



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

**KEKİK YAĞININ BAZI YEMLERİN İN VİTRO GAZ ÜRETİMİ, METABOLİK
ENERJİ VE İN VİTRO ORGANİK MADDE SİNDİRİM DERESESİNE ETKİSİ**

İBRAHİM TEMİZKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAHRAMANMARAŞ
EYLÜL-2010**

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOOTEKNİ ANABİLİM DALI

**KEKİK YAĞININ BAZI YEMLERİN İN VİTRO GAZ ÜRETİMİ, METABOLİK ENERJİ
VE İN VİTRO ORGANİK MADDE SİNDİRİM DERECESESİNE ETKİSİ**

İBRAHİM TEMİZKAN

YÜKSEK LİSANS

Kod No :

**Bu Tez 02/09/2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.**

Doç. Dr. Adem KAMALAK Doç. Dr. H.Murat BÜYÜKÇAPAR Yrd. Doç. Dr. Süleyman ÇALIŞLAR

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

**Prof Dr. Süleyman TOLUN
Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No:2010/5-4 YLS**

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

İÇİNDEKİLER		SAYFA
İÇİNDEKİLER.....		I
ÖZET.....		II
ABSTRACT.....		IV
ÖNSÖZ.....		VI
ÇİZELGELER DİZİNİ.....		VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....		VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....		IX
1. GİRİŞ.....		1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....		3
3. MATERYAL VE METOT.....		8
3.1. Kuru Madde Analizi.....		9
3.2. Ham Kül ve Organik Madde Analizi.....		9
3.3. Ham Protein Analizi.....		9
3.4. Ham Yağ Analizi.....		10
3.5. Asit Deterjan Fibre.....		12
3.6. Nötral Deterjan Fibre		12
3.7. Menke Gaz Üretim Tekniği.....		13
3.8. Metabolik Enerji		11
3.9. Organik Madde Sindirim Derecesi.....		12
3.10. Uçucu Yağ Asit Analizi.....		13
3.11. İstatistiksel Analiz		13
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....		15
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....		24
KAYNAKLAR.....		25
ÖZGEÇMİŞ.....		27

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZET

KEKİK YAĞININ BAZI YEMLERİN İN VİTRO GAZ ÜRETİMİ, METABOLİK ENERJİ VE İN VİTRO ORGANİK MADDE SİNDİRİM DERECESESİNE ETKİSİ

İbrahim TEMİZKAN

DANIŞMAN : Doç. Dr. Adem KAMALAK

Yıl : 2010 Sayfa : 29

Jüri : Doç. Dr. Adem KAMALAK
: Doç. Dr. Hakan Murat BÜYÜKÇAPAR
: Yrd. Doç. Dr. Süleyman ÇALIŞLAR

Bu çalışmada, amacı kekik (*Origanum vulgare*) yağının in vitro gaz üretimine, metabolik enerji içeriğine, organik madde sindirim derecesine, uçucu yağ asit üretimine etkisi araştırılmıştır. Bu denemede, iki adet kaba yem (yonca otu ve mısır silajı) ve bir adet dane yem (arpa danesi) rumen sıvısıyla inkübasyona tabi tutulmuştur. Gaz ölçümleri, fermentasyonun başlamasından sonra 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde kekik yağının varlığında (500, 1000 ve 2000 mg/L) ve yokluğunda yapılmıştır. Elde edilen gaz ölçümleri $y = a+b(1-\exp^{-ct})$ üssel fonksiyonu kullanılarak yorumlanmıştır.

Kekik yağının eklenmesi, yonca otu, mısır silajı ve arpa danesinin gaz üretim parametrelerine, metabolik enerji, organik madde sindirim derecesine ve uçucu yağ asidi üretimini önemli derecede etkilemiştir. 1 mg/L kekik yağının ilavesi metabolik enerji, organik madde sindirim derecesi ve uçucu yağ asidi üretiminde sırasıyla 0.003, 0.0177 ve 0.0259 birimlik azalmalar meydana getirmiştir.

Bu çalışmada, kekik yağının anti mikrobiyal aktiveye sahip olduğu ve in vitro koşullarda fermentasyon işlemlerini engellediği görülmüştür. Kekik yağı, yemlerin fermentasyonu sonucu açığa çıkan gaz üretimini, metabolik enerji, in vitro organik sindirim derecesini ve uçucu yağ asit üretimini önemli derecede azaltmaktadır. Bundan dolayı, kekik yağının in vivo koşullarda test edilerek, hayvanların yem tüketimine, yemlerin sindirim derecesine ve performansına etkisinin test edilmesi yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Kekik yağı, Gaz üretimi, Metabolik enerji, Organik madde sindirim derecesi, Uçucu yağ asidi

**UNIVERSITY OF KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM
INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES IN SCIENCE AND ENGINEERING
DEPARTMENT OF ANIMAL SCIENCE**

MSc THESIS

ABSTRACT

**THE EFFECT OF ORIGANIUM OIL ON IN VITRO GAS PRODUCTION,
METABOLISABLE ENERGY, ORGANIC MATTER DIGESTIBILITY OF SOME
FEEDSTUFFS**

SUPERVISOR : Associate Prof. Dr. Adem KAMALAK

Year : 2010 Pages : 29

**Jury : Assoc. Prof. Dr. Adem KAMALAK
: Assoc. Prof. Dr. Hakan Murat BUYUKÇAPAR
: Asst. Prof. Dr Süleyman ÇALIŞLAR**

The aim of this project was to investigate the effect of essential oil of oregano (*Origanum vulgare*) on in vitro gas production, metabolisable energy (ME), organic matter digestibility (OMD) and volatile fatty acid (VFA) production. In the current experiment two forages (alfalfa hay and maize silage) and a concentrate (barley grain) were incubated with medium containing rumen fluid. Gas productions were determined at 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 and 96 h incubation times in the presence (500, 1000 and 2000 mg/L) and in the absence of oregano oil, and their kinetics were described using the equation $y = a + b(1 - e^{-ct})$.

The oregano oil addition had a significant effect on the gas production kinetics, ME, OMD and VFA production of alfalfa hay, maize silage and barley grain. The mean decreases in ME and OMD per mg oregano oil supplementation were 0.003 (ME unit) 0.0177 (digestibility unit) and 0.0259 (mmol/L unit) respectively.

As a conclusion, oregano oil exhibit significant anti-microbial activity causing an inhibition of the overall fermentation process. Therefore, before large scale implementation, further investigations are required to determine the effect of oregano oil on voluntary food intake, animal performance in vivo.

Key Words: Oregano oil, Gas production, Metabolisable energy, Organic matter digestibility, Volatile fatty acids

ÖNSÖZ

Öncelikle Yüksek Lisans çalışmasının yapılması ve yazılması aşamasında bana değerli görüşleri ile yardımcı olan sayın hocam Doç. Dr. Adem Kamalak'a sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca, laboratuvar analizleri sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Önder Canbolat ve A. İhsan Atalay'a da çok teşekkür ediyorum.

İbrahim TEMİZKAN

Eylül 2010
KAHRAMANMARAŞ

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 4.1. Kaba ve kesif yemlerin kimyasal kompozisyonu	15
Çizelge 4.2. Yem ve İnokolum çeşidinin <i>in vitro</i> gaz üretimine etkisi	17
Çizelge 4.3. Yem ve İnokolum çeşidinin <i>in vitro</i> gaz üretim parametrelerine etkisi	18
Çizelge 4.4. Yem ve kekik yağının uçucu yağ asit üretimine etkisi	21

ŞEKİLLER DİZİN

	SAYFA
Şekil 2.1. Esansiyel yağda bulunan aktif bileşiklerin sentezlenmesi	4
Şekil 2.2. Esansiyel yağ içerisinde bulunan aktif bileşiklerin kimyasal yapıları	5
Şekil 4.1. Kekik yağının yonca otunun rumen sıvısıyla fermentasyona tabi tutulması sonucu açığa çıkan zamana bağlı gaz değerlerine etkisi	16
Şekil 4.2. Kekik yağının mısır silajının rumen sıvısıyla fermentasyona tabi tutulması sonucu açığa çıkan zamana bağlı gaz değerlerine etkisi	16
Şekil 4.3. Kekik yağının dane arpanın rumen sıvısıyla fermantasyonu sonucu açığa çıkan zamana bağlı gaz değerlerine etkisi	17
Şekil 4.4. Kekik yağının kullanım dozu ile gaz üretim hızı arasındaki ilişki	19
Şekil 4.5. Kekik yağının kullanım dozu ile yavaş fermente olan kısımdan üretilen gaz arasındaki ilişki	20
Şekil 4.6. Kekik yağının kullanım dozu ile organik madde sindirim derecesi arasındaki ilişki	20
Şekil 4.7. Kekik yağının kullanım dozu ile organik madde sindirim derecesi arasındaki ilişki	21
Şekil 4.8. Kekik yağının kullanım dozu ile toplam uçucu yağ üretimi arasındaki ilişki	22

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADF : Asit Deterjan Fiber
GP : 24 Saatlik Gaz Üretimi (ml)
HK : Ham Kül
HP : Ham Protein
HY : Ham Yağ
HZ : Hasat Zamanı
KM : Kuru Madde
ME : Metabolik Enerji
NDF : Nötral Deterjan Fiber
ÖS : Önem seviyesi
OM : Organik Madde
OMSD :Organik Madde Sindirim Derecesi
P : Parametreler (Tahmin Edilen)
SHO : Standart Hata Ortalaması
YO : Yonca Otu
DA : Dane Arpa
ADL: Asit Deterjan Fibre

1. GİRİŞ

Avrupa Birliği, antibiyotiklerin kullanımını, patojen mikro-organizmaların antibiyotiklere karşı direnç kazanması, hayvansal ürünlerde kalıntı bırakmasından dolayı yasaklamıştır. Bu yasaklamadan sonra rumen mikrobiyal fermentasyonu (modifiye) değiştirmek için çeşitli bitkilerden ekstrakte edilen alternatif doğal esansiyel yağlar veya bunların aktif unsurları antibiyotiklerin yerine kullanılmaya başlanmıştır (McIntosh ve ark. 2003, Wallace ve ark. 2003, Newbold ve ark. 2004, Castillejos ve ark. 2006, 2008; Benchaar ve ark. 2006, Garcia ve ark. 2007).

