kullanılan katkıların kuru madde, organik madde ve toplam sindirilebilirlik üzerine olumsuz etkisi olmadığı fakat esansiyel yağların ve borik asidin antimikrobiyal etkilerinin NDF sindirilebilirliğini baskıladığı gözlemlenmiştir. NDF sindirilebilirliğinin baskılanması hayvan sağlığı ve verimliliği açısından olumsuz sonuçlar doğurabilir.

İnkübasyonun 2., 4., 6., 10., 20., 24. ve 48. saatlerinde yapılan gaz üretim ölçümlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğunu göstermiştir ( $p<0,000$ ). En yüksek değer kontrol grubunda, en düşük değer ise adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkılı gruptadır ( $p<0,000$ ) (Çizelge 3.10).

Adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği esansiyel yağlarının 100 ppm ve 1000 ppm olmak üzere iki farklı dozda ve bu dozların borik asit ilavesi ile kombinasyonlarının in-vitro fermentasyon sonucu üretilen gaz miktarlarını sayısal olarak düşürdüğü gözlemlenmiştir. Adaçayı yağı 100 ppm, lavanta yağı + bor 100 ppm, ölmez çiçeği yağı 100 ppm ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor hariç diğer bütün grupların 48. Saatte üretilen gaz miktarını önemli derecede azalttığı gözlemlenmiştir ( $p=0,000$ ). 1000 ppm (Yüksek doz) esansiyel yağ katkısının gaz üretimini daha çok baskıladığı gözlemlenmiştir. Bokharaeian vd. (2023) adaçayı, çam ve karanfil esansiyel yağlarının 300, 600 ve 900 mg/l dozlarda in vitro ortamda toplam gaz üretimi üzerine etkilerini incelemiştir ve sunulan çalışma ile benzer sonuçlara ulaşmıştır. Esans yağların dozları ile üretilen gaz miktarları arasında lineer bir ilişki görülmüştür, doz arttıkça üretilen gaz miktarları da azalmıştır. En düşük gaz oranları her 3 esansiyel yağ deneme grubunun da 900 mg/l dozlarında görülmüştür. Antimikrobiyal etkileri bilinen esansiyel yağların, rumen mikroorganizmaları üzerindeki inhibe edici etkisinin üretilen gaz miktarında azalmalara neden olmaktadır (Garcia vd., 2020). Kullanılan esansiyel yağın dozu arttıkça rumen mikroorganizmaları ve dolayısıyla fermentasyonu üzerinde olan baskılayıcı etki artmaktadır, bu da tarafımızca yürütülen çalışma da dahil yapılan birçok çalışmada yüksek doz eklenen grupların üretilen gaz miktarını neden daha çok baskıladığını açıklamaktadır. Adaçayı yağı 1000 ppm, adaçayı yağı 100 ppm + bor, adaçayı yağı 1000 ppm + bor, lavanta yağı 100ppm ve 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm + bor, ölmez çiçeği yağı 1000 ppm ve borlu katkısında 48. saatte üretilen toplam gaz miktarını önemli düzeyde düşmüştür ( $p<0,000$ ) (Çizelge 3.10). Esans yağlar gibi antimikrobiyal özellikleri olduğu bilinen borik asidin tek başına yeme ilave edildiği grupta 48. saatde oluşan toplam gaz miktarının kontrol grubuna kıyasla önemli derecede düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bor'un Adaçayı yağı ile kombinasyonunun gaz üretiminin baskılanması açısından olumlu bir etkisi olsada lavanta ve ölmez çiçeği esansiyel yağları ile karışımının önemli bir fark yaratmadığı, lavanta yağı 100 ppm + bor karışımının lavanta yağı 100 ppm ile kıyasında ise daha fazla gaz ürettiği gözlemlenmiştir. Borik asit katkısının in vitro ortamda ruminal fermentasyon sonucu oluşan toplam gaz miktarına etkisi ile ilgili karşılaştırma yapılacak benzer bir çalışma bulunmamakla beraber bor katkısının üretilen gaz miktarını baskılayabileceği, fakat esansiyel yağlar ile beraber sinerjetik veya antagonist etkileri üzerine ileri araştırmalar yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Yıldız ve Toygar (2013) adaçayı tozunun 2 farklı (10 mg ve 100 mg) dozunun 4-12. saatler arasında in vitro gaz üretimini artırdığını bildirmişlerdir. Gaz üretimi bakımından kontrol (yonca kuru otu) ile 10 mg adaçayı kuru otu arasında önemli bir farklılık görülmemiştir. Öğütülmüş adaçayı bitkisine (tozu) karşılık Tıbbi Adaçayı (*Salvia officinalis L.*) ekstraktı (esans yağı) ilavesi ile gaz üretimi düşmüştür, bu

düşüş doza bağlı orantılı olarak gerçekleşmiştir. Özellikle 500 ve 200 ppm dozun etkili olduğu değerlendirilmiştir.

