



Derleme Makale/Review Paper

Yemlerin kalite kontrolünde mikroskopik analiz tekniğinin kullanım alanları

Usage areas of microscopy analysis technique in quality control of feeds

Habil Umur^{1*}, Erdinç Altınçekiç¹, Hülya Hanoğlu Oral², Figen Kütükoğlu¹, Pınar Manarga Birlik¹

¹Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, BURSA, TÜRKİYE

²Muş Alparslan Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, MUŞ, TÜRKİYE

(Yazar sıralamasına göre)

ORCID ID:0000-0002-9824-1165, Ziraat Yük. Müh.

ORCID ID:0000-0002-8728-3044, Ziraat Yük. Müh.

ORCID ID:0000-0003-3626-9637, Dr. Öğr. Üyesi

ORCID ID:0000-0002-3360-6485, Dr. Vet. Hek.

ORCID ID:0000-0001-8902-1796, Gıda Yük. Müh.

*Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding author: habil.umur@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi: 05.11.2021

Kabul Tarihi: 18.01.2022

Özet

Amaç: Yemlerin kalite kontrolünde kullanılan analiz tekniklerinden birisi mikroskopik analiz tekniğidir. Mikroskopik analiz tekniği, yem hammaddelerinin karakteristik özelliklerinin tanımlanmasında, hayvanlara zararlı veya toksik olan yabancı ot tohumlarının varlığının tespitinde, karma yemlerde etiket beyanının uygunluğunun doğrulanmasında ve hayvansal proteinlerin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Bu makalede, mikroskopik analiz tekniğinin yemlerin kalite kontrolünde kullanım alanları tartışılmıştır.

Sonuç: Bu teknikte yapılan 'hayvansal proteinler' ve karma yem içerisinde % bileşeni analizlerinin prosedürleri detaylı olarak anlatılmıştır. Analiz prosedürleri içerisinde, yem materyallerinin karakteristik özelliklerini tanımlamaya yardımcı olabilecek görsellere yer verilmiştir.

Anahtar kelimeler: hayvan yemleri, kalite kontrol, yem maddeleri, hayvansal protein, mikroskopik analiz

Abstract

Objective: One of the analysis techniques used in the quality control of feeds is the microscopic analysis technique. The microscopic analysis technique is used to describe the characteristic features of feedstuffs, to detect the existence of weed seeds that are harmful or toxic for animals, to verify the conformity of the label declaration in compound feeds and to determine animal proteins. In this article, the usage areas of the microscopic analysis techniques in the quality control of feeds were discussed.

Conclusion: The procedures of the analyses of the 'animal proteins' and the 'percentage ingredients of the components' in the compound feed analyzed via this technique were explained in detail. Within the analysis procedures were given visuals which might help describe the characteristic features of feed materials.

Keywords: animal feeds, quality control, feedstuffs, animal protein, microscopic analysis

1. Giriş

Yemlerin kalite özelliklerinin belirlenmesinde duyuşal, fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır (Akyıldız, 1968; Khajarern ve Khajarern, 2008). Kimyasal analizler ile yem hammaddelerindeki besin madde içerikleri ve yararlanabilirlikleri doğru ve hassas olarak belirlenebilmektedir. Ancak bu analizler genellikle zaman alıcı ve oldukça masraflıdır. Oysaki büyük yem fabrikalarında yem hammaddelerinin kabul/ret işleminin yapılması, ürünün boşaltımı ve üretim

hatlarına alınması hızlı hareket edilmesini gerektirmektedir (Islam vd., 2015; Islam vd., 2018).

Mikroskopik analiz tekniği; karma yemler içerisindeki yem hammaddelerinin türünü ve miktarını, yabancı madde, toksik ve yabancı ot tohumlarının varlığını ve bazı hayvan gruplarının yemlerine katılması yasak olan hayvansal proteinleri belirlemek amacıyla kullanılmaktadır (Islam vd., 2018). Bu teknik ayrıca Türkiye'de yemlerde ve yem hammaddelerinde mevcut standartlarda

(TS 316; TS 4715; TS 8596; TS 9278; TS 9281; TS 9310; TS 9311; TS 9312; TS 9699; TS 9979; TS 9984; TS 10052; TS 10053; TS 10428; TS 10432; TS 10433 gibi) tanımlanan yabancı maddeler ile toksik bir madde olan ürenin (TS 8477) belirlenmesi amacıyla da kullanılabilir (TSE 2015a; TSE 2014; TSE 2015b; TSE 2017b; TSE 2017c; TSE 2017d; TSE 2016a; TSE 2016b; TSE 2018; TSE 2015c; TSE 2015d; TSE 2015e; TSE 2015f; TSE 2015g; TSE 2013; TSE 2017e. TSE 2017a).