Rumen fermentasyonun manipüle etmek için kullanılan çok çeşitli bitkisel kökenli esansiyel yağlar bulunmaktadır. Bu esansiyel yağlardan birisi de kekik yağıdır. Kekik yağı ile ilgili çalışmalar olmasına rağmen daha önceki çalışmalar sınırlı sayıda olup yemlerin metabolik enerji içeriklerine olan etkisi fazla incelenmemiştir. Bu esansiyel yağlar, destilasyon, presleme, ekstraksiyon, çözücü ile ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmektedir (Şengezer ve Güngör, 2008). Son zamanlarda bu bağlamda birçok çalışma yapılmış olup bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

On değişik esansiyel yağ (5, 50, 500 mg/l) kullanılarak yapılan in vitro çalışmada, Lavender esansiyel yağı rumen fermentasyonu üzerinde etkisi bulunmamıştır. Lavandin ve oregano yağı (500mg/l) rumen fermentasyonunu inhibe ederek uçucu yağ asidi sentezini azaltmıştır. Oregano yağının düşük dozları uçucu yağ asidi sentezini %39–56 oranında azaltmıştır. Thyme ve Savory yağı ise uçucu yağ asidi sentezini artırmasına rağmen amonyak oluşumunu azaltmıştır (Castillejos ve ark. 2008).

Farklı bitkilerden ekstrakte edilen esansiyel yağlar veya bunların aktif unsurları kullanılarak yapılan çalışmada sadece carvacrol, thymol ve eugenolinin rumen fermentasyonuna etkisi olduğu bulunmuştur. Carvacrol (400mg/l) ve Euganol (800 mg/l) pH ve butirik asit üretimini artırmış fakat propiyonik asit, kuru madde ve NDF sindirim derecesini azaltmıştır. Bu çalışmada test edilen hiçbir ürün amonyak üretimini etkilememiştir (Benchaar ve ark. 2007).

Bozkurt (2005) çörek otu, kekik yağı ve propolis kullanarak yapmış olduğu çalışmada, çörek otu yağının buğday samanının 24 saatlik kuru madde, organik madde ve NDF derecesini artırdığı 48 saatlik inkubasyon sonunda ise azalttığı görülmüştür. Propolis buğday samanının 48 ve 72 saatlik kuru madde, organik madde ve NDF sindirim derecesini azaltmıştır. Deneme sonucunda, in vitro gerçek besin madde sindirilebilirliğine etkileri bakımından genel bir değerlendirme yapıldığında, çörek otunun kekik yağı ve propolisten daha iyi sonuçlar verdiği, kekik yağının ise besin madde sindirilebilirlikleri özellikle de NDF sindirilebilirliğini önemi düzeyde düşürdüğü bildirilmiştir.

Oregano, cinnamon, thyme ve portakal kabuğu yağının karışımından elde edilen esansiyel yağ karışımları (0, 160, 320, 480 ve 640 mg/ml) in vitro denemede kullanılmıştır. Karışım uçucu yağ üretimini azaltmış fakat pH yükseltmiştir (Spanghero ve ark. 2008).

On iki bitki ekstraktı ve altı sekonder metabolit 3, 30, 300, 3.000 mg/L dozlarında kullanılan bir çalışmada, bitki ekstraktı ve altı sekonder metabolitlerin çoğunluğu 3.000 mg/L dozda uçucu yağ asit sentezini azaltmıştır. Sarımsak yağı ve benzyl salicylate ((300 ve 3000 mg/l) asetik asit içeriğini azaltmış fakat propionik ve butirik asit sentezini artırmıştır. Capsicum yağı, carvacrol, carvone, cinnamaldehyde, cinnamon yağı, karanfil yağı, eugenol, çemen ve oregano yağı, amonyak içeriğini % 30–50 azaltmıştır (Busquet ve ark. 2006).

Thymol'ün izomeri olan carvacrolun 250 ve 500 mg/L dozlarında kullanılması, gaz üretimini, in vitro kuru madde, ham protein ve NDF sindirim derecesini düşürmüştür. Ayrıca carvacrol uçucu yağ asidi sentezini azaltmıştır (Garcia ve ark. 2007).

Bu çalışma, kekik yağının bazı yemlerin in vitro gaz üretimi, metabolik enerji, in vitro organik madde sindirim derecesine ve uçucu yağ asit üretimine etkisini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

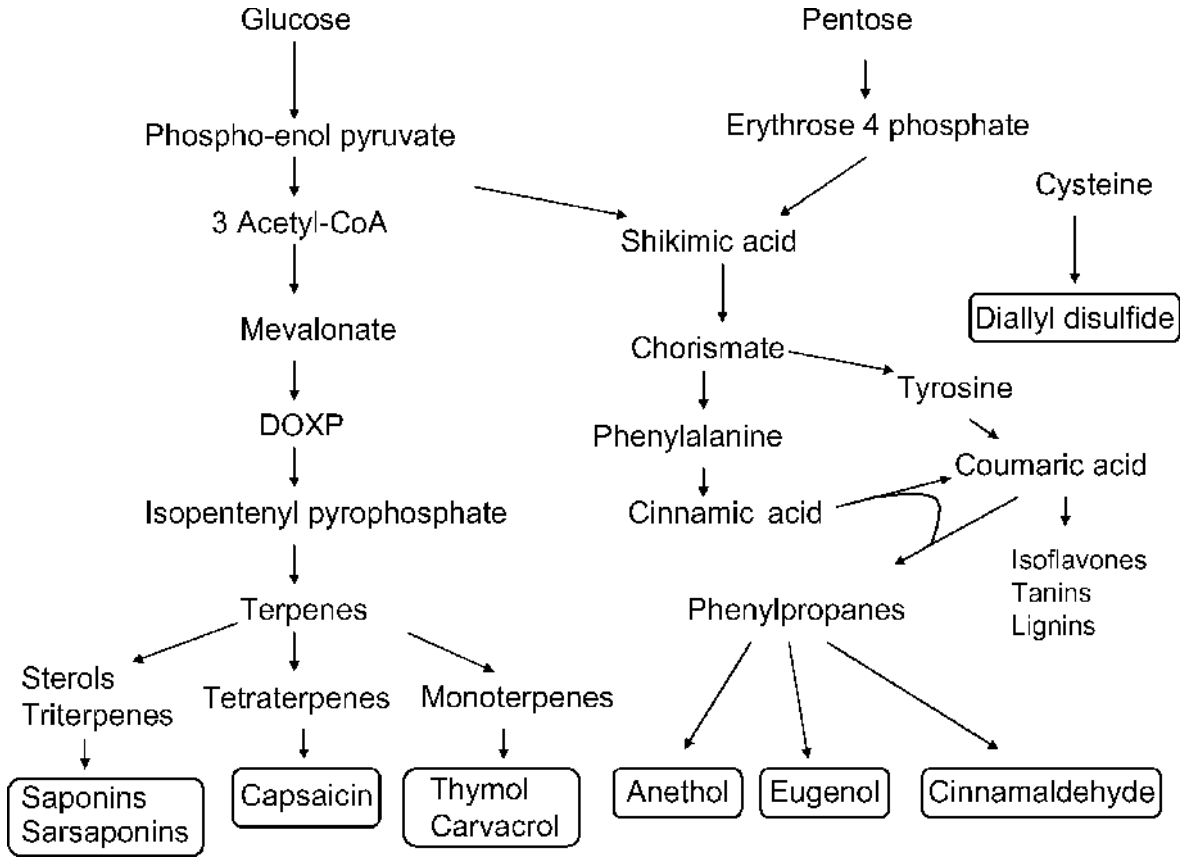
Kekik (*Origanum vulgare*) yağı içerisinde bulunan en önemli aktif maddeler carvacrol ve thymol olup gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahiptir (Sivropoulou ve ark. 1996, Dorman ve Deans, 2000).

Esansiyel yağların anti-bakteriyel etkisini açıklamak için geliştirilmiş birkaç teori bulunmakla birlikte genel olarak terpenoidler ve phenylpropanoidler etkilerini bakterilerin hücre zarında bulunan yağlar vasıtasıyla yaparlar. Esansiyel yağların hidrofobik ve lipofilik özelliğinden dolayı, bakteri hücre duvarıyla çok hızlı bir etkileşime girerek, hücre zarının yapısının bozulmasına ve hücre içerisinde cereyan eden elektron transportu, iyon gradienti, proteinlerin translokasyonu, fosforilasyon ve enzime bağlı birçok reaksiyonların oluşumu gibi hayati faaliyetler engellemektedirler (Ultee ve ark. 1999, Dorman ve Deans, 2000).

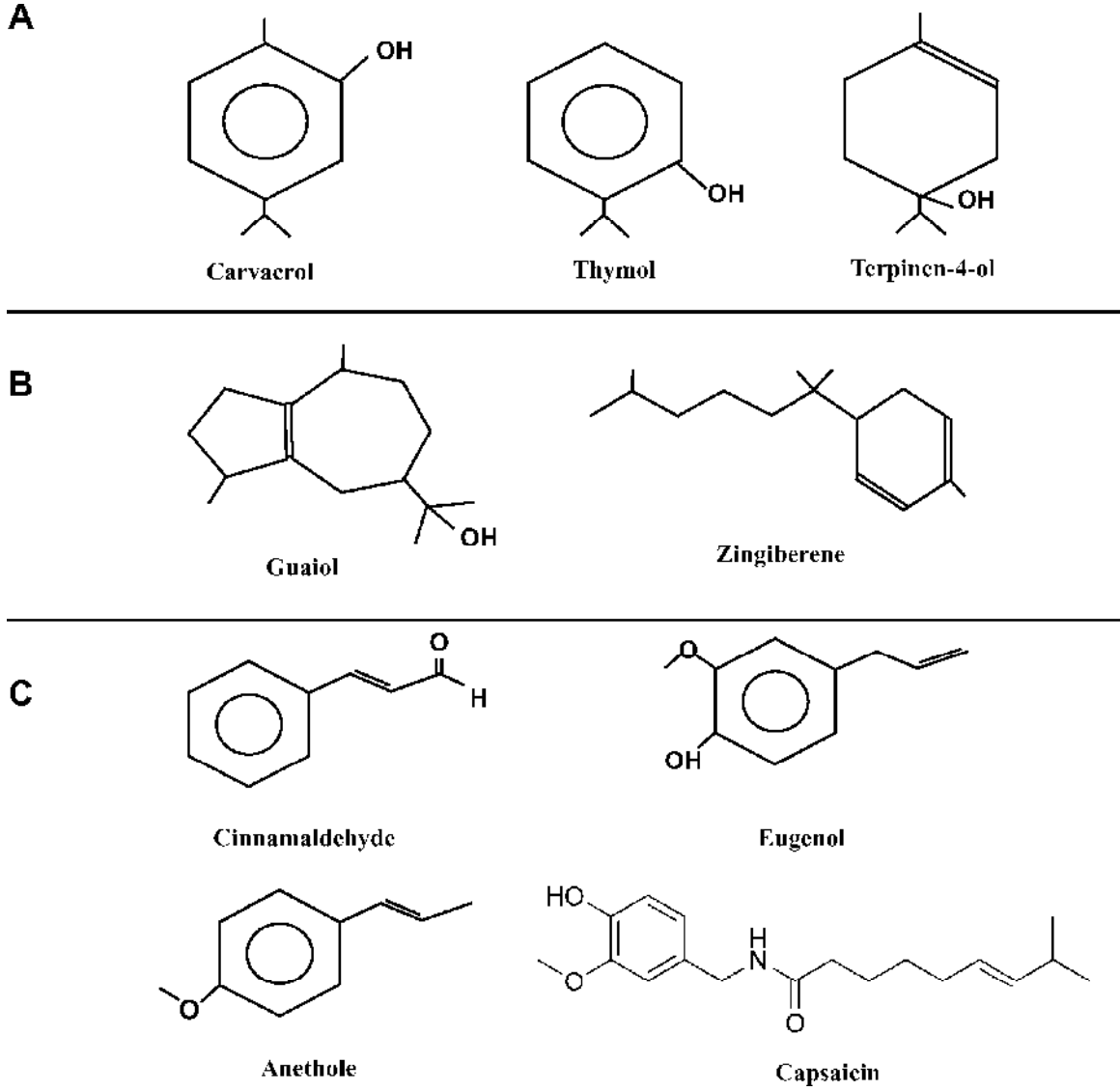
Castillejos ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada, thymol, limonene ve guaiacol karışımından oluşan esansiyel yağın (BEO, CrinaR), diğer fermantasyon parametrelerini etkilemeden uçucu yağ asidi üretimini artırdığını bildirilmişlerdir. Araştırmacılar, azot metabolizmasına etkisi ve uygun dozun belirlenmesi için daha fazla çalışmalara ihtiyaç olduğunu da belirtmişlerdir.

