

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Zeynep ŞAHAN

**BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ ENERJİ, PROTEİN VE LİF
KAYNAĞI YEMLERİN *IN VITRO* GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİĞİNE
VE YÜKSEK VERİMLİ SÜT SİĞİRLARINDA SÜT VERİMİ VE
SÜT KOMPOZİSYONLARINA ETKİLERİ**

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2012

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ ENERJİ, PROTEİN VE LİF KAYNAĞI
YEMLERİN *IN VITRO* GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİĞİNE VE YÜKSEK
VERİMLİ SÜT SIĞIRLARINDA SÜT VERİMİ VE SÜT
KOMPOZİSYONLARINA ETKİLERİ**

Zeynep ŞAHAN

DOKTORA TEZİ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 18/07/2012 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Ladine BAYKAL ÇELİK
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Murat GÖRGÜLÜ
ÜYE

.....
Doç. Dr. Işıl VAR
ÜYE

.....
Prof. Dr. Hasan Rüştü KUTLU
ÜYE

.....
Doç. Dr. Adem KAMALAK
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Zooteknianabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

**Prof. Dr. M. Rifat ULUSOY
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: ZF2009D14**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların
kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere
tabidir.

Özlemle

Sevgili Abim Teoman Bozkurt'a

ÖZ

DOKTORA TEZİ

BAZI BİTKİ UÇUCU YAĞLARININ ENERJİ, PROTEİN VE LİF KAYNAĞI YEMLERİN *IN VITRO* GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİĞİNE VE YÜKSEK VERİMLİ SÜT SIĞIRLARINDA SÜT VERİMİ VE SÜT KOMPOZİSYONLARINA ETKİLERİ

Zeynep ŞAHAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ ZOOTEKİNİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Ladine BAYKAL ÇELİK
Yıl: 2012, Sayfa: 125
Jüri : Prof. Dr. Ladine BAYKAL ÇELİK
: Prof. Dr. Murat GÖRGÜLÜ
: Doç. Dr. Işıl VAR
: Prof. Dr. Hasan Rüştü KUTLU
: Doç. Dr. Adem KAMALAK

Bu çalışmada, antibiyotiklere alternatif olabilecek bitki uçucu yağlarının ruminantlarda yem katkı maddesi olarak kullanılabilme olanakları araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında 14 farklı bitki uçucu yağın (kekik (*Thymus vulgare*), çörek otu (*Nigella sativa*), nane (*Mentha longifolia*), defne (*Laurus nobilis*), kişniş (*Coriandrum sativum*), rezene (*Foeniculum vulgare*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), kimyon (*Cuminum cyminum*), portakal (*Citrus cinensis*) kabuğu, üzüm (*Vitis vinifera*) çekirdeği, sarımsak (*Allium sativum*), anason (*Pimpinella anisum*), tarçın (*Cinnamomum verum*) ve iğde (*Eleagnus angustifolia*) buğday samanı (BS), arpa ve soya fasülyesi küspesinin (SF) *in vitro* gerçek besin madde sindirimine etkileri incelenmiştir. Bu aşamada buğday samanı için sindirilebilirliği arttıran (portakal kabuğu 100ppm, sarımsak-50 ppm) arpa ve SF için sindirilebilirliği düşüren (defne 150 ppm, portakal kabuğu 100ppm, iğde 50 ppm) bitki uçucu yağları seçilmiş ve daha sonra bu yağların kapsüllü formlarının buğday samanı, arpa ve soya fasülyesi küspesinin *in vitro* gerçek besin madde sindirimine etkileri araştırılmıştır. Kapsulasyonun araştırıldığı çalışmalar sonucu defne yağının 150 ppm dozu arpa ve SF için uygun bulunmuştur. *In vitro* çalışmalar sonucunda *in vivo* çalışmada da C18:1- n3 ve toplam n3 yağ asitlerinin düzeyi tarçın, sarımsak, defne uçucu yağ ile düşmüştür (P<0.05). Benzer şekilde ikinci çalışmada da C18:1- n9, toplam n9 ve tek doymamış yağ asitlerinin miktarı özellikle kekik ve iğde uçucu yağı ile düşmüştür (P<0.05).

Çalışmanın üçüncü aşamasında iki *in vivo* araştırma yürütülmüştür. Bu araştırmalardan her birinde 28 baş siyah alaca süt ineği kullanılmıştır. Birinci araştırmada, sarımsak (50 ppm), tarçın (100 ppm) ve defne (150 ppm) içeren yem katkıları kontrolle karşılaştırılmıştır. İkinci çalışmada ise kekik, iğde ve portakal kabuğu uçucu yağları 180 ppm düzeyinde kesif yemde kullanılmış ve süt verimi ve süt kompozisyonuna etkileri araştırılmıştır. Her iki araştırma sonucunda incelenen özellikler üzerinde (canlı ağırlık, yem tüketimi, süt verimi, süt kompozisyonu, vücut kondüsyon skoru) uçucu yağların etkisi tespit edilmemiştir (P>0.05). Her iki çalışmada bitki uçucu yağların süt yağ asitleri kompozisyonuna etkisi sınırlı kalmış birinci denemede C18:1-n3 ve toplam n3 yağ asitlerinin düzeyi tarçın, sarımsak, defne uçucu yağ ile düşmüştür (P<0.05). Benzer şekilde ikinci çalışmada da C18:1- n9, toplam n9 ve tek doymamış yağ asitlerinin miktarı özellikle kekik ve iğde uçucu yağı ile düşmüştür (P<0.05).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *in vitro* çalışmalarda elde edilen etkilerin *in vivo* deneme sonuçlarına yansımadığını, kullanılan uçucu yağların mevcut dozları ile hayvanların, yem tüketimi, süt verimi ve süt kompozisyonunu önemli düzeyde etkilemediklerini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Ruminant, bitkisel uçucu yağ, süt verimi, süt kompozisyon

ABSTRACT

PhD THESIS

THE EFFECT OF SOME ESSENTIAL OILS ON *IN VITRO* TRUE DIGESTIBILITY OF ENERGY, PROTEIN, CELLULOSE SOURCE OF FEEDS AND MILK YIELD AND MILK COMPOSITION IN HIGH YEILDING DAIRY COWS

Zeynep ŞAHAN

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF ANIMAL SCIENCE

Supervisor : Prof. Dr. Ladine BAYKAL ÇELİK
Year: 2012, Pages: 125
Jury : Prof. Dr. Ladine BAYKAL ÇELİK
: Prof. Dr. Murat GÖRGÜLÜ
: Assoc. Prof. Dr. Işıl VAR
: Prof. Dr. Hasan Rüştü KUTLU
: Assoc. Prof. Adem KAMALAK

The present study was carried out to determine the potential of some essential oils as an alternative to antibiotics in feed additive for ruminants. The study was carried out in three stages and the effects of essential oils on *in vitro* true digestibility were tested in the first and selected essential oils in the first stage were tested *in vitro* with their capsulated or uncapsulated form in the second stage. Barley, soybean meal and wheat straw were used as substrat in *in vitro* studies and thyme (*Tymus vulgare*), black seed (*Nigella sativa*), mint (*Mentha longifolia*), laurel (*Laurus nobilis*), coriander (*Coriandrum sativum*), fennel (*Foeniculum vulgare*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), cummin (*Cuminum cyminum*), orange (*Citrus cinensis*) peel, grape (*Vitis vinifera*) seed, garlic (*Allium sativum*), anise (*Pimpinella anisum*), cinnamon (*Cinnamomum verum*), oleaster (*Eleagnus angustifolia*) essential oils were used to determine an alternative for antibiotics. After the first *in vitro* studies, 100 ppm orange peel and 50 ppm garlic essential oils for wheat straw, 100 ppm orange peel and 150 ppm laurel essential oils for barley and 50 ppm oleaster and 150 ppm laurel essential oils for soybean meal were chosen to test in the second *in vitro* study to evaluate the effect of encapsulation of essential oils on *in vitro* tru digestibility of nutrients. After the first two *in vitro* studies, 6 essential oils (garlic-50 ppm, cinnamon-100 ppm, laurel-150 ppm and thyme-180ppm, oleaster-180ppm, orange peel-180 ppm) were selected to test in *in vivo* studies with dairy cows.

After the first two stages, selected essential oils and their doses for *in vivo* studies were tested to determine the effects of essential oils on milk yield and milk composition in dairy cows with two studies using 28 dairy cows in each. 50-ppm garlic, 100 ppm cinnamon and 150 ppm laurel in concentrate were tested against to control in completely randomised design in the first study. Thyme, oleaster and orange peel essential oils with 180 ppm dose in concentrate were tested in the second *in vivo* study. Similar to the first *in vivo* study, feed intake, milk yield and milk composition were not affected ($P>0.05$) by essential oils. Essential oils had a minor effect on milk fatty acid composition in both studies. C18:1n3 and total n3 in the first study were decreased by garlic, cinnamon and laurel essential oils. C18:1 n9 and total n9 were decreased by thyme, oleaster and orange peel essential oils.

In conclusion, the results revealed that the results of *in vitro* and *in vivo* studies with essential oils are not in accordance with each other and tested essential oils had no effect on feed intake, milk yield and milk composition of dairy cows.

Key Words: Ruminant, essential oil, milk yield, milk composition

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, yürütülmesinde ve yazımında yardımlarını esirgemeyen sayın Prof.Dr. Murat GÖRGÜLÜ'ye, her zaman ve her konuda verdiği destek ile benim bugünlere gelmemi sağlayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ladine Çelik'e, tezin mikrobiyoloji çalışmalarına desteği yanı sıra değerli önerileri ile birçok konuda bana ışık tutan Sayın Doç. Dr. Işıl Var'a, birçok konuda değerli görüşlerini aldığım Sayın Prof. Dr. Hasan Rüştü Kutlu' ya, tezin yem katkı maddelerinin kapsülasyon aşamasını kordine eden ve Ç. Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Laboratuvar olanaklarını sunan Sayın Prof. Dr. Osman Serindağ'a, tez materyallerinin aktif madde içeriklerinin ve süt yağ asiti profillerinin belirlenmesinde Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvar olanaklarını sağlayan Prof. Dr. Fatih Özoğul'a, yüksek lisans aşamamdan bu yana yardım ve yakın ilgilerinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Uğur Serbester'e, tezin mikrobiyoloji aşamasındaki çalışmalarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Mustafa Boğa'ya, tezin hayvan denemeleri ve laboratuvar çalışmaları sırasında özverili çalışmalarından dolayı Arş. Gör. Harun Cinli'ye, yem analizlerinde yardımlarını gördüğüm Ziraat Müh. Gökhan Filik ve Ziraat Müh. Şerife Ergül'e, doktora projeme maddi destek sağlayan Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu'na ve TÜBİTAK'a, doktora çalışmam süresince desteklerini hiç esirgemeyen eşim Mehmet Fatih'e ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
RESİMLER DİZİNİ	XVI
SİMGELER VE KISALTMALAR	XVIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Bitkisel Uçucu Yağların Kimyasal Yapısı, Eldesi, Antimikrobiyal Özelliği	5
2.2. Ruminant Hayvanlarda Bitkisel Uçucu Yağların Kullanımına İlişkin Çalışmalar	10
3. MATERYAL VE METOD	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Hayvan Materyali	23
3.1.1.1. Çalışmanın <i>in vitro</i> Kısmının Hayvan Materyali	23
3.1.1.2. Çalışmanın <i>in vivo</i> Kısmının Hayvan Materyali	23
3.1.2. Yem Materyali	24
3.1.2.1. Çalışmanın <i>in vitro</i> Kısmının Yem Materyali	24
3.1.2.2. Çalışmanın <i>in vivo</i> Kısmının Yem Materyali	24
3.1.3. Yem Katkılarının Eldesi ve Özellikleri	26
3.1.3.1. Çalışmanın <i>in vitro</i> Kısmında Kullanılan Yem Katkılarının Özellikleri	26
3.1.3.1.(1) Birinci <i>in vitro</i> Deneme	26
3.1.3.1.(2) İkinci <i>in vitro</i> Deneme	39
3.1.3.2. Çalışmanın <i>in vivo</i> Kısmında Kullanılan Yem Katkılarının Özellikleri	40

3.1.4. Araştırmalarda Kullanılan Bireysel Bölmeler ve Adaptasyon Dönemi.....	42
3.2. Metod	44
3.2.1. <i>In vitro</i> Denemeler	44
3.2.1.1. Birinci <i>in vitro</i> deneme	44
3.2.1.1.(1) İnkübasyonlar ve Sindirilebilirlik Hesaplamaları	44
3.2.1.1.(2) İnkübasyon Sıvısında Mikroorganizma Sayımı ve pH Ölçümü	49
3.2.1.2. İkinci <i>in vitro</i> deneme	49
3.2.2. <i>In vivo</i> Denemeler	53
3.2.2.1. Performans Parametreleri.....	53
3.2.2.2. Sütte Somatik Hücre Sayımı	53
3.2.2.3. Süt Kompozisyonu	54
3.2.2.4. Süt Yağ Asiti Profili.....	54
3.2.2.4.(1) Yem analizleri	56
3.2.1. İstatistik Analizler.....	56
3.2.1.1. Araştırmanın <i>in vitro</i> kısmının istatistik analizi.....	56
3.2.1.2. Araştırmanın <i>in vivo</i> kısmının İstatistik Analizi	57
4. BULGULAR VE TARTIşMA	59
4.1. <i>In vitro</i> Denemeler	59
4.1.1. Birinci <i>in vitro</i> Deneme	59
4.1.1.1. Birinci <i>In vitro</i> Çalışmada <i>In vitro</i> Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu Yağların Etkisi	60
4.1.1.2. Birinci <i>in vitro</i> Çalışmada <i>in vitro</i> Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu Yağların Dozunun Etkisi.....	63
4.1.1.3. Birinci <i>in vitro</i> Çalışmada <i>in vitro</i> Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu YağxDoz İnteraksiyon Etkisi	64
4.1.1.4. Birinci <i>in vitro</i> Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağların Etkisi	73
4.1.1.5. Birinci <i>in vitro</i> Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağların Dozunun Etkisi.....	76

4.1.1.6. Birinci <i>in vitro</i> Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu YağxDoz İnteraksiyon Etkisi	78
4.1.2. İkinci <i>in vitro</i> Deneme	84
4.1.2.1. İkinci <i>in vitro</i> Çalışmada <i>in vitro</i> Gerçek Sindirilebilirliğe Seçilmiş Uçucu Yağların Etkisi	85
4.1.2.2. İkinci <i>in vitro</i> Çalışmada <i>in vitro</i> Gerçek Sindirilebilirliğine Seçilmiş Uçucu Yağların Formunun Etkisi	86
4.1.2.3. İkinci <i>in vitro</i> Çalışmada <i>in vitro</i> Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu Yağ x Form İnteraksiyon Etkisi	88
4.1.2.4. İkinci <i>in vitro</i> Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağların Etkisi	92
4.1.2.5. İkinci <i>in vitro</i> Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Seçilmiş Uçucu Yağların Formlarının Etkisi	93
4.1.2.6. İkinci <i>in vitro</i> Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağ x Form İnteraksiyon Etkisi	95
4.2. <i>In vivo</i> Denemeler	98
4.2.1. Sarımsak, Tarçın ve Defne Uçucu Yağlarının Süt Sığırlarında Performans, Süt Kompozisyonu ve Süt Somatik Hücre Sayısı Üzerine Etkileri	99
4.2.2. Kekik, İğde ve Portakal Kabuğu Uçucu Yağlarının Süt Sığırlarında Performans ve Süt Kompozisyonu Üzerine Etkileri	101
4.2.3. Bitki Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkileri	103
4.2.3.1. Sarımsak, Tarçın ve Defne Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkileri	104
4.2.3.2. Portakal Kabuğu, Kekik ve İğde Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkileri	106

4.2.3.3. Bitki uçucu yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkilerine İlişkin Genel Değerlendirme	108
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	111
KAYNAKLAR	113
ÖZGEÇMİŞ	125

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 2.1. Farklı bölgelerden elde edilen kekiğin ana aktif bileşenleri.....	8
Çizelge 3.1. Yem Materyali Olarak Kullanılan Buğday Samanı, SoyaKüspesi ve Arpanın Besin Madde İçeriği	24
Çizelge 3.2. <i>In vivo</i> Denemelerde Kullanılan TMR'lerin Hammadde ve Besin Madde Kompozisyonları	26
Çizelge 3.3. Anason Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimi ve Etken Madde Miktarları.....	28
Çizelge 3.4. Biberiye Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	29
Çizelge 3.5. Çörek Otu Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	30
Çizelge 3.6. <i>Kişniş</i> Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	30
Çizelge 3.7. İğde Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları ..	31
Çizelge 3.8. Kekik Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	32
Çizelge 3.9. <i>Kimyon</i> Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	33
Çizelge 3.10. ÜzümÇekirdeği Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	34
Çizelge 3.11. Portakal Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	34
Çizelge 3.12. Sarımsak Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	35
Çizelge 3.13. Rezene Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	36
Çizelge 3.14. Tarçın Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	37

Çizelge 3.15. Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	38
Çizelge 3.16. Nane Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	39
Çizelge 3.17. <i>In vivo</i> Çalışmada Kullanılan Sarımsak Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları	40
Çizelge 3.18. <i>In vivo</i> Çalışmada Kullanılan Tarçın Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları	40
Çizelge 3.19. <i>In vivo</i> Çalışmada Kullanılan Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları	41
Çizelge 3.20. <i>In vivo</i> Çalışmada Kullanılan İğde Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları	41
Çizelge 3.21. <i>In vivo</i> Çalışmada Kullanılan Kekik Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları	42
Çizelge 3.22. <i>In vivo</i> Çalışmada Kullanılan Portakal kabuğu Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları.....	42
Çizelge 4.1. Bitkisel Uçucu Yağların (BUY) Buğday Samanının, <i>in vitro</i> Gerçek Kuru madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Detergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi	60
Çizelge 4.2. Bitkisel Uçucu Yağların (BUY) Soya Küspesinin (SK), <i>in vitro</i> Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Ham Protein (HP) Sindirilebilirliğine Etkisi.	61
Çizelge 4.3. Bitkisel Uçucu Yağların (BUY) Arpanın, <i>in vitro</i> Gerçek Kuru Madde (KM) ve Organik Madde (OM) Sindirilebilirliğine Etkisi.....	62
Çizelge 4.4. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Dozların Buğday Samanının <i>in vitro</i> Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Detergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi	63
Çizelge 4.5. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Dozların SK'nın <i>in vitro</i> Gerçek KM, OM ve HP Sindirilebilirliğine Etkisi.....	63
Çizelge 4.6. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Dozların Arpa'da <i>in vitro</i> Gerçek KM ve OM Sindirilebilirliğine Etkisi	64

Çizelge 4.7. Buğday Samanının in vitro Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve NDF Sindirilebilirliğine Bitki Uçucu Yağ (BUY) x Doz İnteraksiyonu Etkisi.....	66
Çizelge 4.8. SK'nın in vitro Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve Protein Sindirilebilirliğine Bitkisel Uçucu Yağ x Doz İnteraksiyonu Etkisi...	69
Çizelge 4.9. Arpanın in vitro Gerçek Kuru Madde, Organik Madde Sindirilebilirliğine Bitkisel Uçucu Yağ x Doz İnteraksiyonu Etkisi...	72
Çizelge 4.10. Buğday Samanına Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Bitkisel Uçucu Yağ Etkisi	74
Çizelge 4.11. Soya Küspesine Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Bitkisel Uçucu Yağ Etkisi	75
Çizelge 4.12. Arpaya Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Bitkisel Uçucu Yağ Etkisi.....	76
Çizelge 4.13. Buğday Samanına Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Doz Etkisi	77
Çizelge 4.14. Soya Küspesine Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Doz Etkisi.....	77
Çizelge 4.15. Arpaya Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Doz Etkisi.....	78
Çizelge 4.16. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxDoz İnteraksiyonu Etkisi	80
Çizelge 4.17. Soya Küspesine Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxDoz İnteraksiyonu Etkisi.....	81
Çizelge 4.18. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxDoz İnteraksiyonu Etkisi	83
Çizelge 4.19. Bitkisel Uçucu Yağların Buğday Samanının in vitro Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Detergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi	85
Çizelge 4.20. Bitkisel Uçucu Yağların SK'nın in vitro Gerçek Kuru madde (KM), Organik Madde (OM) ve Ham Protein Sindirilebilirliğine Etkisi.....	86

Çizelge 4.21. Bitkisel Uçucu Yağların Arpanın in vitro Gerçek Kuru Madde (KM) ve Organik Madde (OM) Sindirilebilirliğine Etkisi.....	86
Çizelge 4.22. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Formların Buğday Samanının in vitro Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Netergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi	87
Çizelge 4.23. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Formların SK' nın in vitro Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Ham Protein Sindirilebilirliğine Etkisi	87
Çizelge 4.24. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Formların Arpanın in vitro Gerçek Kuru Madde (KM) ve Organik Madde (OM) Sindirilebilirliğine Etkisi.....	88
Çizelge 4.25. Buğday Samanının in vitro Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve NDF Sindirilebilirliğine Uçucu Yağ x Form İnteraksiyonu Etkisi.....	89
Çizelge 4.26. Soya Fasulyesi Küspesinin in vitro Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve Ham Protein Sindirilebilirliğine Uçucu Yağ x Form İnteraksiyonu Etkisi.....	90
Çizelge 4.27. Arpanın in vitro Gerçek Kuru Madde ve Organik Madde Sindirilebilirliğine Uçucu Yağ x Form İnteraksiyonu Etkisi	92
Çizelge 4.28. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Etkisi.....	92
Çizelge 4.29. Soya Küspesine Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Etkisi.....	93
Çizelge 4.30. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Etkisi.....	93
Çizelge 4.31. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Formunun Etkisi	94
Çizelge 4.32. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Formunun Etkisi	94
Çizelge 4.33. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Formunun Etkisi.....	95

Çizelge 4.34. Buğday samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxForm İnteraksiyon Etkisi	96
Çizelge 4.35. Soya Küspesine Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxForm İnteraksiyon Etkisi	97
Çizelge 4.36. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxForm İnteraksiyon Etkisi	97
Çizelge 4.37. Sarımsak, Tarçın ve Defne Uçucu Yağlarını İçeren Rasyonlarla Beslenen Süt İneklerinde Performan Verileri ve Süt Kompozisyonunun Değişimi	100
Çizelge 4.38. Kekik, İğde ve Portakal Kabuğu Uçucu Yağlarını İçeren Rasyonlarla Beslenen Süt İneklerinde Performan Verileri ve Süt Kompozisyonunun Değişimi	102
Çizelge 4.39. Tarçın, Sarımsak ve Defne Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonuna Etkileri	105
Çizelge 4.40. Portakal, Kekik ve İğde Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asitikompozisyonuna Etkileri	107

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 2.1. Bitki ana aktif bileşenlerinin biyosentez şeması	6
Şekil 2.2. Su buharı destilasyon yöntemi	7
Şekil 3.1. İnkübasyona hazırlık işlemleri	46
Şekil 3.2. Konservasyon yöntemi ile mikrokapsül üretimi akış şeması.....	51

RESİMLER DİZİNİ**SAYFA**

Resim 3.1. Denemede kullanılan hayvan barınakları (a)	43
Resim 3.2. Denemede kullanılan hayvan barınakları (b)	43
Resim 3.3. Denemede kullanılan inkübatörler	45
Resim 3.4. F57 torbası ve inkübasyon kavanozu, çözünmeye dayanıklı kalem	45
Resim 3.5. Isı damgalama cihazı	45
Resim 3.6. Su ile emilsüyon hale getirilmiş esansiyel yağ	52
Resim 3.7. Kapsüle olmuş ama sıvı fazdan ayrılmamış esansiyel yağlar	52
Resim 3.8. Kapsüllenmiş esansiyel yağ	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADF	: Acid detergent fiber (selüloz+lignin)
BS	: Buğday samanı
BUY	: Bitkisel uçucu yağ
CLA	: Konjuge linoleik asit
DIVGS	: Düzeltilmiş <i>in vitro</i> gerçek sindirilebilirlik
EO	: Esansiyel yağ
HP	: Ham protein
IVGS	: <i>In vitro</i> gerçek sindirilebilirlik
KAP	: Kapsüle edilmiş
KAPZ	: Kapsüle edilmemiş
KM	: Kuru madde
NDF	: Neutral detergent fiber (selüloz+lignin +hemiselüloz)
NEFA	: Non-esterified (free or unsaturated) fatty acid
NPN	: Non-protein nitrogen (protein olmayan azot)
OM	: Organik madde
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri (Polyunsaturated fatty acid)
RUSITEC:	: Rumen Simulation Technique
SK	: Soyafasülyesi küspesi
TMR	: Tam rasyon (Total Mixed Ration)
TUYA	: Toplam uçucu yağ asitleri
UYA	: Uçucu yağ asitleri

1. GİRİŞ

Antibiyotikler, düşük molekül ağırlığına sahip, düşük konsantrasyonlarda bile mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden metabolitlerdir.

Antibiyotikler, hayvan beslemede hayvan sağlığını korumak, hayvanın performansını ve yemden yararlanmasını ve dolayısı ile hayvansal ürünlerin miktar ve kalitesini artırmak amacı ile tedavi edici dozlarının altında yem katkı maddesi olarak uzun yıllar kullanılmıştır. Örneğin ruminantlar için iyonofor özellikte bir antibiyotik olan monensinin etkisini; rumende enerji metabolizmasını geliştirerek, amonyak üretimini düşürerek, yemden yararlanma oranını ve süt yağındaki konjuge linoleik asit oranını artırarak gösterdiğini ve ruminantlarda görülen ketosis ve mastitis gibi metabolik hastalıkların oluşma riskini azalttığını bildiren birçok çalışma mevcuttur (Nagaraja ve ark. 1997, Duffield ve ark. 2008). Ancak, hayvan beslemede kullanılan monensin gibi antibiyotiklerin bilimsel olarak da kanıtlanmış tüm bu olumlu etkilerine karşın yemlerinde antibiyotik kullanılan hayvanların et ve süt gibi ürünlerinde antibiyotik kalıntılarının rastlanması ve bunun sonucu bakterilerin çapraz direnç oluşturarak tüketici sağlığını tehdit etme riski, antibiyotiklerin hayvan beslemede yem katkı maddesi olarak kullanımını tartışılır hale getirmiş ve tüketici sağlığının korunmasına yönelik pek çok önlem alınmaya çalışılmıştır. Bu kapsamda zaman içinde bazı antibiyotiklere yasak getirilmiş, konuyla ilgili uzun tartışmalar ve spekülasyonlar sonrası Avrupa Topluluğu hayvan yemlerinde yem katkı maddesi olarak antibiyotik kullanılmasını (70/524/EEC Direktif ve 1831/2003/EC sayılı yönetmelikle) 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren yasaklamıştır.

Antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımının yasaklanması, antibiyotiklere alternatif ürün ihtiyacını doğurmuş ve bu ihtiyaca cevap verme isteği araştırmacıları; mikroorganizmalara karşı direnç oluşturmeyen, hayvansal üründe kalıntı bırakmayan, ekonomik, doğal ve çevre dostu etken maddelerin keşfedilmesi ve geliştirilmesi çalışmalarına yönlendirmiştir. Çalışmalar, aromatik bitkilerden izole edilen bitkisel uçucu yağların (BUY) veya bunların aktif komponentlerinin, antimikrobiyel ve sindirim sistemini uyarıcı özelliklerinden yararlanma konusu üzerinde yoğunlaşmıştır.

Bitkisel uçucu yağlar; bitkilerin yaprak, tomurcuk, tohum, çiçek, kök gibi kısımlarından farklı metodlarla elde edilen kuvvetli kokulu, uçucu ve su buharı ile sürüklenebilen, oda sıcaklığında sıvı halde olup kolay kristalleşebilen bileşiklerdir. Bitkilerde genellikle böceklere karşı koruyucu görevinin yanı sıra stres koşullarına adaptasyon sağlama ve bitkilerde döllemeyi sağlayan arı gibi böcekleri çekme görevleri de vardır (Briskin, 2000, Marriott, 2000) Yapılarında bitki ikincil metabolitlerinden olan ve aktif bileşikler olarak adlandırılan terpenoid (carvacrol, carvone, thymol) ve fenilproponoid (cinnamaldehyt, eugenol, anethol vb) gibi grupları içermektedirler. Esansiyel yağlar yapılarında bulunan bu aktif bileşikler sayesinde rumen bakterilerini de içine alan birçok bakteri için antibakteriyel özellik taşımaktadırlar. Nitekim MIC (bakteri üreme ve gelişmesini gösteren bir indeks; Minimum İnhibitör Konsantrasyon) çalışmaları birçok bitkisel uçucu yağın, bazı antibiyotiklerle çok yakın veya benzer etkiler gösterdiğini bildirmektedir (Kamel, 2009).

Bitkisel uçucu yağların antibakteriyel özellikleri yapılarındaki etkilil maddenin çeşidine, kimyasal yapısına ve miktarına bağlı olup bu özellikler de bitkinin yetiştiği coğrafik bölge şartları, hasat zamanı ve bitki ekstraksiyon metodu gibi faktörlerden etkilenmektedir. Chang ve ark. (2001a), yapmış oldukları bir çalışmada tarçın (*Cinnamomum osmophloeum*) bitkisinin farklı iki kaynağından (A ve B) elde ettikleri ekstraktları karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında kullandıkları A grubu esansiyel yağı 10 ana aktif bileşik ile tarçının ana aktif bileşeni olan cinnamaldehyti içerirken (toplam aktif bileşenin %8'i) B grubu 8 ana etken bileşik ile birlikte cinnamaldehyti (toplam aktif bileşenin %76'sı) içermektedir. Çalışma sonucunda B grubunun 250 ila 500 ppm arasında değişen dozları çalışmada kullanılan 9 bakteri üzerinde güçlü antibakteriyel özellik gösterirken A grubu 1000 ppm'lik dozda kullanılmasına rağmen; ancak 2 bakteri üzerinde antibakteriyel etki gösterebilmiştir. Çalışma, aktif bileşikler arasında sinerjinin de antimikrobiyal etkide önemli rol oynadığını göstermiştir. Aynı çalışmada cinnamaldehytle ilişkili 5 aktif bileşiğin antimikrobiyal aktivitesinde test edilmiş, aldehit grupları ve grupların yan zincir uzunluklarının antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir.

Bitkisel uçucu yağların antibakteriyel özelliklerinin kanıtlanması bunların rumen ortamının manipasyonu için antibiyotiklere alternatif yem katkısı olarak kullanılabileceğini düşündürmüştür. Esasen BUY'ların ruminant yemlerinde kullanımı ile ilgili çalışmalar 1960'ların başlarında başlamış olmasına rağmen (Borchers, 1965; Oh ve ark., 1967, 1968; Nagy ve Tendergy,1968) 1970'lerin başında antibiyotiklerin hayvan beslemede kullanımının onayı ile çalışmaların sayısı giderek azalmış (Broderick ve Balthrop, 1979); ancak antibiyotiklerin 2006 yılında kullanımının yasaklanması ile birlikte bitkisel uçucu yağlar ile yapılan çalışmaların sayısı hızla artmıştır. CABI'nın (Commonwealth Agriculture Bureau International - UK) 2008 verileri 1991 yılı itibari ile hayvan bilimi alanı ile ilgili uluslar arası yapılan ve anahtar kelime olarak "essential oil"'in kullanıldığı referans sayısını 3174 olarak bildirmiştir.

Diğer taraftan bitkisel uçucu yağların pratikte kullanımında uçucu özelliği ve stabilitesindeki problemler sorgulanmaktadır. Bu nedenle yavaş serbestleşen ve stabilitesi sağlanmış bitkisel uçucu yağ formlarının eldesi ve etkinliği diğer önemli bir çalışma alanıdır. Bitkisel uçucu yağların rumende yavaş serbestleşme ve stabilitesinin sağlanması yanında özellikle rumende mikroorganizma ataklarıyla yaygın yıkımına ve dönüşüme uğraması da (Chizzola ve ark., 2004). ciddi bir sorundur. Bu sorunların giderilmesi için bitkisel uçucu yağlar kullanılmadan önce değişik işlemlere tabii tutulmakta; bitkisel uçucu yağların değişik materyallerle kapsüle edilmesi yada absorbe edilerek kullanılması bu işlemler arasında yer almaktadır.

Akdeniz iklim kuşağında yer alan ve tıbbi ve aromatik bitkilerce eşsiz zenginliğe sahip ülkemizde BUY ile ilgili araştırmaların artması kaynaklarımızın değerlendirilebilmesi adına önem taşımaktadır

Yapılan bu çalışma ile ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan, antibiyotiklere benzer etkilere sahip veya antimikrobiyal-rumen düzenleyici potansiyeli olduğu düşünülen uçucu yağ kaynaklarının ruminantlar için alternatif bir katkı maddesi olup olamayacakları yapılan *in vitro* tarama ve sonrasında yapılan *in vivo* çalışmalarla ortaya konmaya çalışılmıştır. Çalışmanın esasını bitkisel orjinli uçucu yağların uygun doz ve formlarının (kapsüllü, kapsülsüz) *in vitro* olarak

belirlenmesi oluşturmuştur. Bu kapsamda, ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan veya doğal ortamda yaygın olarak bulunan, kekik (*Tymus vulgare*), çörek otu (*Nigella sativa*), nane (*Mentha longifolia*), defne (*Laurus nobilis*), kişniş (*Coriandrum sativum*), rezene (*Foeniculum vulgare*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), kimyon (*Cumminum cyminum*), portakal (*Citrus cinensis*) kabuğu, üzüm (*Vitis vinifera*) çekirdeği, sarımsak (*Allium sativum*), anason (*Pimpinella anisum*), tarçın (*Cinnamomum verum*) ve iğde (*Eleagnus angustifolia*) uçucu yağlarının enerji kaynağı olarak kullanılan arpa, protein kaynağı olarak kullanılan soya fasülyesi küspesi ve selüloz kaynağı olarak kullanılan buğday samanının *in vitro* koşullarda rumendeki sindirilebilirlikleri üzerine etkileri ile en uygun form (kapsüle edilmiş veya edilmemiş) ve doz/dozları belirlenmiş ve sonrasında yapılan denemelerle süt sığırlarında bu bulgular test edilmiştir. Süt sığırı denemesinde *in vitro* denemelerin sonuçları doğrultusunda seçilen esansiyel yağların süt verimi, süt kompozisyonu (laktoz, kazein, süt proteini, yağ, üre), sütte somatik hücre miktarı, yem tüketimi, canlı ağırlık ve vücut kondüsyon skoru değişimi üzerine etkileri incelenerek, çalışmanın sadece *in vitro* olarak değil aynı zamanda *in vivo* olarak da uygulamaya yansıtılması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

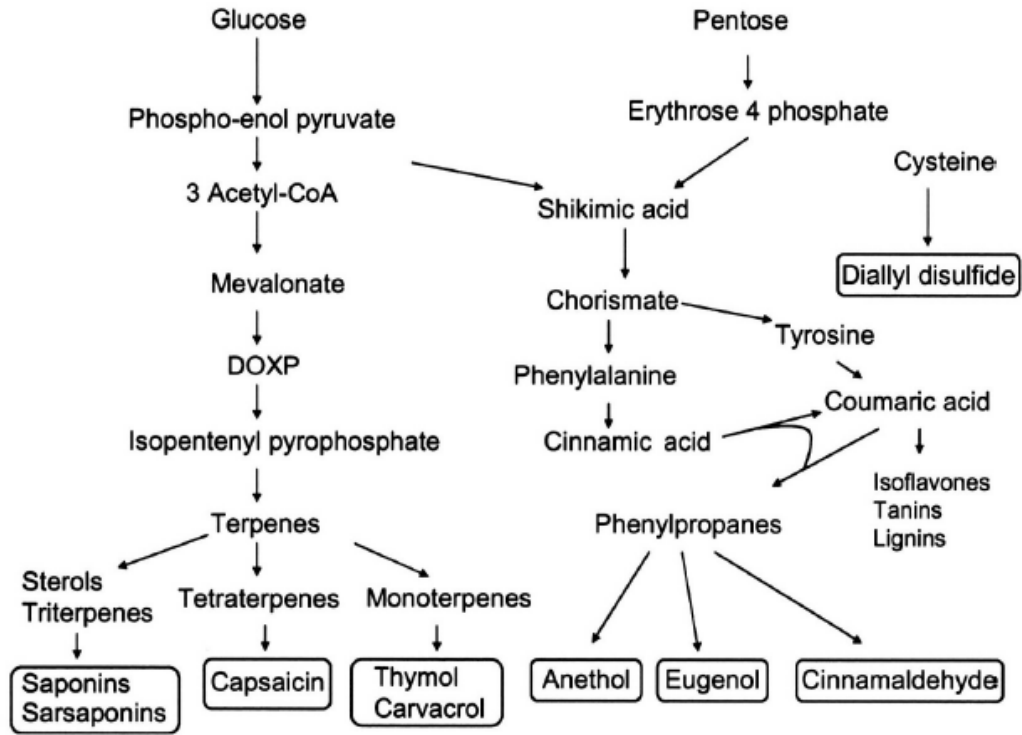
Bitkisel uçucu yağların antibiyotiklere alternatif olarak ruminantlarda kullanım olanaklarının araştırıldığı bu çalışmada, bitkisel uçucu yağların kimyasal yapısı, elde edilmesi, metabolizması ve fonksiyonları ile ruminant hayvanların rasyonlarında kullanımına ilişkin çalışmalara ait bilgiler aşağıda sunulmuştur.

