

## Esansiyel Yağların Sindirim, Rumen Fermantasyonu ve Mikrobiyal Protein Üretimi Üzerine Etkileri <sup>[1]</sup>

Önder CANBOLAT \*  Hatice KALKAN \* Şadıman KARAMAN \* İsmail FİLYA \*

[1] Bu araştırma, Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2007/33)

\* Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, TR-16059 Görükle, Bursa - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-4006

### Özet

Bu araştırma rumen sıvısına (RS); 0, 400, 800 ve 1200 mg/lit dozlarında, kekik yağı (KY), Nane Yağı (NY) ve Portakal Yağı (PY) ilavesinin *in vitro* gaz üretimi, organik madde sindirilebilirliği (OMS), metabolik enerji (ME) ile rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi (MPÜ) üzerine olan etkilerinin saptanması amacı ile düzenlenmiştir. Bu amaçla *in vitro* gaz üretim tekniğinden yararlanılmıştır. Rumen sıvısına KY, NY ve PY ile farklı dozlarının ilavesi yonca kuru otunun *in vitro* gaz üretimi ile OMS ve ME içeriğini düşürmüştür ( $P<0.01$ ;  $P<0.05$ ). Rumen sıvısına esansiyel yağların ilavesi rumen sıvısı parametrelerinden toplam uçucu yağ asitleri (TUAYA), asetik asit (AA), propiyonik asit (PA), butirik asit (BA) ve AA/PA oranı ile amonyak ( $NH_3$ ) düzeyini önemli düzeyde düşürürken, rumen pH'sını ise artırmıştır. Ayrıca KY ilavesi karbondioksit ( $CO_2$ ) ve metan ( $CH_4$ ) gazı üretimi ile MPÜ'ni de önemli düzeyde azaltmıştır ( $P<0.01$ ;  $P<0.05$ ). Yukarıda sıralanan parametreler üzerinde en etkili esansiyel yağın KY olduğu, bunu NY ve PY'nin izlediği saptanmıştır. En etkili KY dozu ise 1200 mg/lit RS olarak belirlenmiş ve elde edilen verileri olumsuz etkilemiştir. Sonuç olarak, ruminant beslemede esansiyel yağların düşük dozlarda kullanılması gerektiği, yüksek dozların rumen fonksiyonu ve yemden yararlanmayı düşüreceği söylenebilir.

**Anahtar sözcükler:** Esansiyel yağ, Gaz üretimi, Rumen fermantasyonu, Uçucu yağ asitleri, Mikrobiyal protein

## The Effect of Essential Oils on the Digestibility, Rumen Fermentation and Microbial Protein Production

### Summary

The objective of this study was to determine the effect of inclusion of oregano oil (OrO), peppermint oil (PO) and orange oil (OO) in the ratio of 0, 400, 800 and 1200 mg/lit into rumen fluid on the gas production, organic matter digestibility (OMD) and metabolizable energy (ME), rumen fermentation characteristics and microbial protein production using the *in vitro* gas production technique. The inclusion of OrO, PO and OO in a different level significantly ( $P<0.05$ ;  $P<0.01$ ) decreased the *in vitro* gas production, OMD and ME values. The inclusion of essential oil decreased the total volatile fatty acids (VFA), acetic acid, propionic acid, butyric acid, acetic acid/propionic acid ratio and ammonia level whereas the inclusion increased the rumen pH. In addition, the inclusion of oregano oil significantly ( $P<0.05$ ;  $P<0.01$ ) decreased carbon dioxide ( $CO_2$ ), methane ( $CH_4$ ) and microbial protein production (MPP). The OrO was the most effective essential oil when all parameters were taken into consideration, followed by PO and OO. The inclusion of OrO in the ratio of 1200 mg/lit has been found to be the most effective doses and a negative impact on the data obtained. In conclusion, it can be said that low doses of essential oils should be used in ruminant nutrition but high doses of essential oils may decrease the rumen function and feed efficiency.

**Keywords:** Essential oil, Gas production, Rumen fermentation, Volatile fatty acid, Microbial protein

### GİRİŞ

Büyümeyi uyarıcı antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanılmalarının yasaklanması, son yıllarda antibiyotiklere alternatif yeni yem katkı maddelerinin geliştirmesine yönelik çalışmaları hızlandırmıştır. Bu bağlamda, aromatik bitki ekstraktları (esansiyel yağlar) ile bunların aktif bileşenleri alternatif yem katkı maddesi geliştirme

geliştirme



İletişim (Correspondence)



+90 224 2941558



canbolat@uludag.edu.tr

stratejisinde önem kazanmıştır<sup>1,2</sup>. Aromatik ve tıbbi bitkilerden izole edilen esansiyel yağların çeşitli mikroorganizmalara karşı bakterisit ve fungusit etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur<sup>3-5</sup>. Bu özellikleri nedeniyle esansiyel yağların tıp, kozmetik ve gıda sanayinde antibiyotiklere alternatif ürünler olma potansiyelleri araştırılmış ve yapılan birçok çalışma ile esansiyel yağların mikroorganizma gelişimini önlediği bildirilmiştir<sup>6-8</sup>. Esansiyel yağların antimikrobiyal mekanizmasının henüz tam olarak ortaya konulmasına karşın, esansiyel yağların lipofilik<sup>9</sup> ve kimyasal yapılarının<sup>1,10</sup> antimikrobiyal mekanizma üzerinde önemli rol oynadığı varsayılmaktadır. Ayrıca esansiyel yağların mikroorganizma hücre duvarını sentezleyen enzimlerin etkilerini engelleyerek, mikroorganizma gelişimini sınırladığı da bildirilmektedir<sup>7,11,12</sup>.

Esansiyel yağların antimikrobiyal özellikleri nedeniyle, antibiyotiklere alternatif olma düşüncesinden yola çıkılarak, rumen fermantasyonunun kontrolünde kullanılmasını gündeme gelmiştir<sup>13,14</sup>. Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda tek başına kullanılan esansiyel yağların rumen bakterileri üzerinde farklı etkilere sahip olduğu ve bazı durumlarda mikrobiyal aktiviteyi uyardığı<sup>15</sup>, birçok çalışmada ise olumsuz etki gösterdiği belirlenmiştir<sup>7,13,15-17</sup>. Newbold ve ark.<sup>15</sup> esansiyel yağların TUYA, NH<sub>3</sub>, mikrobiyal protein üretimi (MPÜ) ve protozoa miktarını artırdığını bildirmişlerdir. Buna karşın Canbolat<sup>18</sup> kuzu besi rasyonlarına 5 g/baş/gün KY ilavesinin besi performansına olumlu etkisinin olmasına rağmen, rumen sıvısı UYA, *in vitro* gaz üretimi, rasyonların sindirimi ve ME düzeyi ile MPÜ'ni olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Benchaar ve ark.<sup>7</sup> farklı esansiyel yağlarla yapmış oldukları çalışmada esansiyel yağların rumen fermantasyonunu sınırladığını saptamışlardır. Benzer bulgular Evans ve Martin<sup>11</sup> ile Castillejos ve ark.'nın<sup>1</sup> yapmış olduğu çalışmalarda da görülmüştür. Ayrıca Bozkurt ve ark.<sup>19</sup> KY ve çörek otu yağının yemlerin kuru madde, organik madde ve NDF sindirilebilirliğini önemli düzeyde düşürdüğünü saptamışlardır.

Bu çalışma, ruminant beslemede esansiyel yağ (KY, NY ve PY'ları) ve farklı dozlarının (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) kullanımının *in vitro* gaz üretimi, yemlerin sindirimi, rumen fermantasyonu ve MPÜ'ne etkilerini saptamayı amaçlamaktadır.