Bozkurt (2005) çörek otu, kekik yağı ve propolis kullanarak yapmış olduğu çalışmada, çörek otu yağının buğday samanının 24 saatlik kuru madde, organik madde ve NDF derecesini artırdığı, 48 saatlik inkubasyon sonunda ise azalttığı görülmüştür. Propolis buğday samanının 48 ve 72 saatlik kuru madde, organik madde ve NDF sindirim derecesini azaltmıştır. Deneme sonucunda, in vitro gerçek besin madde sindirilebilirliğine etkileri bakımından genel bir değerlendirme yapıldığında, çörek otunun kekik yağı ve propolisten daha iyi sonuçlar verdiği, kekik yağının ise besin madde sindirilebilirlikleri özellikle de NDF sindirilebilirliğini önemi düzeyde düşürdüğü bildirilmiştir.

Buharlı distilasyon yöntemiyle elde edilen esansiyel yağlar ikincil metabolitlerden meydana gelen karışımlardan oluşmaktadır. Şekil 1'den de görüldüğü gibi genel olarak esansiyel yağları iki grup altında sınıflandırmak mümkündür. Birinci grubu terpenoidler, ikinci grubu ise phenylpropanoidler oluşturmaktadırlar. Birinci grubun en önemli üyeleri, saponinler, capsaicin, thymol ve carvacroldur. İkinci grubun en önemli üyesi ise, anethol, eugenol, cinnamaldehydir (Calsamiglia ve ark. 2007).



Şekil 1. Esansiyel yağda bulunan aktif bileşiklerin sentezlenmesi(Calsamiglia ve ark. 2006)



Şekil 2. Esansiyel yağ içerisinde bulunan aktif bileşiklerin kimyasal yapıları (Calsamiglia ve ark. 2006)

On iki bitki ekstraktı ve altı ikincil metabolit 3, 30, 300, 3.000 mg/L dozlarında kullanılmıştır. Bitki ekstraktı ve altı ikincil metabolitlerin çoğunluğu 3.000 mg/L dozda uçucu yağ asidi sentezini azaltmıştır. Sarımsak yağı ve benzyl salicylate ((300 ve 3000 mg/L) asetik asit içeriğini azaltmış fakat propiyonik ve butirik asit sentezini artırmıştır. Biber yağı, carvacrol, carvone, cinnamaldehyde, tarçın yağı, karanfil yağı, eugenol, çemen ve kekik yağı amonyak içeriğini % 30–50 azaltmıştır (Busquet ve ark. 2006).

Benchaar ve ark. (2007) yonca ve mısır silajıyla beslenen süt ineklerine, içerisinde thymol, eugenol, vanilin, guaiacol ve limonene içeren esansiyel yağ karışımı günde 750 mg olarak vermiş fakat bu esansiyel yağ karışımı sindirim, rumen fermentasyonu, rumen mikro-organizma, süt verimine ve süt kompozisyonu çok az etki ettiğini bildirmişlerdir.

Farklı bitkilerden ekstrakte edilen esansiyel yağlar veya bunların aktif unsurları kullanılarak yapılan çalışmada sadece carvacrol, thymol ve eugenolin rumen

fermantasyonuna etkisi olduğu bulunmuştur. Carvacrol (400mg/l) ve Eugenol (800 mg/l) pH ve butirik asit üretimini artırmış fakat propiyonik asit, kuru madde ve NDF sindirim derecesini azaltmıştır. Bu çalışmada test edilen hiçbir ürün amonyak üretimini etkilememiştir (Benchaar ve ark. 2007).

Thymol'ün izomeri olan carvacrolun 250 ve 500 mg/l dozlarında kullanılması, gaz üretimini, in vitro kuru madde, ham protein ve NDF sindirim derecesini düşürmüştür.

Fraser ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, tarçın ağacının yaprağından elde edilen esansiyel yağ (500mg/L), 24 saatlik gaz, propiyonik asit ve metan üretimini azalttığını, butirik asit üretimini ise arttırdığını bildirmişlerdir.

Ayrıca carvacrol uçucu yağ asidi sentezini azaltmıştır (Garcia ve ark. 2007).

On değişik esansiyel yağ (5, 50, 500 mg/l) kullanılarak yapılan in vitro çalışmada Lavender esansiyel yağı rumen fermantasyonu üzerinde etkisi bulunmamıştır. Lavandin ve kekik yağı (500mg/l) rumen fermantasyonunu inhibe ederek uçucu yağ asidi sentezini azaltmıştır. Kekik yağının düşük dozları uçucu yağ asidi sentezini %39–56 oranında azaltmıştır. Thyme ve Savory yağı ise uçucu yağ asidi sentezini artırmasına rağmen amonyak oluşumunu azaltmıştır (Castillejos ve ark. 2008).

Oregano, cinnamon, thyme ve portakal kabuğu yağının karışımından elde edilen esansiyel yağ karışımları (0, 160, 320, 480 ve 640 mg/ml) in vitro denemede kullanılmıştır. Karışım uçucu yağ üretimini azaltmış fakat pH yükseltmiştir (Spanghero ve ark. 2008).

Machebouef ve ark. (2008) sekiz değişik esansiyel yağ ile yaptığı çalışmada, esansiyel yağların rumen fermantasyonu manipüle etmek ve proteinlerin rumende parçalanmasını azaltmak için enerji metabolizmasını etkilemeden kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Esansiyel yağların yararlı ve engelleyici dozu arasında çok ince bir çizgi olduğu vurgulanmıştır. Deaminasyonu azaltmak için aktif dozun, carvone bazlı esansiyel yağlar için 2.5 mM, cinnamaldehyde bazlı için 2 mM, thymol/carvacrol bazlı esansiyel yağlar için 1 mM olduğu bildirilmiştir.

Garcia ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada, 158 çeşit tıbbi bitkilerle yaptığı çalışmada, üç tıbbi bitki (ışık kökü, barut ağacının yongası ve kuru sarımsak) haricinde ruminal fermantasyonunda dikkate alınabilecek değişiklikler olmadığını bildirmişlerdir. Barut ağacının yongası ve kuru sarımsağın metan üretimini önemli derecede, uçucu yağ asitlerin yüzde oranını ve asetik asit: propiyonik asit oranını azalttığını bildirmişlerdir.

Fandino ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, yüksek miktarda kesif yemle beslenen düvelerde monensine alternatif olarak anise ve capsicum kullanmıştır. Capsicum yem tüketimini artırmış bununla birlikte asetat üretimini azaltmış, butirik asit sentezini artırmıştır. Anise ise asetat üretimini azaltmış, propiyonik asit üretimini artırmıştır. Butirik asit üretimini etkilememiştir. Sonuç olarak anise ve capsicum rumen fermantasyonu manipüle etmek için kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Fakat ekonomik olup olmadığı test edilmesi gerektiği de bildirilmiştir.

Bodas ve ark. (2008) 450 bitkiyle yaptıkları çalışmada sadece, *Cardunus pycnocephalus*, *Populus tremula*, *Prunus avium*, *Quercus robur*, *Rheum nobile* ve *Salix caprea* bitkilerinin metan üretimini azaltma potansiyeline sahip olduğu bildirmişlerdir.

Molero ve ark. (2008) thymol, limonene ve guaiacol karışımından oluşan esansiyel yağ (BEO, CrinaR) kullanarak yaptıkları çalışmada, 28 günlük adaptasyon periyodu sonunda, soya ve ayçiçeği küspesinde bulunan proteinlerin parçalanmasının azalttığını bildirmişlerdir. En uygun kullanım dozunun belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır.

Chaves ve ark. (2008)'nin carvacrol ve cinnamaldehyde kullanarak kuzularla yaptıkları çalışmada, rumende sentezlenen uçucu yağ asidi üretim miktarında orta derecede bir artış olmasına rağmen kuzuların performansında ve yem dönüşüm oranında iyileşme görülmediği belirtmişlerdir.

Agarwal ve ark. (2009) mandalardan elde edilen rumen sıvısıyla yaptıkları in vitro çalışmada, nandeden elde edilen esansiyel yağın metan üretimini önemli derecede azalttığı ve anti-protozoal aktive gösterdiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Yem Materyali

Bu çalışmada kullanılan yem materyali, hayvan beslemede yoğun olarak kullanılan iki çeşit yem grubundan oluşmuştur. Birinci grupta yonca kuru otu ve mısır silajı gibi kaba yemler yer almıştır. İkinci grupta ise sadece dane arpa danesi kesif yemlere örnek olarak yer almıştır. Her iki gruptaki yemler 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülerek kimyasal analizler ve *in vitro* fermentasyon için hazır hale getirilmiştir.