2.1. Bitkisel Uçucu Yağların Kimyasal Yapısı, Eldesi, Antimikrobiyal Özelliği

Bitkiler; ikincil metabolizmaları sonucu çok çeşitli organik bileşikler üretmektedirler. Bu organik bileşikler esansiyel yağlar, saponinler ve taninler olarak 3 ana sınıfta toplanırlar (Calsamiglia, 2007a). Bunlardan esansiyel yağlar bitkilerin yaprak, tomurcuk, tohum, çiçek, kök gibi kısımlarından farklı metodlarla elde edilen kuvvetli kokulu, uçucu ve su buharı ile sürüklenebilen, oda sıcaklığında sıvı halde olup kolay kristalleşebilen bileşiklerdir. Bitkilerde genellikle böceklere karşı koruyucu görevlerinin yanı sıra stres koşullarına adaptasyon sağlama ve bitkilerde döllemeyi sağlayan arı gibi böcekleri çekme görevleri de vardır (Briskin, 2000, Marriott, 2000). Bitki uçucu yağları; bitki ikincil metabolitlerinin bir karışımı olup terpenoid ve fenilpropanoid olarak adlandırılan iki kimyasal grupta incelenirler.

Terpenoidler: Terpenoidler; hidrokarbonların geniş ve çeşitli sınıfını oluşturan terpenlerin yükseltgenmesi veya karbon iskeletinin düzenlenmesi gibi kimyasal değişimlerle meydana gelen bileşiklerdir. Terpenler biyosentetik olarak izopren birimlerden türetilirler, bu birimin kimyasal formülü C_5H_8 olup terpenlerin temel moleküler formülleri de bunun katlarıdır. İzopren birimlerinden oluşan zincirler büyüklüğüne göre hemiterpenler, monoterpenler, sesquiterpenler, diterpenler, triterpenler ve tetraterpenler şeklinde adlandırılırlar. Bitki aktif bileşenlerinin en geniş grubunu, sayı ve çeşitlilik bakımından terpenoidler oluşturmaktadır. Kekikteki *thymol* ve *carvacrol*, potakaldaki *limonen*, defnedeki *pinen* ve nanedeki *menthol* aktif bileşikleri terpenoidlere verilebilecek başlıca örneklerdendir.

Fenilpropanoidler: Fenilpropanoidler; bitki uçucu yağlarının terpenoidler kadar geniş olmayan aktif bişenler grubu olup bir aminoasit olan fenilalanin ve daha az oranda yine bir aminoasit olan tirozinden fenilalanin liaz ve tirozin liaz enzimleri etkisiyle oluşan, en az bir aromatik halkaya sahip organik yapıdaki maddelerdir (Vogt,2010). Anason ve rezenedeki *anethol*, tarçındaki *eugenol*, tarçın ve iğdedeki *cinnemaldehid* fenilpropanoidlere verilebilecek başlıca örneklerdendir. Terpenoidlerin ve fenilpropanoidlerin bitkideki sentez şeması Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Bitki ana aktif bileşenlerinin biyosentez şeması (Calsamiglia,2006)

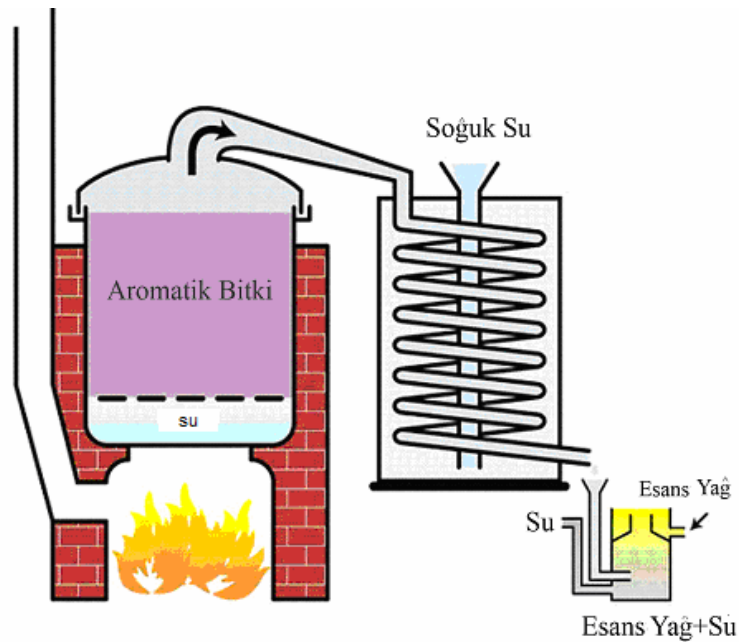
Bitkisel uçucu yağlar bitkide özel salgı hücreleri ve dokularında tutuldukları için kullanılmak üzere buldukları bu hücre ve dokulardan çıkartılmaları gerekmektedir. Bitkide buldukları kısmın doğal yapısına bağlı olarak uçucu yağların bir çok kimyasal ve fiziksel elde edilmiş şekilleri vardır. Bitkisel uçucu yağların elde edilmiş şekli; kaliteyi ve miktarı etkileyen önemli faktördür. Uçucu

yağlar bitkilerden, miktar, kararlılık ve bileşenlerine bağlı olarak değişik şekillerde elde edilebilmektedir.

Uçucu yağ elde etmede uygulanan yöntemler başlıca 4 grupta toplanır.

1. Destilasyon yöntemi
2. Mekanik yöntem (Presleme Yoluyla Uçucu Yağ Elde Edilmesi)
3. Anfloranj yöntemi (Ekstraksiyon Yoluyla Uçucu Yağ Elde Edilmesi)
4. Tüketme yöntemi (Çözücüyle Ekstraksiyon)

Bitkisel uçucu yağ elde etmek için en uygun yöntem su-buhar destilasyon yöntemidir (Şekil 2.2). Bu yöntemde, su ile bitkisel materyal elek şeklinde delikli plakalarla birbirinden ayrılmış olup bitkisel materyalin su ile doğrudan teması kesilmiştir. Bitki özlerine buhar basıncının uygulanması ile bitki özlerinin parçalanması sağlanır. Bu süreç içerisinde ortaya çıkan uçucu özellikteki esans yağlar ve su buharı, buhar kapağının ortasından çıkan bir boruyla soğuk su dolu bir havuzdan geçirilerek yoğunlaştırılır. Toplama kabında biriken, su ile birlikte esans yağlardır. Bu iki bileşiğin yoğunluklarının farklı olması nedeniyle düşük yoğunluktaki esans yağlar su üzerinden toplanır. Kalan su ise aromatik su olarak kullanılır (Anonymous, 2012).



Şekil 2.2. Su buharı destilasyon yöntemi

Bitki uçucu yağları yapılarında bulunan ve aktif bileşikler olarak adlandırılan kimyasal gruplar sayesinde rumen bakterilerini de içine alan birçok bakteri için antibakteriyel özellik taşımaktadırlar.

Bitki uçucu yağlarının antibakteriyel özellikleri yapılarındaki etkilil maddenin çeşidine, kimyasal yapısına ve miktarına bağlı olup bu özelliklerde bitkinin yetiştiği coğrafik bölge şartları, hasat zamanı ve bitki ekstraksiyon metodu gibi faktörlerden etkilenmektedir.

Vakou ve ark. (1993) dört farklı yükseklikteki bölgelerden (650 m, 550 m, 400 m, 260 m) çiçeklenme zamanında toplayıp, havada kuruttuktan sonra destile işlemine tabii tuttıkları kekik bitkisinin aktif madde içeriklerini inceledikleri çalışmalarında; kekiğin ana aktif bileşenlerinden olan *thymol* ve *carvacrol* miktarının bölgelere göre çok değiştiğini tespit etmişlerdir. Çalışmanın sonuçları Çizelge 2.1’de görülmektedir.

Çizelge 2.1. Farklı bölgelerden elde edilen kekiğin ana aktif bileşenleri (%)

<i>Constituent</i>	<i>Athos Peninsula</i> (650 m)	<i>Kriti Island</i> (550 m)	<i>Mount Taygetos</i> (400 m)	<i>Evoia Island</i> (260 m)
Thymol	46.7	0.8	30.0	90.2
Carvacrol	11.9	74.2	51.0	2.5
p-Cymene	12.0	9.1	7.6	3.8
γ -Terpinene	16.0	4.1	5.2	0.6
α -Thujene	0.8	1.0	0.5	
α -Pinene	0.6	1.0	0.2	
Camphene	0.1	0.1		
1-Octen-3-ol	0.4	0.2	0.7	0.7
3-Octanol	0.1	0.1	0.3	0.1
Myrcene	2.2	2.2	0.9	
α -Phellandrene	0.1	0.1	0.1	
α -Terpinene	2.5	1.2	0.9	
β -Phellandrene		0.3		
Limonene		0.2		
β -Phellandrene + limonene	0.3		0.1	
<i>trans</i> -Sabinene hydrate	0.7	0.6	0.7	0.4
Terpinolene			0.2	
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	0.4	0.2	0.2	0.1
Borneol	0.2	0.2	0.2	0.1
Naphthalene	0.4			0.2
Terpinen-4-ol		1.3	0.6	
α -Terpineol		0.1		
Methylthymol	3.5			
β -Caryophyllene	1.0	0.8	0.2	
Farnesene	0.1	2.2	0.4	
Caryophyllene oxide				1.3

Bölge farklılığından kaynaklanan kekiğin aktif madde içeriğindeki bu değişim aynı bitki türünde bile gözlenen antimikrobiyal etkinin farklılığının kaynağı olabilmektedir.

Araştırmacılar bitki uçucu yağlarının antibakteriyel etkilerini nasıl gösterdiklerine dair bir çok mekanizma rapor etmişlerdir (Hart ve ark., 2008). BUY'ların birçok aktif bileşikten oluşan bir karışım olmaları mekanizmaların çeşitliliğini açıklamaktadır. Bazı ikincil metabolitler (*thymol*, *carvacrol*) antimikrobiyal etkilerini mikroorganizmaların membran geçirgenliğini değiştirerek, bazıları membran proteinlerini etkileyerek (*cinnamaldehit*) yada direk stoplazmaya girerek buradaki stoplazmik komponentleri etkileyerek göstermektedirler (Benchaar, 2009). Mekanizmaların işlemesi ise genel olarak BUY'ların hidrofobik özellikleri ile açıklanmıştır. BUY hidrofobik özellikleri sayesinde bakterilerin hücre ve mitokondri lipid membranlarını etkileyerek ; hücre içi iyon dengesinin bozulmasına, zar geçirgenliğinin değişmesine, stoplazmik koagülasyona ve parçalanmaya neden olmaktadır (Griffin ve ark., 1999; Hart ve ark., 2008).. Bakterilerin hücre büyümesinde kullanabilecekleri enerjiyi membranlarında oluşan bozuklukları onarmak için kullanmaları büyümelerini yavaşlatmakta ve ölümlerine neden olmaktadır (Sikkema ve ark., 1994; Lambert ve ark., 2001; Ultee ve ark., 1999; Cox ve ark., 2001).

Gustafson ve ark. (1998), bitki uçucu yağlarının hücre otolizini uyarıcı etkiye sahip olduğunu bunu da hücre elektron yoğunluğunu azaltıp hücre yapısını bozarak ve stoplazmanın koagülasyonuna neden olarak gösterdiklerini elektron mikroskobu görüntüleri ile kanıtlamışlardır. Ayrıca bitkisel uçucu yağların bazı proteinlerin hidrofobik kısımlarını etkileyerek ve bu etki sonucu dekarboksilaz enzimi gibi önemli enzimleri işlevsiz bırakarak da antibakteriyel özelliklerini gösterdiklerini bildiren çalışmalar mevcuttur (Wendakoon ve Sakaguchi, 1995).

Bitkisel uçucu yağların antimikrobiyal etkileri Gram (+) bakteriler için seçicilik göstermektedir. Bu durum Gram (+) ve Gram (-) bakterilerin hücre zar yapısının farklılığı ile açıklanmıştır. Gram (-) bakterilerin dış zarı BUY'larına karşı bariyer görevi görür. Bu özellik onlara antimikrobiyallere karşı rezistanslık verir. Ancak küçük aktif bileşikler membranda bulunan porin proteinlerine bağlanarak

hücre içine sızabilmektedir. Bu durum BUY'ların bazı Gram (-) bakterilerini neden etkilendiğini açıklamaktadır.

2.2. Ruminant Hayvanlarda Bitkisel Uçucu Yağların Kullanımına İlişkin Çalışmalar

Sığırların mideleri diğer geviş getiren hayvanlarda olduğu gibi 4 bölmeden oluşmuştur. Bu midelerden en büyük kapasiteli olanı ve en işlevsel olanı ilk bölme olan işkembe (rumen) dir

Rumende yemlerin sindirimi mikro organizmalar tarafından gerçekleştirilir. Yüksek selüloz içeriği nedeniyle zor sindirilen kaba yemlerin sindirilip değerlendirilmesi de rumen mikroorganizmaları sayesinde gerçekleşmektedir. Normal bir rumen içeriğinin her ml'sinde 16-40 milyar arasında bakteri ve 200.000 civarında protozoa denilen mikroorganizma bulunmaktadır Rumen içeriğinin pH'ı 5.5-7.0 ve sıcaklığı da 39°C - 40°C arasında olmalıdır. Bu değerler mikroorganizmaların ürettiği çoğu enzimin iş görmesi için en uygun şartları oluşturur. Diğer birçok bakteri türünün üremesini önleyecek şekilde, rumen ortamında oksijen hemen hemen yok gibidir. Bu mikroorganizmaların oluşturduğu fermantasyonun son ürünleri olan uçucu yağ asitleri ve amonyak rumen duvarından emilirler.

Rumende çok sayıda bakteri ve protozoa türü vardır. Bunların türünü yenilen rasyonun özellikleri belirler. Örneğin kaba yem ağırlıklı beslenen bir ruminantta selülozu sindiren selülotik bakteriler baskın duruma geçerler ancak esas olan rumen mikroorganizmalarının denge durumunda olmasıdır. Rumen mikroorganizmaları karbonhidratları parçalayarak uçucu yağ asitleri (UYA) denilen bir kısım sindirim ürünlerine dönüştürürler. Yemin çeşidine (enerji yemi, protein yemi.) bağlı olarak da rumende üretilen ve sığırların başlıca enerji kaynağı olan bu uçucu yağ asitlerinin (asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit) toplam uçucu yağ asitleri içerisindeki oranları değişir. Rumen mikroorganizmaları proteinleri de önce parçalayarak amonyaka daha sonra da mikrobiyal proteine dönüştürürler. Rumen mikroorganizmalarının üre gibi protein olmayan azot kaynaklarını (NPN) kullanarak iyi kalite protein kaynaklarına

dönüştürme gibi önemli bir özellikleri daha vardır. Rumen ortamı mikroorganizmaların çoğalması için idealdir. Rumendeki bakterilerin yaşam ortamı yukarıda belirtildiği gibi belli koşulları gerektirir. Bu çevre koşullarının en önemlilerinden biri de pH dır. Rumen pH sını etkileyen ve bundan en çok etkilenen bakteriler selulozu parçalayan (selüloolitik) bakteriler ve nişastayı parçalayan bakterilerdir. Örneğin selüolitik bakteriler pH'nın 6'dan az olduğu ortamda çalışamazlar. Nişastayı parçalayan bakteriler (amilolitik) ise rumen pH sını hızla aşağıya çekerler. Anlaşılabacağı gibi selüloz ve nişasta kontrolü rumen pH sının kontrolünde çok önemlidir. Ayrıca proteini parçalayan (proteolitik) bakterilerin rumen pH sını yükseltme, yağ parçalayan bakterilerin ise düşürme etkisi vardır.

Rumendeki metabolizmanın düzenlenmesi verimin etkilenmesinde temel hareket noktasıdır. Bu nedenle ruminant hayvanlarda BUY'larla yapılan çalışmalarda rumen fermantasyonuna ait parametrelerin (mikroorganizma popülasyonu, pH, UYA, metan, amonyak, deaminasyon) BUY'lardan nasıl etkilendiği incelenmiş ve değerlendirilmiştir.

Bugüne kadar yapılan çalışmaların büyük bir çoğunluğunu *in vitro* koşullarda yapılan çalışmalar oluşturmuştur. 3000'i aşkın sayıdaki aromatik bitkinin *in vivo* olarak çalışılması hem pratik hem de teknik anlamda imkansız olduğundan, yapılan *in vivo* çalışmaların çoğu *in vitro* çalışma sonuçları referans alınarak yapılmıştır.

Esansiyel yağların rumen fermantasyonuna etkisini araştıran çalışmalardan ilki Oh ve ark. (1967, 1968) tarafından köknar yapraklarından ekstrakte edilen esansiyel yağ ile yapılmıştır. Çalışmalarında esansiyel yağın yapısındaki monoterpen hidrokarbon grubu bileşiklerin hem keçi hemde geyik rumen mikroorganizmaları üzerinde büyümeyi durdurucu etkisinin olduğunu ve bu etkinin keçi rumen bakterileri üzerinde daha fazla görüldüğünü bildirmişlerdir. Aynı çalışmada esansiyel yağın içeriğindeki monoterpen alkol grubunun rumen mikroorganizmaları üzerine inhibitör etki gösterdiğini yine bu etkinin keçi rumen mikroorganizmaları üzerinde daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. Oh ve ark.(1967, 1968) çalışmalarında esansiyel yağların her zaman inhibitör etki gösteremeyebileceğini; ancak mikroorganizmaların büyümelerini yavaşlatıcı etki gösterebileceklerini vurgulamışlardır..

Dorman ve Deans (2000) *limonenin* gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğunu 50 ve 500 mg/L lik dozlarının uçucu yağ asiti oranını düşürdüğünü ve bu dozların rumen bakterileri için toksik etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Evans ve Martin (2000), thymolün rumen bakterilerinden *Streptococcus bovis* (Gram+) ve *Selenomonas ruminantium* (Gram-)’un büyümesine ve laktat üretimine etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada; tymolün 45 µg/ml ve 90 µg/ml’lik dozlarının *S. bovis*’in büyümesine ve laktat üretimine hiçbir önemli etkisi olmadığını; ancak 180 µg/ml dozunun bakterinin büyümesini ve laktat üretimini tamamen inhibe ettiğini gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar *S.ruminantium*’un ise tymolün 45 µg/ml’lik dozundan çok az etkilendiğini, 90 µg/ml’lik dozunda ise büyümesini tamamen durduğunu rapor etmişlerdir.

Wallace ve ark. (2002) esansiyel yağların, farklı protein kaynaklarının yıkılabilirliğine etkisini araştırdıkları çalışmalarında soya, ayçiçeği, balıkunu, bezelye ve kolzanın yıkılabilirliğini Dacron bag tekniği kullanarak test etmişlerdir. Çalışmalarının sonunda yalnızca bezelyenin sindirilebilirliğinin içerisine esansiyel yağ eklenmiş yemle beslenen koyunlarla yapılan inkübasyonlarda azaldığını belirtmişlerdir.

Macintosh ve ark. (2003), thymol, eugenol, vanilin ve limonen aktif bileşiklerini içeren ticari esansiyel yağ karışımının rumen protein metabolizmasına etkisini araştırdıkları çalışmalarında; esansiyel yağ karışımının amino asit deaminasyonunu inhibe ettiğini (P<0.05) bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca çalışmalarında HAP (Hyper-Ammonia Producing Bacteria; amonyak üreten bakteri) bakterilerinin ve mayaların esansiyel yağ karışımına karşı oldukça hassas olduklarını gözlemlemişlerdir.

Cardoza ve ark. (2004), tarçın, sarımsak, kekik ve anasonun rumendeki asetat, propionat ve bütirat oranını değiştirdiğini, yuccanın peptid azotunu arttırdığını, bunu ya protein yapımını uyararak, ya da protein yıkımını engelleyerek yaptığını belirtmişlerdir. Ayrıca anason ve sarımsağın deaminasyonu engellediğini bildirmişlerdir. Ancak tüm bu etkilerin çalışmanın altıncı gününden sonra yok olduğunu, bunun muhtemel sebebinin rumen bakterilerinin bitkisel ekstraktlara

adaptasyon sağlamasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Çalışma sonunda bitkisel ekstraktların mikroorganizmalarda adaptasyon sağlayamayacak dozlarının belirlenmesinin çok önemli olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca kısa dönem *in vitro* çalışmaların sonuçlarının dikkatli değerlendirilmesi gerektiği zira bakterilerin BUY'a olan adaptasyon yeteneklerinin sonuçları etkilediğine vurgu yapılmıştır.

Newbold ve ark. (2004), esansiyel yağ (EO) karışımının (CRINA RUMINANTS, AKZO Nobel Surface Chemistry Ltd. İngiltere) rumen fermentasyonuna etkisini *in vitro* araştırmışlardır. Çalışmalarında, rumen sıvısını 4 kanüllü koyundan temin etmişlerdir. Koyunları her gün 110 mg esansiyel yağ tüketmesini sağlayacak şekilde beslemişlerdir.. Çalışma sonunda rumen pH ve amonyak konsantrasyonunun esansiyel yağ karışımından etkilenmediğini, toplam uçucu yağ asitlerinin ise artma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca çalışma sonunda protozoa sayısının ve rumen mikrobiyal protein sentezinin de EO'dan etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Cardozo ve ark. (2005), 90:10 kesif kaba yem oranlı besi yemleriyle yemlenen düvelerden alınan rumen sıvısı ile yaptıkları *in vitro* çalışmada, mikrobiyel fermentasyon üzerine 6 bitki ekstraktın (sarmısak, tarçın, yukka, anason, kekik, kırmızı biber) ve 3 sekonder bitki metabolitinin (saf *cinnamaldehit*, *anethole*, *eugenol*) 5 farklı dozda (0, 0.3, 3, 30 ve 300 mg/L) ve iki farklı pH (7.0 ve 5.5)'daki etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak pH 7.0'den 5.5'a düştüğünde; toplam uçucu yağ asitleri (TUYA), amonyak , dallı-zincirli uçucu yağ asitleri (UYA) konsantrasyonu, asetat oranı ile asetat:propiyonat oranının düştüğünü saptanmıştır. Araştırmacılar bitki ekstraktlarının yüksek dozunun TUYA konsantrasyonunu azalttığını ($p<0.05$) gözlemişlerdir. pH 7 olduğu koşullarda anethol, sarmısak, kırmızı biber ve cinnamaldehitin TUYA konsantrasyonunu azalttığını; anason, kekik, tarçın, kırmızı biber ve cinnamaldehitin asetat:propiyonat oranını arttırdığını ve dolayısı ile pH 7 olduğu zaman fermentasyon profili üzerine bitki ekstraktlarının etkisinin canlı ağırlık kazancını teşvik yönünde olmadığını bildirmişlerdir.. Aksine pH 5.5 olduğunda ise TUYA konsantrasyonu değişmemiş ya da artmış ve asetat:propiyonat oranı azalmıştır, yani bu durum fizyolojik koşulları canlı ağırlık kazancına etki edecek duruma getirmiştir. Çalışmada ruminal fermentasyon üzerine bitki ekstraktlarının

etkilerinin ruminal pH'ya bağlı olarak değişebildiği, pH 5.5 olduğu zaman sarımsak, kırmızı biber, yucca ve cinnamaldehydin ruminal mikrobiyal fermentasyonunu propiyonat lehine değiştirdiği ve böylece daha fazla enerji etkinliği sağlanacağı bildirilmektedir.

Castillejos ve ark. (2006) *in vitro* yaptıkları çalışmada limonen (portakal kabuğu aktif bileşeni) 500 mg/L'lik dozunun rumen amonyak ve uçucu yağ oranını azalttığını propiyonat oranını değiştirmedeğini tespit etmişlerdir.

Benchaar ve ark. (2006a), günde inek başına 2 g esansiyel yağ ilaveli yemleri kullandıkları çalışmalarında esansiyel yağ ilavesinin ADF sindirilebilirliğini ve ruminal pH'yı artırdığını, ham protein sindirilebilirliğini, rumen amonyak azotu konsantrasyonunu etkilemediğini saptamışlardır. Ayrıca esansiyel yağ ilavesinin süt kompozisyonu ve süt yağasitleri profili ile bireysel UYA molar oranı ve TUYA konsantrasyonu üzerine etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.

Dziba ve ark. (2006), kuzularda 1,8 Cineol'in intravenöz enjeksiyonu (40 mg/kg canlı ağırlık) ya da kapsül olarak rumene konulmasının (125 mg/kg canlı ağırlık) yem tüketimini azalttığını ve kuzuların 1,8 Cineol kapsüllerine daha hızlı adapte olduklarını bildirmişlerdir.

Busquet ve ark. (2006), farklı dozlarda (3, 30, 300, 3000 mg/L) 12 bitkisel ekstrakt (anason, ardıç, kırmızıbiber, tarçın, karanfil, dereotu, çemen, sarımsak, zencefil, kekik, çay ağacı, yukka) ve 6 aktif bileşiğin (anethol, carvacrol, carvone, cinnamaldehyde, eugenolbenzyl salicylate) rumen mikrobiyal fermentasyonuna etkisini *in vitro* olarak araştırdıkları çalışmalarında ardıç, kırmızı biber, dereotu, çemen, zencefil ve yukka dışındaki tüm yağların toplam uçucu yağ konsantrasyonunu değiştirdiğini gözlemişlerdir. Anethol ve carvone aktif bileşikleriyle çay ağacı ve anason bitkisel ekstraktlarının propiyonat ve asetat oranlarını azalttığını, sarımsak ve benzyl salicylatın 300 ve 3000 mg/L'lik dozlarının propiyonat ve bütirat oranlarını arttırırken asetat oranını azalttığını bildirmişlerdir.

Calsamiglia ve ark. (2007a), eugenolun etkisini iki tip yem kullanarak *in vitro* test ettikleri çalışmada 60:40 kaba kesif oranlı süt ineği yemi (yonca samanı, mısır, arpa ve SK) kullanıldığında eugenolun amonyak azotunu ve dallı zincirli yağ asitlerinin konsantrasyonunu düşürdüğünü ve deaminasyonu inhibe ettiğini

bildirmişlerdir. Buna karşın rasyon besi tipine değiştirildiğinde (10:90 kaba:kesif yem) eugenolun toplam uçucu yağ konsantrasyonunu ve propionat oranını azalttığı asetat ve asetat:propionat oranını arttırdığını saptamışlardır. Ancak bu fermantasyon profilinin besideki hayvanlarda önerilmez iken laktasyondaki ineklerde eugenolun rumende uçucu yağ asiti miktarını, profilini ve N kullanım etkinliğini artırıcı olabileceğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada eugenolun 5mg/L'lik dozunun NDF sindirilebilirliğini arttırdığı 50mg/L'lik dozunun ise KM ve OM sindirilebilirliğini arttırdığını gözlemlemişlerdir.

Lourenço ve ark (2008), ruminantlarda kaba yem kaynağı olarak kullanılan İngiliz çiminin (*Lolium perenne*) uzun zincirli yağ asitlerinin rumendeki biyohidrojenizasyonuna bazı bitki aktif bileşiklerinin etkisini araştırdıkları çalışmalarında; bitki aktif bileşikleri olarak saponin (500 ve 1000 mg/L), quercetin (250 ve 500 mg/L), eugenol (250 mg/L) ve cinnamaldehid (500 mg/L) ile pozitif kontrol olarak monensini (12 mg/L) kullanmışlardır. Çalışmaları sonunda cinnamaldehydin toplam uçucu yağ konsantrasyonunu ve yağ kütlesi içindeki tek ve dallı zincirli yağ asiti oranını düşürdüğünü ($P < 0.05$) bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca cinnamaldehydin C18:2n-6 ve C18:3n-3 biyohidrojenizasyonunu azalttığını ve C18:2n-6 biyohidrojenizasyonunun normal bilinen yolundan kayma meydana getirerek C18:1 *trans-10* ve *trans-10* ,*cis-12* CLA oluşumunu arttırdığını; ancak diğer aktif metabolitlerin rumen yağ asiti metabolizmasına herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Spanghero ve ark. (2008), içeriğini mercan köşk, tarçın, kekik ve portakal kabuğu yağlarının oluşturduğu esansiyel yağ karışımının değişik dozlarının (160, 320, 480 ve 640 ppm) rumen fermantasyonuna etkisini inceledikleri çalışmalarında iki farklı rumen sıvısı (süt ineği ve kasaplık sığırdan temin edilen) kullanmışlardır. Çalışmaları sonunda her iki rumen sıvısı ile yapılan inkübasyonlarda rumen pH'sının ve amonyak konsantrasyonunun fermantasyonun başlangıç değerlerine göre düşük olduğunu, süt ineklerinden alınan rumen sıvısı ile yapılan fermantasyonlarda uçucu yağ üretimi (138mM'den 120 mM'e $P < 0.01$) ve asetat, propionat oranı (4.3'ten 3.6'ya $P < 0.01$) düşerken, bütirat üretiminin fermantasyonun en düşük pH değerinde arttığını (16.2 mM'den 22.4 mM) bildirmişlerdir. Kasaplık sığırdan alınan rumen

sıvısı ile yapılan fermentasyonlarda ise uçucu yağ üretiminin (132mM'den 111 mM'e $P<0.01$) ve asetat, propionat oranının (3.2'den 2.5'e $P<0.01$) düştüğünü bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca farklı pH'larda esansiyel yağların etkilerinin farklı olduğunu ve pH ile esansiyel yağlar arasındaki interaksiyonun özellikle asetat üretiminde kendini gösterdiğini ve düşük pH'larda esansiyel yağların seçici toksik etkili olduklarını bildirmişlerdir.

Bodas ve ark. (2009) altı bitkinin (*Cordus pycnocephalus*, *Populus tremula*, *Prunus avium*, *Quercus robur*, *Rheum nobile*, *Salix coprea*) rumende metan oluşumu üzerine etkisini *in vitro* araştırdıkları çalışmalarında; yonca ile beslenen keçiden alınan rumen sıvısı ile 500 mg KM (%50 yonca samanı, %40 kuru ot ve %10 arpa) ve 50 mg kurutulmuş bitkiyi 24 saat süre ile inkübe etmişler ve inkübasyon sonrası toplam gaz, metan ve uçucu yağ asiti üretimi ile asetat propionat oranı ve kuru madde sindirim parametrelerine bakmışlardır. Çalışmaları sonucu tüm bitkilerin metan üretimini kontrole göre düşürdüğünü ($P< 0.001$) ancak gaz üretimi, pH ve fermentasyon verimliliğinin hiçbir bitkiden etkilenmediğini gözlemişlerdir. Metan üretimindeki düşüşün %162lara kadar ulaşan değer ile en fazla *Rheumnobile* bitkisinde görülmüş olduğunu belirten araştırmacılar ayrıca bu bitkinin kuru madde sindirimini uyarıcı etkisi yanında ($P<0.05$) propionat ve asetat oranını artırıcı etkisini de gözlediklerini bildirmişlerdir.

Benchaar ve Chouinard (2009), cinnamaldehyde, tanin ve saponin aktif bileşiklerinin süt yağ asiti kompozisyonuna etkisini *in vivo* araştırdıkları çalışmalarında sırasıyla 1g/gün,150g/gün ve 60g/gün dozlarını 4 süt ineği ile 28 günlük periyotta test etmişlerdir. Çalışmaları sonunda sadece saponinli grubun süt örneklerinde yağ asiti profilinin çok az değiştiğini diğer aktif bileşiklerde ise bir etkinin tespit edilemediğini belirtmişlerdir.

Soltan ve ark. (2009), mentol, nane yağı ve ökaliptus yağı karışımından oluşan bir katkıyı içme suyuna, 0, 16 mg, 32 mg, 48 mg/L düzeyinde ilave ederek kullanmışlar çalışma sonucunda süt sığırlarında 16 mg/L dozun özellikle süt üretim etkinliğini (süt verimi/yem tüketimi) ve protein verimini önemli düzeyde artırdığını, , süt yağını ve laktozunu etkilemediğini saptamışlardır. Ayrıca araştırmacılar yüksek

dozda kullanılan esansiyel yağların verimlilik ve rumen parametrelerini de negatif etkilediğini gözlemlemişlerdir.

Tassoul ve Shaver (2009) uçucu yağ karışımından oluşan katkının (*thymol*, *eugonol*, *pinene*, *limonene*, *cinnemaldehit*, *capsaisin*, *terpinen*, *allisin*, ve *anethol*) kuru dönemde ve laktasyonun başında kullanılmasının hem kuru dönemdeki ineklere hemde laktasyondaki ineklere önemli bir katkısının olmadığını saptamışlardır.

Kamel ve ark. (2009), sarımsak yağının farklı dozlarını (0, 20, 60, 180, 540 mg/L) iki farklı rasyon (500:500 yonca samanı:konsantre yem, 150:850 arpa samanı:konsantre yem) ve koyun rumen sıvısı ile inkübe ederek rumen fermantasyonuna etkisini *in vitro* araştırdıkları çalışmalarında sarımsak yağının pH ve amonyak azotuna hiçbir etkisinin gözlenmediğini; ancak sarımsak yağı x rasyon interaksyonunun birçok parametreyi etkilediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar yüksek kesif yemli inkübasyonlarda sarımsak yağının 20, 60, 180 ve 540 mg/L dozlarının metan üretimini kontrole göre sırasıyla %9.6, %91, %75 ve %38 azalttığını (P<0.001) toplam uçucu yağ asiti miktarını etkilemediğini bildirmişlerdir. Sarımsağın 60, 180 ve 540 mg/l'lik dozları orta düzeyde kesif yemli inkübasyonlarda metan üretimini kontrole göre sırasıyla %87.58 ve %36 oranında azaltırken (P<0.001), 20 mg/L dozu bütirat üretimini arttırmıştır (P<0.05). Araştırmacılar ayrıca orta düzeyde kesif yem içeren rasyonla yapılan inkübasyonlarda dozun artması ile birlikte asetat ve asetat:propionat oranının linear olarak azaldığını (P<0.001) propionat oranının ise arttığını bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca hidrojen tutulmasının artan dozla linear olarak azaldığını bildirmişlerdir.