## MATERYAL ve METOT

### Yem ve Hayvan Materyali

Araştırmanın yem materyalini Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yetiştirilen ve tam çiçeklenme döneminde hasat edilen yonca kuru otu oluşturmuştur. Denemede kullanılan esansiyel yağlardan KY (katalog no: W28281-2), NY (katalog no: W28482-3) ve PY (katalog no: W28252-9) saf olarak sağlanmıştır (Sigma-Aldrich). Araştırmada *in vitro* gaz üretiminin uygulaması için rumen kanüllü 3 baş Kıvrıkcık koç kullanılmış ve

hayvanlar deneme süresince yonca kuru otu (%60) ve yoğun yem karması (%17 ham protein, 2700 kcal/kg ME KM) temeline dayanan rasyonla (%40) yemlenmişlerdir.

### *In vitro* Gaz Üretim Tekniğinin Uygulanması

Yem ham maddelerinin *in vitro* koşullarda değerlendirilmesi için Menke ve Steingass<sup>20</sup> tarafından bildirilen "*in vitro* gaz üretim tekniği" kullanılmıştır. Yem ham maddelerinin gaz üretim miktarları ile ME ve OMS'nin saptanmasında 100 ml hacimli özel cam tüplere (Model Fortuna, Häberle Labortechnik, Lonsee-Ettlenschieß, Germany) üç paralel olarak her bir esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve farklı dozları (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) için yaklaşık 200±10 mg yem örneği konmuştur. Daha sonra üzerine Menke ve ark.<sup>21</sup> tarafından bildirilen yöntemle göre hazırlanan rumen sıvısı/tampon çözeltisinden 30 ml ilave edilmiştir. Bu işlemden sonra tüpler 39°C'deki su banyosunda inkübasyona alınmışlar ve sırasıyla 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde fermantasyonla oluşan gaz miktarları saptanmıştır.

İnkübasyonun sonunda tüpler içerisinde kalan rumen sıvısında pH, NH<sub>3</sub> ve TUYA ile birlikte bireysel olarak asetik, propiyonik, butirik, izobutirik, valerik ve izovalerik asitleri saptanmıştır. *In vitro* ortamda fermantasyon ile oluşan karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) gazları ise inkübasyon sonunda elde edilen rumen sıvılarında yapılan UYA'den yararlanarak aşağıdaki eşitlikler ile hesaplanmıştır<sup>22</sup>.

Karbondioksit, CO<sub>2</sub> = Asetik asit/2 + Propiyonik asit/4 + 1.5 x Butirik asit

Metan, CH<sub>4</sub> = (Asetik asit + 2 x Butirik asit) - CO<sub>2</sub>

(UYA'nin konsantrasyonu mmol olarak alınmıştır)

Yemin metabolik enerji (ME) ve organik madde sindirilebilirliği (OMS) Menke ve Steingass<sup>20</sup> tarafından bildirilen aşağıdaki eşitliklerle saptanmıştır.

OMS, % = 15.38 + 0.8453 x GÜ + 0.0595 x HP + 0.0675 x HK  
ME, MJ/kg KM = 2.20 + 0.1357 x GÜ + 0.0057 x HP + 0.0002859 x HY<sup>2</sup>

(GÜ: 200 mg kuru yem örneğinin 24 saat inkübasyon süresi sonundaki net gaz üretimi, HP: % ham protein, HY: % ham yağ ve HK: % ham kül değerleri KM'de kullanılmıştır)

### Mikrobiyal Protein Üretiminin Saptanması

Gaz üretim tekniği ile rumende bakteri kaynaklı protein biyokütlesinin saptanması amacıyla Blümmel ve ark.<sup>23</sup> tarafından geliştirilen yöntemlerden yararlanılmıştır. Bu amaçla, gaz üretim tekniğinde kullanılan 100 ml hacimli özel cam tüplere üç paralel olarak her bir esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve farklı dozları (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) için yaklaşık 500±10 mg yem örneği konmuştur. Yem örnekleri üzerine 40 ml rumen sıvısı ve tampon çözelti karışımı ilave edilerek 39°C'ye ayarlanmış inkübasyon dolabında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda cam tüplerin içerikleri darası alınmış 70 ml'lik santrifüj tüplerine aktararak 21.000 g'da (14.000 rpm) 15-20 dak. santrifüj

edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte biriken sıvı kısım alınmış ve Kjeldahl metodu ile NH<sub>3</sub> analizi yapılmıştır<sup>24</sup>. Bundan sonra inkübasyon tüplerinde kalan kalıntı 60 ml NaCl çözeltisi (4 g/lit NaCl) ile iyice çalkalanmış ve 15-20 dak. tekrar santrifüj edilerek tortu üzerinde kalan sıvı kısım pipetle alınarak uzaklaştırılmıştır. Santrifüj tüpleri içerisinde kalan kalıntının ağırlığı tüpler 105°C sıcaklıkta 4 saat kurutulduktan sonra tartılarak saptanmıştır. Bunu izleyen aşamada santrifüj tüpleri içerisindeki kuru kalıntı 600 ml'lik erlenlere aktarılarak üzerine 70 ml NDF çözeltisi ilave edilmiş ve 1 saat kaynatılmıştır. Son olarak erlenler içerisindeki kalıntı, darası alınmış Gooch (por: 1) krozelerinden süzülerek kurutulmuş ve kalıntı ağırlığı saptanmıştır<sup>25</sup>. Kroze içerisindeki kalıntı Kjeldahl metodu ile azot (N) analizine tabi tutulmuş ve NDF çözeltisinde çözünmeyen N miktarı saptanmıştır. Aynı işlemler yalnız rumen sıvısı kullanılan örneklerde de tekrarlanmış ve yemlerden kaynaklanan mikrobiyal biyokitle üretimi rumen sıvısından kaynaklanan kısım düşülerek hesaplanmıştır. Cam tüpler içerisindeki mikrobiyal N (mg) ise Makkar<sup>26</sup> tarafından önerilen yöntemle hesaplanmış ve g/kg OMS'ne dönüştürülerek verilmiştir<sup>22,23</sup>.

### Kimyasal Analizler

Yonca kuru otunun kuru madde, ham kül, ham protein ve ham yağ analizi AOAC'da<sup>27</sup> bildirilen yöntemlere göre yapılmıştır. Hücre duvarı bileşenlerini oluşturan nötr deterjan lif (NDF), asit deterjan lif (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) analizi ise Van Soest ve Robertson<sup>25</sup> tarafından bildirilen yöntemlere göre ANKOM 200 Fiber Analyzer (ANKOM Technology, 2008) cihazında analiz edilmiştir.

Rumen sıvısı parametrelerinden pH dijital pH metre cihazı ile (Sartorius PB-20, Goettingen, Germany), amonyak (NH<sub>3</sub>) ise Kjeldahl metodundan yararlanarak Blümmel ve ark.'nın<sup>23</sup> bildirdikleri yöntemle göre saptanmıştır. Rumen sıvısı uçucu yağ asitleri (UYA) Wiedmeier ve ark.'nın<sup>28</sup> önerdiği yöntemle göre gaz kromatografisi (Agilent Technologies 6890N gaz kromatografisi, Stabilwax-DA, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 um df. Max. temp: 260°C. Cat. 11023) ile analiz edilmiştir.

### İstatistik Analizler

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesinde ortalamalar arasındaki farklılıkların saptanmasında varyans analizi (General Linear Model), ortalamalar arasında görülen farklılıkların önem seviyelerinin belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır<sup>29</sup>.