3.1. Kuru Madde Analizi

Plastik bidonlardan alınan yaklaşık 15–20 gr yem örnekleri darası alınmış alüminyum kaplar içerisine konarak 65°C’ de 5 gün süreyle kurutulmuştur. Kurutma işleminin sonunda yem materyali içeren kabın tartımı yapılmıştır. Yemlerin kuru madde içeriği aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 1990).

$$\%KM = 100 - \%Nem$$

$$\%Nem = ((A_1 - D) - (A_2 - D)) / A * 100$$

KM: Kuru madde %,

A1: Yem + kabın darası, gram

D: Kabın darası, gram

A: Yem + kabın darası, gram

A2: Kuru madde + kabın darası

Kurutma işleminden sonra yem örnekleri 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülerek, ham kül, ham protein, nötral deterjan fiber, asit deterjan fiber, *in vitro* gaz üretimi ve ham yağ analizleri için nem almayacak şekilde naylon torba içerisinde muhafaza edilmiştir.

3.2. Ham Kül ve Organik Madde

Porselen krozeler boş olarak ham kül fırınında 550 °C’de 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra desikatöre alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Hassas terazide darası alınarak (D) içerisine 1 g yem (A) materyali tartılmıştır (A₁). İçerisinde yem örnekleri bulunan krozeler ham kül fırınına yerleştirilerek 550° C 'lik fırında 8 saat yakılmıştır. Fırın belli sıcaklığa kadar soğutulduktan sonra desikatöre alınan krozeler oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve hassas terazide tartımı yapılmıştır (A₂). Gerekli hesaplamalar yapıldıktan sonra yem materyalinin yüzde ham kül ve yüzde organik madde içeriği bulunmuştur (AOAC, 1990).

$$\% HK = ((A_1 - D) - (A_2 - D)) / A * 100$$

$$\% OM = 100 - \% HK$$

3.3. Ham Protein

Kjeldahl yöntemine göre; yem örnekleri derişik sülfürik asit (H_2SO_4) ile yakılarak içindeki azot (N) önce amonyum sülfata sonrada amonyağa dönüştürülerek titrasyonla amonyaktaki azot miktarına karşılık gelen ham protein miktarı hesaplanmıştır.

Kullanılan Kimyasallar

1. %98lik azot içermeyen H_2SO_4
2. %40 lık azot içermeyen NaOH
3. %2-4 lük H_3BO_3 (borik asit)
4. Katalizör tablet (3.5 g K_2SO_4 , 0.0035 g Se)
5. İndikatör (Methyl red, Bromocresol green)
6. 0,1 N HCL

Ham protein analizi 3 bölümden oluşmaktadır. Bunlar;

I. Yaş yakma

II. Destilasyon

III. Titrasyon

I. Yaş Yakma

1 gr yem materyali tartılarak kjeldahl tüpüne konduktan sonra tüpe 2 adet katalizör tablet ve 15 ml H_2SO_4 eklenmiştir. Tüplerden bir tanesine ise sadece numune koymadan gerekli kimyasallar konularak kör deneme yapılmıştır. Kjeldahl tüpleri $200^\circ C$ 'de 45 dakika ön ısıtmaya tabi tutulduktan sonra $400^\circ C$ de 60 dakika yakma işlemi yapılmıştır.

II. Destilasyon

Öncelikle erlenmayerlere 25 ml %4' lük borik asit ve kjeldahl tüplerine ise 50 ml saf su konulmuştur. Destilasyon ünitesinin gerekli kimyasalları ve saf suyu kontrol edildikten sonra kjeldahl tüpüne 8 saniye %40 NaOH gelecek şekilde ve destilasyon ünitesi 350 saniye olarak ayarladıktan sonra destilasyon ünitesi çalıştırılmıştır. Öncelikle ünitedeki hortumların gerekli kimyasallarla doldurmak için üniteye boş Kjeldahl tüpü ve erlenmayer konularak düzenek bir sefer boş olarak çalıştırılmıştır. Daha sonra yaş yakma yaptığımız tüpler önce kör denemeden başlayarak tek tek destilasyona tabi tutulmuştur. Tüp içerisindeki sıvı lavaboya boşaltılmış, erlenmayerler ise titrasyon işlemine tabi tutulmuştur.

III. Titrasyon

Destilasyon ünitesinden alınan erlenmayerler otomatik bürette 0.1 N HCL ile açık pembe renk alıncaya kadar reaksiyona tabi tutulmuştur. Kullanılan HCL miktarı okunarak kaydedilmiştir.

Gerekli rakamlar (HCl miktarı ve kör deme miktarı) protein analiz formülünde uygun yere yazılarak numunedeki yüzde protein oranı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Protein} = (K) * (V) * (N) * (fHCL) * (100) / (M) * (1000) * (fp)$$

K: 14,007 (Azotun atom ağırlığı)

V: Kullanılan HCl (ml)

N: HCl'nin normalitesi (0,1)

HCL: 0,1 N HCl'nin faktörü

fp: Proteine çevirme faktörü (6.25)

M: Tartılan yem miktarı, gram

3.4. Ham Yağ

Soxhlet ekstraktör yöntemine göre; yem örneklerinden 2 g (A) hassas terazi de tartıldıktan sonra Soxhlet kartuşu içine konmuş ve kartuşun ağzı ekstarksiyon kısmında numune dışarı çıkmayacak şekilde pamukla sıkıştırılmıştır. Daha sonra kartuşlar ve yağ balonları 95 °C 'de 2 saat kurutma dolabına bırakılmıştır. Kurutma dolabından alınan materyaller desikatörde soğutulduktan sonra balonların hassas terazi de daraları alınıp (D), balonlara Soxhlet aletinin ekstarksiyon kısmı yerleştirilmiştir. Kartuşlar ise Soxhlet ekstarksiyon kısmına konduktan sonra ekstarksiyon kısmına bir tam birde yarım sifon olacak şekilde eter konmuştur. Bu düzenek Soxhlet aletine yerleştirilip, soğutma ve ısıtma düzeni ayarlanarak (60°C) düzenek çalıştırılmıştır. 4 saat sonunda ekstarksiyon kısmındaki eter bir kaba alınarak yağ ile eter birbirinden ayrılmıştır. İçerisinde yağ bulunan balonlar 95 °C deki kurutma dolabında 1 saat bekletildikten sonra desikatöre alınarak soğutulmuştur. Daha sonra desikatörden alınarak hassas terazi de tartımı yapılmış (A₁) sonuçların gerekli hesaplamaları yapıldıktan sonra yem materyalinin yüzde ham yağ içeriği bulunmuştur (AOAC, 1990).

$$\% \text{ HY} = (A_1 - D) / A * 100$$

3.5. Asit Deterjan Fiber (ADF)

20 g ctrimethylammonium bromide (C₁₂H₄₂BrN) 1 litre 1 N H₂SO₄ içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden 100 ml alınarak içerisinde yaklaşık 1 g (A) örnek bulunan beher içersine boşaltılmıştır. Daha sonra kaynama işlemi için buharlaşmayı engelleyecek şekilde ısıtma düzeneğine yerleştirilerek 1 saat kaynatılmıştır. Kaynama işlemi bittikten sonra 3 bor'lu (gözenek çapı) cam krozede süzülerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Krozeler kurutma dolabında 10-12 saat süre ile 80 °C' de bekletildikten sonra desikatörde soğutulup hassas terazide tartılmıştır (A₁). Daha sonra krozeler kül fırınında 550 °C'de 3 saat yakılıp desikatörde soğuduktan sonra hassas terazi de tekrar tartılmıştır (A₂). Çıkan sonuçlar formüle konularak yem materyalindeki yüzde ADF içeriği hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

$$\text{ADF (g/kg KM)} = (A_1 - A_2) / (A) * 100$$

A: Örnek miktarı (kuru)

A1: İlk tartım
A2: İkinci tartım

3.6. Nötral Deterjan Fiber (NDF)

30g dodecyl sulfate sodium salt ($C_{12}H_{25}NaO_4S$), 18.16g titriplex-III ($C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \cdot 2H_2O$), 6.81g di-sodiumtetraborate decahydrate ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$), 4.56g di-sodium hydrogen phosphate anhydrous (Na_2HPO_4) ve 10 ml etanol 1 litre saf su içerisinde pH 6.8 ile 7.2 arasında olacak şekilde kimyasallar sırası ile karıştırılarak saf su içerisinde çözünmesi sağlanır. Bu çözeltiden 100 ml alınarak içerisinde yaklaşık 1 g (A) örnek bulunan beher içersine boşaltılmıştır. Daha sonra kaynama işlemi için buharlaşmayı engelleyecek şekilde ısıtma düzeneğine yerleştirilerek 1 saat kaynatılmıştır. Kaynama işlemi bittikten sonra 3 bor'lu (gözenek çapı) cam krozede süzülerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Krozeler kurutma dolabında 10-12 saat süre ile 80 °C' de bekletildikten sonra desikatörde soğutulup hassas terazide tartılmıştır (A₁). Daha sonra krozeler kül fırınında 550 °C'de 3 saat yakılıp desikatörde soğuduktan sonra hassas terazi de tekrar tartılmıştır (A₂). Çıkan sonuçlar formüle konularak yem materyalindeki yüzde NDF içeriği hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

$$NDF \text{ (g/kg KM)} = (A_1 - A_2) / (A) * 100$$

A: Örnek miktarı (kuru)
A₁: İlk tartım
A₂: İkinci tartım

3.7. Menke Gaz Üretim Tekniği

Rumen sıvısı, kanül takılmış iki adet koyundan alınmıştır. Denemede kullanılan koyunlara verilen rasyon % 60 yonca ve % 40 kesif yemlerden oluşmuştur. Kesif yemi ise % 74 buğday, % 24 ayçiçeği küspesi, %0.99 kalsiyum karbonat, % 1 tuz ve % 0.01 vitamin-mineral karışımı oluşturmaktadır.

Yem örnekleri (0.200 g), 30 ml çözeltiyle (10 ml rumen sıvısı + 20 ml yapay tükürük) 100 ml'lik şırıngalar içerisinde 96 saat 39 °C inkubasyona bırakılmıştır (Menke ve Steingass, 1988). Kekik yağı tamponlanmış rumen sıvılarına 0, 500, 1000 ve 2000 mg/L oranlarında katılarak, kekik yağının gaz üretimine etkisi belirlenmiştir.