Taghavi ve ark. (2010) *Zataria multiflora* (İran'da yetişen ve kekiği andıran bitki) bitkisinin rumen hiper amonyak bakterilerine olan etkilerini araştırdıkları çalışmalarının ilk bölümünde bitkinin 0, 150, 300 ve 450 mg/L dozlarını kullanmışlar ve bitkinin artan dozuyla birlikte bakterilerin büyümelerinin önemli ölçüde inhibe edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarının ikinci bölümünde bitkinin daha düşük dozlarının (0, 100, 150, 200 mg/L) amonyak üretimi ve amonyak konsantrasyonuna etkisini araştırmışlar ve bu parametrelerin önemli ölçüde (%44'ten %33'e) azaldığını gözlemlemişlerdir.

Lu ve ark. (2010) sarımsağın iki formu (normal ve kokusu giderilmiş form) ve 5 dozunun (30, 50, 100, 300, 500 mg/L) rumen fermantasyonuna etkisini *in vitro* araştırdıkları çalışmalarında normal sarımsağın kokusu alınmış olana göre daha güçlü etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Normal sarımsağın metan üretimini, asetat oranını ve amonyak azotunu önemli düzeyde ($P<0.01$) azalttığını, propionat oranının ($P<0.05$) artırdığını gözlemlemişlerdir. Tüm bu değişimleri ise esansiyel yağın rumen mikroorganizma popülasyonunu değiştirerek gösterdiğini savunmuşlardır.

Kongmun ve ark. (2010), hindistan cevizi yağı (Co), sarımsak tozu (G) ve bunların karışımının (Co:G) rumen fermantasyonuna etkisini gaz üretim tekniği kullanarak test ettikleri çalışmalarında 0:0, 16:0, 8:4, 4:8 and 0:16 mg (Co:G) dozlarını ve yem hammaddesi olarak pirinç samanı ve konsantre yemden oluşan yem karışımını kullanmışlardır. Çalışma sonunda 16 mg'lık G uygulamasının amonyak azotunu azaltırken ($P<0.05$), *in vitro* gerçek sindirilebilirliği artırdığını ($P<0.05$), buna karşılık 16 mg Co uygulamasının sindirilebilirliği azalttığını ve en düşük toplam uçucu yağ asiti değerinde 16 mg'lık G uygulamasında gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Buna karşılık Co:G, 8:4, 4:8 ve 0:16 mg uygulamalarında propionat oranının artma eğiliminde, asetat/propionat oranının ve metan üretiminin ise azalma eğiliminde olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmacılar ayrıca kontrole göre tüm dozlarda protozoa sayısının düşük olduğunu bildirmişler en düşük protozoa sayısını ise Co:G, 8:4 mg uygulamasında tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca aynı uygulamada (Co:G, 8:4 mg) selülitik bakterilerden olan *Ruminococcus albus* sayısında önemli derecede artma ($P<0.05$) olduğunu buna karşın yine selülitik bakteri gurubundan olan *Fibrobacter succinogenes* ve *Ruminococcus flaveciens* sayısında tüm dozlarda kontrole göre istatistikî olmasa da sayısal olarak azalma olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar çalışmaları sonunda Co:G at 8:4 and 0:16 mg uygulamalarının toplam uçucu yağ, metan üretiminde ve protozoa sayısında azalma sağlama açısından alternatif olarak kullanılabileceğini önermişlerdir.

Mishra ve ark. (2010), bazı bitki aktif bileşiklerinden olan carvacrol, cinnamaldehyd, eugenol, pulegon ve thymolün 0.75 ve 4 mM/L arasında değişen dozlarının rumen uçucu yağ asitlerine ve *Salmonella typhimurium* DT104 (STyphi)

bakterilerine etkisini araştırdıkları çalışmaları sonunda pulegone dışındaki tüm bitkisel uçucu yağ aktif bileşiklerinin STyphi'nin büyümesini %40'a varan oranlarda düşürdüğünü ($P<0.0001$) bildirmişlerdir. Araştırmacılar cavracrol ve thymolün yüksek dozunun toplam uçucu yağ asiti üretimini de %37'ye varan oranlarda düşürdüğünü belirlemişlerdir.

Santos ve ark. (2010), ana içeriği eugenol, geranyl asetat ve kişniş yağı olan esansiyel yağ karışımının süt ineklerinin performans, idrar azotu ve süt kompozisyonu değerlerine etkisini inceledikleri araştırmada incelenen parametrelerden sadece vücut kondüsyon skoru ile süt yağı ve süt enerji içeriğinin esansiyel yağ karışımından istatistiki ($P<0.01$) olarak etkilendiğini bu değerlerden vücut kondüsyon skorunun esansiyel yağ ile yemlenen hayvanlarda kontrolle beslenenlere göre düşük olduğu ancak diğer iki parametrenin kontrol gurubundakilere göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Yang ve ark. (2010), cinnamaldehydin (CIN) besideki sığırların büyüme performansı, karkas özelliği ve kan parametrelerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında cinnamaldehydin 3 farklı dozunu (400, 800 ve 1600 mg CIN/gün/hayvan) normal kontrol grubu (katkısız) ve pozitif kontrol grubu (330 mg monensin/gün/hayvan) ile test etmişlerdir. 112 günlük çalışmalarının ilk 28 gününde kuru madde tüketiminin CIN'den quadratik olarak etkilendiğini ($P=0.03$) ve bu süre boyunca cinnamaldehyd alan gruplarda yem tüketiminin ortalamaya göre %13 arttığını; ancak bu etkinin tüm deneme periyodu düşünüldüğünde %4 olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ortalama günlük canlı ağırlık kazancının CIN'den denemelerinin ilk 28 gününde yine quadratik olarak ($P=0.08$) etkilendiğini ancak bu etkinin tüm deneme boyunca sürmediğini bildirmişlerdir. Cinnamaldehydin yemden yararlanma oranını ise çalışmanın ilk 28 günü linear olarak azaltarak etkilediğini, bu etkinin denemenin 29-56 ve 85-112 günleri arasında ise quadratik olarak görüldüğünü bildirmişlerdir. Serum NEFA konsantrasyonunun ise denemenin 56., 84. ve 112. günü alınan örneklerde sırasıyla %35, %29, %30 ve tüm ortalamada %22 oranında ($P=0.05$) düştüğünü bildirmişlerdir. Serum amoloid A'nın yine 28 günlük periyotta CIN'nin 800, 1600 mg'lık dozuyla sırasıyla %56 ve %60 oranlarında

azaldığını ayrıca CIN'nin artan dozuyla birlikte lipopolisakkarit binding protein konsantrasyonunun da linear olarak azaldığını(P=0.05) bildirmişlerdir.

Ozturk ve ark. (2012) , zeytin yaprağı ekstraktının % 50 kaba yem % 50 konsantre yemden oluşan bir rasyonun *in vitro* fermantasyonu üzerine etkilerini araştırmışlar ve bu etkileri monensinin etkileri ile karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında rumen simulasyon tekniği (RUSITEC) kullanılarak rusitec sistemde 8 fermenterle çalışmışlardır. Bunlardan ilk ikisine günlük 150 mg (OLE-H), diğer ikisine ise günlük 15 mg (OLE-L) zeytin yaprağı ekstraktı ilave etmişlerdir. Kalan 4 fermenterden ikisine günlük 5 mg monensin (MON, pozitif kontrol) ilavesi yapılırken, son iki fermentere hiçbir ilave yapılmayıp kontrol (CTR) olarak kullanmışlardır.. Yedi günlük adaptasyon fazından sonra, 7 gün boyunca temel fermantasyon parametreleri belirlemişlerdir. Deneme grupları arasında pH ve organik madde sindirilebilirliği açısından istatistiksel bir farklılık bulunmazken MON propiyonat üretimini istatistiksel olarak belirgin bir şekilde arttırdığını (p < 0,05), asetat ve bütirat üretimleri, asetatın propiyonata oranı, protozoa sayısı ve NH₃-N konsantrasyonunu ise belirgin bir şekilde azalttığını (p < 0,05). belirtmişlerdir CTR ile karşılaştırıldığında, OLE'nin her iki konsantrasyonunun da toplam uçucu yağ asidi (UYA) ve propiyonat üretimlerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırdığını (p < 0,05),. ancak OLE-H'nin bütirat üretimi ve toplam protozoa sayısını azalttığını (p < 0,05) bildirmişlerdir .Araştırmacılar çalışmalarının sonuçlarına dayanarak zeytin yaprağı ekstraktının bazı rumen fermantasyon parametreleri üzerinde olumlu etkiler oluşturduğunu, dolayısıyla rumendeki fermantasyon verimliliğini artırabileceğini söylemişlerdir.

Kholif ve ark. (2012) sarımsak, tarçın ve zencefil uçucu yağlarının bazı rumen ve kan parametreleri ile süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında sağmal 28 domescus süt keçisi doğum yaptıktan 7 gün sonra 90 günlük denemeye alınmıştır. Deneme 4 gruptan oluşturulmuş olup 1. Grubu (kontrol grubu) 40:60 konsantre yem karışımı ile beslenen, 2. Grubu kontrol yemi + 2ml/baş/gün sarımsak yağı, 3. Grubu kontrol yemi + 2ml/baş/gün tarçın yağı ve 4. Grubu kontrol yemi+2ml/baş/gün zencefil yağı ile beslenen deneme hayvanları oluşturmuştur. Çalışmalarının sonunda yem katkıları alan gruplarda ,rumen uçucu

yağ asitleri ve propiyonat miktarının arttığını, asetat miktarı ve amonyak azotu konsantrasyonunun azaldığını bildirmişlerdir. Tarçın ve sarımsak alan gruplarda kan serum proteini ve glukoz konsantrasyonu artarken üre azotu ve kolesterol konsantrasyonu azalmıştır. Çalışma sonuçları katkılı gruplarda süt veriminin, süt protein ve yağsız kuru maddesinin kontrole göre önemli düzeyde ($P < 0.05$) arttığını ancak sütün yağ yüzdesi ve NPN(Non-protein nitrogen) miktarının azaldığını ($P < 0.05$) göstermiştir. Deneme sonuçlarına göre sütün doymamış yağ asiti içeriği (özellikle C18:1n9c ve CLA) önemli düzeyde ($P < 0.05$) artmıştır. Tarçın yağı alan grupta yağ asitlerinden C18:3N3 ve C18:3N6 (omega 3 and omega6) miktarının diğer deneme gruplarına göre arttığı bildirilmiştir.

Morsy ve ark (2012), anason, karanfil ve ardıç uçucu yağlarının bazı rumen ve kan parametreleri ile süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında sağmal 28 süt keçisini doğum yaptıktan 7 gün sonra 90 günlük denemeye almışlardır. Deneme gruplarını 1.grup: kontrol grubu (yağsız grup) 2.grup: 2ml/baş/gün anason yağı., 3.grup: 2ml/baş/gün karanfil yağı ve 4.grup: 2ml/baş/gün ardıç yağı ile beslenen deneme hayvanları oluşturmuştur. Çalışma sonucuna göre uçucu yağlar rumen toplam uçucu miktarını arttırırken, amonyak azotunu azaltmışlardır. Kan parametrelerinden serum toplam proteini yüksek bulunurken kan üre azotu ve kolesterol konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine uçucu yağların önemli bir etkisi gözlenmezken süt NPN içeriği uçucu yağ ilaveli gruplarda kontrole göre azalmış, süt proteini ise artmıştır. Süt yağ asiti kompozisyonunun ise yalnızca ardıç yağından etkilendiğini ve ardıç yağı ile C18:3N3 (omega 3) ve CLA miktarının arttığını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan Materyali

3.1.1.1. Çalışmanın *in vitro* Kısımının Hayvan Materyali

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edilen ve ortalama ağırlıkları 500 kg olan üç Siyah-Alaca kısır inek çalışmada hayvan materyali olarak kullanılmıştır. Hayvanlar, %60:40 kesif:kaba yem içeren TMR ile yemlenmiştir. Çalışmaya başlamadan bir ay önce rumen sıvısının temini için hayvanlara kanül takılmıştır.

3.1.1.2. Çalışmanın *in vivo* Kısımının Hayvan Materyali

Rasyonda tarçın (60ppm), sarımsak (30 ppm) ve defne (90 ppm) uçucu yağlarının kullanıldığı birinci *in vivo* denemenin hayvan materyalini Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edilen ve süt verimleri 25.19 ± 0.73 kg, laktasyon sayıları 2.03 ± 0.19 , laktasyondaki gün sayıları 68.1 ± 5.8 gün, canlı ağırlıkları 501 ± 9.12 kg ve vücut kondüsyon skorları 2.99 ± 0.06 olan 28 baş Siyah Alaca süt ineği oluşturmuştur.

Rasyonda kekik (108 ppm), iğde (108 ppm) ve portakal kabuğu (108 ppm) uçucu yağlarının kullanıldığı birinci *in vivo* denemenin hayvan materyalini ise Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edilen ve süt verimleri 23.15 ± 0.55 kg, laktasyon sayıları 2.07 ± 0.21 , laktasyondaki gün sayıları 120.96 ± 5.75 gün, canlı ağırlıkları 513.43 ± 9.37 kg ve vücut kondüsyon skorları 2.77 ± 0.03 olan 28 baş Siyah Alaca süt ineği oluşturmuştur.

3.1.2. Yem Materyali

3.1.2.1. Çalışmanın *in vitro* Kısmının Yem Materyali

Araştırmada yem materyali olarak Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edilen buğday samanı, arpa ve soya küspesi kullanılmıştır. Yemler kullanılmadan önce 1mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüştür. Buğday samanı, arpa ve soya küspesinin besin madde içeriği Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Yem Materyali Olarak Kullanılan Buğday Samanı, Soya Küspesi ve Arpanın Besin Madde İçeriği

İçerik (%)	Buğday Samanı	Soya Küspesi	Arpa
Kuru Madde	91.89	92.08	90.30
Organik Madde	85.80	84.72	86.64
Ham Protein	2.85	41.46	11.89
Ham Kül	6.09	7.36	3.66
Ham Yağ	1.82	1.84	1.66
ADF	50.34	10.47	8.84
NDF	72.52	11.53	20.09
Ham selüloz	42.52	5.58	6.58
Azotsuz Öz Maddeler*	38.61	35.94	66.51

* Azotsuz Öz Madde = Kuru Madde-(Ham Protein+Ham Kül+Ham Yağ+Ham Selüloz)

3.1.2.2. Çalışmanın *in vivo* Kısmının Yem Materyali

Çalışmanın *in vivo* kısmında gerçekleştirilen iki denemede de aynı besin içeriğine sahip yem kullanılmıştır. Kullanılan kesif yemler özel bir yem fabrikasında hazırlanmıştır. Kontrol ve muamele gruplarının kesif yem hammadde kompozisyonları aynı olup gruplardaki farklılığı; uçucu yağları içeren ve her bir uçucu yağın kullanılacağı doza göre kesif yeme ilave edilen killerin miktarı olmuştur. Buna göre 1. denemede kullanılan sarımsak, tarçın ve defne uçucu

yağlarını içeren killer muamele gruplarına sırasıyla 0.50 kg, 0.72 kg ve 1.73 kg katılmıştır. Miktarların belirlenmesi aşağıda verilen örnek hesaba göre yapılmıştır.

Örneğin sarımsağın 50 ppm dozu için; 0.5 kg sarımsak uçucu yağı içeren kil x %10.04 (kildeki uçucu yağ miktarı)=0.05 kg=50000 mg. 1000 kg kesif yemde 50000 mg =50 ppm (1000 kg TMR'de ise 30000 mg= 30 ppm) olarak hesaplanmıştır.

İlk denemedeki uçucu yağların *in vivo* çalışmada herhangi bir farklılık yaratmaması ikinci *in vivo* çalışmada kullanılan kekik, iğde ve portakal kabuğu uçucu yağlarının rasyonda daha yüksek düzeyde kullanılmasını gündeme getirmiştir. Bu nedenle ikinci çalışmada kullanılan kekik, iğde ve portakal kabuğu uçucu yağlarını içeren killer karma yeme sırasıyla 1.80 kg, 1.80 kg ve 2.60 kg düzeyinde katılmıştır. Bu şekilde karma yemde uçucu yağlara ait dozlar 180 ppm'e çıkartılmıştır. Örneğin portakal kabuğu uçucu yağı için;

2.6 kg portakal kabuğu uçucu yağı içeren kil x %6.9 (kildeki uçucu yağ miktarı)=0.18 kg=180000 mg .1000 kg kesif yemde 180000 mg =180 ppm [1000 kg TMR' de ise dozlar yaklaşık 108000 mg= 108 ppm] olarak ayarlanmıştır.

Araştırmada tam yemleme (TMR) sistemi uygulanmış ve TMR içeriğinin %40'ını patozlanmış yonca kuruotu, %60'ını ise kesif yem oluşturmuştur. Günlük olarak hazırlanan TMR'ler sabah 07.00 ve öğleden sonra 16.00'da olmak üzere iki öğün şeklinde hayvanlara verilmiştir. Hayvanlara verilen günlük yem miktarları gözlenerek yemliklerde ortalama %5 tüketilmeyen yem kalması sağlanmıştır.

Araştırmada kullanılan kesif yemlerin yapısı ve besin madde içeriği ile yonca kuruotu'nun besin madde içeriği Çizelge 3.2'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2. *In vivo* Denemelerde Kullanılan TMR'lerin Hammadde ve Besin Madde Kompozisyonları

Ham Madeler	1.Deneme	2.Deneme	
Arpa	210.00	210.00	
Mısır kepeği	162.72	162.72	
Ayçiçeği küspesi	102.00	102.00	
Mısır	90.00	90.00	
Soya fasülyesi küspesi	13.75	13.75	
Mermer tozu	11.89	11.89	
DCP	4.79	4.79	
Tuz	4.25	4.25	
Vitamin mineral karışımı	0.6	0.6	
Uçucu yağ içeren kil	*	**	
Yonca kuru otu	400.00	400.00	
Besin Madde İçeriği, %	TMR		Yonca Kuruotu
Kuru madde	90.84	89.31	91.10
Ham protein	15.50	15.05	13.80
Ham yağ	2.31	2.31	0.88
NDF	31.54	31.84	47.46
ADF	22.68	22.30	42.89
HS	20.56	19.58	36.71

*1. denemede kil %10.04 sarımsak, %13.81 tarçın ve %8.66 defne uçucu yağları içermektedir ve TMR'de ton yemde kontrol grubunda, 0 kg kil; sarımsak grubunda 0.30 kg kil; tarçın grubunda 0.42 kg kil; defne grubunda 1.04 kg kil kullanılmıştır.

** 2. denemede kil, %9.85 kekik, %10.35 iğde ve %6.90 portakal kabuğu uçucu yağı içermektedir. TMR'de ton yemde kekik grubunda, 1.08 kg kil; iğde grubunda, 1.08 kg kil; portakal kabuğu grubunda, 1.56 kg kil kullanılmıştır.

3.1.3. Yem Katkılarının Eldesi ve Özellikleri

3.1.3.1. Çalışmanın *in vitro* Kısımında Kullanılan Yem Katkılarının Özellikleri

3.1.3.1.(1) Birinci *in vitro* Deneme

Denemede kullanılan bitkisel uçucu yağlar Doğa Bitki Ürünleri Gıda San. ve Tic. Ltd. Şti.'den (Antalya) temin edilmiştir. Bitkisel uçucu yağların kimyasal analizi Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi İşleme Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Analizden önce bir damla örnek 1 ml hegzanda çözdürülmüş ve gaz kromatografında incelenmek üzere hazır hale getirilmiştir. 1 µL örnek GC-MS'e enjekte edilmiş ve

analiz edilmiştir. Analizde Perkin Elmer Clarus 500 GC/MS sistemi ve ZB-5 MS kolonu (30 m uzunluk, 0.25 mm iç çap, 0.25 µm film kalınlığında kapillar kolon) kullanılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak akış hızı dakikada 10 ml olan Helyum (He) gazı kullanılmıştır. Analizde enjektör sıcaklığı 240 °C, GC' nin sıcaklığı 60 °C 'de 10 dak. ve ve 4 °C' lik artışlarla 220 °C'ye ulaşılmış ve bu sıcaklıkta 10 dak. tutulmuştur. Daha sonra her 10 dakikadaki 4 °C' lik artışlarla 250 °C' ye varılmış ve 20 °C/dk. Bekletilmiştir. Uçucu yağlardaki aktif bileşenlerin karakterizasyonu elektronik kütüphaneler (WILEY, NIST ve NBS kütüphanesi) kullanılarak yapılmıştır. Analiz sonuçları tablolar halinde aşağıda sunulmuştur. (Çizelge 3.3-3.16).

Çizelge 3.3. Anason Uçucu Yağının Kimyasal Bileşimi ve Etken Madde Miktarları

Anason Uçucu Yağı	%
11-Hexadecenoic Acid, Methyl Ester	0.80
4-Terpineol	0.09
6-Octadecenoic Acid, Methyl Ester	1.41
Alfa-Caryophyllene	0.09
Alfa-Curcumene	0.51
Anethol	79.56
Anisaldehyde	1.14
Anisic Ketone	0.14
Apiol	0.63
Arachidonic Acid, Methyl Ester	0.22
Beta-Bisabolene	0.84
Beta-Bourbonene	0.05
Beta-Selinene	0.12
Caryophyllene	0.04
Copaene	0.06
Cuparene	3.37
Cyclohexane, 1,2,4-Triethenyl-	1.24
Cymene	0.18
Delta-Cadinene	0.11
Delta-Elemene	0.17
Dihydrocarvone	0.09
Gamma-Terpinene	0.09
Germacrene-D	0.35
Heptadecanoic Acid, Methyl Ester	0.10
Hexadecanoic Acid, Methyl Ester	1.93
Hexamethylbenzene	0.14
Isoanethol	2.49
Limonene	1.14
Linalool	0.32
Linalyl Propionate	0.02
Methyl 11-Octadecenoate	0.31
Methyl Eugenol Ether	0.10
Methyl Isoheptadecanoate	0.93
Myristicine	0.16
Octadecanoic Acid, Methyl Ester	0.60
Pentadecanoic Acid, Methyl Ester	0.09
Selinan	0.14
Seychellene	0.06
Tetradecanoic Acid, Methyl Ester	0.19

Çizelge 3.4. Biberiye Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Biberiye Uçucu Yağı	%
1 S-Cis-Calamenene	0.04
1,8-Cineole	52.17
Alfa Curcumene	0.04
Alfa-Amorphene	0.10
Alfa-Copaene	0.19
Alfa-Humulene	0.81
Alfa-Murolene	0.06
Alfa-Pinene	10.07
Alfa-Pinene(Dextro)	1.93
Alfa-Terpinene	0.62
Alfa-Terpineol	2.00
Alfa-Terpinolene	0.35
Alfa-Ylangene	0.02
Aromadendrene	0.03
Berbenone	0.57
Bergamotene	0.04
Beta-Bisabolene	0.15
Beta-Myrcene	3.81
Beta-Phellanderene	0.78
Beta-Pinene	1.04
Borneol	3.55
Bornyl Acetate	1.78
Camphene	2.92
Camphor	8.53
Carvacrol	0.13
Caryophyllene	4.62
Caryophyllene Oxide	0.05
Chrysanthenone	0.08
Delta-Cadinene	0.21
Delta-Guaiene	0.04
Gamma-Cadinene	0.15
Gamma-Terpinene	0.75
Linalool	0.96
Neryl Acetone	0.04
P-Cymenene	0.07
Pinocamphone	0.13
Terpinene-4-Ol	1.07
Trans-Limonene Oxide	0.04
Zingiberene	0.02

Çizelge 3.5. Çörek Otu Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Çörek Otu Uçucu Yağı	%
11,13-Eicosadienoic Acid, Methyl Ester	2.44
9,12-Octadecadienoic Acid, Methyl Ester	51.04
Alfa-Terpinyl Propionate	0.05
Beta-Butoxyethanol	0.02
Bioallethrin	0.05
Butanal	0.02
Carvacrol	0.03
Elaidic Acid, Methyl Ester	0.82
Gamma-Terpinene	0.07
Hexadecanoic Acid, Methyl Ester	16.17
Methyl Erucate	4.81
Methyl Palmitoleate	0.21
Oleic Acid, Methyl Ester	23.13
P-Cymene	0.56
Tetradecanoic Acid, Methyl Ester	0.24
Undecylenic Acid	0.33

Çizelge 3.6. Kışniş Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Kışniş Uçucu Yağı	%
2,7-Dimethyl-2,6-Octadien-4-Ol	0.13
Alfa-Terpineol	0.35
Azelaaldehdic Acid, Methyl Ester	0.05
Bioallethrin	0.11
D-Limonene	0.29
Emylcamate	0.05
Geraniol Acetate	1.37
Hexadecanoic Acid, Methyl Ester	8.85
Hydroxycitronellal Methyl Ester	0.21
Isobutyric Anhydride	0.22
Linoleic Acid, Methyl Ester	41.75
Neopentyl Acetate	0.49
Neryl Acetate	0.44
Ocimenol	0.27
Octadecanoic Acid, Methyl Ester	3.69
Oleic Acid , Methyl Ester	39.76
Terpinolen	0.17
Terpinyl Acetate	1.44
Tetradecanoic Acid, Methyl Ester	0.36

Çizelge 3.7. İğde Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

İğde Uçucu Yağı	%
1.4 Cineol	0.20
1-Terpinenol	0.11
2-Propanol, 1-(1-Methyl-2-(2-Propenyloxy) Ethoxy)	7.17
4-Tert-Butyllbenzyl Alcohol	0.02
Alfa-Terpinenyl Acetate	1.37
Alfa-Terpineol	4.24
Anisaldehyde	0.77
Benzyl Acetate	12.08
Beta-Terpineol	0.13
Chavicol Acetate	0.03
Cinnamaldehyde	31.29
Cyclamen Aldehyde	0.58
Dipropylene Glycol	16.16
Eremophilene	0.03
Eugenol	1.73
Geraniol	1.43
Hydroxycitronellal	0.64
Lilial	2.72
Linalool	3.40
Linalyl Isobutyrate	0.47
Mesitylethylene	0.84
Methyl Anthranilate	1.28
Para-Methyl Anisole	0.40
Trans-Isoeugenol	1.92
Tripropylene Glycol	11.01

Çizelge 3.8. Kekik Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Kekik Uçucu Yağı	%
(-)-Spathulenol	0.10
Alfa -Pinene	0.75
Alfa -Thujene	1.10
Alfa-Humulene	0.14
Alfa-Phellandrene	0.25
Alfa-Terpinene	1.64
Alfa-Terpinolen	0.11
Alloaromadendrene	0.18
Beta-Bisabolene	0.10
Beta-Cymene	8.73
Beta-Myrcene	1.27
Beta-Pinene	0.20
Camphene	0.28
Carvacrol	57.00
Carvacrol Methyl Ether	0.18
Caryophyllene	2.85
Caryophyllene Oxide	0.25
Delta-Cadinene	0.03
Gamma-Cadinene	0.01
Gamma-Terpinene	21.20
Ledene	0.12
Limonene	0.51
Linalool	2.10
Trans-Sabinene Hydrate	0.35
Tyhmol	0.53

Çizelge 3.9. Kimyon Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Kimyon Uçucu Yağı	%
13-Octadecenoic Acid, Methyl Ester	0.75
15-Tetracosenoic Acid, Methyl Ester	0.14
5-Chlorovaleric Acid, Methyl Ester	0.59
Alfa-Muurolene	0.06
Alfa-Propyylbenzyl Alcohol	8.64
Alfa-Santalene	0.05
Alfa-Thujene	0.66
Beta-Cyclocitral	0.72
Beta-Pinene	4.74
Calarene	0.30
Carotol	1.03
Caryophyllene	0.28
Cuminyl Aldehyde	13.13
Cymene	2.90
Delta-3- Carene	8.47
Dodecanoic Acid, Methyl Ester	0.20
Elaidic Acid, Methyl Ester	18.08
Farnesene	0.06
Gamma Terpinene	0.27
Germacrene B	0.41
Heptadecanoic Acid, Methyl Ester	0.30
Hexacosanoic Acid	0.30
Hexadecanoic Acid, Methyl Ester	15.48
Linoleic Acid, Methyl Ester	2.50
Methyl Isoheptadecanoate	0.45
Methyl Isostearate	4.68
Oleic Acid, Methyl Ester	1.08
Pentadecanoic Acid, 14-Methyl-, Methyl Ester	0.95
Perilla Alcohol	0.72
Phellandral	0.08
Ricinoleic Acid, Methyl Ester	0.19
Safranal	3.36
Tetradecanoic Acid, Methyl Ester	5.83
Thujopsene	0.40
Tricantanoic Acid, Methyl Ester	0.41
Tridecanoic Acid, 12-, Methyl Ester	1.79

Çizelge 3.10. ÜzümÇekirdeği Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Üzüm Çekirdeği Uçucu Yağı	%
11-Octadecenoic Acid, Methyl Ester	28.26
9-Hexadecenoic Acid\ Methyl Ester,(Z)-	0.26
Heptadecanoic Acid, Methyl Ester	0.31
Hexadecanoic Acid, Methyl Ester	13.44
Linoleic Acid, Methyl Ester	51.48
Nonadecanoic Acid\ Ethyl Ester	0.16
Octadecanoic Acid, Methyl Ester	5.96
Pentolactone	0.15

Çizelge 3.11. Portakal Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Portakal Uçucu Yağı	%
15-Tetracosenoic Acid	0.04
3-Carene	0.42
Alfa-Cubebene	0.02
Alfa-Humulene	0.03
Alfa-Murolene	0.04
Alfa-Terpineol	0.04
Beta-Myrcene	1.79
Camphene	0.14
Carvone	0.03
Cis Limonen Oxyde	0.06
Citronella	0.03
Copaene	0.03
Decanal	0.18
Delta-Cadinene	0.05
Gamma-Ionone	0.01
Limonene	95.77
Limonene Epoxide	0.09
Linalool	0.20
Methyl 14-Methylpentadecanoate	0.47
Oleic Acid,Methyl Ester	0.26
Tetradecanoic Acid	0.14

Çizelge 3.12. Sarımsak Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Sarımsak Uçucu Yağı	%
1,1`- Bicyclopentyl,2-Hexadecyl	0.44
2,4-Decadienal	0.92
Acetic Acid, 2-Propenylthio	1.30
Allylmethyl Trisulfide	5.24
Butylphthalyl Butyl Glcolate	0.46
Cinnamaldehyde	0.67
Diallyl Disulphide	25.00
Diallyl Tetrasulfide	1.69
Diallyl Trisulfide	19.48
Heptadecanoic Acid	0.57
Hexadecanoic Acid, Methyl Ester	1.52
Hippuric Acid	0.55
Linoleic Acid	34.75
N-Hexyl Acrylate	0.51
Nonadedioic Acid	2.74
Norpropoxyphene	0.51
Tetradecanal	0.79
Tetradecanoic Acid	2.00
Trans-Caryophyllene	0.87

Çizelge 3.13. Rezene Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Rezene Uçucu Yağı	%
(E)-Dihydrocarvone	0.08
Alfa-Octene	0.01
Alfa-Pinene(Destro)	0.52
Alfa-Thujene	0.07
Alfa-Trans-Bergamoptene	0.01
Anethole	73.67
Anisaldehyde	2.86
Anisketone	0.48
Anisole, P-Allyl	3.42
Apiol	0.21
Benzenamine, 2,6-Diethyl-	0.30
Beta Citronellol	0.03
Beta-Bourbonene	0.01
Beta-Camascenone	0.00
Beta-Myrcene	0.31
Beta-Phellandrene	0.09
Camphor	0.03
Carvone	5.98
Cis-Carveol	0.11
Delta 3-Carene	0.06
Eugenol Methyl Ether	0.04
Fenchone	0.71
Fenchyl Acetate	0.20
Gamma-Cadinene	0.08
Gamma-Terpinene	0.10
Helional	0.02
Ledene	0.00
Lilac Alcohol D	0.05
Limonene	9.11
Linalool	0.02
Nerolidol	0.01
Neryl Acetate	0.97
Nonanoic Acid	0.01
P-Methoxypropiophenone	0.07
Trans -Beta-Farnesene	0.01
Trans-Caryophyllene	0.03
Trans-Dihydrocarvone	0.26
Trans-Limonene-1,2-Oxide	0.03

Çizelge 3.14. Tarçın Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Tarçın Uçucu Yağı	%
(+)-4-Carene	0.05
Acetaugenol	6.58
Alfa-Cadinol	0.02
Alfa-Calacorene	0.02
Alfa-Muurolene	0.04
Alfa-Pinene	0.83
Alfa-Terpineol	0.32
Benzene Butanoic Acid, Methyl Ester	0.05
Benzene,Pentamethyl-	0.10
Benzenepropanol	0.10
Benzyl Acetate	0.08
Benzyl Benzoate	3.40
Beta-Cubenene	0.15
Beta-Phellandrene	0.29
Beta-Sabinyl Acetate	0.04
Beta-Terpinene	0.42
Borneol	0.03
Cadina-1,4-Diene	0.13
Camphene	0.25
Caryophyllene	3.79
Caryophyllene Oxide	1.16
Cinnamyl Acetate	3.83
Cis Linalol Oxide	0.02
Cis-Caryophyllene	0.04
Cymol	1.04
Delta-Cadinene	0.34
Eucalyptol	0.14
Eugenol	69.57
Germacrene-B	0.12
Germacrene-D	0.03
Humulene-1,2 Epoxide	0.20
Isoterpinolene	0.02
L-4-Terpineol	0.09
Limonene	0.30
Linalool	2.79
L-Phellandrene	0.45
P-Cymene-8-Ol	0.04
Safrole	2.99
Spathulenol	0.11
Trans Ocimene	0.02

Çizelge 3.15. Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

<i>Defne Uçucu Yağı</i>	%
1.8-Cineol	41.52
3-Pinanone	0.07
4-Terpineol	1.25
Alfa -Pinene	10.03
Alfa-Amorphene	0.11
Alfa-Bisabolol	0.02
Alfa-Campholene Aldehyde	0.02
Alfa-Copaene	0.15
Alfa-Curcume	0.04
Alfa-Himachalene	0.11
Alfa-Humulene	0.62
Alfa-Terpinene	1.60
Alfa-Terpinene Oxide	0.06
Alfa-Terpinenyl Acetate	2.87
Alfa-Terpineol	0.21
Alfa-Terpinolene	0.17
Alloaromadendrene	0.04
Aromadendrene	0.06
Berbenone	0.41
Beta-Elemene	0.30
Beta-Eudesmol	0.12
Beta-Myrcene	14.71
Beta-Phellandrene	1.66
Beta-Pinene	1.58
Bicyclogermacrene	0.14
Borneol	1.48
Bornyl Acetate	1.33
Calamenene	0.07
Camphene	2.45
Camphor	6.60
Caryophyllene Oxide	0.29
Chrysanthenone	0.06
Cis -Sabinene Hydrate	0.06
Cymol	1.59
Delta-3-Carene	0.37
Delta-Cadinene	0.16
Eremophilene	0.10
Eugenol	0.02
Gama-Murolene	0.12
Gamma-Cadinene	0.12
Gamma-Terpinene	0.28
Geranylaceto	0.02

Germacrene-D	0.03
Isobornyl Acetate	0.01
Linalool	0.69
Linalyl Propionate	2.11
Linalyl-3-Methylbutanoate	0.02
Methyleugenol	0.23
Neryl Acetate	0.05
Pinocarvone	0.04
Spathulenol	0.04
Terpinyl Acetate	0.08
Trans-Caryophyllene	3.50
Tymol	0.06
Veridiflorol	0.05
Ylangene	0.08

Çizelge 3.16. Nane Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Nane Uçucu Yağı	%
Aromadendrene	1.19
Citronellyl Isobutyrate	4.20
D-Isomenthone	15.06
Eucarvone	2.23
Isopulegone	2.17
P-Menthan-3-One	3.06
Pulegone	72.09

3.1.3.1.(2) İkinci *in vitro* Deneme

Çalışmanın ikinci *in vitro* kısmında kullanılan yem katkı maddeleri *in vivo* aşamada kullanılanlarla aynı olup etkilil madde analiz sonuçları Çizelge 3.17-3.22’de verilmiştir. Birinci *in vitro* aşamada kullanılan yağlarla ikinci *in vitro* ve *in vivo* aşamada kullanılan yağların aktif madde analizlerinde kaynak farklılığından doğan bazı farklılıklar vardır. Ancak *in vivo* aşama için seçilen bitki uçucu yağları her iki *in vitro* denemenin sonuçları göz önünde bulundurularak seçilmiştir.