Özellikle yem fabrikalarında yem hammadde alımı sırasında iyi bir mikroskopist bu analiz tekniğini kullanarak çok kısa sürede ürünün kalitesi ile ilgili karar verebilmektedir. Mikroskopik analiz tekniğinde, güvenilir sonuçlar alabilmek için konu üzerinde uzun yıllar çalışmış ve deneyim kazanmış personel tarafından bu tekniğin kullanılması gerekmektedir (Islam vd., 2018). Ayrıca yem hammaddelerinin mikroskopik özelliklerinin tanımlandığı yem mikroskopi atlasının hazır olması yem mikroskopisi üzerine çalışacak personel için bir rehber oluşturmaktadır (Khajarein ve Khajarein, 2008).

Sığırlarda deli dana olarak bilinen bovine spongiform encephalopathy (BSE) hastalığı 1986 yılında İngiltere'de ortaya çıkmıştır. Daha sonraki yıllarda Belçika, Danimarka, Fransa, Hollanda gibi birçok Avrupa Birliği (AB) ülkesinde BSE vakalarına rastlanılmıştır. Bu hastalığın etkeni, kontamine ürünlerin tüketimi ile insanlara geçebilmekte ve Creutzfeldt-Jakob olarak bilinen hastalığa sebep olmaktadır. Bu hastalık insanlarda her zaman ölümcül değildir, fakat tedavisi de yoktur. AB ülkelerinde BSE'nin varlığı hayvansal gıda üretim zincirinde büyük bir risk oluşturmuş ve hayvan beslemede kullanılan hayvansal proteinlere yasaklama getirilmiştir (Van Raamsdonk vd., 2004; Liu vd., 2011). Ayrıca BSE sorunu ile ilgili olarak 2001 yılında yemlerde hayvansal proteinlerin tespitine yönelik metot geliştirilmesi amacıyla AB ülkeleri tarafından finanse edilen STRATFEED projesi başlatılmıştır. Bu proje kapsamında, hayvansal proteinlerin klasik mikroskopi, Real-time PCR, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) ve Near Infrared Reflectance Microscopy (NIRM) teknikleri ile belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır (Anonim, 2022). Proje sonuçları AB direktifi olarak 'Commission Regulation (EU) No 51/2013'te yayınlanmış ve direktifte sadece mikroskopik analiz tekniği ve Real-time PCR teknikleri ile ilgili yöntem ve protokollere yer verilmiştir.

Bu konu ile ilgili olarak, AB'ye uyum çerçevesinde Türkiye'de de mevzuatlar değiştirilmiştir. Türkiye'de, 'Yemlerin Piyasaya Arzı ve Kullanımı Hakkında Yönetmelik' ekinde yer alan hayvan besleme amacıyla kullanımı ve piyasaya sunumu yasaklanan ve kısıtlanan maddeler listesi, 'hayvansal proteinler (et-kemik unu, kemik unu, kan unu ve diğer kan ürünleri, tavuk unu, balık unu, hidrolize protein ve benzeri) ile hayvansal orijinli organik DCP (Dikalsiyum Fosfat) ve TCP (Tirikalsiyum Fosfat)'nin, sığır, koyun, keçi gibi geviş getiren (ruminant) hayvanlarda kullanılması ve yemlerine katılması yasaktır' şeklinde değiştirilmiştir (Anonim, 2011a). Ayrıca 'İnsan Tüketimi Amacıyla Kullanılmayan Hayvansal Yan Ürünler Yönetmeliği' 'a) Kürk hayvanları hariç karasal hayvanların, aynı türden hayvanların gövdeleri veya parçalarından elde edilen işlenmiş hayvan proteinleri, b) Geviş getiren hayvanların, süt ürünlerinden elde edilen ürünler hariç olmak üzere hayvansal proteinler, c) Çiftlik balıklarının aynı türden balık gövdeleri ve gövde parçalarından elde edilmiş işlenmiş proteinler ve d) Kanatlı hayvanların ve çiftlik balıklarının kendi türünden ve ayrıca domuzlardan elde edilen hayvansal proteinler ile beslenmesi yasaktır' şeklindedir (Anonim, 2011b).