Bu işlemler yapılmadan önce kullanılan şırıngalar 39 °C ön ısıtmaya tabi tutulmuştur. Şırıngalar inkubasyonun başlamasından yarım saat sonra on dakikada bir çalkalanmıştır. On saatlik inkubasyon sonunda her saat başı sallanmıştır. Gaz ölçümleri 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saatte yapılmıştır. Net toplam gaz üretimleri kör denemeden elde edilen gaz değerleri çıkartılarak hesaplanmıştır. Bütün gaz ölçümleri üç tekerrürlü yapılmıştır. Daha sonra elde edilen gaz değerlerinden üretilen gaz miktarı, Orskov ve McDonald (1979) tarafından geliştirilen $y = a + b(1 - \exp^{-ct})$ modeli kullanılarak gaz üretimiyle ilgili parametreler hesaplanmıştır.

- a = kolay bir şekilde fermantasyona uğramış kısımdan elde edilen gaz miktarı

- b = yavaş bir şekilde fermantasyona uğramış kısımdan elde edilen gaz miktarı
- c = b nin fermente olma hızı
- t = zaman

Rumen sıvısıyla karıştırılan yapay tükürüğün hazırlanışı aşağıda verilmiştir.

Makro Element Çözeltisi

5.7 g Na_2HPO_4 + 6.2 g KH_2PO_4 + 0.6 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 lt saf su içerisinde eritilir ve çözeltinin pH'sı 6.8 olarak ayarlanmıştır.

İz Element Çözeltisi

13.2 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 10.0 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + 1.0 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 0.8 g $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ karışımı 100 ml saf su içerisinde eritilmiştir.

Tampon Çözeltisi

35 g NaHCO_3 + 4 g $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ 1 lt saf su içerisinde çözündürülür ve çözeltinin pH'sı 8.1 ayarlanmıştır.

Resazurin Çözeltisi

100 mg Resazurin 100 ml saf su içerisinde çözündürülmüştür.

Redüksiyon Çözeltisi

2 ml 1.0 N (Normal) NaOH + 285 mg $\text{Na}_2\text{S} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ + 47.5 ml saf su içerisinde çözündürülmüştür. Bu çözelti rumen sıvısı alınmadan hemen önce hazırlanmış ve taze olarak kullanılmıştır.

Yukarıdaki çözeltilerden aşağıda belirtilen miktar ve sıra ile rumen sıvısı ile karıştırılma işleminin gerçekleştirileceği geniş ağızlı 2 lt'lik balona aktarılmıştır.

474 ml saf su
0.12 ml mikro mineral çözeltisi
237 ml tampon çözeltisi
237 ml makro mineral çözeltisi
1.22 ml resazurin çözeltisi
47.5 ml redüksiyon çözeltisi

Yukarıda bahsedilen yapay tükürükten 2 (1 lt) birim rumen sıvısından 1 (0.5 lt) birim alınarak karıştırılmış ve şırıngalara bu karışımdan 30 ml ilave edilmiştir. 30 ml örnek içerisinde 20 ml yapay tükürük, 10 ml'de rumen sıvısı yer almıştır.

3.8. Metabolik Enerji İçerikleri

Gaz üretimi sonucu elde edilen 24 saatlik gaz ölçüm değerleri ve yem içerikleri kullanılarak yemin metabolize olabilir enerji miktarı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Menke ve Steingass, 1988).

Kaba yemler

$$\text{Metabolik Enerji (ME) (MJ/kg KM)} = 2.20 + 0.1357\text{GP} + 0.0057\text{HP} + 0.0002859\text{HY}^2$$

Kesif Yemler

$$\text{Metabolik Enerji (ME) (MJ/kg KM)} = 1.06 + 0.1570 \text{ GP} + 0.0220\text{HY} - 0.081\text{HK}$$

GP: 24 saatlik gaz üretimi (ml)

HP: Ham protein

HK: Ham kül

3.9. Organik Madde Sindirilebilirlik Derecesi (OMSD)

Gaz üretimi sonucu elde edilen 24 saatlik gaz ölçümleri ve yem içerikleri kullanılarak yemin Organik Madde Sindirilebilirliği aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir (Menke ve Steingass, 1988).

Kaba yemler

$$\text{OMSD (\%)} = 15,38 + 0.8453\text{GP} + 0.0595\text{HP} + 0.0675\text{HK}$$

Kesif yem

$$\text{OMSD (\%)} = 9.00 + 0.9991\text{GP} + 0.0595\text{HP} + 0.0181\text{HK}$$

OMSD: Organik madde sindirilme derecesi

GP: Gaz üretimi

HP: Ham protein

HK: Ham kül içeriği

3.10. Uçucu Yağ Asitlerinin Analizi

Fermantasyon sonunda şırınga içerisindeki rumen sıvısı, toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) ve bileşimi (asetik asit, propiyonik asit, butirik asit, izobutirik asit, valerik asit ve

izovalerik asit) Erwin ve ark. (1961) ile Wiedmeier ve ark. (1987)'nin bildirdiği yöntemlere göre Agilent 6890N marka Gaz Kromatografisi kullanılarak yapılmıştır.

3.11. İstatistiksel Analizler

Yemlerin kompozisyonuna ait veriler varyans analize (ONE WAY ANOVA) tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklar Tukey çoklu karşılaştırma testleri ile belirlenmiştir. Bu çalışmada yapılan gaz ölçümleri ve uçucu yağ asitleri ise varyans analizine (TWO WAY ANOVA) tabi tutulmuş olup aşağıda belirtilen model kullanılmıştır.

$$GP_{ijk} = \mu + Y_i + I_j + (Y \times I)_{ij} + e_{ijk}$$

GP_{ijk} = ölçülen gaz hacmi,

μ = ortalama,

Y_i = yemin etkisi,

I_j = kekik yağının etkisi,

$(Y \times I)_{ij}$ = Y_i ile I_j arasındaki etkileşimin etkisi,

e_{ijk} = hata

Ortalamalar arasındaki farklar Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir. İstatistiksel analizler SPSS paket programı kullanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

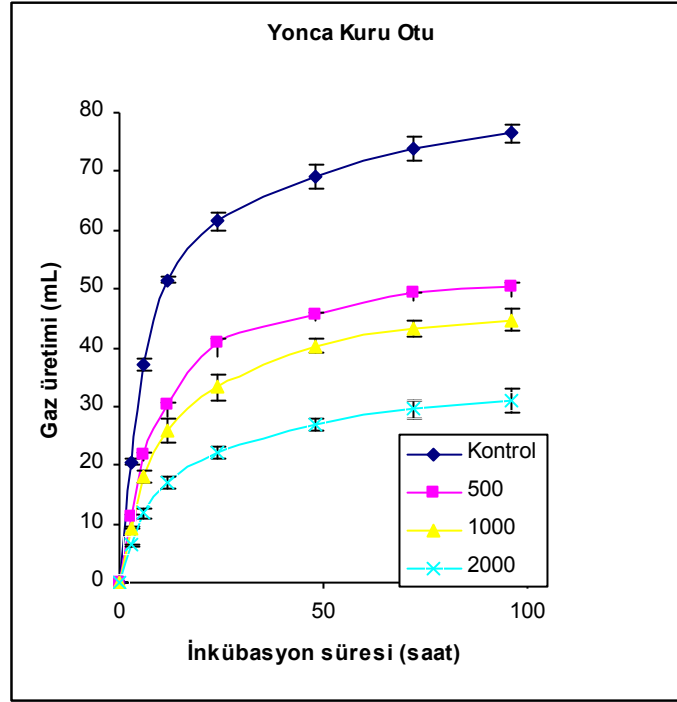
Bu çalışmada kullanılan kaba ve kesif yemlerin kimyasal içerikleri Çizelge 4.1.de verilmiştir. Yemlerin kimyasal içerikleri arasında önemli varyasyonlar bulunmuştur. Yonca otunun protein, Kül, HP, HY, NDF, ADF, ADL içeriği denemede kullanılan yemlerden önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Yemlerin protein içerikleri 8.14 ile 16.81 arasında değişirken, NDF ve ADF içeriği ise sırasıyla 17.81 ile 50.98 ve 10.74 ile 37.64 arasında bulunmuştur. Bilindiği gibi kaba yemler NDF ve ADF bakımından kesif yemlerden daha zengindir. Bu denemde kullanılan mısır danesinin NDF ve ADF içeriği yonca otu ve mısır silajından oldukça düşük bulunmuştur. Ayrıca dane arpanın ham kül içeriği de kaba yemlere nazaran oldukça düşük bulunmuştur. Benzer şekilde Derya ve ark. (2010) yaptığı çalışmada, kaba yemlerin kül içerikleri kesif yemlerin kül içeriklerinden 2-3 kat daha fazla bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Denemede kullanılan kaba ve kesif yemlerin kimyasal kompozisyonu (%)

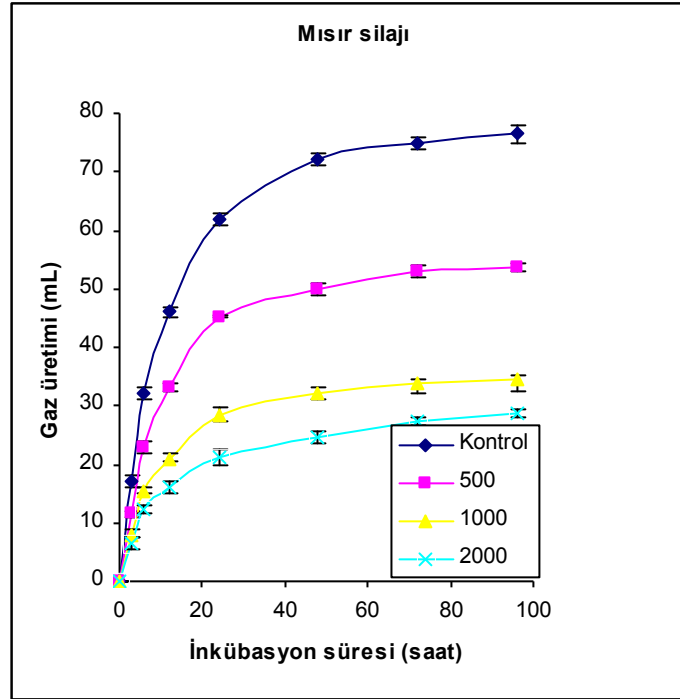
	Yemler			SHO	ÖS
	Yonca otu	Mısır silajı	Dane arpa		
OM	91.49c	95.01b	97.49a	0.041	***
Kül	8.51a	4.99b	2.51c	0.041	***
HP	16.81a	8.14b	12.08c	0.125	***
HY	3.19a	2.81b	2.26c	0.032	***
NDF	49.60a	50.98a	17.81b	0.468	***
ADF	37.64a	28.13b	10.74c	0.171	***
ADL	8.28a	5.20b	1.90c	0.043	***

^{abc} Aynı üst simgeye sahip ve aynı satırda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur ($P>0.05$), OM: Organik madde, HP: Ham protein, HY: Ham yağ, NDF: Nötr deterjent fiber, ADF: Asit deterjan fiber, ADL: Asit deterjan lignin, SHO: Standart hata ortalaması, ÖS: Önem seviyesi, ***: $P<0.001$.