Fermentasyonun 48. saatinde adaçayı yağı 1000 ppm katkısı asetik asit miktarını önemli ölçüde düşürmüştür ( $p<0,000$ ). Propiyonik asit, isobütirik asit, bütirik asit, isovalerik asit, valerik asit miktarlarını önemli ölçüde artırmıştır. Adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkısı ise propiyonik asit miktarını önemli ölçüde düşürmüştür ( $p<0,02$ ). Bütirik asit miktarını ise önemli derecede artırmıştır. Bütirik asit miktarı ayrıca lavanta yağı 1000 ppm katkılı grupta da önemli derecede artmıştır. Kaproik asit miktarını ise adaçayı yağı 100 ppm, adaçayı yağı 1000 ppm ve lavanta yağı 1000 ppm katkılı gruplar önemli derecede artırmıştır. Toplam uçucu yağ asidi miktarı (Çizelge 3.18) gruplar arasında oldukça farklı bulunmuştur ( $p<0,004$ ). UYA miktarı adaçayı yağı 100 ppm katkısı ile artmış, adaçayı yağı 1000 ppm + bor katkısı ile düşmüştür. Adaçayı yağı 1000 ppm + bor, lavanta yağı 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm + bor ve ölmez çiçeği yağı 1000 ppm + bor katkısı toplam uçucu yağ asidi miktarını önemli düzeyde düşürmüştür (Çizelge 3.18). Uçucu yağ asitleri ruminantlarda primer enerji kanyacı olarak kullanılır ve UYA miktarlarında gerçekleşen düşüşler hayvan verimi açısından olumsuz olarak değerlendirilebilir (Guo vd., 2020). Demirtaş vd. (2011) tarafından yürütülen çalışmada biberiye ve adaçayı ekstraktlarının toplam uçucu yağ asidi konsantrasyonlarında bir değişikliğe neden olmadığı fakat kontrol grubuna kıyasla asetik asit miktarlarını azaltarak asetik asit: propiyonik asit oranında düşüşe neden olduğu gözlemlenmiştir. 0, 400, 800 ve 1200 mg/l dozlarında, nane, kekik ve portokal esans yağlarının ilavesinin in vitro gaz üretimi, organik madde sindirilebilirliği ile rumen fermentasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine olan etkilerinin incelendiği çalışmada Canbolat vd. (2011) esansiyel yağ ilavesinin uçucu yağ asitleri, asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit ve AA/PA oranını önemli oranda düşürdüğünü saptamıştır. İn vitro rumen koşullarında artan dozlarda borik asit ilavesi bazı kısa zincirli yağ asitlerinin miktarını ve toplam kısa zincirli yağ asitlerini olumlu yönde etkilemiştir (Yıldız vd., 2022). Uçucu yağ asitleri (UYA) konsantrasyonu adaçayı esans yağı katkısı ile asetik asit ( $p<0,038$ ) ve 200 ve 500 ul/şırınga dozunda isobütirik asit konsantrasyonu ( $p<0,001$ ) önemli ölçüde azalmıştır. Bütirik asit ( $P<0,006$ ), isovalerik ve valerik asit konsantrasyonları ( $p<0,001$ ) adaçayı tozu ve ekstraktı ilavesi ile azalmış, propiyonik asit düzeyi ise değişmemiştir (Yıldız ve Toygar, 2013). Sızmaz vd. (2017), koçlarda yaptıkları çalışmada borik asit takviyesi (200, 300, 400 mg/kg) (0, 35, 52,5, 70 mg/kg bor) ile toplam uçucu yağ asitleri 200 ppm bor ilavesine göre 400 ppm ilave ile önemli düzeyde artmıştır ( $p<0,037$  ve  $p<0,020$ ). Yapılan bir başka in vitro

rumen çalışmasında (Yıldız vd., 2022) yemlere artan bor ilavesi bazı kısa zincirli yağ asitlerinin miktarını ve toplam kısa zincirli yağ asitlerini olumlu yönde etkilemiştir.

Metan üretimi ile ilişkilendirilen asetik asit miktarının 1000 ppm adaçayı yağı dozu ile azalmasının rumen fermentasyonunda iyileştirmelere neden olabileceği, ayrıca propiyonik asit miktarlarında artışa neden olarak A:P oranında azalmalara neden olup rumen ortamında, metan üretimi için uygun H<sub>2</sub> miktarlarını kısıtlayarak metan üretim miktarlarında azalmalara neden olabileceği sonucuna varılmıştır (Fouts vd, 2022; Roy vd., 2015).



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gerçekleştirilen araştırmada adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği esansiyel yağlarının 100 ppm ve 1000 ppm olmak üzere iki farklı dozda ve bu dozların borik asit ilavesi ile kombinasyonlarının in-vitro rumen ortamında mikrobiyal fermentasyon ve metan üretimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Adaçayı yağı 100 ppm, lavanta yağı + bor 100 ppm, ölmez yağı 100 ppm ve ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı gruplar hariç diğer bütün grupların 48. saatte üretilen toplam gaz miktarını önemli derecede azalttığı gözlemlenmiştir. Kullanılan katkıların birçoğu üretilen metan gazı miktarlarını düşürmüş olsada sadece lavanta yağı 1000 ppm, adaçayı yağı 1000 ppm, lavanta yağı 1000 ppm ve lavanta yağı 1000 ppm + bor katkılı grupların in vitro fermentasyon sonucunda üretilen metan gazı miktar ve yoğunluğunu önemli derecede düşürdüğü gözlemlenmiştir. Metan yoğunluğu en düşük olarak lavanta yağı 1000 ppm katkılı grupta ölçülmüştür. Lavanta yağı 1000 ppm + bor katkılı grupta ise kontrol grubuna kıyasla üretilen metan gazı yoğunluğu sadece ölmez çiçeği yağı 100 ppm + bor katkılı grupta daha yüksek çıkmıştır. Kullanılan esansiyel yağların 100 ppm dozda metan üretimini baskılamada etkili olmazken, 1000 ppm dozda üretilen metan üretimini baskılamada etkili olduğu, borik asidin ise metan üretimini baskılamada etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Lavanta yağı 1000 ppm + bor katkılı grupta gerçekleşen metan miktarındaki düşüşün borik asitten ziyade lavanta esansiyel yağından olduğu sonucuna varılmıştır.