Yapılan çalışmalarda kullanılan bitkisel uçucu yağ kaynakların tedarik yerlerinin farklı olmasının nedeni ilk aşama *in vitro* çalışmalar da kullanılan 14 BUY ‘ın 10 ml’lik ambalajlarda temin edilmesi ve kullanımı sonrasında kalan miktarın diğer aşamalar için yeterli olmaması ve aynı firmadan kullanılacak miktarın temin edilememesidir.

3.1.3.2. Çalışmanın *in vivo* Kısımında Kullanılan Yem Katkılarının Özellikleri

In vivo araştırmalar için seçilen bitki uçucu yağlarından 2'şer kg temin edilmiş ve Gaz Kromatografi'de etkilil madde analizleri yapılmıştır (Çizelge 3.17-3.22). Daha sonra uçucu yağlar, endüstriyel uygulamayı yapacak Herba Gıda Ltd.Şti. (Seferihisar/İzmir) gönderilmiş ve en az %85 klinoptilolitin (zeolitin yapısında bulunan ana mineral) içeren kil (zeolit)'e her bir uçucu yağ en az %10 olacak şekilde pülverize edilerek karıştırılması ve 20'şer kg'lık ambalajlar yapılması sağlanmıştır. Aplikasyon sonrası elde edilen yem katkılarında sarımsak, tarçın, defne, kekik, iğde ve portakal kabuğu uçucu yağ düzeyleri sırasıyla %10.04, %13.81, %8.66, %9.85, %10.35 ve %6.90 olarak belirlenmiştir. Kesif yemlerdeki dozların hesaplanmasında bu oranlar dikkate alınmıştır. *In vivo* çalışmalar için temin edilen bitki uçucu yağları ve kompozisyonları Çizelge 3.17-3.22'de verilmiştir.

Çizelge 3.17. *In vivo* Çalışmada Kullanılan Sarımsak Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Etkilil Maddeler	%
Diallyl Disulphide	10.63
Trisulfide,Methyl 2-Propenyl	3.80
Allyl Trisulfide	4.88
1-Dodecanol	22.16
Octadecanoic Acid Metyl Ester	39.84
Hexadecanoic Acid Methyl Ester	14.05
9-Octadecenoic Acid Methyl Ester	4.64

Çizelge 3.18. *In vivo* Çalışmada Kullanılan Tarçın Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Etkilil Maddeler	%
Benzyl Alcohol	22.72
Linalool	1.21
1,3-Dioxolane,4-Methyl-2-Phenyl	0.69
Cinnamaldehyde	66.68
Triacetin	1.93
Eugenol	6.77

Çizelge 3.19. *In vivo* Çalışmada Kullanılan Defne Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etkin Madde Miktarları

Etkin Maddeler	%
1,8 Cineol	23.9
Linalool	2.8
4-Terpineol	7.8
Beta-Fenchyl Alcohol	7.0
Alpha-Terpinenyl Acetate	43.5
Neryl-Acetate	1.5
Trans-Caryophyllene	3.7
Methyl-Eugenol	2.0
Aristolen	0.5
Valencene	0.4
Germacrene-D	0.4
Gamma-Gurjunene	1.0
Bicyclogermacrene	0.7
Alpha-Amorphene	0.7
Delta-Cadinen	0.4
Cis-Alpha-Bisabolene	1.8
Caryophyllene Oxide	0.3
(-)-Spathulenol	0.8
Alpha-Eudesmol	0.8

Çizelge 3.20. *In vivo* Çalışmada Kullanılan İğde Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etkin Madde Miktarları

Etkin Maddeler	%
Dipropylene Glycol	6.47
Tripropylene Glycol	1.79
2-Propanol, 1-(1-Methyl-2-(2-Propenyloxy) Ethoxy)-	5.45
Benzylacetate	7.84
Alpha Terpineol	1.59
Hydroxycitronellal	2.61
Eugenol	6.74
Benzoic Acid	0.99
Cyclamen Aldehyde	0.55
Phenol	1.44
Indano	0.62
Cinnamaldehyde	61.22
Amylcinnamic Aldehyde	2.69

Çizelge 3.21. *In vivo* Çalışmada Kullanılan Kekik Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Etkicil Maddeler	%
Trans Linalool Oxide	0.31
Linalool Oxide	1.86
Borneol	0.12
4-Terpineol	0.13
Alpha Terpineol	0.12
Thymol	0.13
Carvacrol	93.03
Caryophyllene	3.40
Alpha-Humulene	0.33
Caryophyllene Oxide	0.57

Çizelge 3.22. *In vivo* Çalışmada Kullanılan Portakal kabuğu Uçucu Yağının Kimyasal Bileşim ve Etken Madde Miktarları

Etkicil Maddeler	%
D-Limonene	34.20
1,8-Cineole	14.02
Linalool	2.84
4-Terpineol	5.87
Trans-Carveol	11.89
Carvone	31.17

3.1.4. Araştırmalarda Kullanılan Bireysel Bölmeler ve Adaptasyon Dönemi

Araştırmalar Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği Büyükbaş Hayvancılık Tesisi'nde yürütülmüştür. Hayvanlar 3x6m ebatlarında bireysel bölmelerde barındırılmıştır. Bireysel bölmelerde şamandıralı suluk ve 3m uzunluğunda beton oluk veya bidon yemlikler bulundurulmuştur (Resim 3.1-3.2). Her iki araştırmada da hayvan materyalinin bireysel bölme ve araştırmada uygulanacak besleme rejimine adaptasyonu için 15 günlük adaptasyon dönemi uygulanmıştır. Bu dönemin 1. haftasında silaja dayalı yemlemeden patozlanmış yonca kuru otuna, 2. haftasında ise araştırmada uygulanacak olan besleme rejimine (%40 yonca kuru otu ve %60 kesif yem) geçiş sağlanmıştır. Adaptasyon döneminin 2. haftasındaki süt verimi, canlı ağırlık, sağılan gün sayısı araştırma gruplarının oluşturulmasında esas alınmıştır. Muameleler gruplara tesadüfen dağıtılmıştır. Adaptasyon dönemi sonunda veri alma dönemi başlatılmış ve 28 gün sürdürülmüştür.



Resim 3.1. Denemede kullanılan hayvan barınakları (a)



Resim 3.2. Denemede kullanılan hayvan barınakları (b)

3.2. Metod

3.2.1. *In vitro* Denemeler

Birinci *in vitro* çalışma daha çok ön çalışma amacı ile yapılmıştır. Bu nedenle ikinci *in vitro* denemeler veri toplama niteliğinde olup *in vivo* denemeler için kullanılan bitkisel uçucu yağlar; birinci *in vitro* verileri yanı sıra ikinci *in vitro* deneme verileri ve literatür bilgileri doğrultusunda seçilmiştir.

3.2.1.1. Birinci *in vitro* deneme

Çalışmanın bu aşamasında denemede kullanılan 14 bitkisel uçucu yağın yemlerin sindirilebilirliğine etkisini araştırmak için inkübasyonlar gerçekleştirilmiştir. Ayrıca inkübasyon sıvılarında mikroorganizma sayımı ve pH ölçümleri yapılmıştır.

3.2.1.1.(1) İnkübasyonlar ve Sindirilebilirlik Hesaplamaları

İnkübasyon aşamalarında ANKOM teknolojisinden yararlanılmıştır. Buna göre rumen ortam sıcaklığı ve hareketlerinin basitçe simüle edildiği inkübatörlerde (Resim 3.3) 1 mm'lik elekten geçmiş yemlerin koyulduğu küçük torbalar (F57) kullanılarak yemler inkübe edilmiştir. Bu özel torbalar 50 mm×55 mm ebatlarında olup , polyester/polietilen karışımından yapılmış ve 25 µm'den büyük partiküllerin geçemeyeceği porlardan oluşmuş azot içermeyen özelliktedir. (Resim 3.4). Torbalar inkübasyondan önce üzerleri numaralanıp daraları (W1) alındıktan sonra, içine yaklaşık 0.5 g ilgili yem materyalinden tartılmış (W2) ve ağızları ısı damgalama (Heat sealer) cihazı ile kapatılmıştır (Resim 3.5).



Resim 3.3. Denemede kullanılan inkübatörler



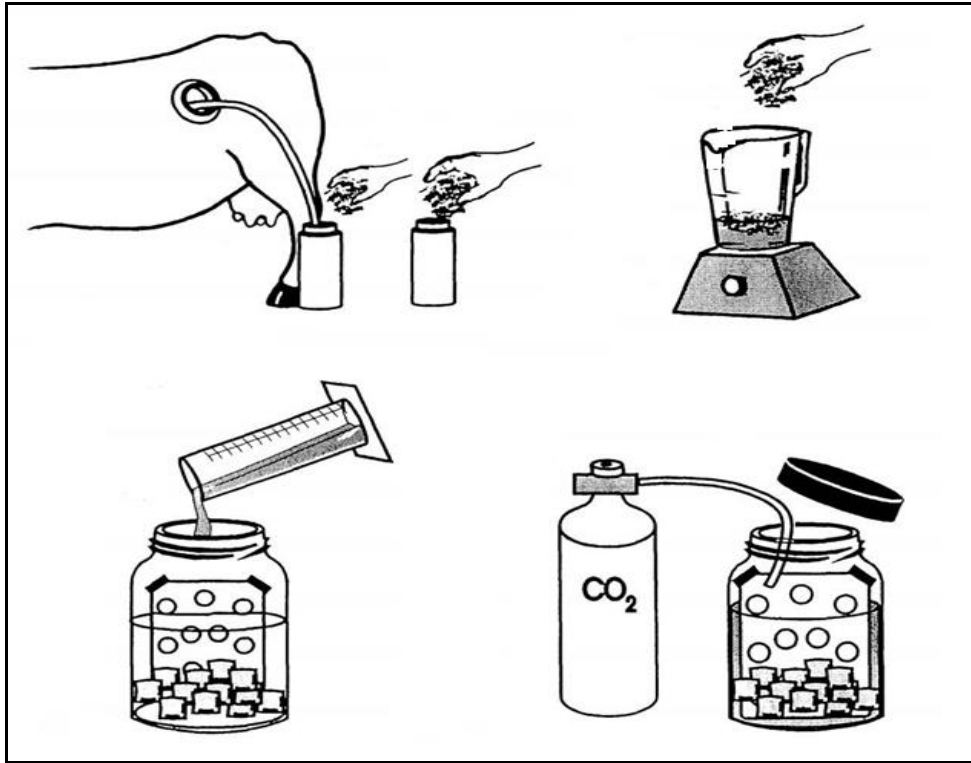
Resim 3.4. F57 torbası ve inkübasyon kavanozu, çözünmeye dayanıklı kalem



Resim 3.5. Isı damgalama cihazı

Çalışmada her bir inkübatörde yer alan dört kavanozdan 3'ü muamele ve 1'i kontrol grubu için kullanılmış ve 2 farklı inkübasyon saati (SK ve Arpa için 24, lifli yapısından dolayı sindirimi zor olan Buğday Samanı için 48 saat) uygulanmıştır. Her kavanoz 25 torba alma kapasitesine sahip olup kavanozun içindeki delikli bölme, inkübasyon sırasında torbaların inkübasyon sıvısı ile homojen şekilde muamele görmesi sağlamıştır.

Her kavanoza 2 L'lik inkübasyon sıvısı (1600 ml tampon solüsyonu+400ml rumen sıvısı) CO₂ gazı eşliğinde ilave edilmiş ve yine CO₂ gazı eşliğinde her muameleden 0, 50, 100 ve 150 ppm'in karşılığı olacak miktarlarda bitkisel uçucu yağ ve numaralanarak içerisine yemler tartılmış olan F57 torbaları ilgili kavanozlara eklenmiştir. Hayvandan rumen sıvısı alınırken yem materyallerindeki mikroorganizmaların da inkübasyon sıvısına geçmesini sağlamak için ayrıca bir miktar katı rumen içeriği alınmıştır. Şekil 3.1'de inkübasyon hazırlık aşamaları ve hazırlığı tamamlanmış kavanozlara CO₂ gazı verilmesi gösterilmiştir.



Şekil 3.1. İnkübasyona hazırlık işlemleri

24 saatlik inkübasyon sonunda SK ve arpanın, 48 saat sonunda buğday samanının inkübe edildiği kavanozlar inkübatörden çıkartılmıştır. İnkübasyon torbaları kavanozlardan alındıktan sonra çeşme suyu altında berrak su gelene kadar tutulmuş ve kurutulduktan sonra analizleri yapılmak üzere buzdolabına (+4 °C) kaldırılmıştır. Buzdolabından alınan örnekler daha sonra NDF solüsyonunda 75 dakika kaynatılmıştır. Ayrıca inkübasyon sıvılarında toplam bakteri, protozoa ve ortam pH'sı da belirlenmiştir. Buğday samanı 48 saat inkübe edildiğinden bu veriler 48 saatlik inkübasyon sonunda alınan ortam örneklerinde belirlenmiş, diğer yemlerde (arpa, SK) ise 24 saatlik inkübasyonlar yapıldığından toplam bakteri, protozoa ve pH 24 saatlik inkübasyon sonrasında alınan ortamda belirlenmiştir

Denemede yemlerin ve rezidülerin besin madde analizleri AOAC (1998)'de belirtilen yöntemlere göre belirlenmiştir. Kuru madde bazında ANKOM *in vitro* gerçek besin madde sindirilebilirlikleri (IVGS: *in vitro* Gerçek Sindirilebilirlik) aşağıdaki formül uygulanarak hesaplanmıştır. Burada KM, OM, HP ve NDF analiz sonuçları kullanılarak her bir besin maddesinin sindirilebilirlikleri aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

$$\% \text{ IVGS} = 100 - [(W3 - (W1 \times C1)] \times 100 / W2)$$

$$\% \text{ IVGSKM} = 100 - [(W3 - (W1 \times C1)] \times 100 / (W2 \times \text{KM})$$

W1 : F57 torbalarının darası

W2 : Kuru örnek veya kuru örnekteki besin madde miktarı (KM, HP, OM ve NDF)

W3 : İnkübasyon ve NDF solüsyonunda kaynatma sonunda torbada kalan rezidüdeki besin madde miktarı

C1 : Kör ağırlığı (inkübasyondan çıkartılıp etüvde kurutulduktan sonraki boş torba ağırlığı/orijinal torba ağırlığı)

KM : Kuru madde

NDF analizi ANKOM metodu kullanılarak yapılmıştır. Bu metoda göre 24 örnek için 1800 ml saf suda 120 gr FND20C kodlu kimyasal (ANKOM) çözdürülür ve içerisine 20 ml trietilen glikol eklenir. Daha sonra çözelti saf su ile 2000 ml'ye tamamlanır. Bu şekilde hazırlanan çözeltinin içerisine 20 gr sodyum sülfid ve 4 ml alfa amilaz eklenerek analiz çözeltisi hazırlanmış olunur. Sindirilebilirlikte kullanılan torbalar bu çözeltide 75 dakika boyunca 100 °C de NDF cihazında kaynatılır. Daha sonra 4ml alfa amilaz ile 3 defa 5 dakika süre ile kaynatılır. Daha sonra torbalar 105 °C etüvde 3 saat kurutulduktan sonra tartılır ve yukardaki eşitlikten yararlanılarak NDF sindirilebilirliği hesaplanır.

Ayrıca farklı bitki uçucu yağları ile inkübasyonlar yapılırken farklı rumen sıvıları kullanılmak zorunda kalındığından, her inkübasyonda kontrol (hiç uçucu yağ içermeyen) rumen sıvıları da inkübe edilerek daha sonra bunların ortalamalarından sapmalar dikkate alınarak bütün veriler buna göre düzeltilmiştir. Yani rumen sıvıları kontroller ortalamasına göre standartlaştırılmıştır. Düzeltilmiş *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (DIVGS) her torba için hesaplanan değere o BUY'a ait sapmanın eklenmesi ile belirlenmiştir.

$$\text{DIVGS} = \% \text{Sindirilebilirlik} + \text{Sapma}_i$$

Her bitkisel uçucu yağın (buy) sindirilebilirlik ortalaması tüm dozlara ve bitkisel uçucu yağa ait kontrollerin (k) sindirilebilirliğinin ortalamasından çıkarılarak sapma belirlenmiştir. Her bitkisel uçucu yağ için belirlenmesi gereken sapma değeri aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır

$$\text{Sapma}_i = (k_{\text{ort}}) - (\text{buy}_{i\text{ort}}) \text{ her BUY için ayrı ayrı yapılmıştır.}$$

$$\text{Sapma}_1 = (k_{\text{ort}}) - (\text{buy}_{1\text{ort}})$$

3.2.1.1.(2) İnkübasyon Sıvısında Mikroorganizma Sayımı ve pH Ölçümü

Bakteri sayımı Karahan ve ark. (2002)'nin belirttiği metod modifiye edilerek yapılmıştır. Buna göre 16x150 mm'lik kültür tüplerinin içerisine 1ml'lik rumen içeriği mikropipet yardımıyla alınmış ve üzerine bakterilerin hareketlerini kısıtlamak için %50'lik formalinden 0.16 ml ilave edilmiştir. Örnek 1/500 oranında seyreltilmiştir. Seyreltilen örnekten bir miktar mikropipet yardımıyla alınarak, Thoma lamına aktarılmış ve 40X büyütmede mikroskopta sayılmıştır. Bu sayımda 2 µm'den büyük ebatlardaki bakteriler sayılabilmektedir.

Protozoa sayımı Dehority (1984)'ün belirttiği metoda göre yapılmıştır. Rumenden 10 ml rumen içeriği alınarak, 16x150 mm'lik kültür tüpünün içine aktarılmış ve üzerine aynı miktarda %50'lik formalin (%18.5'lik formaldehit) ilave edilmiştir. İyice karıştırılan örnekten 1 ml'lik altı örnek alınmış ve 16x150 mm'lik kültür tüpünün içine aktarılmış ve üzerine iki damla brillant yeşili (2 g brillant yeşili ve 2 ml glasiyel asetik asit 100 ml'lik saf su içerisinde seyreltilmiştir) ilave edilmiştir. İçerik iyice karıştırılmış ve en az 4 saat bekletilmiştir. Boyamadan sonra %30'luk gliserol çözeltisinden 9 ml ilave edilmiştir. Seyreltilen örnekten bir miktar mikropipet yardımıyla alınarak, Thoma lamına aktarılmış ve 40X büyütmede mikroskopta sayılmıştır.

3.2.1.2. İkinci *in vitro* deneme

Bitkisel uçucu yağların pratikte kullanımında uçucu özelliği ve stabilitesindeki problemlere ışık tutmak adına ikinci *in vitro* denemede birinci *in vitro* aşamada seçilen yağların kaplanmış ve kaplanmamış formlarının karşılaştırıldığı inkübasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla birinci *in vitro* deneme sonuçları doğrultusunda; buğday samanı için portakal kabuğu yağının 100 ppm'lik dozu ile sarımsak yağının 50 ppm'lik dozu, arpa için defne yağının 150 ppm'lik dozu ve portakal kabuğu yağının 100 ppm'lik dozu, soya fasülyesi küspesi için ise iğde yağının 50 ppm ve defne yağının 150 ppm'lik dozları seçilmiştir. Seçim aşamasında buğday samanının besin madde sindirilebilirliğini arttıran, soyafasülyesi küspesi ve

arpa için ise besin madde sindirimini azaltan yağlar tecih edilmiştir. İnkübasyonlarda ve sindirilebilirlik hesaplarında birinci *in vitro* denemedeki metodlar kullanılmıştır.

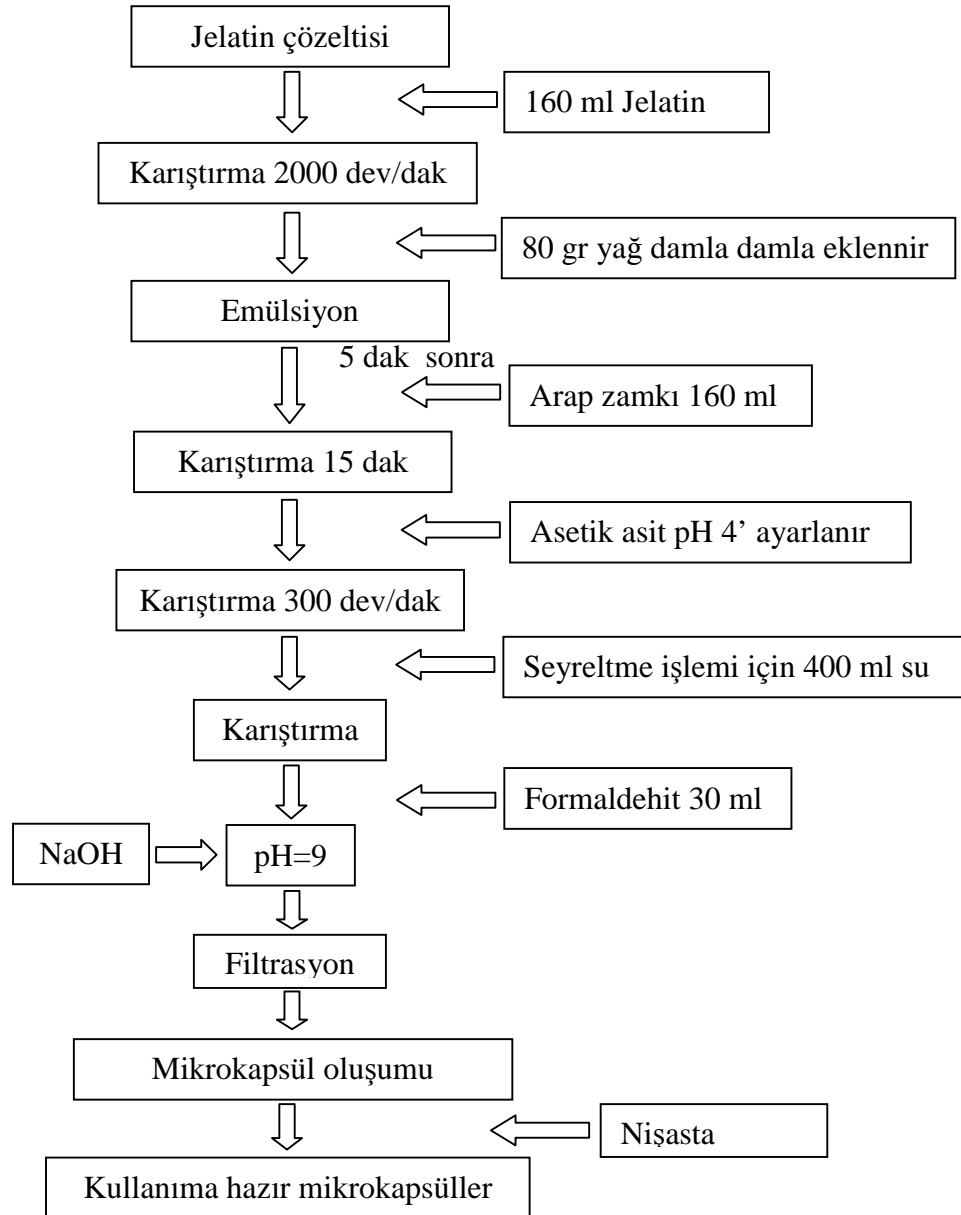
Ancak birinci aşamadan farklı olarak bu aşamada özellikle rumen sıvısı kullanılarak elde edilen parametrelerin (toplam bakteri ve protozoa sayısı ile pH) daha sağlıklı olması için kontrol grubu ile bitkisel uçucu yağların kapsülasyonsuz ve kapsülasyonlu formları ayrı inkübatörlerde ve herbiri için bahsi geçen parametrelerden 3 tekrür elde etmek için 3 ayrı jar kullanılarak inkübasyonlar gerçekleştirilmiştir.

Yağların kaplanma (kapsülasyon) çalışmaları Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde Şekil 3.2'de verilen metoda (Övez ve Yüksel, 2002) göre yapılmıştır.

Kapsülasyon işlemlerinde; arap zankı, jelatin (bunların %12,5'lik çözeltileri), %37'lik formaldehit çözeltisi, asetik asit çözeltisi, %20'lik NaOH çözeltisi ve kapsüllenmek istenen uçucu yağlar kullanılmıştır. Makine teçhizat olarak ise mekanik karıştırıcı 2000 dev/dak, çapı 10 cm olan mekanik karıştırıcı kolu ve çeşitli hacimlerde cam malzemeler kullanılmıştır.

Mikrokapsülleme işleminde, ortam sıcaklığı 40°C olacak şekilde ısıtılan reaktöre 160 mL %12.5 (a/v) jelatin çözeltisi konup 2000 dev/dak hızla karıştırılırken üzerine 80 g yağ damla damla ilave edilerek su-yağ emülsiyonu hazırlanmış (Şekil 3.6) ve sürekli karıştırılan bu karışımın üzerine beş dakika sonra 160 mL %12.5 (a/v) arap zankı çözeltisi katılarak 15 dakika daha karıştırılmıştır. Karışımın pH'sı, asetik asit ilavesi ile pH=4'e ayarlandıktan sonra karıştırıcının hızı emülsiyonun köpürmesine engel olmak için 300 dev/dak'ya düşürülmüş, karışımın seyreltilmesi için ise üzerine mümkün olduğunca yavaş ve düzenli bir şekilde 400 mL su ilave edilmiştir. Bu seyreltme şekli ile kolloid fazın yağ damlaları çevresindeki dağılımının bozulmasına fırsat verilmemiştir. Kolloid fazın çapraz bağ oluşumu ile güçlendirilmesi amacı ile ortama 30 mL formaldehit çözeltisi ilave edilmiştir. Tüm bu adımlar süresince, karışımın sıcaklığı 40°C'de sabit tutulmuştur. Oluşturulan jelatin-arap zankı mikrokapsül duvarlarının jelleşmesini hızlı gerçekleşmesi için karışım, içinde 3L soğuk su bulunan ikinci reaktöre aktarılarak

30°C sıcaklıkta bir saat süre ile 300 dev/dak hızla karıştırılmıştır (Resim 3.6). Bu işlem sonunda karışım pH'ı 9-11'e NaOH çözeltisi ile ayarlanarak bir saat daha karıştırıldıktan sonra oluşan mikrokapsüller filtre kağıdı ile süzülerek sulu fazdan (Resim 3.7) ayrılmış ve jelleşmeyi önlemek amacı ile nişasta ile bire-bir karıştırılmıştır. Resim 3.8'te tüm bu işlemlerden sonraki kapsüllenme ürünü gösterilmiştir. Elde edilen mikrokapsüller 37°C'de ve pH=7'de parçalanmaktadır.



Şekil 3.2. Konservasyon yöntemi ile mikrokapsül üretimi akış şeması



Resim 3.6. Su ile emilsüyon hale getirilmiş bitkisel uçucu yağ



Resim 3.7. Kapsüle olmuş ama sıvı fazdan ayrılmamış bitkisel uçucu yağlar



Resim 3.8. Kapsüllemiş bitkisel uçucu yağ

İkinci *in vitro* denemede bakteri sayımı Breed Metodu olarak adlandırılan yöntemle yapılmıştır. Metodun prensibi 1 cm² alanda 0.01 ml örnekteki bakterilerin sayımının yapılmasına dayanır (hücre/ ml). Sayım immersiyon yağı kullanılarak 100X'lik objektifle yapılmıştır.

3.2.2. *In vivo* Denemeler

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği Büyükbaş Hayvancılık Tesisinde yürütülen *in vivo* denemeler süresince bireysel yem tüketimi, canlı ağırlık değişimi ve vücut kondüsyon skoru, süt verimi, %4 yağa göre düzeltilmiş süt verimi, süt kompozisyonu, süt yağ asiti profili ve süt somatik hücre sayısına ait veriler toplanmıştır.

3.2.2.1. Performans Parametreleri

Süt sığırı performans verilerinden olan; yem tüketimi, canlı ağırlık değişimi ve vücut kondüsyon skoru haftalık, süt verimleri ise sabah ve akşam sağım süt verimlerinin toplanması ile günlük olarak tespit edilmiştir. Ayrıca yağa göre düzeltilmiş süt verimi hesaplanmıştır. hesaplamada aşağıdaki eşitlik (NRC, 2001) kullanılmıştır;

%4 Yağa Göre Düzeltilmiş Süt Verimi (kg/gün)= [(0.4 + 0.15 x %süt yağı) x süt verimi].

3.2.2.2. Sütte Somatik Hücre Sayımı

Somatik hücreler sütte bulunan bakteriyel hücrelerden farklı olarak vücut hücrelerinin bir göstergesidir. Genel olarak subklinik enfeksiyonlardan dolayı önemli ölçüde süt verim kaybına neden olmayan 200000 veya altındaki hücre sayısı sürüde kabul edilebilir bir değerdir. Alınan süt örneklerinin somatik hücre sayısı süt kompozisyon analizlerinin yapıldığı günlerde (haftada iki gün) sabah sağımından

alınan süt örneklerinde somatik hücre sayım cihazı (Somatic Cell Counter DCC, DeLaval Group, İsveç) ile belirlenmiştir. Gonzalo ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada DeLaval somatik hücre sayım cihazının sütte somatik hücre sayısını belirlemede bir referans metod olarak alınabileceğini bildirmişlerdir. Bu cihazın çalışma prensibi DNA spesifik fluorescent probe propidium iodide ile boyanmış somatik hücreleri sayması şeklindedir.

3.2.2.3. Süt Kompozisyonu

Süt kompozisyonu (kuru madde, yağ, protein, laktoz, kazein, üre azotu) analizleri, haftada 2 gün sabah ve akşam sağimlarından alınan süt örneklerinde yapılmıştır. Sabah ve akşam sağimlarında süt kompozisyonunun değişebileceği göz önünde bulundurulmuş ve bu sağimlara ait süt verimlerinin günlük süt verimine oranı hesaplanmıştır. Daha sonra süt kompozisyonlarının hesaplanmasında sabah akşam süt miktarlarının ağırlıkları dikkate alınmıştır Süt analizleri MilkoScan FT-120 (FOSS, Danimarka) ile yapılmıştır.

3.2.2.4. Süt Yağ Asiti Profili

Süt yağ asidi profilinin belirlenmesi bir dizi işlemleri içermektedir. İlk olarak sütün yağı ayrılır daha sonra metilesterifikasyona tabii tutulur en son aşamada ise GC cihazında yağ asiti profile belirlenir. Bu işlemler aşağıda detaylarıyla anlatılmıştır.

Süt yağ asidi profillerinin belirlenmesi amacıyla sütlerden lipit çıkartma işlemi Bligh ve Dyer (1959) methoduna göre yapılmıştır. Bu metoda göre yaklaşık 10 ml süt örneği üzerine 1:2 oranında 120 ml metanol+kloroform karışımı eklenerek homojenize edilmiştir. Daha sonra bu örnekler üzerine %0.4'lük CaCl_2 solüsyonundan 20 ml eklenerek süzgeç kağıdından (R=185 mm, Wathman) geçirilmiştir. Süzülen örnekler, 105 °C'de 2 saat etüvde bekletilip darası alınmış olan balonlara süzdürülmüştür. Bu balonlar ağızları hava almayacak şekilde kapatılarak 1 gece karanlık bir ortamda bekletilmiş ve ertesi gün metanol+su'dan oluşan üst tabaka, bir ayırma hunisi yardımıyla atılmıştır. Balon içinde kalan solüsyondaki

kloroform+lipit kısmından kloroform, 60 °C'de su banyosu yardımıyla bir rotary evaporatör kullanılarak uçurulmuştur. Daha sonra, balonlar etüvde 1 saat süreyle 90 °C'de bekletilerek içerisindeki kloroformun tamamen uçması sağlanmış ve bir desikatör içerisinde oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Daha sonra balonda toplanan yağa metilesterifikasyon işlemi uygulanmıştır.

Yağ asitleri, yağlardaki (trigliseritler) ester bağının hidrolizi ve gliserolün ayrılması ile elde edilir ve bu işleme esterifikasyon olarak adlandırılır. Esterifikasyonda kullanılan alkole göre adlandırılırlar (metilesterifikasyon, etilesterifikasyon gibi). Çalışmamızda süttten elde edilen yağların metilesterifikasyonu AOAC (1998) göre yapılmıştır. Buna göre elde edilen yağ üzerine 2 ml isooktan ve tüp içerisine 1.5 ml of 0.5 M methanolik sodyum hidroksit eklenerek karıştırılmıştır. Daha sonra elde edilen karışım 100°C de 7 dakika kaynatılmış, tüp soğutulduktan sonra 2ml boron triflorid eklenmiş ve tekrar 100°C'de 5 dakika kaynatılmıştır. Tüpler 30-40°C kadar soğutulduktan sonra 5ml doymuş sodyum klorid eklenmiş ve tüpler tekrar karıştırılmıştır. Daha sonra tüp içerisindeki karışım tabaka oluşana kadar dışarıda bekletilmiş ve üst tabaka (isooktan tabakası) alınarak GC'ye enjekte edilmiştir.

Süt yağ asidi analizi bir adet alev iyonizasyon detektörü ve silika SGE kolonu (30 mx 0.32 mm IDx0.25 µm, BP20 0.25 UM, USA) bulunan GC Clarus 500 cihazı (Perkin–Elmer, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları sırası ile önce 220°C'ye sonra 280°C'ye ayarlanmıştır. Bu esnada fırın sıcaklığı 5 dakıda 140 °C'de tutulmuş, sonrasında her dakika 4 °C artırılarak 200 °C'ye kadar, 200 °C'den 220'ye de her dakika 1°C artırılmıştır. Numune ölçüsü 1 µl ve taşıyıcı gaz da 16 PC'de kontrol edilmiş, split 1:50 oranında kullanılmıştır. Yağ asitleri, metil esterleri (FAME) karışımının geliş zamanlarına bağlı olarak karşılaştırılarak tanımlanmış ve GC analiz sonuçları % olarak ifade edilmiştir.

3.2.2.4.(1) Yem analizleri

In vivo denemelerde kullanılan yemlerin kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham kül (HK) analizleri AOAC (1998) standart prosedürlerine göre, ADF ve NDF analizleri Vansoest ve ark. (1991)'e göre ANKOM Fiber analizörü kullanılarak yapılmıştır.

3.2.3. İstatistik Analizler

3.2.3.1. Araştırmanın *in vitro* kısmının istatistik analizi

İlk *in vitro* çalışma 14x4 faktöriyel tertipte (14 uçucu yağ ve 4 dozu) tesadüf parselleri deneme planına göre yürütülmüş ve analiz edilmiştir. Çalışmanın modeli aşağıda verilmiştir.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

burada;

Y_{ijk} = i'inci uçucu yağın j'inci dozuna ait k'inci gözlem

μ = populasyon ortalamasını

α_i = i'inci uçucu yağın etkisi,

β_j = j'inci dozun etkisi,

$\alpha\beta_{ij}$ = i'inci uçucu yağın ve j'inci dozun interaksyonu,

e_{ijk} = hata terimini göstermektedir.

In vitro çalışmanın ikinci aşamasında her bir yem (arpa, SK ve buğday samanı) için seçilen iki bitki uçucu yağı ve dozları ile bunların kaplanmış ve kaplanmamış formları kontrol grupları ile yine 2 (bitki uçucu yağ ve dozu) x3 (kontrol, kaplanmış ve kaplanmamış form) faktöriyel tertipte tesadüf parselleri deneme deseninde test edilmiştir. Çalışmanın modeli aşağıda verilmiştir.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + e_{ijk}$$

burada;

Y_{ijk} = i'inci uçucu yağın j'inci formununa ait k'inci gözlem

μ = popülasyon ortalamasını

α_i = i'inci uçucu yağın etkisi,

β_j = j'inci formun etkisi,

$\alpha\beta_{ij}$ = i'inci uçucu yağın j'inci form ile interaksyonu,

e_{ijk} = hata terimi göstermektedir.