Yemlerin mikroskopik analiz tekniğiyle incelenmesinin bir diğer kullanım alanı, yemlerin etiket beyan kontrolü ve kalite özelliklerinin belirlenmesidir. Türkiye'de 'Yemlerin Piyasaya Arzı ve Kullanımı Hakkında Yönetmelik'te, karma yemler için zorunlu özel etiketleme kuralları 'karma yemi oluşturan yem maddelerinin isimleri bileşiminin belirtildiği kısımda, karma yemdeki nem içeriği üzerinden hesaplanmış ağırlıklarına göre büyükten küçüğe doğru listelenir, bu liste yüzde miktarları üzerinden de verilebilir' şeklindedir (Anonim, 2011a).

Karma yemler içerisindeki '% bileşen' analizi, mikroskopik analiz tekniği kullanılarak yapılmaktadır (Islam vd., 2015; Islam vd., 2018). Etiket beyan kontrolünün belirlenmesinde, International Association of Feedingstuff Analysis-Section Feedingstuff Microscopy (IAG) tarafından belirtilen 'Method for the Identification and Estimation of Constituents in Animal Feedingstuff IAG-Method A2' kaynağı kullanılmaktadır (Anonim, 2007a). Bu metotta öğütülmüş karma yem örneği, üç elek fraksiyonuna ayrılmaktadır. Üstteki iki fraksiyonda yem hammaddelerinin her biri stereo mikroskop ile ayrılmakta ve ayrı ayrı tartılmakta,

alttaki elek fraksiyonunda ise Fehling indikatörü ile boyama yapılarak preparat hazırlanmaktadır. Bu preparatta da her yem hammaddesi ayrı ayrı belirlenmekte ve sayımı yapılmaktadır. Tartılan üstteki iki fraksiyon ve sayım yapılan alttaki fraksiyondan yararlanılarak karma yem içerisindeki '% bileşeni' belirlenmektedir.

2. Yemlerin kalite kontrolünde mikroskopik analiz tekniği

Yem hammaddelerinin kalitelerinin doğru biçimde belirlenmesi, fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle incelenmesi ile mümkündür (Islam vd., 2018). Kimyasal analizler hammaddelerin besin maddeleri içerikleri ve yararlanabilirlikleri hakkında, mikroskopik analiz tekniği ise yemlerin kaynağı, kontaminantların varlığı, karıştırılmış maddeler ve diğer görülebilir özellikler hakkında bilgi vermektedir. Hammaddelerin kalitelerini belirlemek için iyi bir mikroskopist uygulanacak basit ya da bileşik test işlemlerinin seçimini yapar. Seçilen test yöntemlerinin taşıdığı ya da kontaminantların etkisine bakılmaksızın yapılması önem taşımaktadır (Khajareen ve Khajareen, 2008).

Yem hammaddeleri çok farklı özellikte olabilmekte ve bu nedenle de kaliteleri çok sayıda faktöre bağlı olarak değişebilmektedir (Islam vd., 2018). Farklı kalitedeki hammaddeler ile hazırlanan karma yemlerin besin madde içeriklerinde de farklılıklar meydana gelebilmektedir. Bitkisel kökenli yem hammaddelerinin protein, selüloz ve diğer besin maddeleri içerikleri yetiştirildikleri coğrafi bölge, iklim, toprak yapısı gibi birçok etmene bağlı olarak değişmektedir (Ravn vd., 2015). Bitkilerin tohumlarındaki besin maddeleri değişimi vejetatif aksamlarından daha az olmaktadır. Hayvansal protein kaynaklarında ise bu değişim daha belirgin olabilmektedir (Islam vd., 2018). Özellikle balık unu üretiminde kullanılan balıkların türü, yaşı ve et-kemik oranı protein içeriğinin önemli ölçüde değişkenlik göstermesine neden olmaktadır (Islam vd., 2015). Et-kemik unlarının protein içerikleri ise hayvanın türü, içerdiği organ ve dokuların oranlarına bağlı olarak değişim göstermektedir. Aynı şekilde kemik oranına bağlı olarak da kalsiyum ve fosfor içeriklerinde farklılıklar ortaya çıkmaktadır (Khajareen ve Khajareen, 2008).