Metan üretimini baskılaması için kullanılan katkının aynı zamanda rumen fermentasyonu üzerinde olumsuz etkileri olmaması beklenmektedir. Adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği esansiyel yağlarının 1000 ppm dozlarının katkılı grupların metan gazı üretimini baskılamada etkili olduğu gözlemlenmiştir. Her 3 katkı da organik madde, kuru madde ve toplam sindirilebilirliği olumlu ya da olumsuz olarak etkilemese de NDF sindirilebilirliğini önemli derecede baskılamıştır. Her 3 grupta amonyak azotu miktarlarını sayısal olarak düşürsede sadece lavanta yağı 1000 ppm grubu önemli derecede düşürmüştür. Her 3 yağın da 1000 ppm dozu pH miktarında önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Her 3 grupta da toplam uçucu yağ asidi miktarlarını sayısal olarak düşürmüştür, en önemli düşüş miktarı lavanta yağı 1000 ppm doz eklenen grupta olduğu gözlemlenmiştir. Uçucu yağ asit konsantrasyonlarını sadece Adaçayı yağı 1000 ppm doz katkılı grup istenilen şekilde değiştirmiştir. Adaçayı yağı 1000 ppm katkılı grupta asetik asit miktarı önemli derecede düşmüş ve propiyonik asit miktarı önemli derecede artmıştır.

Sonuç olarak adaçayı, lavanta ve ölmez çiçeği esansiyel yağlarının 1000 ppm dozda katkılarının in vitro rumen fermentasyonunda ciddi olumsuz etkilere yol açmadan metan üretimini baskılayabileceği, ayrıca rumen ortamında bulunan amonyak azotu miktarlarını da düşürerek rasyon ile alınan proteinlerin daha verimli kullanılmasına yardımcı olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca adaçayı yağı 1000 ppm dozunun esansiyel yağ konsantrasyonlarında istenilen oranda değiştirerek enerji metabolizmasına da olumlu etkileri olabileceği saptanmıştır. Konu ile ilgili yapılan birçok araştırma sunulan deney gibi in vitro ortamlarda yapılmış olup in vivo ortamda konu ile ilgili çok araştırma bulunmamaktadır. Konu ile ilgili ileri in vitro ve in vivo çalışmalar yapıp esansiyel yağların rumen fermentasyonu ve metan üretimi üzerindeki uzun süreli etkileri araştırılabilir. Borik asidin esansiyel yağlar ile sinerjetik ve antagonist etkileri olduğu görülmüştür. Yapılan bazı diğer araştırmalarda borik asidin metan üretimini baskılamada etkili olduğu saptansada deneyde kullanılan dozda metan üretimi üzerinde net bir etkisi görülmemiştir. İleri araştırmalar ile esansiyel yağlar gibi antimikrobiyal özellikleri olduğu bilinen borik asidin metan üretimini baskılayacak optimal dozu araştırılabilir.

## KAYNAKLAR

- Abdelnour, S.A., Abd El-Hack, M.E., Swelum, A.A., Perillo, A. & Losacco, C. (2018). The vital roles of boron in animal health and production: A comprehensive review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50,296-304.
- Adiyaman, E. ve Ayhan, V. (2010). Etlik piliçlerin beslenmesinde aromatik bitkilerin kullanımı. *Derleme. Hayvansal Üretim*, 51(1),57-63.
- Agarwal, N., Shekhar, C., Kumar, R., Chaudhary, L.C. & Karma, D.N. (2009). Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Feed Science Technology*, 148,321–327
- Akinci, Y. and Soycan Önenç, S. (2021). The effect of cumin essential oil on the fermentation quality, aerobic stability, and in vitro digestibility of vetch-oat silages. *Journal of Agriculture Faculty of Ege University*, 58(2),217-228. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.694965>
- Alessandra, R, Carmen, F., Daniela, R., Felice, S., Sebastiano, D., Venera, C., Sergio, R. & Maurizio, B. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 55,42-47. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.12.036>.
- AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th Ed., AOAC International, Maryland, USA.
- Azizabadi, H., Mesgaranm, D., Vakili, A.R., Rezayazdi, K. & Hashemi, M. (2011). Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using in vitro batch culture. *African Journal of Microbiology*, 5(27),4812-4819.
- Barth, S. (1998). Application of boron isotopes for tracing sources of anthropogenic contamination in ground water. *Water Res*, 32,685–690.
- Beetham, J. and Entwistle, T. (1982). The cultivated lavenders. Royal Botanic Gardens, Melbourne.
- Benchaar, C. and Greathead, H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Animal. Feed Science Technology*., 166– 167, 338– 355.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., Mcallister, T.A. & Beauchemin, K.A. (2007). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*,145(1),209-228
- Benchaar, C., McAllister, T.A. & Chouinard, T.A., (2008). Digestion, Ruminal Fermentation, Ciliate Protozoal Populations, and Milk Production from Dairy Cows Fed Cinnamaldehyde, Quebracho Condensed Tannin, or Yucca schidigera Saponin Extracts. *Journal of Dairy Science*, 91(12),4765-4777.
- Beyaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: Antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 12(3),45-53
- Bokharaeian, M., Ghoorchi, T., Toghdory, A. & Esfahani, I.J. (2023). The dose-dependent role of sage, clove, and pine essential oils in modulating ruminal fermentation and biohydrogenation of polyunsaturated fatty acids: a promising strategy to reduce methane emissions and enhance the nutritional profile of ruminant products. *Applied Science*, 13,11605.