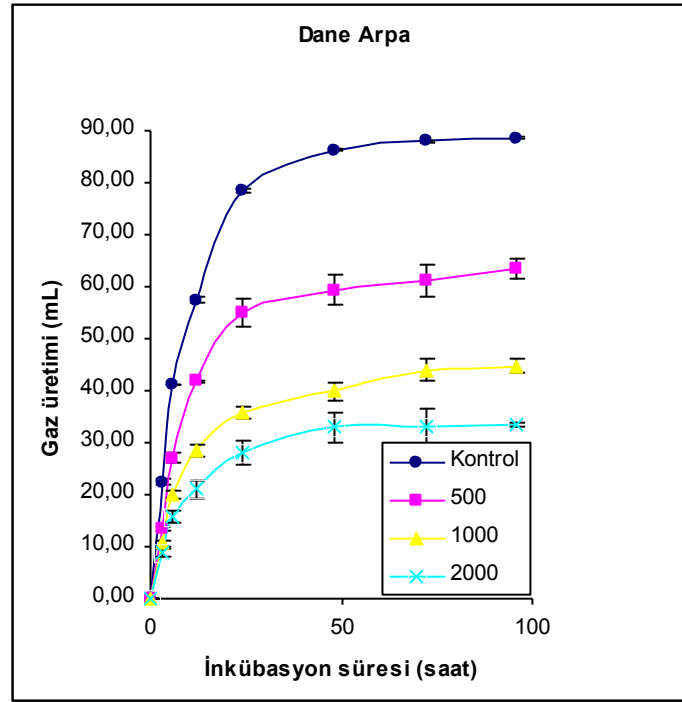
Kaba ve kesif yemlerin *in vitro* fermentasyonu sonucu açığa çıkan gaz miktarları Şekil 4.1-4.3'de gösterilmiştir. Genel olarak bütün yemlerin fermentasyonundan üretilen gaz miktarı kullanılan kekik yağının dozunun artmasıyla birlikte önemli derecede azalmıştır. En düşük gaz üretimi kekik yağının 2000mg/L düzeyinde elde edilmiştir. Benzer şekilde Macbeboeuf ve ark (2008) yaptıkları çalışmada, kekik yağının kullanım dozu artıkça üretilen gaz miktarında önemli derecede azalmalar meydana gelmiştir.



Şekil 4.1. Kekik yağının yonca otunun rumen sıvısıyla fermentasyona tabi tutulması sonucu açığa çıkan zamana bağlı gaz değerlerine etkisi



Şekil 4.2. Kekik yağının mısır silajının rumen sıvısıyla fermentasyona tabi tutulması sonucu açığa çıkan zamana bağlı gaz değerlerine etkisi



Şekil 4.3. Kekik yağının dane arpanın rumen sıvısıyla fermentasyona tabi tutulması sonucu açığa çıkan zamana bağlı gaz değerlerine etkisi

Çizelge 4.2. Yem ve kekik yağının *in vitro* gaz üretimine etkisi

Yemler	İnkübasyon süresi (saat)						
	3	6	12	24	48	72	96
YO	11.85b	22.12b	31.18b	39.37b	45.50b	49.00b	50.68b
MS	10.68c	20.62c	29.06c	39.25b	44.68b	47.25b	48.37c
DA	13.87a	25.87a	37.21a	49.35a	54.60a	57.07a	57.62a
SHO	0.241	0.336	0.414	0.616	0.651	0.730	0.558
ÖS	***	***	***	***	***	***	***
Dozlar							
0	20.00a	36.66a	51.66a	67.33a	75.75a	78.96a	80.55a
500	12.08b	23.91b	35.11b	46.97b	51.72b	54.47b	55.95b
1000	9.25c	17.69c	25.16c	32.55c	37.44c	40.33c	41.33c
2000	7.22d	13.22d	18.00d	23.77d	28.13d	30.66d	31.08d
SHO	0.279	0.388	0.479	0.711	0.752	0.843	0.645
ÖS	***	***	***	***	***	***	***
İnteraksiyon	***	***	***	***	***	***	***

^{abc} Aynı üst simgeye sahip ve aynı sütunda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur ($P>0.05$), YO: yonca otu, MS: Mısır silajı, DA: Dane Arpa, SHO: Standard hata ortalaması, ÖS: Önem Seviyesi, *** $P<0,001$.

Yem kaynakları göz önüne alınarak, ortalama gaz üretim değerlerine bakıldığında, dane arpanın fermentasyonu sonucu açığa çıkan gaz miktarı yonca ve mısır silajından daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde Derya (2008) yaptığı çalışmada ortalama gaz üretim

değerlerine bakıldığında, bütün inkübasyon süresince dane yemlerin fermantasyonu sonucu açığa çıkan gaz miktarları kaba yemlerden daha yüksek bulmuştur. Bunun, dane yemlerin mikroorganizmaların kullanabileceği besin madde bakımından kaba yemlere nazaran daha zengin olmasından ileri geldiği sanılmaktadır. Zira mikro-organizmalar bu besin maddeleri kullanarak daha fazla gaz üretimi yapmaktadırlar.

Kekik yağının kullanım dozları baz alınarak yapılan karşılaştırmada, gaz üretimi, kekik yağının kullanım miktarı arttıkça gaz üretimi önemli derecede azalmıştır. En düşük gaz üretimi kekik yağının 2000 m/L kullanıldığı dozda elde edilmiştir. Benzer şekilde Macbeboeuf ve ark (2008) yaptığı çalışmada kekik yağının kullanım dozu arttıkça üretilen gaz miktarında önemli derecede azalmalar meydana gelmiştir.

Zamana bağlı olarak üretilen gaz miktarları Orskov ve McDonald (1979) tarafından önerilen $y = a+b(1-\exp)^{-ct}$ modeli kullanılarak a, b ve c değerleri FIG P paket programında hesaplanıp Çizelge 5'te verilmiştir. Ayrıca fermantasyon sonucu elde edilen 24 saatlik gaz ölçümleri ve yem içerikleri kullanılarak yemin ME ve OMSD dereceleri belirlenmiş ve Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Yem ve İnokulum çeşidinin *in vitro* gaz üretiminin parametreleri üzerine etkisi

Yemler	Parametreler				
	c	a	b	ME	OMSD
YO	0.0775b	1.20a	47.25b	7.64b	50.23b
MS	0.0808b	0.813b	46.18b	7.57b	49.38b
DA	0.0888a	0.803b	55.92a	8.91a	59.07a
SHO	0.051	0.098	0.614	0.090	0.574
ÖS	***	***	***	***	***
Dozlar					
0	0.090a	1.22a	77.11a	11.59a	75.25a
500	0.086ab	0.555c	54.02b	8.67b	56.83b
1000	0.080b	0.863bc	38.96c	6.57c	43.66c
2000	0.072c	1.114ab	29.04d	5.32d	35.84d
SHO	0.059	0.113	0.709	0.104	0.663
ÖS	***	***	***	***	***
İnteraksiyon	***	***	***	***	***

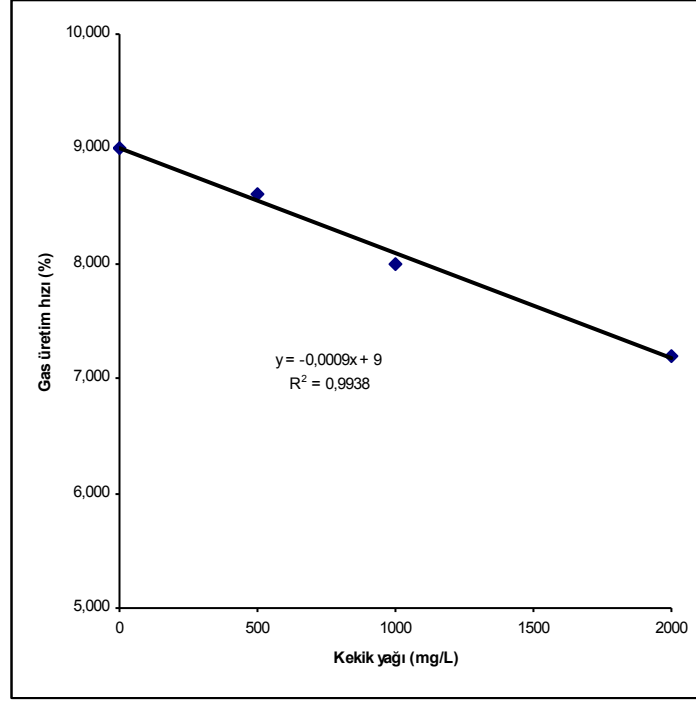
^{abc} Aynı üst simgeye sahip ve aynı sütunda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur ($P>0.05$), YO: yonca otu, MS: Mısır silajı, DA: Dane arpa, a = kolay bir şekilde fermantasyona uğramış kısımdan elde edilen gaz miktarı (ml), b = yavaş bir şekilde fermantasyona uğramış kısımdan elde edilen gaz miktarı (ml), c = b'nin fermente olma hızı (%), SHO: Standard hata ortalaması, ÖS: Önem Seviyesi, *** $P<0,001$.