Araştırma tesadüf parsellerinde 3 (esansiyel yağ) x 4 (esansiyel yağ dozu) faktöriyel deneme desenine göre planlanmış ve matematik modeli aşağıda verilmiştir.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk} \text{ şeklindedir.}$$

Y<sub>ijk</sub> = i'inci esansiyel yağın j'inci esansiyel yağ dozunun 1'inci gözlem değeri

$\mu$  = Genel ortalama

$\alpha_i$  = i'inci esansiyel yağın etkisi (i = 3; 1 = KY, 2 = NY, 3 = PY)

$\beta_j$  = j'inci esansiyel yağ dozu etkisi (j = 4; 1 = 0 mg, 2 = 400 mg, 3 = 800 mg, 4 = 1200 mg/lit RS)

$\alpha\beta_{ij}$  = i'inci esansiyel yağ ile j'inci esansiyel yağ dozları arasındaki interaksiyonun etkisi

$\epsilon_{ijk}$  = Deneme hatası

## BULGULAR

Araştırmada kullanılan yonca kuru otunun kimyasal bileşimleri saptanarak *Tablo 1*'de verilmiştir. Farklı esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve dozlarının (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) *in vitro* gaz üretimi, OMS ve ME içerikleri üzerine etkileri saptanarak *Tablo 2*'de, rumen fermantasyonu üzerine etkileri *Tablo 3*'te, karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) gazı üretimi üzerine etkileri ise *Tablo 4*'te verilmiştir. Ayrıca farklı esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve dozlarının (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) GOMS ve MPÜ üzerine etkileri de saptanmış ve *Tablo 5*'te verilmiştir.

**Tablo 1.** Yonca kuru otunun kimyasal bileşimi, (KM)

**Table 1.** Chemical composition of alfalfa hay, (DM)

Yonca Kuru Otu	Besin Maddeleri Bileşimi, %
Organik maddeler	92.7
Ham kül	7.5
Ham protein	16.3
Ham yağ	3.2
NDF	48.6
ADF	36.9
ADL	8.9

## TARTIŞMA ve SONUÇ

### Yonca Kuru Otunun Kimyasal Bileşimi

*Tablo 1* incelendiğinde yonca kuru otunun organik maddeler, ham kül, ham protein, ham yağ, NDF, ADF ve ADL içerikleri saptanmış ve elde edilen veriler yonca kuru otu ile çalışan Filya ve ark.<sup>30</sup> ve Canbolat ve Karaman'ın<sup>31</sup> bildirdikleri besin maddeleri bileşimi ile benzer bulunmuştur.

### Esansiyel Yağlar ve Dozlarının *in vitro* Gaz Üretimi OMS ve ME Üzerine Etkisi

*Tablo 2*'de denemede kullanılan esansiyel yağ ve farklı dozlarının *in vitro* gaz üretimleri sırasıyla; 3, 24, 48 ve 96 saat aralıklarla saptanmıştır. Tüm inkübasyon dönemlerinde *in vitro* gaz üretimi, OMS ve ME üzerine esansiyel yağ çeşidi (KY, NY ve PY) ve dozları (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) ile interaksiyon etkileri istatistiki olarak önemli bulunmuştur (P<0.01; P<0.05). Esansiyel yağ çeşitlerinin inkübasyon süresince (96 saat) üretmiş oldukları gaz miktarı 43.2 ml ile 71.6 ml arasında değişmiştir. En yüksek gaz üretimi

**Tablo 2.** Farklı esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve dozlarının (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) *in vitro* gaz üretimi (ml), OMS ve ME içeriklerine etkisi  
**Table 2.** The effect of different essential oil (OrO, PO and OO) and doses (0, 400, 800 and 1200 mg/lit rumen liquid) supplementation on *in vitro* gas production (ml), organic matter digestibility (OMD) and metabolizable energy (ME)

Etkiler	İnkübasyon Süresi, Saat				OMS, %	ME, MJ/kg KM
	3	24	48	96		
<b>Esansiyel Yağlar</b>						
KY	13.4 <sup>b</sup>	45.9 <sup>c</sup>	52.4 <sup>c</sup>	59.4 <sup>c</sup>	55.6 <sup>c</sup>	8.5 <sup>b</sup>
NY	13.8 <sup>b</sup>	48.7 <sup>b</sup>	56.4 <sup>c</sup>	63.6 <sup>b</sup>	58.1 <sup>b</sup>	8.9 <sup>b</sup>
PY	15.1 <sup>a</sup>	53.7 <sup>a</sup>	61.2 <sup>a</sup>	68.2 <sup>a</sup>	62.3 <sup>a</sup>	9.6 <sup>a</sup>
SH	0.264	0.344	0.260	0.317	0.291	0.047
ÖS	*	*	*	*	*	**
<b>Doz</b>						
0	18.2 <sup>a</sup>	59.2 <sup>a</sup>	68.3 <sup>a</sup>	75.1 <sup>a</sup>	66.9 <sup>a</sup>	10.3 <sup>a</sup>
400	15.5 <sup>b</sup>	54.2 <sup>b</sup>	60.6 <sup>b</sup>	68.8 <sup>b</sup>	62.7 <sup>b</sup>	9.7 <sup>b</sup>
800	12.8 <sup>c</sup>	47.2 <sup>c</sup>	53.0 <sup>c</sup>	59.3 <sup>c</sup>	56.8 <sup>c</sup>	8.7 <sup>c</sup>
1200	10.1 <sup>d</sup>	37.2 <sup>d</sup>	44.8 <sup>d</sup>	51.6 <sup>d</sup>	48.2 <sup>d</sup>	7.3 <sup>d</sup>
SH	0.309	0.397	0.301	0.366	0.337	0.053
ÖS	*	*	*	*	*	*
<b>Esansiyel Yağ x Doz</b>						
0	18.2 <sup>a</sup>	59.2 <sup>a</sup>	68.3 <sup>a</sup>	74.2 <sup>a</sup>	66.9 <sup>a</sup>	10.3 <sup>a</sup>
400	14.9 <sup>d</sup>	52.3 <sup>d</sup>	57.5 <sup>e</sup>	67.6 <sup>c</sup>	61.1 <sup>d</sup>	9.4 <sup>e</sup>
800	11.6 <sup>g</sup>	42.1 <sup>f</sup>	46.8 <sup>g</sup>	52.5 <sup>f</sup>	52.5 <sup>f</sup>	8.0 <sup>g</sup>
1200	8.8 <sup>h</sup>	29.8 <sup>h</sup>	36.9 <sup>i</sup>	43.2 <sup>h</sup>	42.0 <sup>h</sup>	6.3 <sup>i</sup>
400	15.5 <sup>c</sup>	53.9 <sup>c</sup>	59.8 <sup>c</sup>	67.3 <sup>c</sup>	62.4 <sup>c</sup>	9.6 <sup>c</sup>
800	12.2 <sup>f</sup>	46.2 <sup>e</sup>	53.3 <sup>f</sup>	60.3 <sup>e</sup>	55.9 <sup>e</sup>	8.6 <sup>f</sup>
1200	9.3 <sup>h</sup>	35.6 <sup>g</sup>	44.2 <sup>h</sup>	51.2 <sup>g</sup>	46.9 <sup>g</sup>	7.1 <sup>h</sup>
400	16.2 <sup>b</sup>	56.3 <sup>b</sup>	64.4 <sup>b</sup>	71.6 <sup>b</sup>	64.4 <sup>b</sup>	9.9 <sup>b</sup>
800	13.7 <sup>e</sup>	53.2 <sup>cb</sup>	59.1 <sup>d</sup>	65.3 <sup>d</sup>	61.9 <sup>cd</sup>	9.5 <sup>d</sup>
1200	12.2 <sup>f</sup>	46.3 <sup>e</sup>	53.2 <sup>f</sup>	60.3 <sup>e</sup>	55.9 <sup>e</sup>	8.6 <sup>f</sup>
SH	0.535	0.688	0.521	0.635	0.584	0.092
ÖS	*	*	*	*	**	*

KY: Kekik yağı; NY: Nane yağı; PY: Portakal yağı; OMS: Organik madde sindirimi; ME: Metabolik enerji; SH: Standart hata; ÖS: Önem seviyesi (\* P<0.05, \*\* P<0.01)

ise esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda (74.2 ml), en düşük ise 1200 mg/lit RS KY grubunda (43.2 ml) saptanmıştır. Gaz üretimi üzerine esansiyel yağ çeşitlerinin etkisi incelendiğinde ise 68.2 ml ile PY'nda, NY ve KY'na göre istatistik olarak yüksek bulunmuştur (P<0.05). Kekik yağı *in vitro* gaz üretimi üzerine en etkili esansiyel yağ olup, *in vitro* gaz üretimini önemli düzeyde düşürmüştür (P<0.01; P<0.05). En yüksek *in vitro* gaz üretimi 75.1 ml ile esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda saptanmış ve yağ dozlarının artışına bağlı olarak *in vitro* gaz üretimi azalmıştır. En etkili doz ise 1200 mg/lit RS KY bulunan doz (51.6 ml) olmuştur. Rumen sıvısına ilave edilen KY, NY ve PY dozunun artışına bağlı olarak *in vitro* gaz üretimindeki azalma, bu esansiyel yağlar ve aktif bileşenlerinin antimikrobiyal özellik göstermesi<sup>5,7,11,32</sup> ve bunun sonucu olarak, rumen mikroorganizmaları sayısının azalmasına bağlı olarak fonksiyonlarının sınırlaması<sup>15,18</sup> ile açıklanabilir. Yapılan bir-

çok çalışmada da<sup>7,8,18,32</sup> esansiyel yağ ve dozlarının artışına bağlı olarak *in vitro* gaz üretiminin azaldığı bildirilmektedir. Bu araştırmalardan elde edilen bulgular da, yapılan araştırma bulgularını desteklemektedir.