3.2.3.2. Araştırmanın *in vivo* Kısmının İstatistik Analizi

In vivo çalışmalarda da *in vitro* da belirlenen 6 adet bitki uçucu yağının 3'ü (tarçın, sarımsak, defne) ilk çalışmada, diğer üçüde (portakal kabuğu, kekik, iğde) ikinci çalışmada kontrolle birlikte tesadüf parselleri deneme deseninde test edilmiştir. Çalışmada yem tüketimi, süt verimi ve süt kompozisyonuna ilişkin olarak elde edilen veriler tesadüf parselleri deneme deseninin de analiz edilmiştir. *In vivo* denemelerin matematik modeli aşağıda verilmiştir.

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

burada;

Y_{ij} = i. muamelenin j'inci gözlemi,

μ = popülasyon ortalamasını

α_i = muamele (uçucu yağ) etkisi

e_{ij} = hata terimini göstermektedir.

Hem *in vitro*, hem de *in vivo* çalışmalar sonunda elde edilen veriler SAS (1997) paket programı kullanılarak deneme modeline uygun olarak varyans analizine tabi tutulmuş, ortalamaların karşılaştırılmasında Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Bek ve Efe, 1998).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada iki *in vitro* ve iki *in vivo* olmak üzere 4 çalışma yürütülmüştür. Çalışmanın *in vitro* aşamalarının ilkinde literatür bilgilerine dayanılarak seçilen 14 bitki uçucu yağın *in vitro* çalışmaların substratı olan buğday samanı, soya fasülyesi küspesi ve arpanın besin madde (KM,OM,HP,NDF) sindirilebilirliklerine etkisi araştırılmıştır. Bu ilk *in vitro* aşamada elde edilen sonuçlar kapsülasyonun etkisinin araştırıldığı ikinci *in vitro* aşama için kullanılacak bitkisel uçucu yağların seçiminde literatür bilgisi desteği ile yön vermiştir. *In vitro* çalışmalar ve literatür bilgileri doğrultusunda seçilen 6 bitkisel uçucu yağ *in vivo* çalışmalarda test edilmiştir.

4.1. *In vitro* Denemeler

In vitro denemeler iki aşamalı inkübasyonları içermekte olup ilk aşama inkübasyonlarında 14 adet bitki uçucu yağı (kekik ,çörek otu, nane ,defne, kişniş ,rezene biberiye ,kimyon ,portakal kabuğu, üzüm çekirdeği, sarımsak ,anason ,tarçın, iğde) ve bunların 4 dozu (0, 50 ppm,100 ppm, 150 ppm) kontrole göre test edilmiş ve bunlar arasından belirlenen uygun yağ ve dozlarının kapsüle edilmiş formlarının yemlerin (buğday samanı ,arpa ve soyafasülyesi küspesi) sindirilebilirliklerine etkileri ikinci aşamada incelenmiştir.

4.1.1. Birinci *in vitro* Deneme

In vitro çalışmalarımızda ana hedef bitkisel uçucu yağların yem hammaddelerinin sindirilebilirliklerine yağ ve doz interaksyon etkisini araştırmak olsada ana etkilerin (yağın etkisi, dozun etkisi) tek tek kendi aralarında incelenmesi ana etkilerin interaksiyona olan etki paylarını gözlemek adına önemlidir. Bu nedenle verilerde inter aksiyon etkileri yanı sıra ana etkiler ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Birinci aşamada yapılan inkübasyonlara ait bulgular aşağıda alt başlıklar halinde verilmiştir.

4.1.1.1. Birinci *In vitro* Çalışmada *In vitro* Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu Yağların Etkisi

Çalışmanın bu kısmında ondört bitkisel uçucu yağ (kekik ,çörek otu, nane ,defne, kişniş ,rezene biberiye ,kimyon ,portakal kabuğu, üzüm çekirdeği, sarımsak ,anason ,tarçın, ığde) ve üç yem materyali (buğday samanı ,arpa ve soyafasülyesi küspesi) ile yapılan inkübasyonlar gerçekleştirilmiştir. Veriler değerlendirildiğinde uçucu yağların bütün yemlerin sindirilebilirliklerini istatistiki olarak önemli düzeyde etkilediği bulunmuştur (Çizelge 4.1-4.2).

Çizelge 4.1. Bitkisel Uçucu Yağların (BUY) Buğday Samanının, *in vitro* Gerçek Kuru madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Detergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi

Bitkisel Uçucu yağ	Buğday Samanı		
	KM	OM	NDF
Kekik	35.48fgh	38.64bc	22.74fgh
Çörekotu	34.89ghi	31.23fg	21.99gh
Nane	37.27e	36.27cd	24.91e
Biberiye	33.29i	29.18g	20.04i
Defne	37.87de	36.98bcd	25.65de
Kişniş	34.11hi	33.18ef	21.04hi
Tarçın	46.64a	44.9a	36.41a
Sarımsak	39.67c	35.82cde	27.86c
İğde	36.94ef	35.91cde	24.52ef
Üzüm çekirdeği	36.28efg	34.76de	23.70efg
Kimyon	36.39efg	34.1de	23.83efg
Anason	39.66c	39.26b	27.85c
Portakal Kabuğu	42.07b	44.43a	30.80b
Rezene	38.97cd	36.58bcd	27.00cd

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.1 incelendiğinde buğday samanının *in vitro* gerçek KM, OM ve NDF sindirilebilirliği en yüksek tarçın uçucu yağında belirlenmiş bunu, portakal kabuğu, anason ve sarımsak yağları izlemiştir. En düşük sindirilebilirlik ise biberiye, kişniş ve çörekotu yağlarında saptanmıştır. Diğerleride bunların arasında yer almıştır. Buğday samanı lif kaynağı olarak dikkate alındığında arzulanan KM, OM ve NDF

sindirilebilirliğinin artmasıdır. Bitkisel uçucu yağlardan bu bakımdan en dikkat çekici bulunanlar tarçın ve portakal kabuğu yağıdır.

Bitki uçucu yağlarının SK sindirilebilirliğine etkileri değerlendirildiğinde SK'nın *in vitro* gerçek KM, OM sindirilebilirliğini tarçın, kekik ve kimyon uçucu yağları ve HP sindirilebilirliğinin sarımsak yağı ile önemli düzeyde arttığı, kişniş, defne, çörekotu ve ığde uçucu yağlarının ise SK'nın gerçek KM, OM ve HP sindirilebilirliğini düşürdüğü görülmektedir (Çizelge 4.2).

Rumende yıkılabilirliği yüksek olan protein kaynaklarının hayvan tarafından etkin kullanılması amacı ile rumende yıkılabilirliğinin düşürülmesi istenir. SK ile yapılan inkübasyonlar sonucu kişniş, ığde, çörek otu, defne uçucu yağlarının SK'nın ham protein sindirilebilirliğini düşürdüğü görülmektedir. Bu nedenle SK'nın sindirilebilirliğini düşüren bu bitkisel uçucu yağların rumende azot mevcudiyetinin kontrolü ve manipülasyonunu sağlayarak iyi kalite protein kaynaklarının etkin kullanımında bir araç olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir..

Çizelge 4.2. Bitkisel Uçucu Yağların (BUY) Soya Küspesinin (SK), *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Ham Protein (HP) Sindirilebilirliğine Etkisi.

Bitkisel Uçucu yağ	Soya Fasülyesi Küspesi		
	KM	OM	HP
Kekik	95.16ab	94.55a	50.38 def
Çörekotu	91.84h	91.74de	48.28 ef
Nane	94.16de	93.75b	50.34 def
Biberiye	94.47cd	94.43a	54.81bc
Defne	91.99h	91.41ef	50.19 def
Kışniş	91.02i	90.78f	47.21f
Tarçın	95.27a	95.16a	49.99 def
Sarımsak	93.00fg	92.86c	63.82 a
ığde	92.91fg	92.54c	47.25 f
Üzüm çekirdeği	92.73g	92.19cd	55.37 bc
Kimyon	94.92abc	94.64a	54.78 bc
Anason	94.68bc	94.85a	52.46 cd
Portakal Kabuğu	93.31f	92.72c	51.19 de
Rezene	93.81e	93.69b	56.54 b

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Enerji kaynağı yem olarak değerlendirilen ve kolay yıkılabilen bir nişasta kaynağı olan arpanın rumende yavaş sindirilmesi istenir. Bilindiği gibi kolay yıkılabilir karbonhidratlar rumende pH'yı hızlı bir şekilde düşürerek rumen mikroflora dengesinin bozulmasına neden olur. Bu bakımdan hızlı sindirilme özelliği olan arpanın sindirilebilirliğini düşüren BUY'lar tercih sebebi olabilir. Bu çalışmada portakal kabuğu, defne, kişniş ve kekik yağları arpanın gerçek KM ve OM sindirilebilirliğini diğerlerine göre düşürmüşlerdir (Çizelge 4.3). Buna karşın tarçın ve kimyon uçucu yağı, arpanın KM ve OM sindirilebilirliğini diğer yağlarla karşılaştırıldığında önemli düzeyde artırmıştır. Tarçın yağının buğday samanında NDF sindirimini artırması selülotik bakterilerin aktivitesinin artırılması ile yorumlanacak olursa, bitkilerin dış yapı elemanlarının sindiriminin bu şekilde arttığı ve karbonhidrat sindiren bakterilerin substratlarına yem dış yapı elemanlarının (selüloz gibi) sindiren bakteriler sayesinde daha kolay ulaşmalarının sağlandığı söylenebilir.

Çizelge 4.3. Bitkisel Uçucu Yağların (BUY) Arpanın, *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM) ve Organik Madde (OM) Sindirilebilirliğine Etkisi

Bitkisel Uçucu yağ	Arpa	
	KM	OM
Kekik	82.52f	82.54d
Çörekotu	83.27de	83.49bc
Nane	83.88c	83.26bcd
Biberiye	82.92ef	82.48d
Defne	81.53g	81.45e
Kişniş	81.55g	81.1e
Tarçın	85.28a	84.98a
Sarımsak	83.68cd	83.67b
İğde	83.72cd	83.47bc
Üzüm çekirdeği	84.08c	84.06b
Kimyon	84.62b	85.11a
Anason	83.81cd	83.45bc
Portakal Kabuğu	81.20g	79.95f
Rezene	83.66cd	82.53d

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

4.1.1.2. Birinci *in vitro* Çalışmada *in vitro* Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu Yağların Dozunun Etkisi

Bitkisel uçucu yağlarla yapılan çalışmalarda doz çok önemli bir unsurdur. Aynı bitkisel uçucu yağın farklı dozları çok farklı etkiler gösterebilmektedir. Bitkisel yağların en uygun dozunun belirlenmesi ile rumen fermantasyonunun maniplasyonu sağlanabilmektedir (Calsamiglia ve ark., 2007b).

Çalışmamızda farklı dozlarla yapılan inkübasyonlarda elde edilen *in vitro* gerçek sindirilebilirlik verileri farklı yem hammadeleri için aşağıdaki çizelgede verilmiştir (Çizelge 4.4-4.6).

Bitkisel uçucu yağlardan bağımsız olarak dozların etkisine bakıldığında, buğday samanı gerçek KM sindirilebilirliğinin artan dozla önce artma sonra düşme eğilimi gösterdiği saptanmıştır. Buğday samanının organik madde sindirilebilirliği ise dozdan etkilenmemiştir. NDF sindirilebilirliği KM sindirilebilirliğinde olduğu gibi en iyi 100 ppm'lik dozda gözlenirken bunu sırasıyla 50 ve 150 ppm'lik dozlar takip etmiştir. (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Dozların Buğday Samanının *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Detergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi

Buğday Samanı			
Doz (ppm)	KM	OM	NDF
0	37.16b	36.41a	24.79b
50	38.00ab	37.07a	25.80ab
100	38.41a	36.44a	26.32a
150	37.71ab	36.14a	25.47ab

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.5. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Dozların SK'nın *in vitro* Gerçek KM, OM ve HP Sindirilebilirliğine Etkisi

Soya Küspesi			
Doz (ppm)	KM	OM	HP
0	94.00a	93.86a	50.58b
50	93.62b	93.38b	51.28b
100	93.86ab	93.5ab	53.29a
150	92.57c	92.19c	54.16a

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Kolay yıkılabilen bir protein kaynağı olan SK'nın *in vitro* gerçek KM ve OM sindirilebilirliği artan dozla düşme ($P<0.01$) eğiliminde iken, protein sindirilebilirliği artma ($P<0.01$) eğiliminde olmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.6. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Dozların Arpa'da *in vitro* Gerçek KM ve OM Sindirilebilirliğine Etkisi

Doz (ppm)	Arpa	
	KM	OM
0	83.31b	83.04a
50	83.80a	83.33a
100	83.36b	83.13a
150	82.58c	82.37b

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$).

Kolay yıkılabilir bir nişasta kaynağı olan arpanın *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirliği bitkisel uçucu yağlardan bağımsız olarak doz etkisine bakıldığında 50 ppm ile artarken, 100 ppm de farklılık olmamış, 150 ppm de ise düşmüştür ($P<0.01$). Arpanın *in vitro* gerçek OM sindirilebilirliği ise 150 ppm doz ile diğerlerinden daha düşük saptanmıştır (Çizelge 4.6).

4.1.1.3. Birinci *in vitro* Çalışmada *in vitro* Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu YağxDoz İnteraksiyon Etkisi

Faktöriyel tertipte yürütülen çalışmalarda ana hedef iki faktör arasındaki interaksiyonların ortaya konmasıdır. Yaptığımız bu çalışmada 14 bitkisel uçucu yağ ve 4 farklı dozun etkilerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bitkisel uçucu yağların rumende besin madde sindirilebilirliğine ve yıkılabilirliğine etkisi içerdikleri etkil maddelerin düzeyi ve çeşitliliğindeki değişim nedeniyle farklılık gösterebilir. Bu nedenle en etkili bitkisel uçucu yağ ile uygun dozunun saptanması önemlidir. Bu etkilerin net olarak ortaya konması için bu çalışma interaksiyonlu olarak yürütülmüştür. Ana etkiler (bitkisel uçucu yağlar ve dozlar) genel bir eğilim verirken faktöriyel denemelerde özellikle interaksiyon etkisi üzerinde durmak gerekmektedir. Bu nedenle bu çalışmanın bir sonraki aşamalarında kullanılan uçucu yağlar ve uygun

dozları BS, SK ve arpanın uçucu yağ ve doz interaksyonu sonuçlarına göre belirlenmiştir.

Deneme yemlerinin *in vitro* gerçek KM, OM, HP ve NDF sindirilebilirliklerine ilişkin uçucu yağ x doz interaksyonu etkisini gösteren sonuçlar çizelgelerde verilmiştir (Çizelge 4.7-4.9)

Buğday samanı *in vitro* gerçek KM, OM ve NDF sindirilebilirliği bitkisel uçucu yağ x doz interaksyonundan önemli düzeyde etkilenmiştir ($P < 0.01$, Çizelge 4.7). Veriler incelendiğinde tarçın, portakal kabuğu, anason ve sarımsak uçucu yağlarının buğday samanını KM, OM ve NDF sindirilebilirliğini kontrole göre önemli düzeyde arttırdığı görülmektedir. Biberiye yağının 50 ppm'lik dozunda buğday samanını KM, OM ve NDF sindirilebilirliği %40'a varan değerlerde düşmüştür.

Buğday samanı ile yapılan inkübasyonlar sonucu sarımsak yağının 50 ppm dozu ile tarçın ve portakal kabuğu yağının 100 ppm dozunun ikinci *in vitro* denemelerde kullanılabileceği değerlendirilmiştir.

Tarçının ana aktif bileşenlerinden biri olan eugenol gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerine güçlü antimikrobiyal etkiye sahiptir (Davidson ve Naidu, 2000). Calsamiglia ve ark. (2007a), eugenolun etkisini iki tip yem kullanarak *in vitro* test ettikleri çalışmada 60:40 kaba kesif yem (yonca samanı, mısır, arpa ve SK) kullanıldığında eugenolun amonyak azotunu ve dallı zincirli yağ asitlerinin konsantrasyonunu düşürdüğünü ve deaminasyonu inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Buna karşın rasyonu et sığırtı tipi ve oranı da 10:90 kaba:kesif yem olarak değiştirdiklerinde eugenolun toplam uçucu yağ konsantrasyonunu ve propionat oranını azalttığı asetat ve asetat:propionat oranını arttırdığını saptamışlardır. Aynı çalışmada eugenolun 5mg/L'lik dozunun NDF sindirilebilirliğini, 50mg/L'lik dozunun ise KM ve OM sindirilebilirliğini artırdığını gözlemlemişlerdir. Eugenolun uygun dozunun kullanılması ile rumende protein ve enerjinin etkin kullanımı sağlanabildiği belirtilmektedir (Calsamiglia ve ark., 2007a). Buna göre çalışmamızda tarçın proteolitik bakterileri baskı altına alıp selülotik bakterilerin daha aktif duruma geçirerek buğday samanının sindirilebilirliğini artırmış olabileceği düşünülebilir.

Portakal kabuğunun ana aktif bileşeni olan limonenin rumen fermantasyonuna etkisinin araştırıldığı çalışmalar oldukça sınırlı olup Castillejos ve ark. (2006) *in vitro* yaptıkları çalışmada 500 mg/L lik dozunun amonyak ve uçucu yağ oranını azalttığını ve propionat oranını değiştirmediğini tespit etmişlerdir. Dorman ve Deans (2000) limonenin gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğunu 50 ve 500 mg/L'lik dozlarının uçucu yağ asiti oranını dūřürdüęünü ve bu dozların rumen bakterileri için toksik etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Portakal kabuğunun rumen bakterileri üzerine olan toksit etkisine rağmen çalışmamızda NDF sindiriminin artmış olması selüloz sindiren selülotik bakterilerin portakal kabuğunun toksit etkisinden etkilenmediği ve seçici davrandiğını dūřündürmüřtür.

Çizelge 4.7. Buğday Samanının *in vitro* Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve NDF Sindirilebilirliğine Bitki Uçucu Yağ (BUY) x Doz İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel Uçucu yağı	Doz	Buğday Samanı		
		KM	OM	NDF
Kekik	0	37.16	36.41	24.79
	50	34.85	48.51	21.85
	100	35.57	26.92	22.93
	150	34.32	42.73	21.41
Çörekotu	0	37.16	36.41	24.79
	50	34.80	28.15	21.90
	100	31.52	30.49	17.87
	150	36.05	29.87	23.43
Nane	0	37.16	36.41	24.79
	50	36.50	34.13	23.98
	100	37.82	37.97	25.60
	150	37.57	36.55	25.28
Biberiye	0	37.16	36.41	24.79
	50	25.29	20.71	10.22
	100	35.55	29.96	22.82
	150	35.15	29.64	22.32
Defne	0	37.16	36.41	24.79
	50	40.33	40.28	28.68
	100	37.98	38.03	25.79
	150	36.00	33.19	23.36

Kışniş	0	37.16	36.41	24.79
	50	27.98	27.10	13.52
	100	36.44	35.52	23.90
	150	34.86	33.70	21.96
Tarçın	0	37.16	36.41	24.79
	50	50.12	48.03	40.69
	100	51.35	49.69	42.20
	150	47.90	45.46	37.96
Sarımsak	0	37.16	36.41	24.79
	50	43.22	40.14	32.22
	100	35.11	30.81	22.27
	150	43.16	35.93	32.15
İğde	0	37.16	36.41	24.79
	50	38.43	37.02	26.35
	100	38.46	36.72	26.38
	150	33.71	33.49	20.55
Üzüm çekirdeği	0	37.16	36.41	24.79
	50	34.29	32.02	21.26
	100	35.20	32.99	22.38
	150	38.46	37.63	26.38
Kimyon	0	37.16	36.41	24.79
	50	40.54	37.63	28.94
	100	36.53	33.87	24.02
	150	31.30	28.48	17.60
Anason	0	37.16	36.41	24.79
	50	40.68	40.01	29.10
	100	39.49	40.38	27.65
	150	41.29	40.26	29.85
Portakal kabuğu	0	37.16	36.41	24.79
	50	41.92	45.83	30.63
	100	46.16	50.83	35.83
	150	43.01	44.65	31.97
Rezene	0	37.16	36.41	24.79
	50	42.98	39.45	31.93
	100	40.49	35.99	28.88
	150	35.22	34.45	22.40
	SEM	1.137	1.880	1.396
Etkiler (P<)	BUY	0.000	0.000	0.000
	DOZ	0.032	0.608	0.031
	BUY*DOZ	0.000	0.000	0.000

SK ile yapılan inkübasyon verileri incelendiğinde SK'nın *vitro* gerçek KM ve OM sindirilebilirliği kontrole göre çörekotu, defne, kişniş, sarımsak ve üzüm çekirdeği uçucu yağlarında artan doz ile düşerken, HP sindirilebilirliği sarımsak ve üzüm çekirdeği yağlarında kontrole göre artmıştır. (Çizelge 4.8). Diğer taraftan SK'nın *in vitro* gerçek protein sindirilebilirliği çörekotunun 100 ppm, iğdenin 50 ppm ve defne yağının 150 ppm dozlarında önemli düzeyde düşmüştür. SK gibi kolay yıkılabilen bir protein kaynağının rumende yıkımının düşürülmesi arzulanır. Bu bakımdan rumende protein yıkımını düşürmenin bir aracı olarak bu beş uçucu yağ kaynağının çalışmanın sonraki aşamalarında test edilmesinin uygun olabileceğinin değerlendirilmesi yapılmıştır..

Duval ve ark., (2007).yapmış oldukları çalışmalarında; uçucu yağların proteolitik ve peptidolitik aktiviteyi etkilemediği ancak amino asitlerin deaminasyonunu azalttıkları çözünebilir protein kaynakları kullanılarak gösterilmiştir Diğer taraftan McIntosh ve ark. (2003) hiper amonyak üreten bakterilerin bitkisel uçucu yağlar ile baskı altına alındığını ifade etmişlerdir. Yine değişik araştırmacılar proteinlerin rumende yıkımı üzerine yaptıkları çalışmalarda soya küspesi proteinini yıkımının esansiyel yağ karışımları ile koyun ve sığır rumeninde inkübe edilmesi ile değişmediğini bildirmişlerdir (Newbold ve ark., 2004; Benchaar ve ark. 2006b). Molero ve ark. (2004) farklı bitki uçucu yağ karışımları ile inkübe edilen farklı protein kaynaklarının yıkımında farklılık gösterdiğini bildirmişler ve bu etkileşimin rasyon kaba/kesif yem oranına göre değişebileceğini ifade etmişlerdir.

Bitki uçucu yağlarının rumende protein yıkılabilirliği üzerine etkilerinin farklılığının farklı protein kaynaklarının yıkım hızının farklılığına, enerji mevcudiyetine, bitki uçucu yağının dozuna ve rumenin boşalma hızı gibi faktörlere bağlı olabileceğini belirten çalışmalar mevcuttur.

Wallace ve ark. (2002), farklı protein kaynaklarının yıkılabilirliğine esansiyel yağların etkisini araştırdıkları çalışmalarında soya, ayçiçeği, balıkunu, bezelye ve kolzanın yıkılabilirliğini Dacron bag tekniği kullanarak test etmişlerdir. Çalışmalarında esansiyel yağ eklenmiş yemle beslenen koyunlarla yapılan inkübasyonlarda yalnızca bezelyenin sindirilebilirliğinin azaldığını belirtmişlerdir.

Newbold ve ark. (2004), esansiyel yağların rumen fermantasyonuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında yem maddesi olarak kullandıkları kolza küspesi ve soya küspesi yıkılabilirliklerinin esansiyel yağlardan farklı şekilde etkilendiğini gözlemişler ve farklı proteolitik bakterilerin farklı proteinlerin sindirimlerinden sorumlu olması ile bu durumun açıklanabileceğini belirtmişlerdir.

Çalışmamızda farklı yem maddeleri ile yapılan inkübasyonlarda olabilecek ortam pH değişimlerinin de esansiyel yağların etkinliğini etkilemiş olabileceği ve bu nedenle de soya fasulyesinde görülen farklılığın ortaya çıkmış olabileceğini çalışma sonuçları doğrultusunda değerlendirilmiştir. Zira Cardoza ve ark. (2006) bazı esansiyel yağların rumen fermantasyonuna farklı pH değerlerinde farklı etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar ana bileşeni cinnammaldehid olan esansiyel yağ karışımının pH 5.5'te toplam uçucu yağ asitlerini artırıp asetat propionat oranını azaltırken, pH 7.0'da pH 5.5'te gösterdiği etkinin tam tersi etki göstererek toplam uçucu yağlarını azalttığını buna karşın asetat propionat oranını artırdığını gözlemişlerdir.

Çizelge 4.8. SK'nın *in vitro* Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve Protein Sindirilebilirliğine Bitkisel Uçucu Yağ x Doz İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Doz	Soya Küspesi		
		KM	OM	HP
kekik	0	94.00	93.86	50.583
	50	93.34	92.27	49.768
	100	98.15	97.62	48.611
	150	95.12	94.45	52.554
Çörekotu	0	94.00	93.86	50.583
	50	91.49	91.53	52.456
	100	90.82	91.15	42.721
	150	91.01	90.42	47.341
Nane	0	94.00	93.86	50.583
	50	94.12	93.22	50.069
	100	93.84	93.55	49.167
	150	94.63	94.36	51.541
Biberiye	0	94.00	93.86	50.583
	50	94.27	94.17	47.691
	100	94.03	93.86	64.455
	150	95.56	95.82	56.507

Defne	0	94.00	93.86	50.583
	50	90.40	89.96	53.696
	100	93.10	91.92	49.005
	150	90.43	89.89	47.494
Kişniş	0	94.00	93.86	50.583
	50	91.60	91.58	40.013
	100	92.59	92.43	45.884
	150	85.85	85.23	52.391
Tarçın	0	94.00	93.86	50.583
	50	96.12	96.02	50.716
	100	95.82	95.76	46.169
	150	95.13	94.99	52.501
Sarımsak	0	94.00	93.86	50.583
	50	94.12	94.22	63.460
	100	93.62	93.42	76.461
	150	90.23	89.93	64.759
İğde	0	94.00	93.86	50.583
	50	92.06	91.45	39.066
	100	92.95	92.35	54.942
	150	92.59	92.49	44.391
Üzüm çekirdeği	0	94.00	93.86	50.583
	50	96.20	95.66	58.211
	100	91.52	91.46	54.342
	150	89.18	87.77	58.348
Kimyon	0	94.00	93.86	50.583
	50	94.35	94.15	53.266
	100	96.34	95.92	58.040
	150	94.99	94.63	57.224
Anason	0	94.00	93.86	50.583
	50	96.16	96.48	49.166
	100	93.81	93.82	47.732
	150	94.72	95.24	62.362
Portakal Kabuğu	0	94.00	93.86	50.583
	50	93.06	92.81	50.333
	100	93.31	92.00	56.008
	150	92.86	92.20	47.847
Rezene	0	94.00	93.86	50.583
	50	93.40	93.84	60.063
	100	94.14	93.76	52.577
	150	93.67	93.29	62.930
SEM		0.349	0.482	2.169
Etkiler (P<)	BUY	0.000	0.000	0.000
	DOZ	0.000	0.000	0.000
	BUY *DOZ	0.000	0.000	0.000

Arpanın *in vitro* gerçek KM ve OM sindirilebilirlik değeri kişniş, defne ve portakal kabuğu yağında kontrole göre düşerken, tarçında özellikle 50 ve 100 pmm dozlarında artma gözlenmiştir (Çizelge 4.9). Arpanın *in vitro* gerçek KM ve OM sindirilebilirliğine diğer yağların önemli bir etkisi gözlenmemiştir. Arpa nişastası gibi rumende yıkılabilirliği yüksek olan kaynakların rumende sindirilebilirliğinin ve yıkılabilirliğinin düşmesi rumen pH'sının kontrolü için önemlidir. Bu yönüyle kişniş, defne ve portakal kabuğu yağlarının ümit vadedici olduğu görülmektedir. Özellikle laktasyon başında ve besi yemlerinde yüksek miktarlarda kullanılan kesif yemler akut veya subakut asidoza neden olabilmekte ve bu nedenle hayvanlarda performans düşüşü gözlenebilmektedir. Hızlı yıkılabilen nişasta kaynaklarının rumende yıkım hızının düşürülmesi bu problemlerin kontrolünü sağladığı gibi, rumende serbestleşen azot ve enerjinin senkronizasyonuna katkı sağlayarak besin madde (enerji ve protein) kullanım etkinliğini artırabilir. Defne, kişniş ve portakal kabuğu yağının bu yöndeki katkılarının test edilmesi büyük önem taşımaktadır. BUY'ların etkinliklerinin rasyonun kaba/kesif yem oranı (Molero ve ark. 2004) ve rumen pH'sına (Cardoza ve ark., 2005) göre değişebileceği bildirilmiştir.

Çalışmamızda nişasta kaynağı olarak kullandığımız arpa ile bitki uçucu yağları arasında bir etkileşim olabileceği ve arpa nişasta granüllerinin bitki uçucu yağların bazı komponentlerini absorbe ettiklerini ve nişastada kolonize olan bakterilerin bu nedenle BUY' lardan daha çok etkilenmiş olabilecekleri değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.9. Arpanın *in vitro* Gerçek Kuru Madde, Organik Madde Sindirilebilirliğine Bitkisel Uçucu Yağ x Doz İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel Uçucu Yağ	Doz	Arpa	
		KM	OM
Kekik	0	83.31	83.04
	50	82.25	82.89
	100	82.39	82.56
	150	82.10	81.67
Çörekotu	0	83.31	83.04
	50	83.62	83.67
	100	83.44	83.93
	150	82.69	83.33
Nane	0	83.31	83.04
	50	84.61	83.83
	100	83.80	83.14
	150	83.77	83.01
Biberiye	0	83.31	83.04
	50	82.84	82.25
	100	83.03	82.77
	150	82.49	81.86
Defne	0	83.31	83.04
	50	80.62	81.60
	100	82.43	81.94
	150	79.75	79.23
Kışniş	0	83.31	83.04
	50	82.87	82.29
	100	82.23	81.39
	150	77.79	77.68
Tarçın	0	83.31	83.04
	50	87.13	86.58
	100	86.89	86.56
	150	83.78	83.73
Sarımsak	0	83.31	83.04
	50	85.66	85.41
	100	83.02	82.96
	150	82.73	83.27
İğde	0	83.31	83.04
	50	83.01	82.16
	100	83.51	84.21
	150	85.02	84.46
Üzüm çekirdeği	0	83.31	83.04
	50	85.65	85.21
	100	83.35	83.94
	150	83.99	84.05
Kimyon	0	83.31	83.04
	50	85.52	86.41
	100	85.47	86.01
	150	84.16	84.98

	0	83.31	83.04
Anason	50	83.40	82.59
	100	84.68	83.98
	150	83.84	84.21
	0	83.31	83.04
Portakal Kabuğu	50	81.73	78.55
	100	79.53	78.58
	150	80.22	79.62
	0	83.31	83.04
Rezene	50	84.22	83.12
	100	83.33	81.85
	150	83.78	82.11
Etkiler (P<)	SEM	0.379	0.625
	BUY	0.000	0.000
	DOZ	0.000	0.000
	BUY *DOZ	0.000	0.000

4.1.1.4. Birinci *in vitro* Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağların Etkisi

Rumende değişik tipte mikroorganizma bulunmakla birlikte en çok bakteriler ve siliat protozoalar bulunmaktadır. Rumende yemlerin kimyasal olarak parçalanması bu mikroorganizmaların salgıladığı enzimler yardımıyla olmaktadır. Bu nedenle rumen mikroorganizma popülasyonu rumende gerçekleşen fermentasyonda çok büyük bir öneme sahiptir. Mikroorganizma popülasyon dağılımı rumen ortamının denge de olması bakımından önem taşımaktadır. Mikroorganizmaların rumen şartlarına (pH: 5.5 - 6.5, sıcaklık: 39-41°C.) göre sayı ve oranlarının değişiklik göstermesi hayvan beslemede etkin yem değerlendirilmesi bakımından büyük önem taşımaktadır. Rumende bakteri sayısının 10^8 - 10^{10} /ml, protozoa sayısının 10^5 - 10^6 /ml olduğu bildirilmektedir (Ørskov ve Ryle, 1990).

Bu çalışmada; 3 yem hammadde, 14 bitkisel uçucu yağı ve 4 farklı dozla yapılan inkübasyonlarda ortam pH'sının değişimi çok dar sınırlarda seyretmiştir. Bunun nedeni her uçucu yağın her bir dozu için sadece 1 inkübasyon jarı kullanılmasıdır. Bakteri ve protozoa sayıları değerlendirildiğinde ise logaritmik olarak bir değişimin görülmemesi bitki uçucu yağ seçimlerinde bu değerlerin göz ardı edilmesine neden olmuştur.

Buğday samanı ile yapılan inkübasyonlarda toplam bakteri ve toplam protozoa sayısı uçucu yağlardan sayısal olarak etkilenirken logaritmik bir etkiden söz edilememektedir. (Çizelge 4.10). Bakteri ve protozoa sayısı değerlendirildiğinde buğday samanı ile yapılan inkübasyonda en yüksek bakteri sayısı çörekotu, kişniş ve portakal kabuğu yağları ile yapılan inkübasyonlarda belirlenirken, bakteri sayısının yükselmesi bitki uçucu yağının bakterilerin sayısını azaltma yönünde etkisiz olduğu anlamına gelebilir. En düşük bakteri sayısı ise kekik ve tarçınla belirlenmiştir. Buğday samanı ile yapılan inkübasyonlar sonucu en düşük protozoa sayısı kişniş ile saptanırken, toplam bakteri sayısı en yüksek olan uçucu yağlardan biri de yine kişniş olmuştur (Çizelge 4.10). Bu bulgular protozoaların bakterileri tüketerek beslendikleri veya protozoaları devre dışı bırakan uygulamaların (defaunasyon) bakteri sayısını artırabileceği bilgileriyle uyum içindedir. Nitekim Chaudhary ve ark. (1995), yapmış oldukları çalışmada defaunasyon uygulaması yapılmış bir ruminant hayvanın defauna edilmemiş göre 1.7 kat daha fazla bakteriye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Lif kaynağının (buğday samanı) inkübe edildiği koşullarda bitki uçucu yağlarından antiprotozoal etkisi belirgin olarak ortaya çıkanlar kişniş, tarçın ve nane olmuştur.