- Borchers, R. (1965). Proteolytic activity of rumen fluid *in vitro*, *Journal of Animal Science*, 24(4),1033-1038. <https://doi.org/10.2527/jas1965.2441033x>
- Borokhov, O. and Schubert, D. (2007). Antimicrobial properties of boron derivatives. *New Biocides Development*, 967(20),412-435.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I. & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L.) essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55,7879–7885.
- Brice, R.M., Dele, P.A., Ike, K.A., Shaw, Y.A., Olagunju, L.K., Orimaye, O.E., Subedi, K. & Anele, U.Y. (2022). Effects of essential oil blends on *in vitro* apparent and truly degradable dry matter, efficiency of microbial production, total short-chain fatty acids and greenhouse gas emissions of two dairy cow diets. *Animals (Basel)*, 25;12(17):2185.
- Briozzo, J., Nunez, L., Chirife, J., Herszage, L. & D'aquino, M. (1989). Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *Journal of Applied Bacteriology*, 66,69-75.
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food a review. *International Journal of Food Microbiology*, 1;94(3),223-53.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M.D. & Kamel, C. (2005). Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 88,4393-4404.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M.D. & Kamel, C. (2006). Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 89,761–771.
- Büyükkiliç Beyzi, S., (2020). Effect of replacement of sunflower seed meal with isonitrogenous *Polistes instabilis* on *in vitro* methanogenesis and rumen fermentation. *Journal Of Insects as Food and Feed*, 6(5),489-498.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L. & Ferret, A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation, *Journal of Dairy Science*, 90(6),2580-2595.
- Calsamiglia, S., Castillejos, L. & Busquet, M. (2006). Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. Recent advances in animal nutrition. P. C. Garnsworthy, and J Wiseman, ed. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 129–167
- Canbolat, Ö. (2012). Bazı esansiyel yağların *in vitro* sindirim, rumen fermantasyonu ve metan gazı üretimi üzerine etkileri. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 2(1),91-98.
- Canbolat, Ö., Kalkan, H., Karaman, Ş. & Filya, İ. (2011). Esansiyel yağların sindirim, rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(4),557-565.
- Canbolat, Ö., Karaman, Ş. & Filya, İ. (2010). Farklı kekik yağı dozlarının mısır silajının sindirimi ve rumen fermantasyonu üzerine etkileri *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(6),933-939.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. & Losa, R. (2007). Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 132,186-201.
- Chao, S.C. and Young, D.G. (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12,639–649.

- Chaves, A.V., He, M.L., Yang, W.Z., Hristov, A.N., Mcallister, T.A. & Benchaar, C. (2008). Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. *Canadian Journal of Animal Science*, 88,117-122.
- Choudhury, P.K., Salem, A.Z.M., Jena, R., Kumar, S., Singh, R. & Puniya, A.K. (2015). Rumen microbiology: An overview. *Rumen microbiology: from evolution to revolution*, 3-16.
- Çimrin, T. (2018). Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin kanatlılarda yaygın görülen patojen bakteriler üzerine etkileri. Hatay mustafa kemal üniversitesi ziraat fakültesi zootekni bölümü. *Hatay Adyütayam*, 6(1),19-28.
- Coban, F.K., Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H.H. & Hazman, O. (2015). Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats. *Drug Chemistry and Toxicology*, 38(4),391-9.
- Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., Marcotullio, M.C. & Yu, Z. (2016). Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 215,25-36.
- Coşkuntuna, L., Lackner, M., Erten, K., Gül, S., Palangi, V., Koç, F. & Esen, S. (2023). Greenhouse gas emission reduction potential of lavender meal and essential oil for dairy cows. *Fermentation*, 9(3),253
- Cushine, T.P.T. and Lamb, E.J. (2005). Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *Journal of Ethnopharmacology*, 101,243–248.
- Czinner, E., Hagymasi, K., Blazovics, A., Kery, A. & Szoke, E. (2000). In Vitro antioxidant properties of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench.J. *Ethnopharmacol*, 73,437–443.
- De Seta, F., Schmidt, M., Vu, B., Essmann, M. & Larsen, B. (2009). Antifungal mechanisms supporting boric acid therapy of *Candida vaginitis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63,325–336.
- Deans, S.G. and Ritchie, G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5,165–180.
- Dehority, B.A. (2003). *Rumen Microbiology*. Nottingham: Nottingham University Press
- Demirtaş, A., Öztürk, H., Pişkin, İ., Demirkıran, D., Salgırlı, Y., Fidancı, U.R. & Emre, B. (2011). Biberiye ve adaçayı ekstraktlarının ruminal fermantasyon üzerine etkilerinin rumen simülasyon tekniği (rusitec) ile araştırılması. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 37(2),127-134.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S. ,Bahloul, N. & Mnif, W.(2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: *A Critical Review*, 3(4),25.
- Dijkstra, J. (1994). Production and absorption of volatile fatty acids in the rumen. *Livestock Production Science*, 39,61-69
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88,308–316.
- El-Akhal, F., Ramzi, A., Farah, A., Ez Zoubi, Y., Benboubker, M., Taghzouti, K. & El Ouali Lalami, A. (2021). Chemical composition and larvicidal activity of *Lavandula angustifolia* Subsp. *angustifolia* and *Lavandula dentata* Spp. *dentata* essential oils against *Culex pipiens* Larvae,

vector of west nile virus. *Psyche: A Journal of Entomology*, 1-7.  
<https://doi.org/10.1155/2021/8872139>