Esansiyel yağların yonca kuru otunun OMS'ne etkisi saptanmış ve elde edilen sonuçlar %64.4 ile 42.0 arasında değişmiştir. En yüksek OMS'i esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda (%66.9), en düşük ise 1200 mg/lit RS'na KY ilave edilen grupta (%42.0) saptanmıştır. Esansiyel yağ çeşitlerinin OMS'i üzerine etkisi incelendiğinde KY'nın OMS'ni en fazla olumsuz etkilediği saptanmış ve bunu sırasıyla NY ve PY'ları izlemiştir. Esansiyel yağ dozlarının OMS'i üzerine etkileri incelendiğinde ise en yüksek %66.9 ile esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda bulunurken, esansiyel yağ dozlarının artışına bağlı olarak OMS'ni düşürmüştür. En etkili doz ise 1200 mg/lit RS dozu (%48.2)

**Tablo 3.** Farklı esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve dozlarının (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) rumen fermantasyonu üzerine etkileri**Table 3.** The effect of different essential oil (OrO, PO and OO) and doses (0, 400, 800 and 1200 mg/lit rumen liquid) supplementation on rumen fermentation

Etkiler	UYA, mmol/lit					AA/PA	pH	NH <sub>3</sub> N
	TUYA	AA	PA	BA	DUYA			
<b>Esansiyel Yağ</b>								
KY	91.5 <sup>b</sup>	53.1 <sup>a</sup>	20.7 <sup>a</sup>	14.3 <sup>c</sup>	3.4 <sup>b</sup>	2.5 <sup>a</sup>	6.5 <sup>b</sup>	23.0 <sup>b</sup>
NY	93.0 <sup>ab</sup>	53.5 <sup>a</sup>	20.1 <sup>a</sup>	15.8 <sup>b</sup>	3.7 <sup>b</sup>	2.7 <sup>a</sup>	6.6 <sup>ab</sup>	24.1 <sup>b</sup>
PY	95.5 <sup>a</sup>	53.6 <sup>a</sup>	20.4 <sup>a</sup>	16.8 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>	6.7 <sup>a</sup>	25.8 <sup>a</sup>
SH	0.427	0.286	0.199	0.156	0.083	0.028	0.028	0.275
ÖS	*	öd	öd	*	*	öd	**	**
<b>Doz</b>								
0	112.6 <sup>a</sup>	68.4 <sup>a</sup>	23.5 <sup>a</sup>	17.4 <sup>a</sup>	3.4 <sup>c</sup>	2.9 <sup>a</sup>	6.4 <sup>c</sup>	31.2 <sup>a</sup>
400	94.3 <sup>b</sup>	52.4 <sup>b</sup>	19.6 <sup>b</sup>	17.5 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	2.7 <sup>ab</sup>	6.5 <sup>bc</sup>	26.4 <sup>b</sup>
800	89.9 <sup>c</sup>	50.1 <sup>c</sup>	20.2 <sup>b</sup>	15.8 <sup>c</sup>	3.8 <sup>b</sup>	2.5 <sup>ab</sup>	6.6 <sup>b</sup>	21.8 <sup>c</sup>
1200	76.6 <sup>d</sup>	42.7 <sup>d</sup>	18.5 <sup>c</sup>	11.8 <sup>c</sup>	3.6 <sup>bc</sup>	2.3 <sup>b</sup>	6.8 <sup>a</sup>	17.9 <sup>d</sup>
SH	0.493	0.329	0.230	0.180	0.097	0.032	0.032	0.318
ÖS	*	*	**	*	**	*	**	*
<b>Esansiyel Yağ x Doz</b>								
0	112.6 <sup>a</sup>	68.4 <sup>a</sup>	23.5 <sup>a</sup>	17.4 <sup>c</sup>	3.4 <sup>e</sup>	2.9 <sup>a</sup>	6.4 <sup>f</sup>	31.2 <sup>a</sup>
400	91.2 <sup>d</sup>	52.2 <sup>c</sup>	19.3 <sup>de</sup>	15.6 <sup>e</sup>	4.1 <sup>c</sup>	2.7 <sup>bc</sup>	7.4 <sup>a</sup>	24.5 <sup>d</sup>
800	88.7 <sup>f</sup>	49.6 <sup>e</sup>	20.8 <sup>b</sup>	14.9 <sup>f</sup>	3.4 <sup>e</sup>	2.4 <sup>ef</sup>	6.6 <sup>d</sup>	19.3 <sup>f</sup>
1200	73.5 <sup>i</sup>	42.1 <sup>g</sup>	19.3 <sup>e</sup>	9.4 <sup>h</sup>	2.7 <sup>f</sup>	2.2 <sup>g</sup>	6.8 <sup>b</sup>	17.1 <sup>g</sup>
400	92.8 <sup>c</sup>	51.8 <sup>c</sup>	18.8 <sup>f</sup>	18.0 <sup>b</sup>	4.2 <sup>c</sup>	2.8 <sup>ab</sup>	6.6 <sup>d</sup>	26.6 <sup>c</sup>
800	90.5 <sup>de</sup>	50.4 <sup>d</sup>	19.7 <sup>cd</sup>	16.7 <sup>d</sup>	3.7 <sup>d</sup>	2.6 <sup>cd</sup>	6.5 <sup>e</sup>	21.4 <sup>e</sup>
1200	76.1 <sup>h</sup>	43.4 <sup>f</sup>	18.5 <sup>f</sup>	10.9 <sup>g</sup>	3.3 <sup>e</sup>	2.3 <sup>fg</sup>	6.8 <sup>b</sup>	17.4 <sup>g</sup>
400	98.9 <sup>b</sup>	53.4 <sup>b</sup>	20.6 <sup>b</sup>	19.0 <sup>a</sup>	5.9 <sup>a</sup>	2.6 <sup>cd</sup>	6.7 <sup>c</sup>	28.3 <sup>b</sup>
800	90.3 <sup>e</sup>	50.4 <sup>d</sup>	20.0 <sup>c</sup>	15.8 <sup>e</sup>	4.2 <sup>c</sup>	2.5 <sup>de</sup>	6.8 <sup>b</sup>	24.7 <sup>d</sup>
1200	80.2 <sup>g</sup>	42.5 <sup>g</sup>	17.7 <sup>g</sup>	15.1 <sup>f</sup>	4.9 <sup>b</sup>	2.4 <sup>ef</sup>	6.8 <sup>b</sup>	19.1 <sup>f</sup>
SH	0.854	0.571	0.399	0.312	0.167	0.056	0.057	0.551
ÖS	*	*	**	*	**	*	*	*

UYA: Uçucu yağ asidi; TUYA: Toplam uçucu yağ asidi; AA: Asetik asit; PA: Propiyonik asit; BA: Butirik asit; DUYA: Diğer uçucu yağ asitleri; AA/PP: Asetik asit/Propiyonik asit; NH<sub>3</sub>N: mg 100 ml<sup>-1</sup>; SH: Standart hata; ÖD: Önemli değil; ÖS: Önem seviyesi (\* P<0.05; \*\* P<0.01)

olmuştur (P<0.05). Sonuçlar esansiyel yağların yonca kuru otu ME düzeyine etkisi açısından değerlendirildiğinde ise hem esansiyel yağ çeşidi hemde dozlarının artışına bağlı olarak değiştiği saptanmıştır (P<0.01; P<0.05). Yonca kuru otunun ME içeriği esansiyel yağ ve dozlarına bağlı olarak 6.3 ile 9.7 MJ/kg KM arasında değişmiştir. Esansiyel yağ çeşitlerinden KY ve NY ME üzerine aynı etkiyi gösterirken, PY'nda daha yüksek (9.6 MJ/kg KM) ME saptanmıştır. En yüksek ME esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda 10.3 MJ/kg KM, en düşük ise 7.3 MJ/kg KM ile 1200 mg/lit esansiyel yağ dozu grubunda bulunmuştur.