Çizelge 4.10. Buğday Samanına Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Bitkisel Uçucu Yağ Etkisi

Bitkisel Uçucu Yağ	Buğday Samanı		
	pH	Toplam Bakteri ($\times 10^9$ /ml)	Toplam Protozoa ($\times 10^6$ /ml)
Kekik	6.50	6.39e	3.92bcd
Çörekotu	6.49	10.24a	4.28abc
Nane	6.51	8.2bcd	3.8cd
Biberiye	6.50	8.24bcd	4.6a
Defne	6.50	8.47bcd	4.36ab
Kişniş	6.50	8.86b	3.68d
Tarçın	6.49	7.82d	3.76cd
Sarımsak	6.50	8.18bcd	4.24abc
Iğde	6.50	8.13bcd	4.04bcd
Üzüm çekirdeği	6.51	8.49bcd	4.08abcd
Kimyon	6.50	8.52bcd	4.36ab
Anason	6.49	8.37bcd	4.28abc
Portakal kabuğu	6.49	8.8bc	3.92bcd
Rezene	6.48	7.91cd	4.11abcd

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Soya küspesi ile yapılan inkübasyonlarda en yüksek bakteri sayısı tarçın ve rezene yağı ile belirlenmiş, protozoa sayısı bu muamelelerde nispeten düşük bulunmuştur. Protozoa sayısı en yüksek nane ile saptanmış, bakteri sayısı ise naneli muamelede en düşük gruptan biri olmuştur. SK ile yapılan inkübasyonlarda antiprotozoal etki biberiye, kimyon ve anasonda yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Soya Küspesine Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Bitkisel Uçucu Yağ Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Soya Küspesi		
	pH	Toplam Bakteri (x10 ⁹ /ml)	Toplam Protozoa(x10 ⁶ /ml)
Kekik	6.48	9.18bcde	3.62bcde
Çörekotu	6.48	8.6ef	3.58bcde
Nane	6.44	7.97f	5.58a
Biberiye	6.47	8.75def	2.38f
Defne	6.46	8.70def	3.98b
Kişiş	6.46	9.83abc	3.78bc
Tarçın	6.48	10.46a	3.62bcde
Sarımsak	6.46	6.64g	3.62bcde
İğde	6.47	10.10ab	3.26cde
Üzüm çekirdeği	6.46	9.65abc	3.7bcd
Kimyon	6.48	9.55abcd	3.06e
Anason	6.45	9.71abc	3.14de
Portakal kabuğu	6.47	8.92cde	3.3cde
Rezene	6.45	10.25a	3.49bcde

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

İşkembede yıkılabilirliği yüksek nişasta kaynağı olan arpa ile uçucu yağların inkübasyonu sonunda uçucu yağların etkisi Çizelge 4.12 'de verilmiştir. Çizelge 4.12 incelendiğinde uçucu yağlar arasında antibakteriyal etkisi en belirgin BUY en düşük bakteri sayılarının gözlendiği iğde, defne ve üzüm çekirdeği yağları olmuştur. en yüksek toplam bakteri sayısı çörekotu yağında gözlenmiştir. Rumen mikroorganizma popülasyonu substrata bağlı olarak değişmektedir. Ortamda yıkılabilirliği yüksek nişasta kaynağı koyularak yapılan inkübasyonlarda muhtemelen nişasta sindiren bakteriler dominant duruma geçmiş ancak iğde, defne ve üzüm çekirdeği yağlarına karşı hassasiyet göstererek sayıları bu yağlarda en düşük değere ulaşmış olabilir. Buradan yola çıkarak nişasta sindirimi yapan amilolitik bakterilerin bu yağlara karşı hassas olabilecekleri söylenebilir. Çörekotu yağında ise hem en yüksek bakteri

sayısı, hem de en yüksek protozoa sayısı saptanmıştır. Arpalı inkübasyonlarda uçucu yağların antiprotozoal etkisi değerlendirildiğinde nane ve biberiyenin dikkat çekici olduğu görülmektedir. Çalışmamızda nane ile gözlenen antiprotozoal etki Patra ve ark. (2012) nın yapmış oldukları çalışma sonuçları ile uyum göstermiştir.

Çizelge 4.12. Arpaya Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Bitkisel Uçucu Yağ Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Arpa		
	pH	Toplam Bakteri ($\times 10^9$ /ml)	Toplam Protozoa ($\times 10^6$ /ml)
Kekik	6.33	8.09bc	3.73bc
Çörekotu	6.34	10.31a	4.49a
Nane	6.39	8.25bc	3.09e
Biberiye	6.35	8.11bc	3.29de
Defne	6.36	7.53bc	3.69bcd
Kişniş	6.36	8.14bc	3.49cde
Tarçın	6.34	8.70b	3.81bc
Sarımsak	6.36	8.42bc	3.49cde
Iğde	6.34	7.21c	3.49cde
Uzüm çekirdeği	6.36	7.64bc	3.81bc
Kimyon	6.34	8.13bc	3.73bc
Anason	6.34	8.09bc	3.97b
Portakal kabuğu	6.32	8.00bc	3.93bc
Rezene	6.35	8.61b	3.92bc

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

4.1.1.5. Birinci *in vitro* Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağların Dozunun Etkisi

Buğday samanı ile yapılan inkübasyonlarda bitkisel uçucu yağlardan bağımsız olarak dozların etkisi değerlendirildiğinde toplam bakteri sayısı ve protozoa sayısının dozla değişmediği gözlenmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Buğday Samanına Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Doz Etkisi

Doz	Buğday Samanı		
	pH	Toplam Bakteri ($\times 10^9$ /ml)	Toplam Protozoa ($\times 10^6$ /ml)
0	6.53	8.3	4.16
50	6.47	8.27	4.06
100	6.52	8.35	4.15
150	6.49	8.41	4.05

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Bir protein kaynağı olan Soya Küspesi ile yapılan inkübasyonlarda uçucu yağların dozlarının toplam bakteri ve protozoa üzerine etkisi önemli bulunmuş ($P < 0.01$) artan doz ile protozoa sayısı artarken, toplam bakteri sayısı azalmıştır (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Soya Küspesine Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Doz Etkisi

Doz	Soya Küspesi		
	pH	Toplam Bakteri ($\times 10^9$ /ml)	Toplam Protozoa ($\times 10^6$ /ml)
0	6.48a	9.76a	3.3b
50	6.49a	9.44ab	3.58a
100	6.45b	9.04b	3.71a
150	6.44b	8.43c	3.72a

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Niştastaca zengin enerji kaynağı arpa ile yapılan inkübasyonlarda doz protozoa sayısını etkilerken ($P < 0.01$) bakteri sayısı doz değişiminden etkilenmemiştir ($P > 0.05$).

Her ne kadar bu çalışmamızda farklı substratlarla yapılan inkübasyonlarda substratlar arasındaki farklılık araştırılmasa da, dozun etkisinin substratlara göre değiştiği görülmektedir. Yani samanın kullanıldığı inkübasyonlarda doz ile bakteri ve protozoa sayısı değişmezken, SK'nın kullanıldığı inkübasyonlarda protozoa sayısı doz ile artmış, bakteri sayısı düşmüş, arpanın kullanıldığı inkübasyonlarda ise doz artışı ile protozoa sayısı düşmüş ancak bakteri sayısı değişmemiştir.

Çizelge 4.15. Arpaya Ait pH, Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısına Doz Etkisi

Doz	Arpa		
	pH	Toplam Bakteri ($\times 10^9$ /ml)	Toplam Protozoa ($\times 10^6$ /ml)
0	6.39	8.25	3.89a
50	6.4	8.42	3.69ab
100	6.31	8.19	3.74a
150	6.3	8.07	3.51b

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

İnkübasyonlarda tek yem hammaddesinin kullanılması muhtemelen inkübasyon sıvısında substrata özgü bakterinin dominant duruma geçmesine neden olmuştur. Bakteri ve protozoa sayısının esansiyel yağların dozlarından farklı substratlarda farklı şekilde etkilenmiş olması dominant duruma geçen bakterilerin esansiyel yağlara ve dozlarına olan hassasiyetlerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim aynı bakterinin aynı BUY'ın farklı dozlarına olan tepkisinin farklılığını ortaya koyan çalışmalar mevcuttur (McIntosh ve ark., 2003, Chang ve ark., 2001b, Busquet ve ark. 2006).

4.1.1.6. Birinci *in vitro* Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu YağxDoz İnteraksiyon Etkisi

Buğday samanı ile yapılan inkübasyonlarda farklı bitkisel uçucu yağlar ve farklı dozların toplam bakteri ve protozoa sayısına etkileri Çizelge 4.16'da verilmiştir. İnteraksiyon etkisi sadece pH değişiminde gözlenmiş ($P < 0.01$) toplam bakteri ve protozoa sayısı etkilenmemiştir.

Soya küspesi ile yapılan inkübasyonlarda toplam bakteri ve protozoa sayısı bitki uçucu yağlarında dozlardaki değişimle önemli düzeyde değişmiştir ($P < 0.01$, Çizelge 4.17). Çörekotu, nane, biberiye, sarımsak uçucu yağının 150 ppm dozları toplam bakteri sayısını düşürürken, diğerlerinde önemli değişiklikler gözlenmemiştir. Biberiyede artan doz ile protozoa sayısı düşerken, çörek otunda düşmüş, kekikte, defnede, üzüm çekirdeği yağında yükselmiştir. Diğerlerinde ise değişim sınırlı düzeyde kalmıştır.

Kolay yıkılabilen nişasta kaynağı olan arpa ile yapılan inkübasyonlarda ortama konan bitki uçucu yağları ile dozlarının toplam bakteri sayısı ve protozoa sayısı ile ortam pH 'sına etkileri Çizelge 4.18'de verilmiştir. Arpa ile yapılan inkübasyonlarda toplam bakteri sayısı ve protozoa sayısı uçucu yağ x doz interaksyonundan etkilenmemiştir ($P>0.05$).

Duval ve ark. (2007) nişastaca zengin yemlerde esansiyel yağların rumen bakterilerinin kolonizasyonuna etkisini araştırdığı çalışmalarında subsrat sindirimi ile subsrata bakterilerin kolonizasyonunda iki farklı süreç olduğunu ve kolonizasyonun sindirimden önce gerçekleşmesi gereken ön şart olduğunu vurgulamışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında nişastaca zengin üç yem maddesinde (mısır, arpa, buğday) bakteri kolonizasyonunun farklı olduğunu bildirmişlerdir. Kolonizasyonun artması hem sindirimin hemde bakteri sayısının artması anlamına gelmektedir. Araştırmacılar ayrıca farklı bakterilerin kolonizasyon özelliklerinin farklı olduğunu da belirtmişlerdir.

Çalışmamızda buğday samanı ve arpa ile yapılan inkübasyonlarda bakteri ve protozoa sayısı uçucu yağxdoz interaksyonundan etkilenmeyip sadece soya fasulyesi ile yapılan inkübasyonlarda etki ortaya çıkmıştır. Bu sonuç farklı subsratlarda bakterilerin kolonizasyon yeteğinin farklı olması ile birlikte subsrata bağlı olarak inkübasyon sırasında dominant duruma geçmiş olan bakterinin kolonizasyon yeteneğinin farklı olması ile açıklanabilir.

Çizelge 4.16. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxDoz İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel Uçucu Yağ	Doz	BUĞDAY SAMANI		
		pH	Toplam Bakteri (x10 ⁹ /ml)	Toplam Protozoa (x10 ⁶ /ml)
Kekik	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.48	6.45	4.32
	100	6.53	5.57	3.68
	150	6.49	5.27	3.52
Çörekotu	0	6.53	8.30	4.16
	50	6.47	9.91	4.48
	100	6.52	12.15	4.32
	150	6.46	10.64	4.16
Nane	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.46	8.13	3.04
	100	6.53	7.60	4.00
	150	6.55	8.79	4.00
Biberiye	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.47	8.28	4.48
	100	6.53	8.15	4.80
	150	6.5	8.24	4.96
Defne	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.47	8.66	4.80
	100	6.53	8.63	4.16
	150	6.52	8.3	4.32
Kişniş	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.47	8.8	3.04
	100	6.53	8.55	3.68
	150	6.52	9.81	3.84
Tarçın	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.48	7.34	3.68
	100	6.53	7.91	3.84
	150	6.47	7.74	3.36
Sarımsak	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.47	8.02	4.48
	100	6.53	8.10	4.48
	150	6.51	8.32	3.84
İğde	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.47	8.26	4.00
	100	6.53	8.05	4.16
	150	6.5	7.94	3.84
Üzüm çekirdeği	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.47	8.55	4.32
	100	6.53	8.55	4.00
	150	6.53	8.58	3.84
Kimyon	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.47	8.80	4.48
	100	6.53	8.02	4.32
	150	6.49	8.96	4.48

Anason	0	6.53	8.31	4.16
	50	6.48	8.32	4.16
	100	6.52	8.56	4.32
	150	6.46	8.31	4.48
Portakal kabuğu	0	6.53	8.30	4.16
	50	6.47	8.58	3.68
	100	6.52	9.06	4.16
	150	6.48	9.27	3.68
Rezene	0	6.53	8.30	4.16
	50	6.47	7.73	3.84
	100	6.45	8.03	4.16
	150	6.47	7.58	4.32
Etkiler (P<)	SEM	0,00	0.54	0.33
BUY		0,00	0,00	0.01
DOZ		0,00	0.92	0.72
BUY*DOZ		0,00	0.08	0.67

Çizelge 4.17. Soya Küspesine Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxDoz İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Doz	Soya Küspesi		
		pH	ToplamBakteri (x10 ⁹ /ml)	ToplamProtozoa (x10 ⁶ /ml)
Kekik	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.52	9.09	3.14
	100	6.48	8.55	3.62
	150	6.45	9.35	4.42
Çörekotu	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.51	8.96	4.42
	100	6.45	8.73	3.62
	150	6.50	6.96	2.98
Nane	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.47	7.09	5.54
	100	6.44	8.08	6.82
	150	6.4	6.98	6.66
Biberiye	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.50	8.40	1.54
	100	6.46	8.97	2.50
	150	6.45	7.88	2.18
Defne	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.5	8.26	3.94
	100	6.46	8.96	3.78
	150	6.43	7.84	4.90
Kişniş	0	6.49	9.77	3.30
	50	6.49	11,00	3.78
	100	6.45	9.44	4.42
	150	6.43	9.12	3.62

Tarçın	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.52	11.11	3.94
	100	6.47	11.31	3.62
	150	6.47	9.70	3.62
Sarımsak	0	6.49	9.77	3.30
	50	6.49	8.80	3.94
	100	6.45	4.40	3.78
	150	6.45	3.60	3.46
İğde	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.51	10.36	3.30
	100	6.46	10.18	3.30
	150	6.45	10.12	3.14
Üzüm Çekirdeği	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.49	9.56	3.62
	100	6.45	9.70	3.46
	150	6.43	9.61	4.42
Kimyon	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.51	9.36	3.14
	100	6.46	9.27	2.66
	150	6.46	9.82	3.14
Anason	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.46	9.95	3.30
	100	6.41	9.89	2.82
	150	6.45	9.25	3.14
Portakal kabuğu	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.5	8.68	3.30
	100	6.46	8.68	3.62
	150	6.44	8.58	2.98
Rezene	0	6.49	9.76	3.30
	50	6.45	11.62	3.30
	100	6.43	10.44	3.94
	150	6.44	9.22	3.46
Etkiler (P<)	SEM	0.01	0.57	0.36
		0.00	0.00	0.00
DOZ		0,00	0,00	0.01
BUY*DOZ		0.03	0.00	0.00

Çizelge 4.18. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxDoz İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel Uçucu Yağ	Doz	Arpa		
		pH	Toplam Bakteri (x10 ⁹ /ml)	Toplam Protozoa (x10 ⁶ /ml)
Kekik	0	6.40	8.25	3.89
	50	6.42	7.77	3.89
	100	6.29	7.58	3.57
	150	6.25	8.78	3.57
Çörekotu	0	6.40	8.25	3.89
	50	6.40	11.93	4.21
	100	6.29	11.07	5.01
	150	6.30	10.03	4.85
Nane	0	6.40	8.25	3.89
	50	6.40	8.88	2.77
	100	6.40	8.56	3.09
	150	6.38	7.34	2.61
Biberiye	0	6.39	8.25	3.89
	50	6.40	8.95	3.25
	100	6.32	7.88	3.09
	150	6.30	7.37	2.93
Defne	0	6.40	8.25	3.89
	50	6.40	7.58	3.57
	100	6.34	7.10	3.41
	150	6.31	7.20	3.89
Kişniş	0	6.39	8.25	3.89
	50	6.40	8.97	3.09
	100	6.35	7.48	3.57
	150	6.33	7.88	3.41
Tarçın	0	6.40	8.25	3.89
	50	6.41	8.25	4.05
	100	6.29	9.33	4.05
	150	6.27	8.99	3.25
Sarımsak	0	6.40	8.25	3.89
	50	6.39	8.51	3.57
	100	6.34	8.57	3.57
	150	6.34	8.38	2.93
İğde	0	6.39	8.25	3.89
	50	6.40	4.25	3.57
	100	6.31	8.01	3.25
	150	6.29	8.35	3.25
Üzüm Çekirdeği	0	6.39	8.25	3.89
	50	6.40	7.61	3.57
	100	6.36	7.66	4.05
	150	6.33	7.07	3.73
Kimyon	0	6.39	8.25	3.89
	50	6.40	8.78	4.21
	100	6.30	8.03	3.73
	150	6.29	7.50	3.09

	0	6.40	8.25	3.89
Anason	50	6.40	8.09	3.89
	100	6.30	7.79	4.05
	150	6.31	8.27	4.05
	0	6.39	8.25	3.89
Portakal	50	6.41	8.49	4.05
kabuğu	100	6.28	7.63	3.89
	150	6.23	7.65	3.89
	0	6.39	8.25	3.89
Rezene	50	6.42	9.92	4.05
	100	6.30	8.01	4.05
	150	6.30	8.30	3.73
Etkiler (P<)	SEM	0.01	0.74	0.26
BUY		0.00	0.00	0.00
DOZ		0.00	0.66	0.00
BUY*DOZ		0.00	0.15	0.09

4.1.2. İkinci *in vitro* Deneme

Bir önceki *in vitro* çalışmada da belirtildiği gibi ana etkileri (kapsülasyon, bitki uçucu yağ) ayrı incelemek bunların interaksiyona olan etki paylarını gözlemek adına önemlidir. Bu nedenle verilerde interaksiyon etkileri yanı sıra ana etkiler ayrı ayrı değerlendirilmiştir

İlk aşama inkübasyonlarında 14 adet bitki uçucu yağı ve bunların 4 dozu test edilmiştir. İlk aşama verilerine ve literatür bilgilerine göre belirlenen uygun yağ ve dozlarının kapsüle edilmiş formlarının yemlerin sindirilebilirliklerine etkileri ikinci *in vitro* denemelerle incelenmiştir. Bu kapsamda buğday samanı için portakal kabuğu yağının 100 ppm ve sarımsak yağının 50 ppm, SK için iğde yağının 50 ppm ve defne yağının 150 ppm ve arpa için portakal yağının 100 ppm ve defne yağının 150 ppm dozları ikinci *in vitro* denemeler de test edilmiştir. Buğday samanı için seçilen bitki uçucu yağı ve dozları KM ve OM ve NDF sindirimini artırıcı etki gösterenler arasından, SK'da KM, OM ve HP sindirilebilirliğini düşürücü etki gösterenler arasından ve arpada ise KM ve OM sindirilebilirliğini düşürücü etki gösterenler arasından tercih edilmiştir.

4.1.2.1. İkinci *in vitro* Çalışmada *in vitro* Gerçek Sindirilebilirliğe Seçilmiş Uçucu Yağların Etkisi

Yapılan istatistik analizlerde bütün yemlerde ana etkiler (portakal kabuğu yağı 100 ppm ve sarımsak yağı 50 ppm, kapsüllü ve kapsülsüz form) ile ana etkilere ait interaksiyonlar buğday samanının *in vitro* KM, OM ve NDF sindirilebilirlik değerlerini istatistiki olarak etkilememiştir (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Bitkisel Uçucu Yağların Buğday Samanının *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Detergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Buğday Samanı		
	KM	OM	NDF
Portakal kabuğu yağı 100 ppm	38.78	35.42	24.87
Sarımsak yağı 50 ppm	36.47	34.27	22.03

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Yapılan çalışmada buğday samanının KM ($P=0,07$) ve NDF sindirilebilirliğinin ($P=0,07$) sarımsak yağı ile düşme eğiliminde olduğu görülmüştür. Busquet ve ark. (2005a,b,c) *in vitro* koşullarda sarımsak yağının asetat oranını ve dallı zincirli yağ asitlerini azalttığını saptamıştır. Bu bulgular sarımsak yağının fermentasyon aktivitesini düşürdüğü ve selüloz yıkımını geriletmediğini göstermektedir. Yaptığımız çalışmada da sarımsak yağı, portakal yağı ile karşılaştırıldığında NDF sindirimini nispeten olumsuz yönde etkilemiştir.

Soya fasulyesi küspesinin substrat olarak kullanıldığı inkübasyonlarda önceki çalışmada protein yıkımının kontrolünde etkili olduğu değerlendirilen iğde yağı 50 ppm ve defne yağı 150 ppm dozları kullanılmış ve test edilmiştir. Bu teste ilişkin sonuçlar Çizelge 4.20’de verilmiştir. Defne yağının 150 ppm dozu ile iğde yağının 50 ppm dozu karşılaştırıldığında KM ve OM sindirilebilirliğinin yağlardan etkilenmediği ($P > 0.05$); ancak defne yağının protein sindirilebilirliğini önemli düzeyde ($P < 0.05$) yaklaşık % 16 düşürdüğü görülmüştür.

Çizelge 4.20. Bitkisel Uçucu Yağların SK'nın *in vitro* Gerçek Kuru madde (KM), Organik Madde (OM) ve Ham Protein Sindirilebilirliğine Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Soya Küspesi		
	KM	OM	HP
İğde yağ 50 ppm	92.18	91.64	36.83 a
Defne yağı 150 ppm	92.61	92.39	30.96 b

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

Kolay yıkılabilir bir nişasta kaynağı olan arpanın KM ve OM yıkılabilirliğini kontrol altına almak için tercih edilmiş olan portakal yağı 100 ppm dozu ve defne yağının 150 ppm dozları karşılaştırıldığında defnenin portakal yağına göre arpanın KM ve OM yıkılabilirliğini SK'nın protein sindirilebilirliğinde olduğu gibi önemli düzeyde sınırladığı belirlenmiştir. Defne yağının hem nişasta kaynağında hem de protein kaynağında besin madde sindirilebilirliğini sınırlandırması ilginç bulunmuştur.

Çizelge 4.21. Bitkisel Uçucu Yağların Arpanın *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM) ve Organik Madde (OM) Sindirilebilirliğine Etkisi

Bitkisel Uçucu Yağ	Arpa	
	KM	OM
Portakal kabuğu yağı 100 ppm	83.19 a	82.68
Defne yağı 150 ppm	81.94 b	81.54

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

4.1.2.2. İkinci *in vitro* Çalışmada *in vitro* Gerçek Sindirilebilirliğine Seçilmiş Uçucu Yağların Formunun Etkisi

Uçucu yağlar için en önemli sorunlar stabilite ve uçuculuktan kaynaklanan kayıplardır. Bu nedenle son zamanlarda uçucu yağlar farklı maddelerle ve farklı tekniklerle kaplanmaktadır. Çalışmamızda seçilen uçucu yağlar arap zankı, jelatin ve nişasta kullanılarak sulu ortamda kaplanıp kurutulmuştur. Bu şekilde kaplanmış uçucu yağlar yavaş yavaş serbestleşerek ve bulunduğu ortamlardaki kimyasallarla olumsuz etkileşimini azaltarak etki edebilmektedir (Shefer and Shefer, 2003; Meunier ve ark., 2006). Bu çalışmamızda kapsülasyonlu formların arpa ve soya küspesi ile yapılan inkübasyonlarda gösterdikleri sindirilebilirliği azaltma etkilerinin

kapsülasyonun BUY lara kazandırdığı yavaş serbestleşme özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.22. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Formların Buğday Samanının *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Neutral Netergen Fiber (NDF) Sindirilebilirliğine Etkisi

Buğday Samanı			
Form	KM	OM	NDF
Kontrol	41.69 a	38.85 a	28.45 a
Kapsülsüz	36.86 b	35.09 a	22.51 b
Kapsüllü	34.32 b	30.60 b	19.40 b

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.22 incelendiğinde buğday samanının *in vitro* gerçek KM, OM ve NDF sindirilebilirliğinin uçucu yağ içeren muamelelerde düştüğü görülmüştür ($P < 0.01$). Buğday samanı *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliğinin kontrole göre kapsüllü formda %30 lara varan değerlerde düşmesinde kapsülasyon aşamasında kullanılan nişastanın etkili olabileceği düşünülmüştür. Nişasta rumende substrat olarak nişastayı kullanan bakteri popülasyonunun artmasına dolayısıyla da pH'nın düşmesine neden olmuş olabilir. Bilindiği gibi NDF'nin sindiriminden sorumlu selüloolitik bakteriler pH değişimine karşı hassas olup düşük pH'larda işlevlerini yerine getirememektedirler.

Çizelge 4.23. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Formların SK'nın *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM), Organik Madde (OM) ve Ham Protein Sindirilebilirliğine Etkisi

Soya Küspesi			
Form	KM	OM	HP
Kontrol	92.43	91.93 ab	37.43 a
Kapsülsüz	92.79	92.53 a	34.56 a
Kapsüllü	91.97	91.58 b	29.70 b

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Rumende protein yıkımının kontrol edilmesi özellikle SK gibi protein yıkımı yüksek ürünler için önemlidir. Çalışmamızda SK'nın *in vitro* gerçek OM ve HP sindirilebilirlikleri kapsüle edilen ürünlerde düşmüştür (Çizelge 4.23). Yani rumende azot metabolizmasının düzenlenmesine kaplanmış ürünlerin daha etkili olduğu görülmüştür. kapsülasyonun uçucu yağın ortamda mevcudiyetini, mevcudiyetin

sürekliliğini ve stabilitesini koruduğu bilinmektedir. Bu nedenle BUY in çalışmamızda gözlenen etkilerinin daha bariz ortaya çıkışında kapsülasyonun etkisinin olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.24. Bitkisel Uçucu Yağlara Ait Formların Arpanın *in vitro* Gerçek Kuru Madde (KM) ve Organik Madde (OM) Sindirilebilirliğine Etkisi

Arpa		
Form	KM	OM
Kontrol	83.95 a	83.56 a
Kapsülsüz	83.06 b	82.65 b
Kapsüllü	80.66 c	80.15 c

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Çizelge 4.24 incelendiğinde arpanın gerçek *in vitro* KM ve OM sindirilebilirliğinin kaplanmış ve kaplanmamış uçucu yağ katkısıyla düştüğü; ancak kaplanmış üründe düşüşün daha ($P < 0.00$) önemli olduğu görülmüştür. Daha önceki bölümlerde tartışıldığı gibi kapsülasyon işlemi uçucu yağın etkisini özellikle rumende yıkılabilirliği yüksek olan ürünlerde daha da arttırmıştır..

Çalışmamızda SK da yıkılabilirliği yüksek olan protein, buğday samanında azotsuz öz madde ve arpada ağırlıklı nişastadan oluşan KM ve OM sindirilebilirliği BUY lardan etkilendiği gözlenmiştir. Rumende protein yıkımının ve nişastanın hızlı yıkımından kaynaklanan ani pH düşüşünün kontrolünde kaplanmış ürünlerin önemli rol oynayabileceği değerlendirilmektedir.

4.1.2.3. İkinci *in vitro* Çalışmada *in vitro* Gerçek Sindirilebilirliğe Uçucu Yağ x Form İnteraksiyon Etkisi

Uçucu yağ ve form interaksiyon etkisi değerlendirildiğinde buğday samanının *in vitro* gerçek KM, OM ve NDF sindirilebilirliğinin uçucu yağ x form interaksiyonundan etkilenmediği gözlenmiştir ($P = 0.08$, Çizelge 4.25). Yani yağların (Portakal kabuğu ve sarımsak) kaplanmış ve kaplanmamış formlarının kontrol grubu ile etki yönleri benzer bulunmuştur. BUY' in formu ile BUY interaksiyonu önemsiz bulunmuştur. Ancak sarımsak uçucu yağının kapsüllü formu kontrol ve kapsülsüz

formuna göre buğday samanının KM ve OM sindirimi üzerinde sayısal olarak olumsuz etki sergilemiştir. Benzer şekilde NDF sindirimi ise hem kapsüllü hemde kapsülsüz formdan olumsuz etkilenmiş, kapsüllü formun etkisi sayısal olarak daha daha belirgin gözlenmiştir. Birinci *in vitro* deneme sonuçlarına göre seçilen Portakal kabuğu ve sarımsak yağının etkisinin ikinci *in vitro* denemelerde gözlenememesinin çalışmalarda kullanılan bitkisel uçucu yağ kaynaklarının farklılıktan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Garcia-Gonzales ve ark. (2008) sarımsak yağı kullanıldığında asetat/propiyonat oranının düştüğü, yani selüloz yıkımının kötüleştiğini bildirmişlerdir. Bu bakımdan bulgular uyumlu bulunmuştur. Calsamiglia ve ark. (2007a) benzer şekilde sarımsak yağının diallil disülfit, allil merkaptan içerdiğini ve asetat üretimini düşürdüğünü ve sarımsak yağının esas etkisinin de oragnaosülfürlü bir bileşik olan *allicin* içeriğinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Soya küspesinin *in vitro* gerçek KM, OM sindirilebilirliği uçucu yağ x form interaksyonundan etkilenmemiştir ($P>0.05$, Çizelge 4.26). Ancak *in vitro* gerçek HP sindirilebilirliği interaksyondan önemli düzeyde etkilenmiş ($P<0.05$) ve sindirilebilirlik iğde yağının formuyla değişmezken defnede kapsüllü form ile düşmüştür.

Çizelge 4.25. Buğday Samanının *in vitro* Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve NDF Sindirilebilirliğine Uçucu Yağ x Form İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Form	Buğday Samanı		
		KM	OM	NDF
Portakal kabuğu yağı 100 ppm	Kontrol	41.69 a	38.85 a	28.45 a
	Kapsülsüz	37.19 a	33.65 a	22.92 ab
	Kapsüllü	37.45 a	33.76 a	23.24 ab
Sarımsak yağı 50 ppm	Kontrol	41.69 a	38.84 a	28.45 a
	Kapsülsüz	36.52 a	36.54 a	22.10 b
	Kapsüllü	31.12 b	27.44 b	15.55c
	SEM	1.534	2.038	1.882
	BUY	0.067	0.492	0.067
Etkiler ($P<$)	Form	0.000	0.000	0.000
	BUY*Form	0.084	0.072	0.084
	KAP- KAPZ	0.100	0.028	0.100

KAP: Kapsüllü, KAPZ: Kapsülsüz.

Çizelge 4.26. Soya Fasulyesi Küspesinin *in vitro* Gerçek Kuru Madde, Organik Madde ve Ham Protein Sindirilebilirliğine Uçucu Yağ x Form İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel Uçucu Yağ	Form	Soya Küspesi		
		KM	OM	HP
İğde yağı 50 ppm	Kontrol	92.43 ab	91.80 b	37.43 a
	Kapsülsüz	92.26 ab	91.81 b	36.94 a
	Kapsüllü	91.85 b	91.33 b	36.14 a
Defne yağı 150 ppm	Kontrol	92.43ab	92.09 ab	37.43 a
	Kapsülsüz	93.32 a	93.24 a	32.19 a
	Kapsüllü	92.1ab	91.83 b	23.25 b
	SEM	0.434	0.452	1.834
	BUY	0.220	0.047	0.000
	Form	0.172	0.110	0.000
Etkiler (P<)	BUY*Form	0.443	0.404	0.003
	KAP- KAPZ	0.062	0.038	0.009

KAP: Kapsüllü, KAPZ: Kapsülsüz.

Defnenin içerdiği 1,8 cineol ve α -pinen ciddi antimikrobiyel etkilere sahiptir ve bu maddeler proteolitik etkili bakterileri inhibe etmektedir (Calsamiglia ve ark. 2007a). Daha öncede tartışıldığı gibi uçucu yağların ve karışımlarının protein metabolizmasına etkisi proteinlerin peptidlere yıkımının azaltılmasından, hiperamaonyak üreten bakterilerin baskılanmasından ve deaminaz aktivitesinin engellenmesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte kaba kesif yem oranının değişmesi de uçucu yağların protein yıkımına etkisini değiştirebilmektedir. Molero ve ark. (2004), yaptıkları bir çalışmada soya küspesi proteini yıkımının uçucu yağlardan etkilenmediğini ve bezelye proteini yıkımını özellikle yüksek kesif yemli rasyonlarda düşürdüğünü bildirmişlerdir. Wallace ve ark. (2002), farklı protein kaynaklarının yıkılabilirliğine esansiyel yağların etkisini araştırdıkları çalışmalarında soya, ayçiçeği, balıkunu, bezelye ve kolzanın yıkılabilirliğini Dacron bag tekniği kullanarak test etmişlerdir. Çalışmalarının sonunda yalnızca bezelyenin sindirilebilirliğinin içerisine esansiyel yağ eklenmiş yemle beslenen koyunlardan alınan rumen sıvısı ile yapılan inkübasyonlarda azaldığını belirtmişlerdir. Diğer taraftan iğde yağı cinnemaldehit içermekte ve cinnemaldehitin etkisi farklı pH'larda değişmektedir. Cardoza ve ark. (2005) pH'nın 7 civarında olduğu koşullarda toplam uçucu yağ üretiminin ve besin madde yıkılabilirliğinin düştüğünü, ancak 5.5

civarındaki pH'larda uçucu yağ oranları ve amonyak azotu düzeyinin yükseldiğini saptamışlardır. Rumen mikroorganizmaları kendi hücrelerine ait azotlu bileşikleri sentezlemek için amonyağın yapısında bulunan azot'tan (N) yararlanırlar. Amonyak azotunun rumende birikmesi mikrobiyel protein sentezinin yavaşladığı anlamına gelmektedir. Çalışmamızda SK'nın inkübe edildiği koşullarda pH'nı nispeten nötr değerlere yakın olması nötr pH da sindirimin azaldığı bilgisini doğrulamaktadır. Zira SK ile yapılan inkübasyonlarda sindirilebilirlik verileri kontrole göre düşük bulunmuştur. (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.27 incelendiğinde arpanın *in vitro* gerçek KM sindirilebilirliği yalnız defne yağının kapsüllü formundan etkilenirken diğerlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. KM sindirilebilirliğini defnenin kapsüllü formu düşürmüş ve bu düşüş istatistik olarak önemli ($P < 0.01$) bulunmuştur. Yine aynı şekilde arpanın *in vitro* gerçek OM sindirilebilirliği defne yağının kapsüllü formunda en düşük değeri vermiş, bunu sırasıyla portakal kabuğu yağının kapsülsüz formu izlemiştir. Defnenin içerdiği 1,8 cineol ve α -pinen ciddi antimikrobiyel etkilere sahiptir. Defne antibakteriyel etkisi ile rumen bakterilerinin sindirim işlevlerini yapmalarını kısıtlamış olabilir.

Ayrıca arpa ile yapılan inkübasyonlarda BUY'ların kapsüllü formlarının arpanın sindirilebilirliklerini kontrole göre düşürmesinin; kapsülasyonda kullanılan nişastadan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Nişastayı substrat olarak kullanan asidik bakterilerin artması ortam pH sında ani düşüğe neden olarak mikrobiyel aktivitenin ve dolayısı ile sindirilebilirliklerin kötü etkilenmesine yol açmış olabilir.

Çizelge 4.27. Arpanın *in vitro* Gerçek Kuru Madde ve Organik Madde Sindirilebilirliğine Uçucu Yağ x Form İnteraksiyonu Etkisi

Bitkisel Uçucu Yağ	Form	Arpa	
		KM	OM
Portakal kabuğu yağı 100 ppm	Kontrol	83.95 a	83.56 a
	Kapsülsüz	82.64 a	82.08 b
	Kapsüllü	82.95 a	82.37 ab
Defne yağı 150 ppm	Kontrol	83.95 a	83.56 a
	Kapsülsüz	83.47 a	83.11 ab
	Kapsüllü	78.37 b	77.93 c
	SEM	0.452	0.455
	BUY	0.001	0.003
Etkiler (P<)	Form	0.000	0.000
	BUY*Form	0.000	0.000
	KAP- KAPZ	0.000	0.000

KAP: Kapsüllü, KAPZ: Kapsülsüz.

4.1.2.4. İkinci *in vitro* Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağların Etkisi

Buğday samanının substrat olarak kullanıldığı koşullarda portakal kabuğu yağı ile sarımsak yağı arasında ortam pH'sı, bakteri ve protozoa sayısında önemli bir fark gözlenmemiştir ($P>0.05$, Çizelge 4.28). Yapılan bazı çalışmalarda rasyonun doğasına göre rumen mikroorganizma popülasyonunun değişmesine bağlı olarak uçucu yağların etkisinin de değişebileceği gösterilmiştir (Molero ve ark. 2004).