- Elmas, S. ve Elmas, O. (2021). *Salvia fruticosa*'nın (Anadolu Adaçayı) Terapötik Etkileri. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 4(1),114-137.
- Evans, J.D. and Martin, S.A. (2000). Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Current Microbiology*, 41,336-340.
- Evren, M. ve Tekgüler, B. (2011). Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(3),28-34.
- Fouts, J.Q., Honan, M.C., Roque, B.M., Tricarico, J.M. & Kebreab, E. (2022). Enteric methane mitigation interventions. *Translational Animal Science*, 6(2).
- France, J. and Siddons, R.C. (1993). Volatile fatty acid production. In: Forbes, J. M., France, J. (Eds.), quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CAB International, Cambridge, UK.
- Garcia, F., Colombatto, D., Brunetti, M.A., Martínez, M.J., Moreno, M.V., Scorcione Turcato, M., Lucini, E., Frossasco, G. & Martínez Ferrer, J. (2020). The reduction of methane production in the in vitro ruminal fermentation of different substrates is linked with the chemical composition of the essential oil. *Animals*, 10,786.
- Garzoli, S., Laghezza, M.V., Franceschi, S., Tiezzi, A., Giacomello, P. & Ovidi, E. (2021). Headspace/GC-MS analysis and investigation of antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of essential oils and hydrolates from *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Miller. *Foods*, 10(8),1768
- Giannenas, I., Florou-Paneri, P., Papazahariadou, M., Christaki, E., Botsoglou, N.A. & Spais, A.B. (2003). Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *eimeria tenella*. *Tierernähr*, 57,99-106
- Grace, J.K., Yamamoto, R.T., Tamashiro, M. & Forest, N. (1992). Preservative properties of vapor-boron-treated wood and wood-based composites. *Wood and Fiber Science*, 42(1),61-65.
- Guo, G., Shen, C., Liu, Q., Zhang, S.L., Shao, T., Wang, C., Wang, Y.X., Xu, Q. F. & Huo, W.J. (2020). The effect of lactic acid bacteria inoculums on in vitro rumen fermentation, methane production, ruminal cellulolytic bacteria populations and cellulase activities of corn stover silage. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(5),838-847.
- Hailemariam, S., Zhao, S., He, Y. & Wang, J. (2021). Urea transport and hydrolysis in the rumen: A review. *Animal Nutrition*, 7,989-996.
- Helander, I.M., Alakomi, H., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, L., Smid, E.J., Gorris, L.G.M. & Wright, A. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46,3590-3595.
- Hristov, A., Ivan, M., Neill, L. & Mcallister, T. (2003). Evaluation of several potential bioactive agents for reducing protozoal activity in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 105,163-184.
- Hunt, C.D. and Herbel, J.L. (1991). Boron affects energy metabolism in the streptozotocin-injected, vitamin D3-deprived rat. *Magnesium and trace elements*, 10,374-386.

- İpçak, H.H., Özüretmen, S., Özelçam, H. & Ünlü, H.B. (2017). Hayvan beslemede doğal koruyucular ve etki mekanizmaları. *Hayvansal Üretim*, 58(1),57-65.
- Iturbide, D.G., Orzuna, O.J.F., Bueno, L.A., Martínez, M.G.D., Romero, M.L.A. & Rangel, L.H.A. (2022). Essential oils as a dietary additive for small ruminants: A meta-analysis on performance, rumen parameters, serum metabolites, and product quality. *Veterinary Science*, 9, 475. <https://doi.org/10.3390/vetsci9090475>
- Joch, M., Cermak, L., Hakl, J., Hucko, B., Duskova, D. & Marounek, M. (2016). In vitro screening of essential oil active compounds for manipulation of rumen fermentation and methane mitigation. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 29(7),952-959
- Jovanovic, R., Congema, E. & Nguyen, H.T. (1991). Antifungal agents vs. boric acid for treating chronic mycotic vulvovaginitis. *The Journal of Reproductive Medicine*, 36(8),593-597
- Kabu, M. and Civelek, T. (2012). Effects of propylene glycol, methionine and sodium borate on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period. *Revue Médicale Vétérinaire*, 163, 419-430.
- Karaarslan, A., Özcan, K.M. & Özcan, M. (2005). The Efficacy of Boric Acid in Otomycosis: An in Vitro Study. *Mediterranean Journal of Otolaryngology*, 2,00-00.
- Khairunisa, B.H., Heryakusuma, C., Ike, K., Mukhopadhyay, B. & Susanti, D. (2023). Evolving understanding of rumen methanogen ecophysiology. *Frontiers in Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1296008>
- Khorrani, B., Vakili, A.R., Danesh, M.M. & Klevenhusen, F. (2015). Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. *Animal Feed Science and Technology*, 200,8-16.
- Köksal, Y., Hakan, K.B., Gultekin, Y. & Ozge, S. (2012). Effects of boric acid and humate supplementation on performance and egg quality parameters of laying hens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 14 (4), 233-304.
- Küçükyılmaz, K., Kiyama, Z., Akdağ, A., Çetinkaya, M., Atalay, H., Ateş, A., Gürsel, F.E. & Bozkurt, M. (2017). Effect of lavender (*Lavandula Stoechas*) essential oil on growth performance, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status of broilers. *South African Journal of Animal Science*, 47(2).
- Kumar, S., Dagar, S.S., Sirohi, S.K., Upadhyay, R.C. & Puniya, A.K. (2013). Microbial profiles, in vitro gas production and dry matter digestibility based on various ratios of roughage to concentrate. *Annual Microbiology*, 63,541-545.
- Lambert R.I.W., Skandamis, P.N., Coote, P. & Nychas, G.J.E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91,453-462.
- Lapierre, H., Berthiaume, R., Ragio, G., Thivierge, M.C., Doepel, L., Pacheco, D., Dubreuil, P. & Lobley, G.E. (2005). The route of absorbed nitrogen into milk protein. *Animal Science*, 80,11-22.
- Lesá, F., Vendittib, A., Cásedasa, G., Frezzac, C., Guisob, M., Sciubbab, F., Serafinic, M., Biancob, A., Valerod, M.S. & Lópeza, V. (2017). Everlasting flower (*Helichrysum stoechas* Moench) as a potential source of bioactive molecules with antiproliferative, antioxidant, antidiabetic and neuroprotective properties. *Industrial Crops and Products*, 108,295-302.