Esansiyel yağ çeşidi ve dozlarının artışına bağlı olarak OMS ve ME içeriğindeki düşüş rumen fermantasyonunun sınırlanması 5,7,33 başta olmak üzere, hesaplamada kullanılan yöntemlerden kaynaklandığı söylenebilir. Organik madde sindirimi ve ME değerlerinin hesaplanmasında 24. saatte üretilen gaz miktarının kullanımı OMS ve ME düzeyinde farklılığa neden olmuştur. Esansiyel yağ çeşidi ve doz-

larının artması antimikrobiyal etki 7,31,34 göstererek *in vitro* gaz üretimini (Tablo 2) düşürmesi OMS ve ME içeriğini düşürmüştür. McIntosh ve ark.<sup>35</sup> esansiyel yağların rumende UYA'ni düşürdüğü, bu yolla sellüloolitik enzim aktivitesi azaldığı bu yolla yemlerin sindirimini düşüğünü bildirmişlerdir. Araştırmada saptanan OMS düzeyi ile ME içerikleri KY ile çalışan Canbolat<sup>18</sup>, Bozkurt ve ark.<sup>19</sup>, Martinez ve ark.<sup>36</sup> ile NY ile çalışan Benchaar ve ark.'nın<sup>7</sup> bulgularıyla benzer bulunmuştur. Yemlerin OMS ile ME'si üzerine etkili esansiyel yağ çeşidi KY olurken, bunu NY ve PY izlemiştir. Simitzis ve ark.<sup>37</sup> da KY ve NY'nin yem tüketimi ve değerlendirmesi üzerine PY'dan daha fazla olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir (P<0.001).

#### Esansiyel Yağlar ve Dozlarının Rumen Fermantasyonuna Etkisi

Tablo 3'te verilen rumen sıvısı parametrelerinde TUYA ile AA, PA ve BA içerikleri üzerine, esansiyel yağ çeşidi (KY,



**Tablo 4.** Farklı esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve dozlarının (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) gazı üretimi üzerine etkileri

**Table 4.** The effect of different essential oil (OrO, PO and OO) and doses (0, 400, 800 and 1200 mg/lit rumen liquid) supplementation on carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and methane (CH<sub>4</sub>)

Etkiler	Gaz Üretimi, mmol/lit	
	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>
<b>Esansiyel Yağ</b>		
KY	53.2 <sup>b</sup>	28.5 <sup>b</sup>
NY	55.4 <sup>a</sup>	29.6 <sup>a</sup>
PY	57.1 <sup>a</sup>	30.1 <sup>a</sup>
SH	0.298	0.167
ÖS	*	**
<b>Doz</b>		
0	66.1 <sup>a</sup>	37.0 <sup>a</sup>
400	57.4 <sup>b</sup>	30.1 <sup>b</sup>
800	53.8 <sup>c</sup>	27.9 <sup>c</sup>
1200	43.6 <sup>d</sup>	22.6 <sup>d</sup>
SH	0.344	<b>0.193</b>
ÖS	*	*
<b>Esansiyel Yağ x Doz</b>		
0	66.1 <sup>a</sup>	37.0 <sup>a</sup>
400	54.4 <sup>e</sup>	29.1 <sup>d</sup>
800	52.3 <sup>f</sup>	27.1 <sup>g</sup>
1200	39.9 <sup>i</sup>	20.9 <sup>j</sup>
400	57.6 <sup>c</sup>	30.2 <sup>c</sup>
800	55.3 <sup>d</sup>	28.7 <sup>e</sup>
1200	42.7 <sup>h</sup>	22.5 <sup>i</sup>
400	60.3 <sup>b</sup>	31.0 <sup>b</sup>
800	53.9 <sup>e</sup>	28.1 <sup>f</sup>
1200	48.3 <sup>g</sup>	24.4 <sup>h</sup>
SH	0.596	0.334
ÖS	*	*

CO<sub>2</sub>: Karbondioksit; CH<sub>4</sub>: Metan; SH: Standart hata; ÖS: Önem seviyesi (\* P<0.05)

NY ve PY ile dozları (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) önemli düzeyde etkide bulunmuştur (P<0.01; P<0.05). Araştırmada kullanılan esansiyel yağ ve dozlarına bağlı olarak TUYA, AA, PA ve BA düzeyleri sırasıyla; 73.5-112.6, 42.1-68.4, 17.7-23.5 ve 9.4-17.4 mmol/lit arasında değişmiştir. Rumen sıvısı UYA esansiyel yağ çeşidi ve dozlarına bağlı olarak önemli düzeyde azalmıştır. En etkili esansiyel yağ KY olmuş ve bunu sırasıyla NY ve PY izlemiştir. Uçucu yağ asitlerinin azalması üzerine en etkili olan esansiyel yağ dozu 1200 mg/lit RS olmuş ve dozlar arası farklılıklar istatistiki önemli bulunmuştur (P<0.01; P<0.05).

Rumen sıvısı UYA'nde ki azalma esansiyel yağların rumen mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal <sup>3,6-8</sup> etkileri sonucu faaliyetlerinin azalmasına bağlanabilir. Busquet ve ark.'nın <sup>38</sup> *in vitro* koşullarda yapmış oldukları bir ça-

**Tablo 5.** Farklı esansiyel yağ (KY, NY ve PY) ve dozlarının (0, 400, 800 ve 1200 mg/lit RS) GOMS ve MPÜ üzerine etkileri

**Table 5.** The effect of different essential oil (OrO, PO and OO) and doses (0, 400, 800 and 1200 mg/lit rumen liquid) supplementation on truly organic matter digestibility (TOMD) and microbial protein production (MPP)

Etkiler	GOMS, %	MPÜ, g/kg OMS
<b>Esansiyel Yağ</b>		
KY	59.1 <sup>b</sup>	86.3 <sup>c</sup>
NY	61.8 <sup>ab</sup>	92.4 <sup>b</sup>
PY	63.3 <sup>a</sup>	99.5 <sup>a</sup>
SH	0.252	0.585
ÖS	**	*
<b>Doz</b>		
0	69.4 <sup>a</sup>	115.4 <sup>a</sup>
400	66.5 <sup>a</sup>	104.3 <sup>b</sup>
800	59.8 <sup>c</sup>	84.6 <sup>c</sup>
1200	50.0 <sup>d</sup>	66.8 <sup>d</sup>
SH	0.232	0.676
ÖS	*	*
<b>Esansiyel Yağ x Doz</b>		
0	69.4 <sup>a</sup>	115.4 <sup>a</sup>
400	64.4 <sup>d</sup>	99.0 <sup>d</sup>
800	57.2 <sup>g</sup>	77.4 <sup>h</sup>
1200	45.6 <sup>j</sup>	53.6 <sup>i</sup>
400	67.0 <sup>c</sup>	104.4 <sup>c</sup>
800	59.9 <sup>f</sup>	85.5 <sup>f</sup>
1200	50.9 <sup>i</sup>	64.5 <sup>i</sup>
400	68.1 <sup>b</sup>	109.4 <sup>b</sup>
800	62.2 <sup>e</sup>	90.9 <sup>e</sup>
1200	53.6 <sup>h</sup>	82.5 <sup>g</sup>
SH	0.501	1.171
ÖS	*	*