Buğday samanının substrat olarak kullanıldığı bu çalışmada pH nispeten düşük bulunmuş ve bu muhtemelen selülotik bakterilerin aktivitelerinin bu koşullarda daha iyi olmasından kaynaklanmıştır. Zira substratlar için de en yüksek bakteri sayıları samanlı inkübasyon sıvılarında gözlenmiştir (Çizelge 4.28)

Çizelge 4.28. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Etkisi

Buğday Samanı			
Bitkisel uçucu yağ	Bakteri sayısı ($\times 10^8/\text{ml}$)	Protozoa sayısı ($\times 10^5/\text{ml}$)	pH
Portakal kabuğu yağı 100 ppm	3.32	4.25	6.34
Sarımsak yağı 50 ppm	3.24	4.67	6.35

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.05$).

Çizelge 4.29. Soya Küspesine Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Etkisi

Soya Küspesi			
Bitkisel uçucu yağ	Bakteri sayısı (x10 ⁸ /ml)	Protozoa sayısı (x10 ⁵ /ml)	pH
İğde yağı 50 ppm	2.8	4.22	6.44
Defne yağı 150 ppm	2.7	4.84	6.45

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

SK'nın substrat olarak kullanıldığı koşullarda *in vitro* ortamdaki pH, bakteri sayısı ve protozoa sayısı uçucu yağların kaynağından etkilenmemiştir (P>0.05). Ancak substrat bir protein kaynağı olduğundan ve sindirildiğinde bazik özellik taşıyan amonyak oluştuğundan substrat olarak arpa ve buğday samanı kullanılan ortama göre pH'sı daha yüksek olmuştur.

Çizelge 4.30. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Etkisi

Arpa			
Bitkisel uçucu yağ	Bakteri sayısı (x10 ⁸ /ml)	Protozoa sayısı (x10 ⁵ /ml)	pH
Portakal kabuğu yağı 100 ppm	2.42	4.24	6.37
Defne yağı 150 ppm	2.70	4.40	6.36

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (P<0.05).

İnkübasyonda arpa kullanılan inkübasyonlarda ortam pH'sı, bakteri ve protozoa sayısı üzerine yağların birbirleri arasında farklılık gözlenmemiştir. (P>0.05, Çizelge 4.30).

4.1.2.5. İkinci *in vitro* Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Seçilmiş Uçucu Yağların Formlarının Etkisi

İnkübasyon substratı olarak buğday samanı kullanılan çalışmada ortama kaplanmış ya da kaplanmamış formda uçucu yağ ilave edilmesi bakteri ve protozoa sayısını azaltmış özellikle kapsüllü formda ortam pH'sı da düşmüştür.

Çizelge 4.31. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Formunun Etkisi

Buğday Samanı			
Form	Bakteri sayısı ($\times 10^8$ /ml)	Protozoa sayısı ($\times 10^5$ /ml)	pH
Kontrol	3.45 a	4.76 a	6.36 b
Kapsülsüz	3.22 b	4.44 ab	6.38 a
Kapsüllü	3.17 b	4.17 b	6.30 c

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Bakteri ve protozoa sayısının ortama bitki uçucu yağı eklenmesiyle düştüğü birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Greathead, 2003; Busquet ve ark. 2006; Wallace, 2004). Özellikle kaplanmış formlarda ortam pH'sının düşmesinin muhtemel nedeni ise kapsülasyon sırasında kullanılan nişastadır. Bilindiği gibi nişastayı sindiren bakteriler rumen pH sınırını hızla düşmesine neden olabilmektedirler. Kaplanmış ürünlerde en az %50 nişasta bulunmaktadır. Bu nedenle mevcut nişasta kaynağına (arpa) ilaveten kapsülasyon işleminde kullanılan nişastanın varlığı pH'nın düşmesine neden olmuş olabilir.

Çizelge 4.32. Buğday Samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Formunun Etkisi

Soya Küspesi			
Form	Bakteri sayısı ($\times 10^8$ /ml)	Protozoa sayısı ($\times 10^5$ /ml)	pH
Kontrol	2.90	4.71	6.51 a
Kapsülsüz	2.66	4.39	6.46 b
Kapsüllü	2.70	4.50	6.37 c

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

İnkübasyon substratı olarak SK kullanılan çalışmada kaplanmış ya da kaplanmamış formda uçucu yağ kullanılması ortamdaki bakteri ve protozoa sayısını etkilemezken ($P > 0.05$), ortam pH'sı uçucu yağ formundan bağımsız olarak uçucu yağ katkısı ile düşmüş ($P < 0.05$); ancak kapsüllü üründe ortam pH'sı daha fazla düşmüştür.

Çizelge 4.33. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu Yağ Formunun Etkisi

Form	Arpa		
	Bakteri sayısı ($\times 10^8/\text{ml}$)	Protozoa sayısı ($\times 10^5/\text{ml}$)	pH
Kontrol	2.72 a	4.48	6.40 a
Kapsülsüz	2.36 b	4.16	6.38 b
Kapsüllü	2.57 ab	4.32	6.31 c

* Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$).

Arpanın inkübasyon maddesi olarak kullanıldığı çalışmada ortamdaki protozoa sayısı uçucu yağ formuna göre değişmezken ($P > 0.05$), kapsüllü ya da kapsülsüz formda uçucu yağ bulunduğu bakteriyel ortamda bakteri sayısı azalma eğiliminde olmuş ($P < 0.05$) pH ise BUY katkısı ile düşmüş, kaplanmış BUY kullanılması pH'yı daha da düşürmüştür ($P < 0.05$).

4.1.2.6. İkinci *in vitro* Çalışmada Toplam Bakteri ve Protozoa Sayısı ile Ortam pH'sına Uçucu Yağ x Form İnteraksiyon Etkisi

Buğday samanı ile yapılan inkübasyonlarda bitkisel uçucu yağ ve formunun interaksiyonu protozoa sayısında etkili bulunmuş ve özellikle portakal kabuğu yağının kapsüllü formu kontrol ve kapsülsüz forma göre protozoa sayısını düşürmüştür. Ortam pH'sı ise kapsüllü formda düşük bulunmuştur. Kapsüllü formlarda pH düşüşünün muhtemel nedenleri kapsülleme sırasında kullanılan nişastanın etkisine bağlanabilir.

Çizelge 4.34. Buğday samanına Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxForm İnteraksiyon Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Form	Buğday Samanı		
		Bakteri sayısı (x10 ⁸ /ml)	Protozoa sayısı (x10 ⁵ /ml)	pH
Portakal kabuğu yağı 100 ppm	Kontrol	3.45 a	4.76	6.36 b
	Kapsülsüz	3.25 ab	4.4	6.37 ab
	Kapsüllü	3.26 ab	3.58	6.30 c
Sarımsak yağı 50 ppm	Kontrol	3.45 a	4.76	6.36 b
	Kapsülsüz	3.18 ab	4.48	6.39 a
	Kapsüllü	3.09 b	4.76	6.30 c
SEM		0.099	0.18	0.009
Etkiler (P<)	BUY	0.341	0.01	0.273
	Form	0.018	0.01	0.000
	BUY*Form	0.694	0.00	0.623
	KAP- KAPZ	0.099	0.165	0.000

KAP: Kapsüllü, KAPZ: Kapsülsüz.

Bitkisel uçucu yağ ve formalarının interaksiyonu SK ile yapılan inkübasyonlarda ortamdaki protozoa sayısı ve pH'sını önemli düzeyde etkilemiş (P<0.01) ve protozoa sayısı özellikle iğde yağının kapsülsüz formuyla kontrole göre önemli düzeyde düşerken, defne yağının kapsülsüz formunda artmıştır. Ortam pH'sı ise kontrole göre hem iğde yağında, hem de defne yağında her iki formda da düşmesine rağmen, kaplanmış formdaki defne yağı ile ortam pH'sındaki düşüş (6.51 e karşı 6.35) iğde yağındaki düşüşten (6.51 e karşı 6.38) daha fazla olmuştur (Çizelge 4.35). Bu etki muhtemelen defne yağının protein yıkımını ciddi oranda düşürmesi ile ilgilidir Rumen koşullarında amonyak azotu düzeyinin artması rumen pH'sında artışa neden olmaktadır (Dahlan ve ark., 2000). Çalışmamızda gözlenen SK yıkımının azalması ortamda amonyak düzeyini azaltarak pH'nın düşmesine neden olmuş olabilir.

Çizelge 4.35. Soya Küspesine Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxForm İnteraksiyon Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Form	Soya Küspesi		
		Bakteri sayısı (x10 ⁸ /ml)	Protozoa sayısı (x10 ⁵ /ml)	pH
İğde yağı 50 ppm	Kontrol	2.90	4.71	6.51 a
	Kapsülsüz	2.67	3.82	6.44 c
	Kapsüllü	2.84	4.14	6.38 d
Defne yağı 150 ppm	Kontrol	2.90	4.71	6.51 a
	Kapsülsüz	2.67	4.95	6.48 b
	Kapsüllü	2.58	4.85	6.35 e
SEM		0.15	0.19	0.005
Etkiler (P<)	BUY	0.49	0.00	0.57
	Form	0.28	0.23	0.00
	BUY*Form	0.62	0.01	0.00
	KAP- KAPZ	0.79	0.57	0.00

KAP: Kapsüllü, KAPZ: Kapsülsüz.

Çizelge 4.36. Arpaya Ait Toplam Bakteri, Protozoa ve pH Değerlerine Bitki Uçucu YağxForm İnteraksiyon Etkisi

Bitkisel uçucu yağ	Form	Arpa		
		Bakteri sayısı (x10 ⁸ /ml)	Protozoa sayısı (x10 ⁵ /ml)	pH
Portakal kabuğu yağı100 ppm	Kontrol	2.73 a	4.48	6.40a
	Kapsülsüz	2.07 b	4.20	6.37b
	Kapsüllü	2.46 a	4.05	6.32c
Defne yağı 150 ppm	Kontrol	2.73 a	4.48	6.40a
	Kapsülsüz	2.66 a	4.12	6.39ab
	Kapsüllü	2.69 a	4.59	6.30c
SEM		0.124	0.18	0.008
Etkiler (P<)	BUY	0.009	0.300	0.870
	Form	0.021	0.220	0.000
	BUY*Form	0.066	0.200	0.041
	KAP- KAPZ	0.103	0.378	0.000

KAP: Kapsüllü, KAPZ: Kapsülsüz.

Arpalı inkübasyonlarda bitki uçucu yağ kaynağı ve form arasındaki interaksiyon bakteri sayısını etkileme eğiliminde olmuş (P=0.066) ve ortam pH'sını önemli düzeyde (P<0.04) etkilemiştir. Portakal yağının kapsülsüz formunda bakteri sayısı kontrole göre sayısal olarak düşerken, defne yağında kapsülsüz formuyla kontrole göre düşüş portakal yağındaki kadar belirgin olmamıştır Arpalı

inkübasyonlarda arpanın *in vitro* OM sindirilebilirliği portakal kabuğu yağı kullanıldığında önemli düzeyde düşmüştü. Ortamda OM sindiriminin azalması ile pH düşüşünün sınırlandırılması beklenirken, arpalı inkübasyonda pH değişimi ile OM sindirilebilirliği uyumlu sonuçlar vermemiştir. Bu bulgu tartışmaya açık kalmıştır.

4.2. *In vivo* Denemeler

Süt sığırı ile yapılan *in vivo* denemelerde *in vitro* denemelerin sonuçları doğrultusunda seçilen esansiyel yağların süt verimi, süt kompozisyonu (laktoz, kazein, süt proteini, yağ, üre), sütte somatik hücre miktarı ile yem tüketimi, canlı ağırlık ve vücut kondüsyon skoru gibi performans parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir.

In vivo çalışmalarda kullanılacak uçucu yağların seçiminde her iki *in vitro* çalışmada uyumlu sonuç veren yağların seçilmesi amaçlanmıştır. Yani birinci *in vitro* çalışmada 14 BUY arasından seçilen 6 BUY ikinci *in vitro* da tekrar test edilmiş ama ilk aşama sonuçları ile uyumlu olarak ikinci aşama da yalnızca defne yağı tespit edilebilmiştir. Bu nedenle *in vivo* çalışmalarda kullanılacak bitkisel uçucu yağların seçim aşamasında her iki *in vitro* aşamada sindirilebilirlik değerleri üzerinde belirgin değişimlerin gözlemlendiği uçucu yağlar ve dozları tercih edilmiş ve yine bunlar arasından da piyasadan yeteri kadar temin edilebilenler *in vivo* aşamada kullanılmıştır. Ayrıca laboratuvar koşullarında kapsülasyon işlemleri sırasında bitki uçucu yağlarının yakalanma ve kaplanma randımanlarının daha önceki bölümlerde tartışıldığı gibi düşük olması (ortalama %5) ve *in vivo* denemelerde kullanıma yetecek miktarda kapsüle edilecek BUY (her bir bitkisel yağ için yaklaşık 12 kg) eldesinin bu koşullardaki zorluğu nedeniyle kapsülasyon metodu olarak endüstriyel uygulaması da bulunan başka bir metod tercih edilmiştir. Yeni metoda göre en az %85 klinoptilolitin (zeolitin yapısında bulunan ana mineral) içeren kil (zeolit)'e her bir uçucu yağ en az %10 olacak şekilde pülverize edilerek karıştırılmıştır. Bu şekilde hazırlanan katkıları 20'şer kg'lık ambalajlar halinde temin edilmiştir.

Bu bağlamda birinci *in vivo* çalışma için tarçının 100 ppm, sarımsağın 50 ppm ve defnenin 150 ppm dozları seçilmiş ve taşıyıcı madde olarak zeolit

kullanılarak kesif yeme karıştırılmıştır. Karışım yapma esnasında hesaplamalar kesif yeme göre yapıldığı için TMR de bu dozların altında dozlar çalışılmıştır. Bu şekilde TMR'de 60 ppm tarçın, 30 ppm sarımsak ve 90 ppm defne uçucu yağı bulundurulmuştur. İkinci *in vivo* çalışma için ise birinci *in vivo* çalışmaların sonuçları da göz önünde bulundurularak dozlar arttırılmış ve bütün uçucu yağlar (kekik, iğde ve portakal kabuğu) kesif yemde 180 ppm düzeyinde kullanılmış ve TMR'de de 108 ppm düzeyinde bulundurulmuştur.

4.2.1. Sarımsak, Tarçın ve Defne Uçucu Yağlarının Süt Sığırlarında Performans, Süt Kompozisyonu ve Süt Somatik Hücre Sayısı Üzerine Etkileri

In vivo çalışmalarımızın ilkinde sarımsak, tarçın, ve defne bitkisel uçucu yağlarının süt sığırlarında performans, süt kompozisyonu ve süt somatik hücre sayısı üzerine etkileri incelemek amacı ile deneme yürütülmüştür. Denemede toplam rasyonun kg'ında 30 mg sarımsak uçucu yağı, 60 mg tarçın uçucu yağı, 90 mg defne uçucu yağı kullanılmıştır. Grupların toplam yem tüketimleri dikkate alınarak yapılan hesaplamalarda hayvanlar ortalama olarak 0.65 g/gün sarımsak uçucu yağı, 1.3 g/gün tarçın uçucu yağı ve 2 g/gün defne uçucu yağı almıştır

Yaptığımız çalışmada elde edilen veriler incelendiğinde; kullanılan bitki uçucu yağlarının, süt ineklerinde yem tüketimi, süt verimi, %4 yağa göre düzeltilmiş süt verimi, ve canlı ağırlık değişimi üzerine önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir ($P>0.05$, Çizelge 4.37). Süt kompozisyonu değerlendirildiğinde ise sadece süt laktoz düzeyinin rasyonlardan önemli düzeyde etkilendiği ve sarımsak katkılı rasyonu alan ineklerin süt laktoz düzeyinin kontrol rasyonu ve diğer katkıları alanlara oranla yükseltme eğiliminde olduğu görülmüştür ($P<0.06$). Süt laktoz düzeyinin bitkisel uçucu yağlarla yükselme eğiliminde olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Morsy ve ark. 2012, Soltan ve ark. 2009) Laktoz meme bezlerinden sentezlenen süt şekeridir. Süt içeriğindeki yüzdesi diğer süt parametreleriyle kıyaslandığında değişmez olup sütteki yüzdesi ortalama % 4.5'tir. Meme bezlerinde laktoz sentez aşamasında gerekli olan glukozun iki kaynağı vardır. Bunlar rumen ve ince bağırsaktır. Rumende oluşan propiyonat ve laktat karaciğerde glukozla

dönüştürüldükten sonra meme bezlerine gönderilir. Çalışmamızın *in vitro* kısmından elde edilen veriler tarçın yağı ile arpanın OM ve KM sindirilebilirliğinin arttığını göstermektedir. Bu sonuç tarçının nişastayı sindiren bakteriler üzerinde olumlu etki yapıyor şeklinde değerlendirildiğinde tarçının aynı zamanda propionat üretiminde olumlu etkilediğini düşündürür. Bu durum tarçının süt laktoz miktarını arttırmasının nedeni olabilir.

Denememizde somatik hücre sayısı da rasyonlardan etkilenmemiştir ($P>0.05$).

Çizelge 4.37. Sarımsak, Tarçın ve Defne Uçucu Yağlarını İçeren Rasyonlarla Beslenen Süt İneklerinde Performan Verileri ve Süt Kompozisyonunun Değişimi

Özellikler	Bitkisel uçucu yağlar				SEM	P<
	Kontrol	Sarımsak*	Tarçın*	Defne*		
Havada Kurutulmuş Yem Tüketimi, kg/gün	22.40	21.63	21.77	22.33	0.70	0.82
Süt verimi, kg/gün	25.56	26.34	24.80	25.24	1.45	0.90
Deneme sonu canlı ağırlığı, kg	528.98	475.16	501.70	492.82	17.65	0.21
Deneme sonu vücut kondüsyon skoru	2.82	2.93	2.88	2.93	0.11	0.88
%4 yağa göre düzeltilmiş süt verimi, kg/gün	24.87	24.43	23.69	23.94	1.26	0.91
Süt Kompozisyonu;						
Kurumadde, %	12.26	12.12	12.46	12.32	0.19	0.65
Yağsız kuru madde, %	8.42	8.63	8.72	8.66	0.08	0.09
Yağ, %	3.83	3.51	3.76	3.67	0.16	0.49
Protein, %	3.06	3.06	3.17	3.15	0.07	0.55
Laktoz, %	4.59b	4.79a	4.74ab	4.72ab	0.05	0.06
Kazein, %	2.45	2.57	2.58	2.57	0.05	0.31
Üre azotu, mg/dL	23.16	21.58	22.29	22.22	0.59	0.32
Somatik hücre sayısı, (x1000 adet/mL)	137.62	137.35	197.99	110.17	40,30	0.48

* TMR'da 30 ppm sarımsak, 60 ppm tarçın ve 90 ppm defne uçucu yağı bulunmaktadır.

Kholif ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışmada sarımsak ve tarçın yağının serum protein konsantrasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Bu sonuç çalışmalarında süt protein miktarında gözlenen artışı ($P<0.05$) açıklamaktadır. Yaptığımız çalışmada

süt proteinin istatistikî olmasada sayısal olarak tarçın yağı ile artmış olması Kholif ve ark. (2012) yapmış oldukları çalışma sonucuyla uyum göstermiştir.

Çalışma sonunda önemli parametrelerden olan süt veriminde değişimin olmaması daha önce bitki uçucu yağları ile yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Benchaar ve ark.(2006,2007) ile Tassoğul ve Shaver (2009) yapmış oldukları çalışmalarda kullandıkları ticari bitki uçucu yağ karışımının (thymol, eugenol, vanillin ve limonen) süt verimine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

4.2.2. Kekik, İğde ve Portakal Kabuğu Uçucu Yağlarının Süt Sığırlarında Performans ve Süt Kompozisyonu Üzerine Etkileri

In vivo çalışmalarımızın ikincisinde sarımsak, tarçın, ve defne bitkisel uçucu yağlarının süt sığırlarında performans, süt kompozisyonu ve süt somatik hücre sayısı üzerine etkileri incelemek amacı ile deneme yürütülmüştür. Denemede toplam rasyonun kg'da 108 ppm kekik, iğde ve portakal kabuğu uçucu yağları kullanılmıştır. Grupların toplam yem tüketimleri dikkate alınarak yapılan hesaplamalarda hayvanlar ortalama olarak 2.4g/gün uçucu yağ almıştır

Çalışmamız sonunda elde edilen veriler incelendiğinde; kullanılan bitki uçucu yağlarının, süt ineklerinde yem tüketimi, süt verimi, %4 yağa göre düzeltilmiş süt verimi ve deneme süresince canlı ağırlık değişimini önemli düzeyde etkilemediği tespit edilmiştir ($P>0.05$, Çizelge 4.38). Benzer şekilde süt kompozisyonu ve somatik hücre sayısı bitkisel uçucu yağlardan etkilenmemiştir ($P>0.05$). Ancak deneme sonu vücut kondüsyon skorunun gruplar arasında istatistikî olarak farklı olduğu ($P<0.01$) saptanmıştır. Vücut kondüsyon skoru kontrole göre kekik ve iğde yağları ile artmış ancak ,portakal kabuğu yağı ile değişmemiştir.

Çizelge 4.38. Kekik, İğde ve Portakal Kabuğu Uçucu Yağlarını İçeren Rasyonlarla Beslenen Süt İneklerinde Performan Verileri ve Süt Kompozisyonunun Değişimi

Özellikler	Bitkisel uçucu yağlar				SEM	P<	
	Kontrol	Kekik*	İğde*	Portakal Kabuğu*			
Havada Kurutulmuş Yem Tüketimi, kg/gün	21.66	23.56	22.03	23.47	0.69	0.14	
Süt verimi, kg/gün	23.05	23.31	23.98	22.97	0.99	0.88	
%4 yağa göre düzeltilmiş süt verimi, kg/gün	22.11	22.53	22.03	21.70	0.79	0.91	
Deneme sonu canlı ağırlığı, kg	489.93	504.36	503.29	502.07	17.92	0.94	
Canlı ağırlık değişimi, kg/gün	-0.76	-0.28	0.21	-0.55	0.22	0.30	
Deneme sonu vücut kondüsyon skoru	2.68	2.93	2.82	2.68	0.11	0.002	
Vücut kondüsyon skoru değişimi	-0.11	-0.11	-0.07	0.04	0.07	0.20	
Süt Kompozisyonu;							
Kurumadde, %	12.52	12.59	12.33	12.23	0.23	0.67	
Yağsız kuru madde, %	8.71	8.84	8.89	8.55	0.09	0.06	
Yağ, %	3.79	3.79	3.47	3.66	0.18	0.58	
Protein, %	3.17	3.27	3.30	3.16	0.07	0.31	
Laktoz, %	4.75	4.75	4.76	4.58	0.05	0.10	
Kazein, %	2.57	2.65	2.66	2.50	0.05	0.11	
Üre azotu, mg/dL	24.81	26.00	24.96	26.09	0.75	0.50	
Somatik hücre sayısı (x1000 adet/mL)	197.00	154.00	231.18	246.21	79.50	0.85	

* TMR'da 108 ppm ilgili uçucu yağı bulunmaktadır.

Genel olarak bitki uçucu yağları ile yapılan çalışmalar *in vitro* koşullarda yapılmış olup *in vivo* yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Ayrıca *in vitro* çalışma sonuçları ile *in vivo* çalışma sonuçları çoğu zaman uyum göstermemektedir. Bu uyumsuzlukta statik *in vitro* koşulları ve dinamik canlı hayvan ve ortam koşullarının ciddi farklılık göstermesi de önemli rol oynamaktadır. Çalışmamızda *in vitro* koşullarda elde edilen olumlu etkinin hayvan denemelerinde görülmemesi de dinamik canlı hayvan ve ortam koşullarına bağlanabilir. Ayrıca performans değişiminde hayvanın aldığı toplam besin madde düzeyinin de önemli rolü bulunmaktadır.

Süt inekleriyle yapılan çalışmalarda genelde farklı dozlarda ve farklı yemleme koşullarında çalışmalar yapılmış olmasına ve bu bitki uçucu yağlarının da genelde rumen fermentasyonunu değiştirmiş olmasına rağmen süt veriminde ve süt kompozisyonunda önemli bir değişime neden olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte bitki uçucu yağları ile yapılan çalışmalarda bitki uçucu yağlarının süt ineklerinde performans değişimine neden olduğu yönünde az sayıda da olsa çalışmalar mevcuttur (Morsy ve ark., 2012; Kung ve ark., 2008; Soltan ve ark., 2009).

Çalışmamızın *in vitro* denemelerde görülen olumlu sonuçların *in vivo* denemelerde gözlenememesi literatür bilgilerini destekler nitelikte olmuştur.

4.2.3. Bitki Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkileri

Süt yağı yaklaşık 400 farklı yağ asitini içermektedir (Mansson, 2007). Bu yağ asitlerinin yaklaşık % 70'i doymuş yağ asitleri (örn: Miristic asit (C14:0)), %25'ini tek doymamış bağlı yağ asitleri (örn: palmitoleik asit (C16:1)), ve %5'ini çoklu doymamış yağ asitleri(örn: linoleik asit (C18:2)) oluşturmaktadır. Yağ asitlerinin nerdeyse eşit miktarlarda üretiminin yapıldığı iki kaynağı vardır. Bunlar rumendeki mikrobiyal aktivite (biyohidrojenizasyon) ve yemdir. İnsan sağlığı için ideal sütün doymamış yağ asiti oranının yüksek olması istenmektedir. Özellikle süt yağ asitlerinden olan Konjuge linoleik asitin (CLA) kanser önleme, damar tıkanıklığını azaltma ve immün sistemi geliştirme gibi etkilerinin olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Jenkins ve ark., 2008).

Konjuge linoleik asit (CLA), yağ asidi zincirinde farklı karbon pozisyonlarında iki konjuge doymamış çift bağa sahip yağ asitidir. Üç esansiyel yağ asidinden biri olan linoleik asitin bir grup pozisyonunu ve geometrik izomerini temsil etmektedir. Linoleik asitin bir veya her iki çift bağının yeri reaksiyonlarla değiştiğinde konjuge linoleik asit oluşmaktadır

Rumende biyohidrojenizasyon özellikle *Butyrivibrio* cinsi bakteriler tarafından gerçekleştirilmektedir (Paillard ve ark., 2007). Örneğin linoleik asit (C18:2 c9-c12) *Butyrivibrio fibrisolvens* bakterisi tarafından rumenik asite (C18:2

c9-t11) ve daha sonra vaksenik asite (C18:1 *t11*) dönüştürülmektedir. Vaksenik asitte *Butyrivibrio proteoclasticus* tarafından hidrojenle doyurularak biyohidrojenizasyon son ürünü olan stearik asite (C18:0) dönüştürülür (Vasta ve ark., 2010). Linoleik asit hidrojenizasyonu aşamasında ara ürün olarak CLA (konjuge linoleik asit) oluşmaktadır

Bilindiği gibi bitki uçucu yağları gram(-) ve gram(+) bakteriler üzerinde antimikrobiyel aktiviteye sahiptirler (Benchaar ve ark., 2006a). Bazı bakteriler ise rumende yağ asitlerinin biyohidrojenizasyonunu gerçekleştirmektedirler (Bauman ve ark., 1999). Bu nedenle bazı bitki uçucu yağlarının süt ve karkas yağ asidi profilinin değiştirilmesinde kullanılabileceği düşünülebilir. Wallace ve ark. (2010), bu konuda yemin etkisinin rumen bakteri içeriğinden daha baskın olduğunu bildirmişlerdir. Rumende çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) varlığı rumen mikroorganizmaları tarafından gerçekleştirilen ve biyohidrojenizasyon denilen sürecin başlamasına neden olur. Zira buradaki biyohidrojenizasyon işleminin amacı doymamış yağ asitlerinin mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisinin mikroorganizmalar tarafından giderilme çabasıdır (Harfoot ve Hazlewood, 1997).

4.2.3.1. Sarımsak, Tarçın ve Defne Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkileri

Bu çalışmada sarımsak, tarçın ve defne uçucu yağları kontrole karşı test edilmiş ve deneme hayvanları deneme gruplarına göre 30 ppm sarımsak, 60 ppm tarçın ve 90 ppm defne uçucu yağı içeren TMR almışlardır. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.39'de verilmiştir.

Çizelge 4.39. Tarçin, Sarımsak ve Defne Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonuna Etkileri

Yağ Asidi	Kontrol	Tarçin 60 ppm	Sarımsak 30 ppm	Defne 90 ppm	SEM	P<
C8:0	2.45	2.27	2.12	2.23	0.14	0.41
C10:0	3.55	3.32	3.27	3.29	0.19	0.73
C12:0	0.38	0.36	0.62	0.39	0.12	0.38
C14:0	11.89	11.59	10.73	11.39	0.41	0.25
C14:1	1.05	1.02	0.94	0.92	0.07	0.48
C15:0	1.18	1.16	1.29	1.29	0.09	0.66
C15:1	0.31	0.33	0.26	0.29	0.02	0.15
C16:0	27.98	28.80	26.97	29.08	1.05	0.50
C16:1	1.84	1.68	1.86	1.81	0.10	0.55
C17:0	0.36b	0.38b	0.46a	0.40ab	0.02	0.02
C17:1	0.07	0.08	0.10	0.08	0.00	0.08
C18:0	9.31	9.86	9.10	9.31	0.48	0.72
C18:1 n9	28.75	28.13	29.60	28.58	1.19	0.85
C18:2 n6	4.13	4.05	4.17	4.03	0.19	0.95
C18:3 n6	0.08	0.08	0.08	0.07	0.08	0.37
C18:3 n3	0.55a	0.45b	0.46b	0.42b	0.01	0.00
C20:0	0.15	0.17	0.18	0.20	0.02	0.46
C20:1	0.04	0.03	0.04	0.06	0.00	0.08
C20:2 cis	0.22	0.26	0.26	0.26	0.01	0.13
C20:5 n3	0.04	0.04	0.04	0.04	0.00	0.31
C22:1 n9	0.04	0.02	0.01	0.04	0.00	0.42
C22:2 cis	0.03	0.03	0.03	0.03	0.00	0.82
Toplam	94.41	94.10	92.56	94.13	0.59	0.13
Bilinmeyen	5.59	5.90	7.44	5.87	0.59	0.13
Toplam-N3	0.59a	0.50ab	0.51ab	0.45b	0.07	0.01
Toplam-N6	4.27	4.14	4.24	4.09	0.20	0.92
Toplam-N9	28.76	28.14	29.60	28.50	1.18	0.85
Toplam-PUFA	5.11	4.93	5.04	4.83	0.21	0.80
Toplam-MONO	31.69	30.86	32.44	31.37	1.22	0.84
Toplam doymuş	57.62	58.31	55.09	57.93	1.25	0.28

Sütün toplam omega-3, C18:3:n3 ve C17:0 yağ asidi içerikleri muamelelerden etkilenmiş ($P<0.05$) ve bütün uçucu yağlar sütün omega-3 (n3) ve C18:3:n3 miktarını kontrole göre azaltırken, sarımsak uçucu yağı C17:0 yağ asidi düzeyini kontrol ve diğer yağlara göre önemli düzeyde artırmıştır ($P<0.05$). C17:0 yağ asidi C15:0 yağ asidi ile rumen bakterileri tarafından sentezlenen iki doymuş yağ asidi olup kaynağını yeniden sentez veya kan lipitlerinden almayan yağ asitleridir (Mansoon, 2008). Çalışmamızda C17:0 yağ asidi miktarının yeme eklenen uçucu yağ

asitleri ve özellikle sarımsak yağı ile artmış olması bu yağların C17:0 yağ asitinin sentezlenmesinde görev alan rumen bakterilerinin etkilediğini düşündürmüştür. Diğer taraftan sütün ne toplam doymuş yağ asidi, ne de toplam doymamış yağ asidi düzeyi kullanılan uçucu yağlardan etkilenmiştir ($P>0.05$). Elde edilen bu sonuçlar 30 ppm sarımsak, 60 ppm tarçın ve 90 ppm defne uçucu yağının süt ineklerinde süt yağ asidi kompozisyonlarını sınırlı düzeyde etkilediğini; ancak omega-3 yağ asitleri düzeyini düşürdüklerini göstermiştir.

Toplam tekli doymamış yağ asitlerinin miktarında bir değişim olmaması ve C18:3 n3 düzeyinin kullanılan uçucu yağlarla düşmüş olması biyohidrojenizasyon prosesinin 30 ppm sarımsak, 60 ppm tarçın ve 90 ppm defne uçucu yağlarından negatif yönde etkilenmediğini göstermektedir.

4.2.3.2. Portakal Kabuğu, Kekik ve İğde Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkileri

Portakal kabuğu, kekik ve iğde uçucu yağı kullanılan ikinci *in vivo* çalışmada uçucu yağlar TMR'da 108 ppm düzeyinde kullanılmış ve bunlara ilişkin elde edilen sonuçlar Çizelge 4.40'ta sunulmuştur. C14:0, C16:1, C18:1 n9 ve toplam omega 9 (n9) ve tek doymamış bağlı yağ asitlerinin süt yağındaki düzeyleri uçucu yağlardan önemli düzeyde etkilenmiştir ($P<0.05$). C14:0 oranı bitki uçucu yağları alan ineklerin sütlerinde artarken, diğer yağ asitleri bitki uçucu yağı alan ineklerde kontrol grubuna göre düşmüştür. Bu düşüşte özellikle kekik ve iğde uçucu yağının etkisi daha belirgin olarak görünmektedir. Biyohidrojenizasyon aşamasında stearik asiten bir önceki basamaktaki ürün olan vaksenik asitin izomerleri (C18:1 n9) tüm gruplarda ve özellikle kekik ve iğde alan grupta kontrole göre önemli düzeyde düşmüştür ($P<0.05$) PUFA değerleri ise tüm gruplarda kontrole göre sayısal olarak düşük bulunmuştur. Bu çalışmada yukarıda vurgulanan değişimlerin ana nedeni kekik ve iğde uçucu yağlı rasyonu alan ineklerin süt yağlarında C18:1 n9 düzeyindeki düşüştür.

Çizelge 4.40. Portakal, Kekik ve İğde Uçucu Yağlarının Süt Yağ Asitikompozisyonuna Etkileri

Yağ Asidi	Kontrol	Portakal Kabuğu	Kekik	İğde	SEM	P<
C10:0	2.08	2.13	2.21	2.28	0.08	0.28
C12:0	3.15	3.25	3.36	3.42	0.10	0.26
C14:0	11.21b	11.68a	11.97a	11.99a	0.16	0.00
C14:1	0.91	1.02	1.00	0.93	0.05	0.37
C15:0	1.27	1.44	1.44	1.35	0.07	0.24
C15:1	0.27	0.28	0.29	0.28	0.00	0.41
C16:0	33.73	34.50	35.08	33.94	0.64	0.46
C16:1	2.18a	2.07a	1.81b	1.78b	0.06	0.00
C17:0	0.70	0.73	0.72	0.72	0.02	0.84
C17:1	0.06	0.06	0.06	0.08	0.01	0.62
C18:0	9.91	9.43	9.48	10.10	0.35	0.46
C18:1 n9	24.75a	23.98ab	22.64b	23.09b	0.53	0.05
C18:2 n6	3.71	3.46	3.60	3.75	0.16	0.60
C18:3 n6	0.07	0.07	0.08	0.08	0.00	0.20
C18:3 n3	0.43	0.41	0.41	0.40	0.02	0.86
C20:0	0.08	0.02	0.02	0.02	0.02	0.12
C20:1	0.04	0.03	0.04	0.04	0.00	0.59
C20:2 cis	0.21	0.22	0.23	0.22	0.01	0.77
C20:5 n3	0.04	0.04	0.04	0.04	0.00	0.15
C22:1 n9	0.03	0.01	0.02	0.01	0.00	0.70
C22:2 cis	0.04	0.05	0.03	0.05	0.00	0.48
Toplam	94.80	94.87	94.52	94.55	0.15	0.28
Bilinmeyen	5.20	5.13	5.48	5.45	0.15	0.28
Toplam-N3	0.46	0.46	0.46	0.46	0.02	0.99
Toplam-N6	3.77	3.63	3.69	3.84	0.16	0.81
Toplam-N9	24.76a	23.78ab	22.65b	23.09b	0.52	0.05
Toplam-PUFA	4.48	4.26	4.40	4.55	0.18	0.73
Toplam-MONO	28.21a	27.24ab	25.85b	26.19b	0.53	0.02
Toplam doymuş	62.10b	63.26ab	64.27a	63.81ab	0.66	0.14

Tekli doymamış yağ asitlerini miktarının sütte değişmesinin iki nedeni vardır. Bunlardan ilki stearik asitin bağırsak epitelindeki ve meme bezlerindeki desaturaz aktivitesi nedeniyle desature edilmesi, diğeri ise rumendeki mikroorganizmaların yemdeki çoklu doymamış yağ asiti olan alfa lineloik asitin hidrojenizasyonunu tamamlayamaması ile ilgilidir. Denemede kullanılan uçucu yağlar biyohidrojenizasyonda etkili olan bir kısım mikroorganizmaları inhibe etmiş olsalardı, biyohidrojenizasyon olayı tam gerçekleşmeyeceğinden tek doymamış bağlı yağ asitlerinin süt yağında artması söz konusu olacaktı. Ancak bu çalışmada artmak

yerine düşmüştür. Bu biyohidrojenizasyonun ya tam gerçekleştiği, ya hiç gerçekleşmediği ya da ilgili dokulardaki desaturaz aktivitesinin düşürüldüğü anlamına gelmektedir. Elde edilen sonuçlar çalışmada kullanılan ve dozuda artırılmış olan portakal kabuğu, kekik ve iğde uçucu yağlarının rumendeki biyohidrojenizasyon olaylarına müdahalesinin olmadığını göstermektedir.