- Lin, B., Lu, Y., Wang, J.H.I., Liang, Q. & Liu, J.X. (2012). The effects of combined essential oils along with fumarate on rumen fermentation and methane production *in vitro*. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 21,198–210.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y., Mousset, J.L. & Arturo-Schaan, M. (2008). Dose-response effects of essential oils on *in vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*, 145,335-350.
- Margetts, G., Kleidonas, S. & Zaibi, N.S. (2022). Evidence for anti-inflammatory effects and modulation of neurotransmitter metabolism by *Salvia officinalis* L. *BMC Complementary Medicine and Therapy* 22,131. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03605-1>
- Mathlouthi, N., Bouzaiennet, Oueslati, I., Recoquillay, F., Hamdi, M., Urdaci, M. & Bergaoui, R. (2011). Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: *In vitro* antimicrobial activities and effects on growth performance. *Journal of Animal Science*, 90,813–823.
- McCullough, H. (1967). The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clinical chimica Acta*, 17,297-304.
- McGuffey, R.K., Richardson, L. F. & Wilkinson, J.I.D. (2001). Ionophores for dairy cattle: Current status and future outlook. *Journal of Dairy Science*, 84,194–203.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D. & Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding-stuff from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*, 93,217-222.
- Metwally, A., Dem, M., Fahn, C. & Windisch, W. (2016). Effects of a specific blend of essential oil on rumen degradability, total tract digestibility and fermentation characteristics in rumen fistulated cows. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research* 3(2).
- Mitsumori, M. and Sun, W. (2008). Control of rumen microbial fermentation for mitigating methane emissions from the rumen. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 21(1),144-154.
- Momin, A.H., Acharya, S.S. & Gajjar, A.V. (2012). *Coriandrum sativum*-Review of advances in phytopharmacology. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 3(5),1233.
- Moss, A.R., Jouany, J.P. & Newbold, C.J., (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annales de Zootechnie*, 49, 231-235.
- Nagaraja, T. (2016). Microbiology of the rumen. *Rumenology*, 39-61.
- Nagy, J.G., & Tengerdy, R.P. (1967). Antibacterial action of essential oils of *Artemisia* as an ecological factor. I. Antibacterial action of the volatile oils of *Artemisia tridentata* and *Artemisia nova* on aerobic bacteria. *Applied Microbiology*, 15(4),819–821.
- Nanon, A., Suksombat, W. & Yang, W.Z. (2014). Effects of essential oils supplementation on *in vitro* and *in situ* feed digestion in beef cattle. *Animal Feed and Science Technology*, 196,50–59.
- Newbold, C.J., Mcintosh, F. M., Williams, P., Losa, R. & Wallace, R.J. (2004). Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed and Science Technology*, 114,105–112.
- Nielsen, F.H. (1997). Boron in human and animal nutrition. *Plant and Soil*, 193,199–208. <https://doi.org/10.1023/A:1004276311956>