GOMS: Gerçek organik madde sindirimi; MPÜ: Mikrobiyal protein üretimi; SH: Standart hata; ÖS: Önem seviyesi (\* P<0.05; \*\* P<0.01)

İşmada karvakrol düzeyinin (300 mg/lit RS) artışının rumen pH ve BA düzeyini artırdığı, TUYA ile AA ve PA oranını ise düşürdüğünü bildirmişlerdir. Garcia ve ark.<sup>32</sup> da 500 mg/lit RS düzeyinde ilave edilen karvakrolün rumen sıvısı UYA'ni önemli düzeyde düşürdüğünü bildirmişlerdir (P<0.001). Ayrıca Busquet ve ark.<sup>6</sup> *in vitro* koşullarda yaptıkları bir çalışmada, KY dozunun artışına (3, 30, 300 ve 3000 mg/lit RS) bağlı olarak TUYA ile AA düzeyinde azalma, PA ve BA düzeyinde ise oransal olarak artış meydana geldiğini belirlemişlerdir. Castillejos ve ark.<sup>39</sup> ise KY aktif bileşenlerinden timol'ün farklı dozlarının (5, 50, 500 ve 5.000 mg/lit RS) TUYA'ni %28.5, amonyağı %31, PA'ı ise %18.4 oranında azalttığını, buna karşın AA/PA oranını ise %35.5 artırdığını saptamışlardır. Aynı parametreler Kamalak ve ark.'nın <sup>40</sup> bulguları tarafından da desteklenmiştir. Agarwal ve ark.<sup>32</sup> da rumen sıvısına NY ilavesinin AA oranını artırdığı, PA oranını ise düşürdüğünü bildirmişlerdir. Söz

konusu çalışmalardan elde edilen bulguların, araştırmadan elde edilen bulguları desteklediği ve benzer bulunduğu söylenebilir.

Araştırmada saptanan AA/PA oranı, esansiyel yağ çeşidi ve dozlarına bağlı olarak 2.7 ile 2.2 arasında değişmiş ve deneme grupları arasındaki farklılıklar esansiyel yağ çeşitleri dışında önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En yüksek AA/PA oranı esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda, en düşük ise 1.200 mg KY/lt RS'nin olduğu esansiyel yağ grubunda saptanmıştır. Araştırmada saptanan AA/PA oranı Castillejos ve ark.'nın <sup>39</sup> saptadıkları değerlerden daha düşük (3.55-3.66) bulunurken, sarımsak yağı ile çalışan Calsamiglia ve ark.'nın <sup>5</sup> saptadıkları değerler ile benzer saptanmıştır. Araştırmada saptanan AA/PA oranındaki düşüş denemede kaba yem kullanımına bağlı olarak artması gereken AA üreten mikroorganizmaların sayısının azalmasının bir sonucu olduğu söylenebilir <sup>5</sup>.

Rumen sıvısı pH düzeyi ise esansiyel yağ çeşidi ve dozlarına bağlı olarak 6.5 ile 7.4 arasında değişmiş ve esansiyel yağ çeşit ile dozları arası farklılıklar istatistiki önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). En düşük pH esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda, en yüksek ise 1200 mg/lt RS KY'nin bulunduğu grupta saptanmıştır. Esansiyel yağ dozunun artması rumen pH'sını artırmıştır. Esansiyel yağ dozunun artışına bağlı olarak pH'daki artış, rumende asit ortamının kaynağını oluşturan UYA'nın azalması ile açıklanabilir (Tablo 3). Araştırmada saptanan pH farklı esansiyel yağlar ile çalışan Castillejos ve ark.<sup>39</sup> ve Calsamiglia ve ark.<sup>5</sup> ile KY ile çalışan Busquet ve ark.<sup>38</sup> ve Canbolat ve ark.'nın <sup>8</sup> bulguları ile benzer bulunmuştur.

Rumen sıvısı NH<sub>3</sub> düzeyi esansiyel yağ çeşidi ve dozlarını artışına bağlı olarak önemli düzeyde azalmıştır ( $P < 0.01$ ;  $P < 0.05$ ). Amonyak düzeyi esansiyel yağ çeşidi ve dozlarına bağlı olarak 17.1 ile 31.2 mg N/100 ml arasında değişmiştir. En yüksek NH<sub>3</sub> esansiyel yağ bulunmayan kontrol grubunda, en düşük ise 17.1 mg N/100 ml ile 1200 mg/lt RS KY bulunan grupta saptanmıştır. Rumen sıvısı NH<sub>3</sub> düzeyindeki azalma rumen mikroorganizmalarının azalmasına bağlı olarak amino asit deaminasyonunun önlenmesinden kaynaklandığı söylenebilir <sup>35</sup>. Bu durum ruminantlarda NH<sub>3</sub> şeklinde azot kaybının önleyeceği, yemlerin enerji ve azotundan yararlanmayı artıracığı ve ayrıca atmosfere CH<sub>4</sub> ve NH<sub>3</sub> gazı salınımını azaltarak çevre kirliliğini önleyeceği de bildirilmektedir <sup>5,41</sup>. Wallace ve ark.<sup>13</sup> rumende NH<sub>3</sub> üretiminin düşmesinin besleme açısından yararlı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada saptanan NH<sub>3</sub> farklı KY dozları (0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/lt RS) ile çalışan Busquet ve ark.'nın <sup>38</sup> bulgularından yüksek, farklı timol dozları (0, 5, 50, 500 ve 5.000 mg/lt RS) ile çalışan Castillejos ve ark.'nın <sup>39</sup> bulguları ile benzer bulunmuştur. Busquet ve ark.<sup>6</sup> rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3.000 mg/lt RS KY ilavesinin NH<sub>3</sub> düzeyini %30 ile %50 arasında azaldığını bildirmişlerdir. Her iki araştırmacı da, esansiyel yağ dozu artışına bağlı olarak NH<sub>3</sub> azotu üretiminin azaldığını bildirmişlerdir. Nane yağı ile çalışan Agarwal

ve ark.<sup>32</sup> da rumen sıvısına ilave edilen NY'nin amonyakı düşürdüğünü bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar araştırma bulgularını desteklemektedir.

### **Esansiyel Yağlar ve Farklı Dozlarının Karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve Metan (CH<sub>4</sub>) Gazı Üretimi**

Rumen sıvısı UYA'larından yararlanarak saptanan CO<sub>2</sub> düzeyi esansiyel yağ çeşidi ile dozlarını artışına bağlı olarak önemli düzeyde azalmıştır ( $P < 0.05$ ). Karbondioksit üretimi esansiyel yağ çeşidi ve dozlarına bağlı olarak 39.9 ile 60.3 mmol/lt arasında değişmiştir. En yüksek CO<sub>2</sub> üretimi esansiyel yağ bulunmayan kontrol grubunda (66.1 mmol/lt), en düşük ise 39.9 mmol/lt ile 1.200 mg/lt RS KY bulunan grupta saptanmıştır.