4.2.3.3. Bitki uçucu yağlarının Süt Yağ Asidi Kompozisyonlarına Etkilerine İlişkin Genel Değerlendirme

Son zamanlarda et ve sütte omega-3, CLA, çoklu ve tekli doymamış yağ asitlerinin miktarını artırılması yönünde çalışmalar yoğunluk kazanmıştır. Rumen biyohidrojenizasyonunda görev alan bakteri popülasyonunun manüple edilerek et ve süt yağ asidi kompozisyonunun değiştirileceği düşünülmüştür. Durmic ve ark. (2008), yapmış oldukları *in vitro* çalışmada Avusturalya'da yetişen bazı bitkilerin etanolik ekstraktlarının biyohidrojenizasyonunda görev alan bazı bakterilere (*Butyrivibrio proteoclasticus* gibi) karşı seçici inhibitör etki gösterdiğini, linoleik asit biyohidrojenizasyonunu CLA ve vaksenik asit gibi ara ürünlerin artması yönünde etkilediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu sonucun ruminant ürünlerini de etkileyeceğini ve rumen ortamında bu ara bileşiklerin artmasının üründe de bu doymamış yağ asitlerinin konsantrasyonunu artıracaklarını savunmuşlardır.

Benchaar ve ark. (2006a), monensin ve bir bitki uçucu yağı karışımını test ettikleri çalışmada bitki uçucu yağı karışımının süt yağ asidi profiline herhangi bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Benzer bulgular Benchaar ve ark. (2007) tarafından da saptanmıştır.

Benchaar ve Chouinard (2009), cinnamaldehyde, tanin ve saponin aktif bileşiklerinin süt yağ asidi kompozisyonuna etkisini *in vivo* araştırdıkları çalışmalarında sırasıyla 1g/gün,150g/gün ve 60g/gün dozlarını 4 süt ineği ile 28 günlük periyotta test etmişlerdir. Çalışmaları sonunda sadece saponinli grubun süt örneklerinde yağ asidi profilinin çok az değiştiğini diğer aktif bileşiklerde ise bir etkinin tespit edilemediğini belirtmişlerdir.

Huws ve ark. (2010), *Yucca shidigera* bitkisinden elde ettikleri saponinin rumen biyohidrojenizasyonuna etkisini *in vitro* araştırdıkları çalışmalarında 2, 6 ve 24 saatlik inkübasyon saatlerinde linoleik asitin biyohidrojenizasyonunu kontrole göre sırasıyla %19, %13.5 ve %6.1 azalttığını ($P<0.05$) bildirmişlerdir. Lourenço ve ark. (2008) farklı bitki komponentlerinin uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin biyohidrojenizasyonuna etkilerini *in vitro* olarak sürekli inkübatörde araştırmış özellikle cinnemaldehitin C18:2 n6'nın biyohidrojenizasyonunu etkilediğini ve fermentör çıkışında C18:1 trans 10, CLA trans 10 ve cis 10 miktarının arttığını saptamışlardır.

Burada özetlenen çalışmalar *in vitro* koşullarda yağ asitlerinin biyohidrojenizasyonunun bitki uçucu yağlarından etkilendiğini ve genelde düşürdüğünü göstermektedir. Ancak yapılan hayvan denemelerinde süt yağ asidi kompozisyonunun bitki uçucu yağlarından önemli düzeyde etkilenmediği görülmektedir. Yaptığımız çalışma kapsamında test edilen sarımsak, tarçın, defne, portakal kabuğu, kekik ve iğde uçucu yağlarını alan süt ineklerinin süt yağ asidi profili de önemli düzeyde değişmemiştir. Çalışmamızın sonuçları literatürü desteklemiştir. *In vitro* çalışmalarda fermentasyon süreçlerinde yağ asidi profillerinde değişimler gözlenmesine rağmen *in vivo* çalışmalarda yağ asidi profilinin değişmemesi bağırsak epitelinin ve meme bezlerinin sahip olduğu saturaz ve desaturaz aktivitesiyle açıklanabilir. Desaturasyon bir yağ asiti karbon zincirinden iki hidrojen atomu koparılarak iki karbon atomu arasında çift bağ oluşturma reaksiyonu olup desaturaz enziminin katalizlediği bir reaksiyondur. Stearik asitin Δ^9 -desaturaz enzimi ile desaturasyonu sonucu oleik asit oluşur. Δ^9 -desaturaz enziminin dokularda dağılımı türden türe değişmektedir. Gelişme dönemindeki koyun ve sığırlarda adipoz dokularda en fazladır. Gelişme dönemindeki ruminantlarda cis-9, trans-11 KLA'nın en önemli endojen sentez bölgesi adipoz doku olarak görülmektedir. Laktasyondaki hayvanlarda ise cis-9, trans-11 KLA en fazla endojen olarak meme bezlerinden sentezlenmektedir (Bauman ve ark., 1999; Grinari ve ark., 2000).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada 14 bitki uçucu yağın buğday samanı, soya fasülyesi küspesi ve arpanın *in vitro* gerçek KM, OM, NDF ve HP sindirilebilirliğine etkilerini araştırmak amacı ile iki aşamalı inkübasyonlar gerçekleştirilmiştir. İlk aşama inkübasyonları verilerine göre buğday samanı ile yapılan inkübasyonlarda KM ve OM ve NDF sindirimini artıran bitkisel uçucu yağ ve dozları, soya fasülyesi küspesiyle yapılan inkübasyonlarda KM, OM ve HP ve arpa ile yapılan inkübasyonlarda ise KM ve OM sindirilebilirliğini düşüren bitkisel uçucu yağ ve dozları tercih edilmiştir. Bu çerçevede buğday samanı için portakal yağının 100 ppm'lik dozu ile sarımsak yağının 50 ppm'lik dozu, arpa için defne yağının 150 ppm'lik dozu ve portakal kabuğu yağının 100 ppm'lik dozu, SK için ise iğde yağının 50 ppm ve defne yağının 150 ppm'lik dozları ikinci aşama uçucu yağ-kapsülasyon etkisinin araştırıldığı *in vitro* çalışmalar için seçilmiştir. Bitki uçucu yağ kaynağı ve kapsülasyonun etkisinin araştırıldığı ikinci aşamada yapılan inkübasyonlarda arpanın *in vitro* gerçek KM ve OM sindirilebilirliği ile SK'nın OM ve HP sindirilebilirliğinin defne uçucu yağının 150 ppm dozunun kapsüllü formu ile önemli düzeyde düştüğü saptanmıştır. Ayrıca sarımsak yağının 50 ppm dozunun hem kapsüllü hem de kapsülsüz formunun *in vitro* NDF sindirimini olumsuz etkilediği gözlenmiştir. Bu nedenle ikinci aşama çalışmalarda defne yağının OM ve protein yıkımının kontrolünde etkin bir ürün olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca kapsülasyonun etkisinin araştırıldığı ikinci aşama çalışmalarda birinci aşamada selüloolitik aktiviteyi artırdığı belirlenen tarçın kaplanamadığı için kullanılamamıştır. Ancak ikinci aşamada tarçın yerine benzer veya daha etkili bir ürün tespit edilemediğinden ilk aşama sonuçlarına göre NDF sindirimini iyileştirdiği belirlenen tarçının 50 ppm dozu *in vivo* çalışmada test edilmiştir.

İnkübasyon verilerinden hareketle uygun dozu ile seçilen defne, tarçın, sarımsak, kekik, iğde ve portakal kabuğu uçucu yağları yüksek verimli süt sığırı rasyonlarında kullanılmış ve hayvanların performansının bu yağlardan etkilenmediği sadece laktoz düzeyinin sarımsak yağı alan hayvanlarda daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Diğer taraftan birçok literatürde bitki uçucu yağları ile ilgili yapılan çalışmaların daha ziyade *in vitro* koşullarda gerçekleştirildiği ve bunlar arasında da uyumun sınırlı olduğu görülmektedir.

Ruminantlarda rumendeki metabolizmanın düzenlenmesi verimin etkilenmesinde temel hareket noktası olmakla birlikte, rumende uçucu yağ asitleri düzeyinde ve oranlarında, ortam pH'sında ve ortam amonyak azotunda önemli değişimler saptansa bile performans değişiminde hayvanın aldığı toplam besin madde düzeyinin de önemli rolü bulunmaktadır. Bu nedenle çoğu kez *in vitro* çalışmalar ile *in vivo* çalışmalar uyumsuzluk göstermektedir. Çalışmamızda *in vitro* koşullarda elde edilen olumlu etkinin hayvan denemelerinde (*in vivo*) görülmemesi statik *in vitro* koşullar ve dinamik canlı hayvan ve ortam koşullarının ciddi farklılığınabağlanabilir.

Bitki uçucu yağları ile statik ve kısa vadeli *in vitro* koşullarda bir kısım olumlu sonuçlar belirlenmesinde rumen bakterilerinin uçucu yağlara adapte olma şansı bulamaması da etkili olmaktadır. Bu nedenle bundan sonra uçucu yağlarla yapılacak çalışmalarda rumen bakterilerinin uçucu yağlara adaptasyonuna izin vermeyecek tekniklerin (gün aşırı, haftalık aralarla uçucu yağ kullanmak veya bitki uçucu yağları içeren ve içermeyen yemlerin tercih olarak sunulması gibi) kullanılması ve bu yöntemlerin de test edilmesinin gerektiği düşünülmektedir.

Yine bitki uçucu yağların saf formları yanında bunların kombinasyonlarının da test edilmesi sinerjistik bir etki yakalanmasına izin verecek bir yaklaşım olarak değerlendirilmiştir. Zira bu yönde literatürde sadece bir iki ticari ürün dışında test edilmiş ürün bulunmamaktadır.

Ayrıca antimikrobiyel etkileri kanıtlanmış olan bu ürünlerin besleme denemelerinde elde edilen hayvansal ürünlere geçme durumlarının (kimyasal ve duyuşsal özelliklerinin değişimi) ve hayvansal ürünlerin tenolojik özelliklerine (süt için peynir randımanı, olgunlaşma özellikleri ve kompozisyondaki değişimler) etkilerinin de araştırılmasının gerektiği değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

- AOAC, 1998. Official Methods of Analysis. 16th Edition, 4th Revision, Washington, D. C.
- ANKOM, 2002. Operator's Manual ANKOM200/220 Fiber Analyzer. ANKOM Technology Corp., Fairport, NY.
- ANONYMOUS, 2012. Extraction of The Essential Oil of Lavender. http://www.routes-lavande.com/about_lavender/stills.html (16.05.2012)
- BEK, Y., EFE, E., 1998. Araştırma ve Deneme Metodları I Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:71, 395 sayfa, Adana
- BAUMAN, D.E., BAUMGARD, L.H., CORL B. A. and GRIINARI, J. M. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. Pages 1-5 in Proc. Am. Soc. Anim. Sci. FASS, Savoy.
- BENCHAAR, C., PETIT, H. V., BERTHIAUME, R., WHYTE, T. D., CHOUINARD, P. Y., 2006a. Effects of Addition of Essential Oils and Monensin Premix on Digestion, Ruminal Fermentation, Milk Production, and Milk Composition in Dairy Cows. J. Dairy Sci., 89: 4352-4364.
- BENCHAAR, C., DUYNISVELD, J. L., CHARMLEY, E., 2006b. Effects of Monensin and Increasing Dose Levels of a Mixture of Essential Oil Compounds on Intake, Digestion and Growth Performance of Beef Cattle. C. J. Anim. Sci. 86: 91-96.
- BENCHAAR, C., PETIT, H.V., BERTHIAUME, R., OUELLET, D.R., CHIQUETTE, J., CHOUINARD, P.Y., 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. J. Dairy Sci. 90, 886-897.
- BENCHAAR, C., CHAVES, A. V., FRASER, G. R., WANG, Y., BEAUCHEMIN, K. A., McALLISTER, T. A., 2007. Effects of Essential Oils and Their Components on In vitro Rumen Microbial Fermentation. Can. J. Anim. Sci., 87: 413-419.

- BENCHAAR, C., CHOUINARD, P. Y., 2009. Assessment of the Potential of Cinnamaldehyde, Condensed Tannins, and Saponins to Modify Milk Fatty Acid Composition of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 92: 3392-3396.
- BIRISKIN, D. P. 2000. Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health, *Plant Physiology*, 124 (2), pp. 507-514
- BLIGH, E. C. and DYER, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 913-917.
- BODAS, R., LOPEZ, S., FERN´ANDEZ, M ., GARCIA-GONZALEZ, GONZ´ALEZ R., WALLACE, R. J., GONZ´ALEZ J.S., 2009. Phytogenic Additives to Decrease *in vitro* Ruminant Methanogenesis . *Options Mediterraneennes A/ no: 85*, 2009 Nutritional and foreing Ecology of Sheep and Goats..
- BORCHERS, R., 1965. Proteolytic activity of Rumen fluid *in vitro* . *Journal of Animal Science* 24:1033-1038.
- BRODERICK, G.A. and BALTHROP J.E., 1979. Chemical inhibition of amino acid deamination by ruminal microbes *in vitro*. *J Anim Sci* 49, 1101–1111
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., CARDOZA, P. W., KAMEL, C., 2005a. Effects of Cinnamaldehyde and Garlic Oil on Rumen Microbial Fermentation in a Dual Flow Continuous Culture. *J. Dairy Sci.*, 88: 2508-2516.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., CARRO, M. D., KAMEL, C., 2005b. Effect of Garlic Oil and Four of Its Compounds on Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.*, 88: 4393-4404.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., KAMEL, C., 2005c. Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on Rumen microbial fermentation in continuous culture. *Anim. Feed Sci. Technol.* 123, 597–613.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., KAMEL, C., 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 89, 761-771.

- CALSAMIGLIA, S., BUSQUET, M., CARDOZA, P. W., CASTILLEJOS, L., FERRET, A., FANDIÑO, I., 2007a. The Use of Essential Oils in Ruminants as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. Pen State Dairy Cattle Nutrition Workshop, November 13-14, Grantville, PA, USA.
- CALSAMIGLIA, S., BUSQUET, M., CARDOZA, P. W., CASTILLEJOS, L., FERRET, A., 2007b. Essential Oils as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. *J. Dairy Sci.*, 90: 2580-2595..
- CALSAMIGLIA, S., CASTILLEJOS, L., BUSQUET, M., 2006. Alternatives to Antimicrobial Growth Promoters in Cattle. *Recent Advances in Animal Nutrition* (Ed: P. C. Garnsworthy and J. Wiseman), Nottingham University Press, UK.
- CARDOZA, P. W., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., KAMEL, C., 2004. Effects of Natural Plant Extracts on Ruminal Protein Degradation and Fermentation Profiles in Continuous Culture. *J. Anim. Sci.*, 82: 3230-3236.
- CARDOZO, P.W., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., KAMEL, C., 2005. Screening For The Effects Of Natural Plant Extracts At Different Ph On In Vitro Rumen Microbial Fermentation Of A High-Concentrate Diet For Beef Cattle. *J. Anim. Sci.* 83, 2572–2579
- CARDOZA, P. W., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., KAMEL, C., 2006. Effects of Alfalfa Extract, Anise, Capsicum, and a Mixture of Cinnamaldehyde and Eugenol on Ruminal Fermentation and Protein Degradation in Beef Heifers Fed a High-Concentrate Diet. *J. Anim. Sci.*, 84:2801-2808.
- CASTILLEJOS, L., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., 2006. Effect Of Essential Oils Active Compounds On Rumen Microbial fermentation and Nutrient Flow in *in vitro* Systems. *J. Dairy. Sci.* 89 (7), 2649–2658.
- CHANG, S.T., CHEN, P. F., CHANG, S. C. 2001a. Antibacterial Activity of Leaf Essential Oils and Their Constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Ethnopharmacology*, 77: 123-127..
- CHANG, S.T., CHENG, S. S., WANG, S. Y. 2001b. Antitermitic activity of essential oil and components from *Taiwania (Taiwania cryptomerioides)*, *Journal of Chemical Ecology*, 27 (4), pp. 717-724.

- CHAUDHARY, L. C., SRIVASTAVA , A.,SINGH, K. K. 1995. Rumen Fermentation Pattern and Digestion of Structural Carbonhydrates in Buffalo (Bubalus-Bubalis) Calves as Affected by Ciliate Protozoa, Animal Feed Science and Tech., 56(1-2), pp.111-117.
- CHAVES, A. V., STANFORD, K., GIUBSON, L. L., MCALLISTER, T. A., BENCHAAAR, C., 2008a. Effects of Carvacrol and Cinnamaldehyde on Intake, Rumen Fermentation, Growth Performance, and Carcass Characteristics of Growing Lambs. Animal Feed Science and Tech., 145: 396-408. Counting Rumen Protozoat .Applied And Environmental Microbiology, July 1984, p. 182-185.
- CHÍZZOLA, R., HOCHSTEINER,W. and HAJEK, S., 2004. GC analysis of essential oils in the rumen fluid after incubation of Thuja orientalis twigs in the Rusitec system. Res Vet Sci 76, 77-82
- COX, S. D., MANN, C. M., MARKAM, J. L., 2001. Interaction Between Components of the Essential Oil of Melaleuca alternifolia. J. Applied Microbiology, 91: 492-497.
- DAHLAN, I. M., RAJION, I., JELAN, ZA., 2000. Rumen pH and ammonia nitrogen of cattle fed different levels of oil palm (Elaies guineensis) frondbased diet and dry matter degradation of oil palm frond.Asian – Australasia Journal of Animal Sciences. Vol. 13, No 7.
- DAVIDSON, P.M. and NAIDU, A.S., 2000. Phyto-phenols. In Natural food Antimicrobial System, pp. 265-294 .Boca Raton, FL:CRC Press.
- DEHORITY, B, A., 1984. Evaluation of Subsampling and Fixation Procedures Used for Counting Rumen Protozoat Applied and Environmental Microbiology, July 1984, p. 182-185
- DORMAN, H. J. D., DEANS, S. G., 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacteril Activity of Plant Volatile Oils. J. Applied Microbiology 88: 308-316.
- DUFFIELD, T.F., RABIEE, A. R., LEAN, I. J., 2008. A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. J. Dairy Sci.;91:1334–1346

- DURMIC, Z., C. S. McSWEENEY, G. W. KEMP, P. HUTTON, R. J. WALLACE, and VERCOE, P. E., 2008. Australian Plants With Potential to Inhibit Bacteria and Processes Involved in Ruminal Biohydrogenation of Fatty Acids. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145:271–284.
- DUVAL, S.,M., McEWAN, N.,R., GRAHAM, R.,C., WALLACE, R.,J., NEWBOLD,C.,J., 2007. Effect of a blend of essential oil compounds on the colonization of starch-rich substrates by bacteria in the Rumen. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364-5072
- DZIBA, L. E., HALL, J. O., PROVENZA, F. D., 2006. Feeding Behavior of Lambs in Relation to Kinetics of 1,8-Cineole Dosed Intravenously or into the Rumen. *J. Chemical Ecology*, 2: 391-408.
- EVANS, J.D. and MARTIN, S. A. 2000. Effects of Thymol on Ruminal Microorganisms. *Current Microbiology* 41(5), pp. 336-340.
- FRASER, G. R., CHAVES, A., V., WANG, Y., McALLISTER, T. A., BEAUCHEMIN, K. A., BENCHAAAR, C., 2007. Assesment of the Effects of Cinnamon Leaf Oil on Rumen Microbial Fermentation Using Two Continuous Culture Systems. *J. Dairy Sci.*, 90: 2315-2328.
- GARCIA-GONZALEZ, R., LOPEZ, S., FERN´ANDEZ, M., GONZ´ALEZ, J.S., 2008. Screening the activity of plants and spices for decreasing ruminal methane production *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology* 147, 36-52
- GREATHEAD, H., 2003. Plant and plant extract for improving animal productivity. *Proc. Nutr. Soc.* 62, 279-290
- GRIFFIN, S., WYLLIE, G.S., MARKHAM, J. L., LEACH, D. N., 1999. The Role of Structure and Molecular Properties of Terpenoids in Determining their Antimicrobial Activity. *Falvour and Fragrance Journal*, 14: 322-332
- GRIINARI, J.M., CORL, B.A., LACY, S.H., CHOUINARD, P.Y., Nurmela, K.V.V., Bauman, D.E., 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by $\Delta 9$ -desaturase. *Journal of nutrition* 130, 2285-2291.

- GONZALO, C., LINAGE, B., CARRIEDO, J.A., DE LA FUENTE, F., PRIMITIVO, F.S., 2006. Evaluation of the overall accuracy of the DeLaval Cell Counter for Somatic Cell Counts in Ovine Milk. *J Dairy Sci.* 2006 Dec;89(12):4613-9.
- GUSTAFSON, J.E., LIEW, Y.C., CHEW, S., MARKHAM, J., BELL, H.C., WYLLIE, S. G. and WARMINGTON, J. R. 1998. Effect of tea tree oil on *E.coli*, *Letters Applied and Microbiology*, 26(3), pp. 194-198.
- HARFOOT, C. G., HAZLEWOOD, G. P., 1997. Lipit Metabolism in the Rumen In: *The Rumen Microbial Ecosystem* ed: Hobson, P.N., Steward, C. S., 2nd edition Blackie Academic & Professional New York (1997), pp:382-426.
- HART, K.J., D.R. YANEZ-RUIZ, S.M. DUVAL, N.R. McEWAN and C.J. NEWBOLD, 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 147: 8-35
- HU, W. L.; LIU, J. X.; YE, J. A.; WU, Y. M.; GUO, Y. Q. 2005. Effect of tea saponin on rumen fermentation in Vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 120:333-339.
- HUWS, S.A., LEE, M.R.F., TWEED, J.K.S., SCOTT, M.B., AND SCOLLAN, N.D. 2010. Saponins Extracted From *Yucca Shidigera* Cause Shifts in The Rumen Microbiota Resulting in Decreased Lipolysis and Biohydrogenation. *Gut Microbiology: New Insights into Gut Microbial Ecosystem International Congress*, 22-25 June 2010, Aberdeen, UK.
- IVAN, M.; KOENIG, K. M.; TEFEREDEGNE, B.; NEWBOLD, C. J.; ENTZ, T.; RODE, L. M.; IBRAHIM, M. 2004. Effect of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* foliage on the population dynamics of rumen ciliate protozoa in sheep. *Small Rum. Res.* 52:81-91.
- JENKINS, T. C., R. J. WALLACE, P. J. MOATE, and E. E. MOSLEY. 2008. Recent Advances in Biohydrogenation of Unsaturated Fatty Acids within The Rumen Microbial Ecosystem. *J. Anim. Sci.* 86:397– 412

- JONES, G. A., McALLISTER, T. A., MUIR, A. D., CHENG, K.-J., 1994. Effects of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Condensed Tannins on Growth and Proteolysis by Four Strains of Ruminant Bacteria. *Applied And Environmental Microbiology*, Apr. 60-4, 1374-1378.
- KAMEL, C., GREATHEAD, H. M. R., TEJIDO, M. L., RANILLA, M. J., CARRO, M. D., 2008. Effects of Allicin and Diallyl Disulfide on *In vitro* Rumen Fermentation of a Mixed Diet. *Animal Feed Science and Tech.*, 145: 351-363.
- KAMEL, C., H.M.R. GREATHEAD, M.J. RANILLA, M.L. TEJIDO, S.RAMOS AND M.D. CARRO, 2009. The effects of garlic oil on in vitro rumen fermentation and methane production are influenced by the basal diet. XIth International Symposium on Ruminant Physiology (ISRP) Clermont-Ferrand, FRANCE September 6-9 ,2009
- KARAHAN, A.G., ARIDOĞAN B. C, ÇAKMAKÇI, L., 2002. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Klavuzu. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın no 24. 171 syf.
- KHOLIF, S.M. , MORSY, T.A. , ABDO, M.M., MATLOUP, O.H. and ABU ELLA, A.A., 2012. Effect of Supplementing Lactating Goats Rations with Garlic, Cinnamon or Ginger Oils on Milk Yield, Milk Composition and Milk Fatty Acids Profile. *J Life Sci*, 4(1): 27-34 .
- KLITA, P. T., G. W. MATHISON, T. W. FENTON, R. T. HARDIN. 1996. Effects of alfalfa root saponins on digestive function in sheep. *J. Anim. Sci.* 74:1144–1156.
- KONGMUN, P., WANAPAT, M., PAKDEE, P., NAVANUKRAW, C., 2010. Effect of Coconut Oil and Garlic Powder on *In vitro* Fermentation Using Gas Production Technique. *Livestock Sci.*, 127: 38-44.
- KUNG, L., WILLIAMS, P., SCHMIDT, R. J., HU, W., 2008. A Blend of Essential Plant Oils Used an Additive to Alter Silage Fermentation or Used as a Feed Additive for Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 91: 4793-4800.

- LAMBERT, R. J., SKANDAMIS, P. N., COOTE, P. J. and NYCHAS, G. J. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol, *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), pp453-462
- LOURENÇO, M., CARDOZA, P. W., CALSAMIGLIA, S., FIEVEZ, V., 2008. Effects of Saponins, Quercetin, Eugenol and Cinnamaldehyde on Fatty Acid Biohydrogenation of Forage Polyunsaturated Fatty Acids in Dual-Flow Continuous Culture Fermenters. *Journal Animal Science*. 86:3045-3053
- LU, Y., LIN, B., SHI, F., ZHU, W., LIU, J., 2010. Effects of Garlic Oils on Ruminal Fermentation, Methanogenesis and Microbiota *In Vitro*. *Gut Microbiology: New Insights into Gut Microbial Ecosystem International Congress*, 22-25 June 2010, Aberdeen, UK
- MARRIOTT, B. M. 2000. Functional foods: an ecologic perspective, *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6), pp 1728S-1734S.
- McINTOSH, F. M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R. J., BEEVER, D. A., NEWBOLD, C. J., 2003. Effects of essential oil on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 5011–5014.
- MEUNIER, J. P., CARDOR, J. M., GAUTHIER, P., BEYSSAC, E AND ALRIC, M., 2006. Use of rotary fluidized technology for development of sustained-release plant extract pellets: Potential application for feed additive delivery. *Journal of Animal Science*. 84:1850-1859.
- MISHRA, A. K., SILBERBERG, M. and MORGAVI, D. P. 2010 Growth of *Salmonella* Typhimurium DT104 in mixed rumen cultures is differentially affected by essential oils *New Insights into Gut Microbial Ecosystem International Congress*, 22-25 June 2010, Aberdeen, UK
- MOLERO, R., IBARA, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., LOSA, R., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on dry matter and crude protein degradability in heifers fed diets with different forage to concentrate ratios. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114, 91-104.

- MORSY, T.A., KHOLIF, O.H., MATLOUP, O.H., ABDO, M.M., ABU EL-ELLA, A.A., 2012. Impact of Anise, Clove and Juniper Oils as Feed Additives on the Productive Performance of Lactating Goats. *International Journal of Dairy Science* 7 (1):20-28.
- NAGY, J. G and TENDERDY, R. P.. 1968. Antibacterial action of essential oils of *Artemisia* as an ecological factor. II. Antibacterial action of the volatile oils of *Artemisia tridentata* (Big Sagebrush) on bacteria from the rumen of mule deer. *Appl. Microbiol.* 16:441-444
- NAGARAJA, T. G., NEWBOLD, C. J., VAN NEVEL, C. J., DEMEYER, D. I.. 1997. Manipulation of ruminal fermentation. In: P. N. Hobson and C. S. Stewart (ed.), *The Rumen Microbial Ecosystem*. (2nd ed.), pp. 523–632. Chapman and Hall, London.
- NRC (National Research Council) 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Ed. National Academy Press, Washington, D. C.
- 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. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114, 105–112.
- OH, H. K. , JONES, M. B. and LONGHURST, W. M. 1968. Comparison of Rumen microbial inhibition resulting from various essential oils isolated from relatively unpalatable plant species, *Applied Microbiology*, 16(1), pp39-44.
- OH, H. K., SAKA, T., JONES, M. B. and 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), pp. 777-784.
- ØRSKOV, E.R., RYLE, M., 1990. *Energy Nutrition in Ruminants*. Elsevier, Applied Science Publ. London
- OZTURK H., DEMIRTAS A., SALGIRLI, Y., PEKCAN, M., EMRE, B., FIDANCI U. R., 2012. Effects of olive leaf extract on rumen microbial fermentation in in vitro semi-continuous culture system (RUSITEC). *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 59, 17-21.
- ÖVEZ, B., YÜKSEL, M. 2002. Parfümlerin Çapraz Bağlı Mikrokapsüllerden Yavaş Salgılanmaları. *Çev Kor Dergisi Cilt: 10, Sayı: 43, sayfa 26-29*

- PAILLARD, D., N. McKAIN, L. C. CHAUDHARY, N. D. WALKER, F. PIZETTE, I. KOPPOVA, N. R. McEWAN, J. KOPECNY, P. E. VERCOE, P. LEWIS, and R. J. WALLACE. 2007. Relation between phylogenetic position, lipid metabolism and butyrate production by different *Butyrivibrio*-like bacteria from the rumen. *Antonie Leeuwenhoek* 91:417–422.
- SANTOS, M.B., ROBINSONA, P.H., WILLIAMS, P. , LOSAD, R. 2010. Effects of Addition of An Essential Oil Complex to The Diet of Lactating Dairy Cows on Whole Tract Digestion of Nutrients And Productive Performance. *Animal Feed Science and Technology* 157:64–71.
- SAS, 1997. User's Guide: Statistics, Version 7.0 Edition. SAS Inst., Inc., Cary, N. C.
- SHEFER, A. SHEFER, S.,2003. Hydrophobic nanospheres encapsulated in pH- or moisture-sensitive microspheres can improve shelf life of foods and beverages and prolong the sensation of flavors in the mouth during consumption. *FoodTechnology* Vol.57, No.11.
- SIKKEMA, J.,DE BONT, J.A. AND POOLMAN, B. 1994. Interaction of cyclic hydrocarbons with biological membranes.*Journal of Biological Chemistry* ,269(11),pp. 8022-8028.
- SOLTAN, M. A. E. SHEWITA, R. S., AL-SULTAN, S. I., 2009. Influence of Essential Oils Supplementation on Digestion, Rumen Fermentation, Rumen Microbial Populations and Productive Performance of Dairy Cows. *Asian Jurnal of Anim. Sci.* 3: 1-12.
- SPANGHERO, M., ZANFI, C., FABBRO, E., SCICUTELLA, N., CAMELLINI, C., 2008. Effects of a Blend of Essential Oils on Some End Products of *In vitro* Rumen Fermentation. *Animal Feed Science and Tech.*, 145: 364-374.
- TAGHAVI, M., AIPOUR, D., KHODAKARAMIAN, G.,ZAMANI, P., 2010.The Effects of Essential Oil from *Zataria multiflora* on Amino Acid Fermenting Bacteria Isolated from Mehraban Sheep Rumen. *Gut Microbiology: New Insights into Gut Microbial Ecosystem International Congress*, 22-25 June 2010, Aberdeen,UK.

- TASSOUL, M. D., SHAVER, R. D., 2009. Effect of a Mixture of Supplemental Dietary Plant Essential Oils on Performance of Periparturient and Early Lactation Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 92: 1734-1740.
- TEFEREDEGNE, B., F. McINTOSH, P. O. OSUJI, A. ODENYO, R. J. WALLACE, and C. J. NEWBOLD. 1999. Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, *Sesbania sesban*, on ruminal protozoa in Ethiopian and Scottish sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 78:11–20.
- ULTEE, A., KETS, E. P. W., SMID, E. J., 1999. Mechanisms of Action of Carvocrol on the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environmental Micro.*, 65: 4606-4610.
- VANSOEST, P. J., ROBERTSON, J. B., LEWIS, B. A., 1991. Method for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74: 3583-3597.
- VASTA, V., DAVID, R., MELE, M., SERRA, A., LUCIANO, G., LANZA, M., BIONDI, L., PRIOLO, A. 2010. Bacterial and Protozoal Communities and Fatty Acid Profile in The Rumen of Sheep Fed a Diet Containing Added Tannins. *Applied and environmental Microbiology*, Apr. 2010, p. 2549-2555.
- VOGT, T., 2010. Phenylpropanoid Biosynthesis. *Molecular Plant* Volume 3 Number 1 Pages 2–20 • January.
- VOKOU, D., KOKKINI, S. and BESSIÈRE J. M., 1993. Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare ssp hirtum*) essential oils *Biochemical Systematics and Ecology* 21:287-295.
- WALLACE, R.J, HORGAN, G., MUETZEL, S., CROSLY, K., PAILLARD, D., GIVES, I., SHINGFIELD, K., 2010. Correlation of Rumen Microbial Community Structure with Milk Fatty Acid Composition. *Gut Microbiology: New Insights into Gut Microbial Ecosystem International Congress*, 22-25 June 2010, Aberdeen, UK.
- WALLACE, R.J., 2004 Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proc. Nutr. Soc.* 63,621-629.

- WALLACE, R.J., McEWAN, N.R., McINTOSH, F.M., TEFEREDEGNE, B., NEWBOLD, C.J., 2002. Natural Products as Manipulators of Rumen Fermentation Asian-Austr. J.Anim.Sci. 10, 1458-1468.
- WALLACE, R.J., ARTHAUD, L. and NEWBOLD, C.J. (1994) Influence of Yucca schidigera extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Applied and Environmental Microbiology 60, 1762–1767.
- WENDA KOON, C.N. and SAKAGUCHI, M. 1995. Inhibition of amino- acid decarboxylase activity of Enterobacter- aerogenes by active components in spices, Journal of Food Protection, 58(3):280-283
- YANG, W. Z. AMETAJ, B. N. BENCHAAR, C., HE, M. L. AND BEAUCHEMIN, K. A. 2010. Cinnamaldehyde in Feedlot Cattle Diets: Intake, Growth Performance, Carcass Characteristics, and Blood Metabolites. J. Anim. Sci. 2010. 88:1082–1092.

ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Tufanbeyli' de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Adana'da tamamladı. 1998 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü' nde başladığı lisans öğrenimini 2002 yılında tamamladı ve Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. 2005 yılında yüksek lisans öğrenimini tamamladı ve aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalında doktora öğrenimine başladı. Evli ve bir çocuk annesidir.