Çizelge 4,3'ten de görüldüğü gibi, yem kaynakları göz önüne alınarak yapılan karşılaştırmada, dane arpaya ait gaz üretim hızı, yavaş fermente olabilen kısımdan elde edilen gaz miktarı (b), ME ve OMSD'i yonca otu ve mısır silajından daha yüksek bulunmuştur. Kesif yemlerde mikroorganizmaların faydalanabileceği besin madde miktarı kaba yemlere göre çok daha zengin olması söz konusu bu parametrenin yüksek olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Kekik yağının kullanım dozları baz alınarak yapılan karşılaştırmada, gaz üretim hızı, yavaş fermente olabilen kısımdan elde edilen gaz miktarı (b), ME ve OMSD kekik yağının kullanım miktarını artmasıyla azalmıştır ($P<0.001$). En düşük değerler kekik yağının 2000 m/L kullanıldığı dozda elde edilmiştir. Metabolik enerji ve OMSD yemlerin

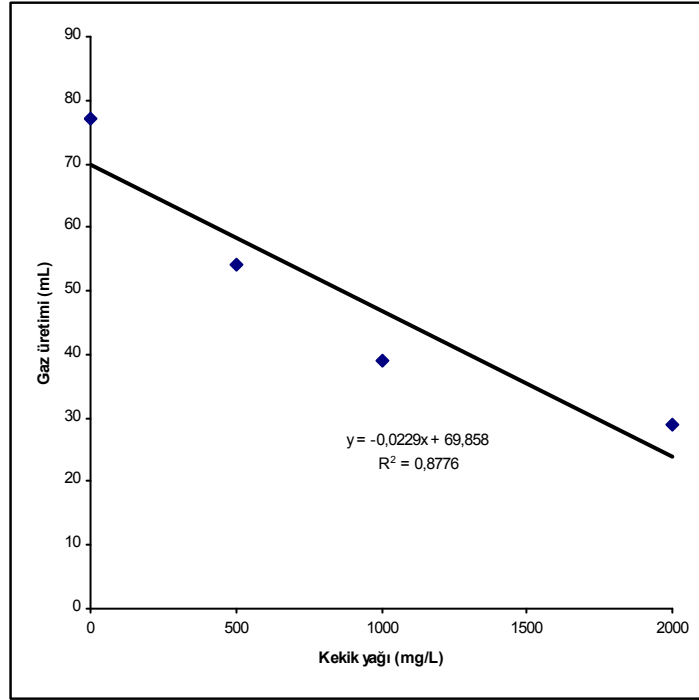
kompozisyonu ve 24 saatlik fermantasyonu sonucu üretilen gaz kullanılarak hesaplanmıştır. Kekik yağın kullanım dozunun artmasıyla birlikte bütün inkübasyon zamanlarında mikrobiyal faaliyetteki azalmadan dolayı bütün inkübasyon sürelerinde gaz miktarı azalmıştır. Bu yüzden, 24 saatlik inkübasyon süresindeki gaz miktarında ki düşüşler hesaplanan ME değerini de düşürmüştür.

Kekik yağının kullanım dozu ile gaz üretim hızı arasındaki ilişki Şekil 4,4'de verilmiştir. Kekik yağının kullanım dozunun bir birim artması sonucu, gaz üretim hızında yaklaşık olarak 0.0009 birimlik düşüşe neden olmuştur.



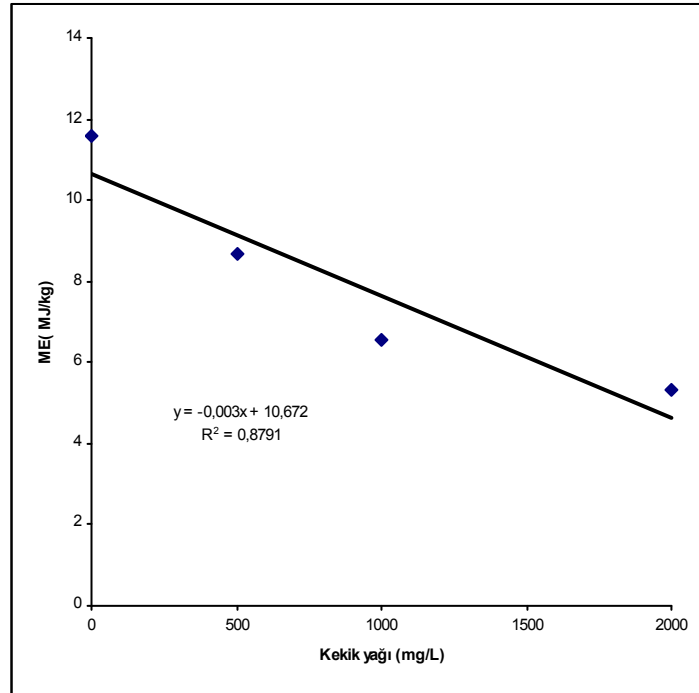
Şekil 4.4. Kekik yağının kullanım dozu ile gaz üretim hızı arasındaki ilişki

Kekik yağının kullanım dozu ile gaz üretimi arasındaki ilişki Şekil 4.5'te verilmiştir. Kekik yağının kullanım dozunun bir birim artması sonucu, gaz üretim miktarında yaklaşık olarak 0.0229 birimlik düşüşe neden olmuştur.

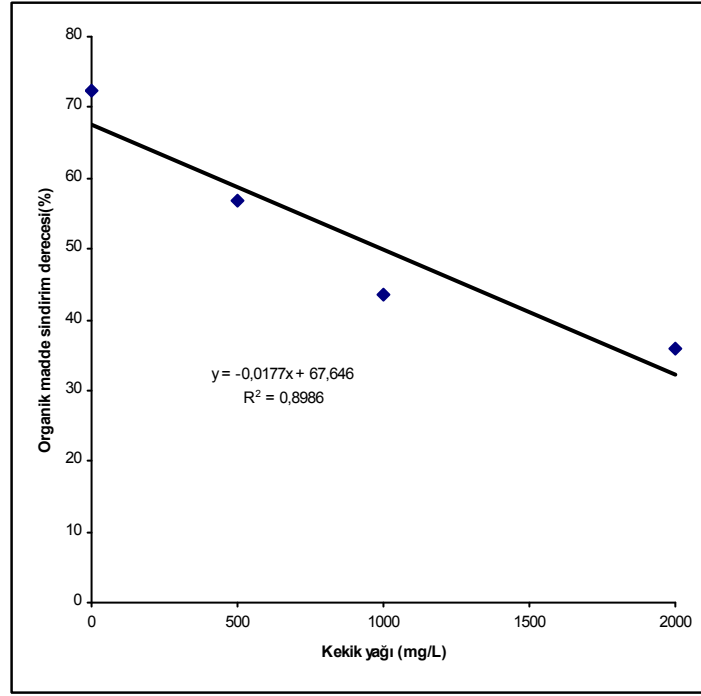


Şekil 4.5. Kekik yağının dozu ile yavaş fermente olan kısımdan üretilen gaz arasındaki ilişki

Kekik yağının kullanım dozu ile metabolik enerji arasındaki ilişki Şekil 4,6'da verilmiştir. Kekik yağının kullanım dozunun bir birim artması sonucu, metabolik enerji miktarında yaklaşık olarak 0.003 birimlik düşüşe neden olmuştur.



Şekil 4.6. Kekik yağının kullanım dozu ile organik madde sindirim derecesi arasındaki ilişki Kekik yağının kullanım dozu ile organik madde sindirim derecesi arasındaki ilişki Şekil 4.7'de verilmiştir. Kekik yağının kullanım dozunun bir birim artması sonucu, organik madde sindirim derecesinde yaklaşık olarak 0.0177 birimlik düşüşe neden olmuştur.



Şekil 4.7. Kekik yağının kullanım dozu ile organik madde sindirim derecesi arasındaki ilişki

Yem türünün ve kekik yağının uçucu yağ asit üretimine etkisi Çizelge 4.4’de verilmiştir. Yem kaynakları baz alınarak yapılan karşılaştırmada, dana arpaya ait toplam uçucu yağ asidi ve asetik asit miktarı mısır silajından elde edilen miktardan önemli derecede yüksek bulunmuştur.

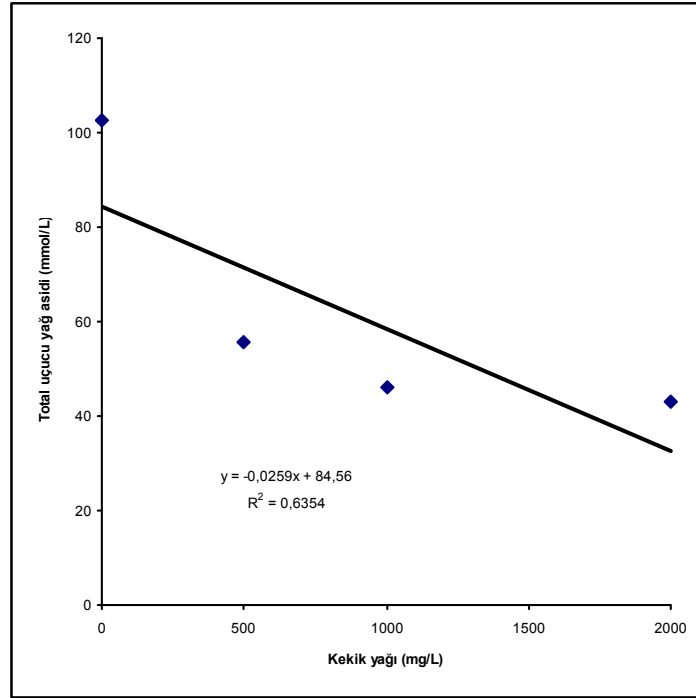
Çizelge 4.4. Yem ve kekik yağının uçucu yağ asit üretimine etkisi

Yemler	Uçucu yağ asitleri						
	Total	Asetik	Propiyonik	Bütirik	İzobütirik	Valerik	İzovalerik
YO	61.8ab	60.7b	16.7b	14.1b	0.81	1.5a	1.4
MS	59.2b	60.7b	18.9a	16.9a	0.81	1.4b	1.4
DA	64.8a	65.5a	19.0a	16.6a	0.81	1.5a	1.3
SHO	1.472	0.793	0.370	0.357	0.016	0.025	0.032
ÖS	***	***	***	***	ÖD	***	ÖD
Dozlar (mg/L)							
0	102.7a	50.1c	24.8a	19.7a	1.1a	2.6a	1.7a
500	55.7b	70.2a	14.1d	13.0c	0.6c	1.0d	1.1c
1000	46.3c	65.7b	16.3c	14.9b	0.7b	1.2c	1.2b
2000	43.0c	63.2b	17.7b	15.9b	0.8b	1.2b	1.3b
SHO	1.699	0.916	0.428	0.412	0.019	0.030	0.037
ÖS	***	***	***	***	***	***	***
İnteraksiyon	***	ÖD	ÖD	***	***	***	***

^{abc} Aynı üst simgeye sahip ve aynı sütunda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur ($P>0.05$), YO: yonca otu, MS: Mısır silajı, DA: Dane arpa, SHO: Standard hata ortalaması, ÖS: Önem Seviyesi, ÖD: Önemsiz*** $P<0,001$.

Kekik yağının kullanım dozları baz alınarak yapılan karşılaştırmada, toplam uçucu yağ asit miktarı, kekik yağının kullanım miktarı artıkça azalmıştır. Ayrıca kekik yağı kullanımını fermantasyon sonucu açığa çıkan uçucu yağ asitlerin kompozisyonunu değiştirmiştir. Kekik yağının kullanım dozunun artmasıyla birlikte daha fazla asetik asit sentezlenmiş bununla birlikte propionik ve bütirik asit sentezinde önemli derecede azalma meydana gelmiştir ($P < 0.001$). Kekik yağının 500 mg/L dozunda kullanılması sonucunda asetik asit üretiminde hızlı bir artış propionik ve bütirik asit üretiminde ise hızlı bir düşüş yaşanmıştır. Kekik yağının 500 mg/L fazla kullanıldığı dozlarda asetik, propionik asit ve bütirik asit üretiminde (%) fazla bir değişim olmamıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular Macbeboeuf ve ark (2008) yaptığı çalışmada elde edilen bulgularla uyum içerisindedir.