Metan gazı üretimi ise esansiyel yağ çeşidi ve dozlarına bağlı olarak 20.9 ile 31.0 mmol/lt arasında değişmiştir. Esansiyel yağ çeşidi ve dozlarının artışı (0, 400, 800 ve 1.200 mg/lt RS) CH<sub>4</sub> gazı üretimini azaltmış ve gruplar arası farklılıklar istatistiki önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Karbondioksit ve CH<sub>4</sub> gazı rumen ortamında yemlerin fermentasyonu sonucu oluşan UYA ile hidrojen iyonlarını (H<sup>+</sup>) kullanan metajenik bakteriler tarafından üretilmektedir <sup>6</sup>. Metajenik bakteriler de diğer rumen bakterilerinde olduğu gibi esansiyel yağların antimikrobiyal özelliğinden zarar görebilir sayıları azalmakta <sup>7,11,32</sup>, bu yolla rumen sıvısında UYA oluşumu ile birlikte CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretimi düşmektedir. Ruminant beslemede CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretiminin azaltılması önem taşıyan konuların başında gelmektedir. Yapılan çalışmalar yem enerjisinin %2-12'sinin CH<sub>4</sub> gazı şeklinde kayba uğradığını göstermektedir <sup>42</sup>. Bu gazların ayrıca küresel ısınmaya yol açtıkları da bildirilmektedir <sup>43</sup>. Metan gazının küresel ısınmaya katkısı CO<sub>2</sub> gazının 23 katı olması bakımından da önemlidir <sup>44</sup>. Hayvancılık sektörünün CH<sub>4</sub> gazı yayılımına katkısı yılda 80-115 milyon ton olup, bu insan kaynaklı CH<sub>4</sub> gazı üretiminin %15-20'sini oluşturmaktadır <sup>45</sup>. Metan gazı üretimine diğer çiftlik hayvanları ile karşılaştırıldığında ruminantların payının ise %18 olduğu bildirilmektedir <sup>43</sup>. Ruminantların neden oldukları sera gazının azaltılması bakımından esansiyel yağların önemli bir kaynak olacağı söylenebilir.

Evans ve Martin <sup>11</sup> rumen sıvısına 400 µg/ml düzeyinde timol, Canbolat ve ark.<sup>8</sup> ise 800 mg/lt RS KY'nin ilavesinin CH<sub>4</sub> gazı üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Agarwal ve ark.<sup>32</sup> ise NY'nin CH<sub>4</sub> gazı üretimi üzerine etkisini saptamak için 0.33, 1.0 ve 2.0 µl/ml NY RS'na ilavesinin CH<sub>4</sub> gazı üretimini NY dozuna bağlı olarak sırasıyla; %19.9, %46.0 ve %75.6 azaldığını ( $P < 0.001$ ) bildirmişlerdir. Busquet ve ark.<sup>6</sup> da rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/lt RS KY ilavesinin, KY dozunun artışına bağlı olarak CH<sub>4</sub> gazı üretiminin azaldığını saptamışlardır. Araştırmada saptanan CH<sub>4</sub> gazı üretimi Moss <sup>46</sup> ve Eun ve ark.'nın <sup>47</sup> koyunlarda saptadığı 31-33 ml/g CH<sub>4</sub> KM ile Agarwal ve ark.'nın <sup>32</sup> mandalalarda saptadıkları CH<sub>4</sub> gazı üretimi ile benzer bulunurken, Blümmel ve ark.<sup>22</sup> saptadıkları değerlerden daha yüksek saptanmıştır.

### Esansiyel Yağlar ve Dozlarının GOMS ve MPÜ Üzerine Etkisi

Esansiyel yağların yonca kuru otunun GOMS'ne etkisi %45.6 ile %69.4 arasında değişmiştir (Tablo 5). En yüksek GOMS'i esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda (%69.4), en düşük ise 1.200 mg/lit RS KY'na ilave edilen grupta (%45.6) saptanmıştır. Esansiyel yağların GOMS'ne etkisi incelendiğinde, KY'nın en fazla olumsuz etkileyen esansiyel yağ olduğu, bunu sırasıyla NY ve PY'ları izlemiştir. En yüksek GOMS'i %63.3 ile PY'nda saptanmıştır. Esansiyel yağ dozları incelendiğinde ise %66.9 ile esansiyel yağ içermeyen grupta en yüksek, en düşük ise 1.200 mg KY/lit RS dozunda (%50.0) bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Gerçek organik madde sindirimi yonca kuru otu ile çalışan Karabulut ve ark.<sup>48</sup> ve Kamalak ve ark.<sup>40</sup> ile Bozkurt ve ark.'nın<sup>19</sup> bulguları ile benzer olduğu da saptanmıştır.

Mikrobiyal protein üretimi (mikrobiyal biokitle) ise esansiyel yağ çeşidi ve dozlarına bağlı olarak 53.6 ile 109.4 g/kg OMS arasında değişmiştir. Esansiyel yağ çeşidi ve dozlarının artışına (0, 40, 800 ve 1.200 mg/lit RS) bağlı olarak MPÜ azalmış ve esansiyel yağ grupları arasındaki farklılıklar istatistiki önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Esansiyel yağ çeşitleri incelendiğinde 99.5 g/kg OMS ile PY'nda en yüksek MPÜ saptanırken bunu sırasıyla NY ve KY'ları izlemiştir. Mikrobiyal protein üretimi, esansiyel yağ dozları (0, 400, 800 ve 1.200 mg/lit RS) açısından sıralandığında ise en yüksek 115.4 g/kg OMS ile esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda, en düşük ise 66.8 g/kg OMS ile 1.200 mg/lit RS KY içeren grupta saptanmıştır. Esansiyel yağ dozlarının artması MPÜ'ni azaltmıştır ( $P<0.05$ ). Esansiyel yağların (KY, NY ve PY'larının) antibakteriyel, antifungal ve antiprotozoal<sup>1,37,49,50</sup> etkilere sahip olmaları rumen fermentasyonunu sınırlandırarak MPÜ'ni düşürdüğü söylenebilir. Ancak Newbold ve ark.<sup>15</sup> ise yaptıkları çalışmalarında esansiyel yağ karışımının MPÜ ile protozoa sayısını artırdığını saptamışlardır.

Esansiyel yağların MPÜ üzerine yapılmış çalışma sayısı sınırlı düzeyde olup, araştırmadan elde edilen bulgular farklı kuzu besi rasyonlarına KY ilavesi ile çalışan Canbolat'ın<sup>18</sup> bulgularından düşük bulunurken mısır kuru otu ile çalışan Blümmel ve ark.<sup>51</sup> ile farklı baklagil kaba yemleri ile çalışan Karabulut ve ark.'nın<sup>48</sup> bulguları ile benzer saptanmıştır.

Sonuç olarak, rumen sıvısına artan dozlarda KY, NY ve PY ilavesi başta *in vitro* gaz üretimi olmak üzere yemlerin OMS ve ME düzeyini önemli düzeyde düşürmüştür ( $P<0.01$ ;  $P<0.05$ ). Aynı durum rumen sıvısı metabolitleri için de geçerli olup esansiyel yağ çeşitleri ile farklı dozları rumen pH'sı dışındaki, tüm rumen fermentasyon ürünleri ile MPÜ'ni azaltmıştır. Araştırmada saptanan tüm parametreler üzerine etkili olan esansiyel yağın KY olduğu, bunu sırasıyla NY ve PY'nın izlediği söylenebilir. En etkili esansiyel yağ dozlarının ise 1.200 mg/lit RS dozu olduğu saptanmıştır. Araştırmadan elde edilen bulgular, yapılan diğer araştırma bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, rumi-

nant hayvanların verim performansını düşürmeden kullanılacak esansiyel yağ dozlarının düşük tutulması gerektiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca esansiyel yağların ruminant beslemede kullanımına yönelik çalışma sayısı artmasına rağmen, konu henüz yeterince aydınlatılmamıştır. Yapılan çalışmaların çoğu *in vitro* koşullarda yürütülmüş olup konunun daha iyi aydınlatılabilmesi için daha çok sayıda *in vitro* ve *in vivo* çalışmalara gereksinim duyulduğu söylenebilir.