- Öğüt, M.Y. and Çetinkaya, N. (2020). Süt sığırlarının beslenmesinde metabolize edilebilir protein sistemleri. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 5(2),178-184
- Oh, H.K., Sakai, T., Jones, M.B. & Longhurst, W. M. (1967). Effect of various essential oils isolated from douglas fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. *Applied Microbiology*, 15(4),777-784. <https://doi.org/10.1128/am.15.4.777-784.1967>
- Öztürk, H., (2008). Ruminant beslenmesinde probiyotik mayalar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 79(3), 37-42.
- Patra, A.K. and Yu, Z. (2012). Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of rumen microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*. 78(12),4271–4280.
- Patra, A.K., Kamra, D.N. & Agarwal, N. (2006). Effect of plant extract on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo, *Animal Feed Science and Technology*, 128,276-291.
- Patterson, J.A. (1992). Rumen microbiology. In *Encyclopedia of Microbiology*, (pp.1-10). Academic Press.
- Perez, H.G., Stevenson, C.K., Lourenco, J.M. & Callaway, T.R. (2024). Understanding rumen microbiology: An Overview. *Encyclopedia*, 4(1),148-157.
- Perrini, R., Alba, V., Ruta, C., Morone-Fortunato, I., Blanco, A. & Montemurro, C. (2009). An evaluation of a new approach to the regeneration of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, and the molecular characterization of the variation among sets of differently derived regenerants. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 14(3),377-394.
- Pirondini, M., Colombini, S., Malagutti, L., Rapetti, L., Galassi, G., Zanchi, R. & Crovetto, G. M. (2015). Effects of a selection of additives on *in vitro* ruminal methanogenesis and *in situ* and *in vivo* NDF digestibility. *Animal Science Journal*, 86,59–68.
- Qin, G., Zong, Y., Chen, Q., Hua, D. & Tian, S. (2010). Inhibitory effect of boron against *Botrytis cinerea* on table grapes and its possible mechanisms of action. *International Journal of Food and Microbiology*, 138,145–150.
- Robinson, P.H., Mathews, M.C. & Fadel, J.G. (1999). Influence of storage time and temperature on in vitro digestion of neutral detergent fibre at 48h, and comparison to 48h in sacco neutral detergent fibre digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 80(3-4),257-266. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00062-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00062-0).
- Rode, L.M. (2000). Maintaining a healthy Rumen—An overview. *Advanced Dairy Technology*, 12,101–108.
- Rodrigues, P.H.M. (2016). Control and manipulation of ruminal fermentation. *Rumenology*, 157-187.
- Roy, D., Tomar, S. & Kumar, V. (2015). Rumen modulatory effect of thyme, clove and peppermint oils in vitro using buffalo rumen liquor. *Veterinary World*, 8:203.
- Roy, D., Tomar, S.K., Sirohi, S.K., Kumar, V. & Kumar, M. (2014). Efficacy of different essential oils in modulating rumen fermentation in vitro using buffalo rumen liquor. *Veterinary World*, 7(4),213-218.
- Russell, J.B., Strobel, H.J. & Chen, G. (1988). Enrichment and isolation of a ruminal bacterium with a very high specific activity of ammonia production. *Applied Environmental Microbiology*, 54,872–877.

- Şengezer, E. ve Güngör, T., (2008). Esansiyel yağlar ve hayvanlar üzerindeki etkiler. *Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 48,101–110.
- Sharma, A., Mani, V., Pal, R.P., Sarkar S., Sharma, H., Aday, S. & Datt, C. (2021). Effect of boron supplementation on nutrient utilization and productive performance of peripartum Murrah Buffaloes. *Biological Trace Element Research*, 200,4303–4315.
- Sızmaz, Ö., Koksall B.H. & Yıldız G. (2017). Rumen microbial fermentation, protozoan abundance and boron availability in yearling rams fed diets with different boron concentrations. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 26,59–64.
- Sızmaz, O. and Yıldız, G. (2014a). Effect of dietary boric acid and ascorbic acid on performance, some blood and bone parameters in broilers, *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(1),65-71.
- Sızmaz, O. and Yıldız, G. (2014b). Effects of single or combined dietary supplementation of boric acid and ascorbic acid on growth performance, bone mineralization and cholesterolemia in broilers. *International Journal of Agricultural Biosciences*, 3(5),214-218. ISSN 2305-6622
- Sızmaz, Ö., Calık, A., Sızmaz, S. & Yıldız, G. (2016). A comparison of camelina meal and soybean meal degradation during incubation with rumen fluid as tested in vitro. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 63,157-161
- Sızmaz, Ö., Koksall, B.H. & Yıldız, G. (2017). Rumen microbial fermentation, protozoan abundance and boron availability in yearling rams fed diets with different boron concentrations. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 26(59–64),1230-1388
- Sızmaz, O., Yıldız, G. & Köksall, B.H. (2014). Effects of single or combined dietary supplementation of boric acid and plant extract mixture on egg quality and blood cholesterolemia in laying hens. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(4),599-604.
- Smigielski, K., Prusinowska, R., Stobiecka, A. & Kunicka-Styczyńska, A., (2018). Biological Properties and Chemical Composition of Essential Oils from Flowers and Aerial Parts of Lavender (*Lavandula angustifolia*). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 21,1303–1314.
- Steinfeld, H., Geber, P, Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M. & De Haan, C. (2006). Livestock's long shadow: environmental issues and options. *Food and Agriculture Organization of United Nations*, 82–114.
- Sutton, J.D. (1985). Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *Journal of Dairy Science*, 68,3376-3393.
- Tana, H.Y., Sieoa, C.C., Abdullaha, N., Lianga, J.B., Huanga, X.D. & Ho, Y.W. (2011). Effects of condensed tannins from *Leucaena* on methane production, rumen fermentation and populations of methanogens and protozoa in vitro. *Animal Feed Science and Technology*, 169,185–93.
- Tatsuoka, N., Hara, K., Mikuni, K., Hara, K., Hashimoto, H. & Itabashi, H.(2008). Effects of the essential oil cyclodextrin complexes on ruminal methane production in vitro. *Animal science journal*, 79(1),68-75.
- Tekce, E. ve Gül, M. (2016). Esansiyel yağların broiler beslemedeki kullanım alanları. *Güfbed/Gustij*,6 (2),74-88 .
- Tekeli, A., Yıldız, G., Drochner, W. & Steingass, H. (2017). Effects of essence oil additives added to different feeds on methane production. *Revista MVZ Córdoba*, 22(2),5854-5866.