Kekik yağının kullanım dozu ile toplam uçucu yağ asidi üretimi arasındaki ilişki Şekil 4.8'de verilmiştir. Kekik yağının kullanım dozunun bir birim artması sonucu, uçucu yağ asidi yaklaşık olarak 0.0259 birimlik düşüşe neden olmuştur.



Şekil 4.8. Kekik yağının kullanım dozu ile toplam uçucu yağ üretimi arasındaki ilişki

Bu çalışmada, kekik yağının antimikrobiyal etkiye sahip olduğu in vitro koşullarda gösterilmiştir. Bilindiği gibi kekik (*Origanum vulgare*) yağı içerisinde bulunan en önemli aktif maddeler carvacrol ve thymol olup gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahiptir (Sivropoulou ve ark. 1996, Dorman ve Deans, 2000).

Esansiyel yağların anti-bakteriyel etkisini açıklamak için geliştirilmiş birkaç teori bulunmakla birlikte genel olarak terpenoidler ve phenylpropanoidler etkilerini bakterilerilerin hücre zarında bulunan yağlar vasıtasıyla yaparlar. Esansiyel yağların hidrofobik ve lipofilik özelliğinden dolayı, bakteri hücre duvarıyla çok hızlı bir etkileşime girerek, hücre zarının yapısının bozulmasına ve hücre içerisinde cereyan eden elektron transportu, iyon gradienti, proteinlerin translakosyonu, fosforilasyon ve enzime bağlı birçok reaksiyonların oluşumu gibi hayati faaliyetler engellemektedirler (Ultee ve ark. 1999, Dorman ve Deans, 2000).

Anerobik koşullarda fermantasyona tabi tutulan yemler gaz üretimine neden olurlar. Fermentasyon sırasında üretilen gazın doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki kaynağı vardır. Direk gaz üretimi, yemin fermantasyonu sırasında direk olarak açığa çıkan gaz miktarını oluştururken, indirek gaz üretimi ise, fermantasyon sırasında açığa çıkan uçucu yağ asitlerinin tampon çözeltiyle reaksiyona girmesi sonucu açığa çıkan gaz üretiminden oluşur (Blummel ve Orskov, 1993). Ne kadar fazla yem fermente olursa o kadar fazla gaz üretimi olmaktadır. Dolayısıyla farklı kompozisyona veya fermente olabilir kısma sahip yemler farklı gaz üretimine neden olabilir. Yapılan birçok araştırmada farklı kompozisyona sahip yemlerin fermantasyonu sonucu farklı gaz üretimi elde edilmiştir. Bu çalışmada kekik yağının kullanım dozunun artmasıyla birlikte gaz üretimi ve uçucu yağ asit miktarında azalma olmuştur. Gaz üretiminde ki azalma daha önce belirtildiği gibi doğrudan ve dolaylı gaz üretimindeki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada kekik yağı, kullanılan yemlerin fermente olma kapasitesini azalttığı söylenebilir.

Ruminant hayvanlar enerji ihtiyacının büyük bir kısmını rumende sentezlenen uçucu yağ asitlerinden karşıladığı çok iyi bilinmektedir. Bu yüzden kekik yağının yüksek dozlarda kullanılması sonucunda ruminantların enerji kaynağında önemli azalmalar meydana geleceğinden, ruminant hayvanlarda performans düşüşleri kaçınılmaz olur. Ayrıca kekik yağı yemlerin sindirim derecesi ve metabolik enerji içeriğini düşürdüğü için yem tüketiminde düşüşler olasıdır. Böylece yem tüketimine bağlı olarak ruminantlarda performansta düşüşler olur. Bu yüzden esansiyel yağların kullanım dozları ayarlanırken dikkatli olunmalıdır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kekik yağının anti mikrobiyal aktiveye sahip olduğu ve in vitro koşullarda fermentasyon işlemlerini engellediği gözlenmiştir. Kekik yağı, yemlerin fermentasyonu sonucu açığa çıkan gaz üretimini, metabolik enerji, in vitro organik sindirim derecesini ve uçucu yağ asit üretimini önemli derecede azaltmaktadır. Bu yüzden, kekik yağının in vivo koşullarda test edilerek, hayvanların yem tüketimine, yemlerin sindirim derecesine ve performansına etkisi ortaya konulması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- AGARWAL, N., SHEKHAR, C., KUMAR, R., CHAUDARY, L.C., KARMA, D.N. 2009. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 321-327.
- AOAC,1990. Official method of analysis. 15th. ed. Washington, DC. USA. pp. 66–88.
- AYDIN, D., KAMALAK, A., CANBOLAT, Ö., ATALAY, A.İ. 2008. *In Vitro* Gaz Üretim Tekniğinde Rumen Sıvısı Yerine Gübrenin Kullanılma Olanakları, KSÜ Doğa Bilimler Dergisi, 13(1), 18–25.
- BENCHAAR, C., CHAVES, A.V., FRASER, G.R., WANG, Y., BEUCHEMIN, K.A., MCALLISTER, T.A., 2007. Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Canadian Journal of Animal Science*, 87, 413-419.
- 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 population, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa or corn silage. *Journal of Dairy Science*, 90, 886-898.
- BLÜMMEL, M., ORSKOV, E.R. 1993. Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 40,109-119.
- BODAS, R., LOPEZ, S., FERNADEZ, M., GARCIA-GONZALEZ, RODRIGUEZ, A.B., WALLACE, R.J, GONZALES, J.S. 2008. *In vitro* screening of potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 245-258.
- BOZKURT, Z. 2005. Kekik (*Origanum vulgare*) ve çörek otu (*Nigella sativa*) esansiyel yağı ile propolisin yonca kuru otu ve buğday samanının in vitro gerçek kuru madde organik madde ve NDF sindirilebilirliğine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adana, ss. 1-28.
- BUSQUET, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., KAMEL, C., 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 89, 761-771.

- CALSAMIGLIA, S., BUSQUET M., CARDOZO, P.W., CASTILLEJOS L., FERRET, A., 2007. Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90, 2580-2590.
- CASTILLEJOS, L., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A. 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* system. *Journal of Dairy Science*, 89, 2649-2658.
- CASTILLEJOS, L., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., LOSA, R. 2005. Effects of a specific blend of essential oil compounds and type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Animal Feed Science Technology*, 119, 29-41.
- CASTILLEJOS, L., CALSAMIGLIA, S., MARTIN-TERESO, J., TER WIJLEN H. 2008. In vitro evaluation of effects of ten essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Animal Feed Science Technology*, 145, 259-270.
- CHAVES, A.V., STANFORD, K., GIBSON, L.L., MCALLISTER, T.A., BENCHAAAR, C. 2008. Effects of carvacrol and cinnamaldehyde on intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science Technology*, 145, 396-408.
- DORMAN, H.J.D., DEANS S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
- ERWIN, E. S., MARCO, G.J., EMERY, E. M. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*, 41, 1768–1770.
- FANDINO, I., CALSAMIGLIA, S., FERRET, A., BLANCH, M. 2008. Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Animal Feed Science Technology*, 145, 409-417.
- FRASER, G.R., CHAVES, A.V., WANG, Y., MCALLISTER, T.A. BEAUCHEMIN K.A., BENCHAAAR, C., 2007. Assessment of the effects of cinnamon leaf oil on rumen microbial fermentation using two continuous culture systems. *Journal of Dairy Science*, 90, 2315-2328.
- GARCIA, V., CATALA-GREGORI, P., MADRID, J., HERNANDEZ, F., MEGIAS, M.D., ADREA-MOMTEMAYOR, H.M. 2007. Potential of carvacrol to modify *in vitro* rumen fermentation as compared with momensin. *Animal*, 1, 675-680.

- GARCIA-GONZALEZ, R., LOPEZ S., FERNANDEZ, M., BODAS R., GONZALEZ J.S., 2008. Screening the activity of plants and species for decreasing ruminal methane production in vitro. *Animal Feed Science Technology*, 147, 36-52.
- MACHEBOEUF, D., MORGAVI, D.P., PAPON, Y., MOUSSET, J.L., ARTURO-SCHAAN, M. 2008. Dose-response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*. 145, 335-350.
- MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLACE, R.J, BEEVER, D.A, NEWBOLD, C.J. 2003. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen micro-organisms and their protein metabolism. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5011-5014.
- MENKE, K.H., RAAB, L.L., SALEWSKI, A., STEINGASS, H., FRITZ, SCHNEIDER, W. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liqueur *in vitro*. *Journal of Agricultural Science*, 93, 217-222.
- MENKE, K.H., STEINGASS, H. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research. Development*, 28, 7-55.
- MOLERO, R. IBARS, M., CALSAMIGLIA, S., FERRET A, LOSA, R. 2008. 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. *Animal Feed Science and Technology*, 114, 91-104.
- NEWBOLD, C.J., MCINTOSH, F.M, WILLIAMS, P., LOSS, R., WALLACE, R.J. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 114,105-112.
- ORSKOV, E.R., MCDONALD, I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighed according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science*, 92, 499-503.
- SIVROPOULOU, A., PAPANIKOLAOU, E., NIKOLAOU, C, KOKKINI, S., LANARAS, T AND ARSENAKIS, M. 1996. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essentials oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1202-1205.

- 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 Technology*, 145, 364-374.
- ŞENGEZER, E., GÜNGÖR, T. 2008. Esansiyal yağlar ve hayvanlar üzerindeki etkileri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü*. 48,101–110.
- ULTEE, A., KETS, E.P.W., SMID, J. 1999. Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4606-4610.
- WALLACE, R.J., MCEWAN, N.R., MCINTOSH, F.M., NEWBOLD, C.J. 2003. Proceedings of the 50th Maryland Nutrition Conference on Natural Products for manipulation of fermentation in ruminants, March 27-28, Timonium, Maryland, pp.116-125.
- WIEDMEIER R. D., ARAMBELL M, J., WALTERS J.L. 1987. Effect of orally administered pilocarpine on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *Journal of Dairy Science*, 70, 284-289.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılı Elazığ doğumludur. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana’ da, yüksek öğrenimini Kahramanmaraş Sütçü İmam Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümünde tamamlamıştır.