### KAYNAKLAR

- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R:** Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol*, 132, 186-201, 2007.
- Jang IS, Ko YH, Kang SY, Lee CY:** Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. *Anim Feed Sci Technol*, 134 (3-4): 304-315, 2007.
- Dorman HJD, Deans SG:** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*, 88, 308-316, 2000.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A:** Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 90, 2580-2595, 2007.
- Greathead H:** Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc Nutr Soc*, 62, 79-290, 2003.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C:** Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 89, 761-771, 2006.
- Benchaar C, Petit HV, Berthiaume R, Ouellet DR, Chiquette J, Chouinard PY:** Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J Dairy Sci*, 90, 886-897, 2007.
- Canbolat Ö, Karaman Ş, Filya İ:** Farklı Kekik Yağı Dozlarının Yemlerin Sindirimi ve Rumen Fermentasyonu Üzerine Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (6): 933-939, 2010.
- Conner DE:** Naturally occurring compounds. In, Davidson PM, Branen AL (Eds): Antimicrobials in Foods, 441-468, Dekker, New York, 1993.
- Farag RS, Badei AZM, Hewedi AFM, ElBaroty GSA:** Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *J Am Oil Chem Soc*, 66, 792-799, 1989.
- Evans JD, Martin SA:** Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr Microbiol*, 41, 336-340, 2000.
- Benchaar C, Duynisveld JL, Charmley E:** Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. *Can J Anim Sci*, 86, 91-96, 2006.
- Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh M, Teferedegne B, Newbold CJ:** Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian Australas J Anim Sci*, 15 (10): 1458-1468, 2002.
- Tekeli A, Çelik L, Kutlu HR:** Plant extract; A new rumen moderator in ruminant diets. *JOTAF*, 4 (1): 71-79, 2007.
- Newbold C J, McIntosh F M, Williams P, Losa R, Wallace R J:** Effect of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol*, 114, 105-112, 2004.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R:** Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Anim Feed Sci Technol*, 119 (1-2): 29-41, 2005.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Martin-Tereso J, Ter Wijlen H:** *In vitro* evaluation of effects of essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Anim Feed Sci Technol*, 145, 259-270, 2008.
- Canbolat Ö:** Seçmeli yemlemenin kuzularda besi performansı, karkas



özellikleri, bazı rumen sıvısı ve kan parametreleri üzerine etkileri. *Doktora Tezi*. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 2006.

**19. Bozkurt Z, Görgülü M, Çelik L:** Kekik (*Origanum vulgare*) ve çörekotu (*Nilgella sativa*) esansiyel yağı ile propolisin buğday samanının *in vitro* geçek kuru madde, organik madde ve NDF sindirilebilirliğine etkisi. *IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi*, 24-28 Haziran Bursa, 94-97, 2007.

**20. Menke KH, Steingass H:** Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim Res Develop*, 28, 9-55, 1988.

**21. Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W:** The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J Agr Sci*, 93 (1): 217-222, 1979.

**22. Blümmel M, Aiple KP, Steingass H, Becker K:** A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas evolution *in vitro* in feedstuffs of widely differing quality. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 81, 157-167, 1999.

**23. Blümmel M, Makkar HPS, Becker K:** *In vitro* gas production- A technique revised. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 77, 24-34, 1997.

**24. Makkar HPS, Becker K:** Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Anim Feed Sci Technol*, 63, 211-228, 1996.

**25. Van Soest P, Robertson JB:** A laboratory manual for animal science 612. Cornell University, Ithaca, New York, USA, 1985.

**26. Makkar HPS:** *In vitro* gas methods for evaluation of feeds containing phytochemicals. *Anim Feed Sci Technol*, 123-124, 291-302, 2005.

**27. Association of Official Analytical Chemists (AOAC):** Official Method of Analysis. 15<sup>th</sup> ed., pp. 66-88. Washington, DC, USA, 1990.

**28. Wiedmeier RD, Arambell MJ, Walters JL:** Effect of orally administered pilocarpine on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *J Dairy Sci*, 70, 284-289, 1987.

**29. Mendes M, Akkartal E:** Comparison of ANOVA F and WELCH Tests with Their Respective Permutation Versions in Terms of Type I Error Rates and Test Power. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (5): 711-716, 2010.

**30. Filya I, Karabulut A, Canbolat O, Değirmencioglu T, Kalkan H:** Bursa bölgesinde yetiştirilen yem hammaddelerinin besleme değeri ve hayvansal organizmada optimum değerlendirme koşullarının *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle saptanması üzerinde araştırmalar. *Uludağ Üniv. Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler Serisi*, No:25, 1-16, Bursa, 2002.

**31. Canbolat Ö, Karaman Ş:** Bazı baklagil kaba yemlerinin *in vitro* gaz üretimi, organik madde sindirimi, nispi yem değeri ve metabolik enerji içeriklerinin karşılaştırılması. *Tar Bil Der*, 15 (2): 188-195, 2009.

**32. Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC, Karma DN:** Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim Feed Sci Technol*, 148, 321-327, 2009.

**33. Garcia V, Catala-Gregori P, Madrid J, Hernandez F, Megias MD, Andrade-Montemayor HM:** Potential of carvacrol to modify *in vitro* rumen fermentation as compared with monensin. *Animal* 1 (5): 675-680, 2007.

**34. Friedman M, Henika PR, Mandrell RE:** Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and

*Salmonella enterica*. *J Food Protect*, 65, 1545-1560, 2002.

**35. McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beever DA, Newbold CJ:** Effects of essential oil on rumenial microorganism and their protein metabolism. *Appl Environ Microbiol*, 69 (8): 5011-5014, 2003.

**36. Martinez S, Madrid J, Hernandez F, Megias MD, Sotomator JA, Jordán MJ:** Effects of thyme essential oils (*Thymus hyemalis* and *Thymus zygis*) and monensin on *in vitro* ruminal degradation and volatile fatty acid production. *J Agr Food Chem*, 54, 5698-6602, 2006.

**37. Simitzis PE, Feggeros K, Bizelis JA, Deligeorgis SG:** Behavioural reaction to essential oils dietary supplementation in sheep. *Biotech Anim Husb*, 21 (5-6): 97-103, 2005.

**38. Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C:** Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. *Anim Feed Sci Technol*, 123-124, 597-613, 2005.

**39. Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A:** Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *J Dairy Sci*, 89, 2649-2658, 2006.

**40. Kamalak A, Canbolat O, Ozkan CO, Atalay AI:** Effect of thymol on *in vitro* gas production, digestibility and metabolizable energy content of alfalfa hay. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*. 17 (2): 211-216, 2011.

**41. Tamminga S:** A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J Anim Sci*, 74, 3112-3124, 1996.

**42. Johnson KA, Johnson DE:** Methane emissions from cattle. *J Anim Sci*, 73, 2483-2492, 1995.

**43. Hu Wei-lian, Wu Yue-ming, Liu Jian-xin, Guo Yan-qiu, Ye Jun-an:** Tea saponins *in vitro* fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *J Zhejiang Univ Sci*, 6B (8): 787-792, 2005.

**44. IPCC (Intergovernment Panel on Climate Change):** Guidelines for national greenhouse gas inventories-Greenhouse gas inventory reference manual. IPCC WGI Technical Support Unit, Bracknell, UK, 1996.

**45. IPCC (Intergovernment Panel on Climate Change):** Climate change 2001. The scientific basis. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2001.

**46. Moss AR:** Environmental control of methane production by ruminants. In: Takahashi J, Young BA (Eds): Greenhouse gases and animal agriculture. pp. 67-76, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2002.

**47. Eun JS, Fellner V, Gumpertz ML:** Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermenters. *J Dairy Sci*, 87, 112-121, 2004.

**48. Karabulut A, Canbolat O, Kalkan H, Gurbuzol F, Sucu E, Filya I:** Comparison of *in vitro* gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays. *Asian Australasian J Anim Sci*, 20 (4): 517-522, 2007.

**49. Tassou C, Koutsoumanis K, Nychas GJE:** Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res Int*, 33, 273-280, 2000.

**50. Ando S, Nishida T, Ishida M, Hosoda K, Bayaru E:** Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. *Livest Prod Sci*, 82, 245-248, 2003.

**51. Blümmel M, M Gomezulu R, Chen XB, Makkar HP, Becker S:** The modification of an *in vitro* gas production test to detect roughage related differences in *in vivo* microbial protein synthesis as estimated by the excretion of purine derivatives. *J Agr Sci*, 33, 335-340, 1999.