- Tekippe, J.A., Tacoma, R., Hristov, A.N., Lee, C., Oh, J., Heyler, K.S., Cassidy, T.W., Varga, G.A. & Bravo, D. (2013). Effect of essential oils on ruminal fermentation and lactation performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96,7892–7903.
- Turan, F., Graęaç. R. & Sayin. S. (2012). Su rnleri Yetiřtiricilięinde Esansiyel Yağlar. *Trk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1),35-40.
- Ueno, Y., Yamada, K., Yoshida, N., Maruyama, S. & Isozaki, Y. (2006). Evidence from fluid inclusions for microbial methanogenesis in the early archaean era. *Nature*, 440,516-519.
- Vakili, A.R., Khorrami, B., Danesh, M.M. & Parand, E.(2013). The Effects of Thyme and Cinnamon Essential Oils on Performance, Rumen Fermentation and Blood Metabolites in Holstein Calves Consuming High Concentrate Diet. *Asian-Australian Journal of Animal Science.*, 26(7), 935–944.
- Van Soest, P.V., Robertson, J.B. & Lewis, B. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583–3597.
- Walker, J.B., Sytsma, K.J., Treutlein, J. & Wink, M. (2004). *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. *American Journal of Botany*, 91,1115-1125. <https://doi.org/10.3732/ajb.91.7.1115>
- Wallace, R.J. (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63,621-629.
- Weimer, P.J. (2015). Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. *Frontiers in microbiology*, 6,139-401.
- Woronuk, G., Demissie, Z., Rheault, M. & Mahmoud, S. (2010). Biosynthesis and therapeutic properties of lavandula essential oil constituents. *Planta Medicina*, 77,7–15.
- Wu, Z.B., Ni, Z.Y., Sh, Q.W., Dong, M., Kizota, H., Gu, Z.Ch. & Cong, B. (2012). Constituents from *Salvia* species and their biological activities. *Chemical Reviews*, 112,5967–6026.
- Yadeghari, S., Malecky, M., Banadaky, M.D.& Navidshad, B. (2015). Evaluating in vitro dose-response effects of lavandula officinalis essential oil on rumen fermentation characteristics, methane production and ruminal acidosis. *Veterinary Research Forum*, 6(4),285–293.
- Yadeghari, S., Malecky, M., Dehghan, B.M. & Navidshad, B. (2015). Evaluating in vitro dose-response effects of *Lavandula officinalis* essential oil on rumen fermentation characteristics, methane production and ruminal acidosis. *Veterinary Research Forum*, 6(4),285–293.
- Yakinci, Z.D. ve Kk, M. (2016). Borun sağlık alanında kullanımı. *İnn niversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yksekokulu Dergisi*, 4,1-36.
- Yang, W.Z., Benchaar, C., Ametaj, B.N. & Beauchemin, K.A. (2010). Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. *Animal Feed and Science Technology*, 158,57–64.
- Yazgan, H. (2020). Investigation of antimicrobial properties of sage essential oil and its nanoemulsion as antimicrobial agent. *LWT*, 130.
- Yeşilbağ, D. (2008). Hayvan beslemede bor kullanımının nemi. *Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine*, 27(1–2),61–68.

- Yıldız, N. (2008) Bor. Erisim adresi: [www. Maden gov.tr](http://www.Maden.gov.tr).
- Yıldız, G. ve Toygar, U. (2013). Tıbbi adaçayının (*salvia officinalis L.*) Rumendeki metan gazı, uçucu yağ asitleri, protozoon parametreleri üzerine etkileri. Ankara Üniversitesi BAP Proje rapor No: 11Ö3338003.
- Yıldız, G., Durna Aydın, Ö. & Toygar, U. (2022). Investigation of boron addition to dried alfalfa in vitro ruminal profile and potential for reducing enteric methane emission. Research Square. Search preprints. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2009510/v1>
- Yıldız, G., Köksal, B.H. & Sızmaz, Ö. (2011). Rasyonlara ilave edilen maya ve borik asidin broylerde performans, karkas ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(3),429-434.
- Yıldız, G., Tekeli, A., Drochner, W. & Steingass, H. (2015). Determination of the effects of some plant extracts on rumen fermentation and protozoal counts by hohenheim *in vitro* gas production technique. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7(2),18-26.
- Yılmaz, M.T. (2012). Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 42(2),1423-1429.
- Zenner, L., Callait, M.P., Granier, C. & Chauve, C. (2003). In vitro effect of essential oils from cinnamomum aromaticum, citrus limon and allium sativum on two intestinal flagellates of poultry, tetratrichomonas gallinarum and Histomonas meliagridis. *Parasite*, 10(2),153-157.
- Zmora, P., Cieślak, A., Pers-Kamczyc, E., Szyszka, P. & Szumacher-Strabel, M. (2012). An in vitro study on the effect of sage, *Salvia officinalis L.*, on rumen fermentation. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 21(4),613-623. <https://doi.org/10.22358/jafs/66135/2012>