Karma yemlerin üretim aşamalarında hammaddelerin işleme tekniklerindeki farklılıklar, üretim sonrasında ambalajlama ve depolama işlemleri yemin kalitesinde farklılıklara neden olabilmektedir. Yemin üretim tekniğindeki

farklılıklar, mamul ya da yarı mamul olması kaliteyi etkilemektedir. Örneğin soya fasulyesi küspesinde, kabuğunun çıkarılması ve solvent ekstraksiyonu ile yüksek basınç altında üretilmesi daha yüksek ham protein ve yararlanılabilir lizin, düşük ham selüloz ve ham yağ içermesine neden olmaktadır. Islak rendering ile üretilen et unu ve kuru rendering ile parçalanarak üretilen et unu arasında renk, koku ve ham protein içeriği yönünden farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Hayvansal protein kaynaklarının içerdikleri besin maddelerinin miktarını ve kullanılabilirliğini ham madde oranı (kemik, et ve kafa), uygulanan kurutma sıcaklığı, mikrobiyal değişim, değirmende öğütme, peletlemeden önce uygulanan buhar basıncının miktarı, ekstrüzyon ve ekspansiyon gibi üretim farklılıkları etkilemektedir (Khajareen ve Khajareen, 2008). Yem hammaddeleri üretim sonrası uygunsuz ambalajlama ve depolama nedeniyle kalitelerini kaybederler ve bozulabilirler. Hammaddelerin bozulması yüksek sıcaklıkta depolama ya da taşıma sırasında olabilmektedir. Yüksek nem içeriğine sahip yemlerin depolanması bakteriyel ve fungal aktivitenin artmasına neden olabilmektedir (Islam ve Haque, 2016). Yemin üretimi aşamasında uygulanan sıcaklık, proteinlerin denatürasyonu, Maillard ya da Browning Reaksiyonu, yağların oksidasyonu gibi birçok reaksiyonun gerçekleşmesine neden olmaktadır (Khajareen ve Khajareen, 2008).

3. Yem numunesinin mikroskopik analiz tekniğine hazırlanması

Yem numunesinin mikroskopik incelemeye hazırlanması, IAG tarafından belirtilen 'Sample preparation for analysis, IAG-Method A1' kaynağına göre yapılmaktadır (Anonim, 2007b). Bu metodun prosedürü aşağıda belirtilmiştir.

3.1. Numunenin hazırlanması

Mikroskopik inceleme yapılacak numune, yem hammaddesini temsil edecek şekilde en az 100 g numune kullanılarak hazırlanmaktadır. Numuneler ürünün özelliğine göre el ile veya numune bölücü yardımıyla bölünür.

a) El ile bölme

Prosedür A

Homojen şekilde karıştırılmış numuneden birkaç ayrı noktadan spatül ya da kaşık yardımıyla küçük parçalar halinde alınır. Gerekirse birkaç analiz numunesi için bu şekilde muayene yapılabilir. Analiz numunesinden bir miktar inceleme için yedeklenir.

Prosedür B

İyice homojenize edilmiş numune düz bir zemin üzerine yayılır. Numune benzer büyüklükte dört bölüme ayrılır. Çapraz olarak konmuş bölümler birleştirilir. Bu sayede numune iki bölüme ayrılır. Gerekirse birkaç numune mikroskopik inceleme için bu şekilde elde edilebilir.

b) Örnek bölücü ile bölme

Laboratuvara gelen numune örnek bölücüye konarak istenilen sayıda örnek alınır. Bunlardan biri şahit numune olarak saklanabilir.

3.2. Numunenin küçük parçalara indirgenmesi

Mikroskopik inceleme için numunenin yapısına bağlı olarak, küçük parçalara ayrılması gerekir. Çok yağlı numunelerde aseton ile muamele edilir.

a) Peletlenmemiş yemler

İnce öğütülmüş numuneler için başka bir işlem gerekmez. Kaba numuneler en az 10 g olacak şekilde havanda dövülerek küçük parçalara ayrılır.

b) Peletlenmiş, preslenmiş yemler

Mikroskopik inceleme yapılacak ürün özelliğine göre en az 10 g olacak şekilde mekanik olarak havanda kırılır veya öğütülür.

3.3. Numunenin fraksiyonlara ayrılması

Numune materyali partikül büyüklüğü, çözünürlük veya yoğunluğa göre ayrıştırılabilir.

a) Parçacık boyutuna göre fraksiyona ayırma

Tanecik ebadına göre ayrıştırmak için elek 0,5 mm'den büyük ve küçük olmak üzere yem örneği ikiye ayrılır. Miktar verilecek çalışmalarda her birinin ağırlığı alınır.

b) Yoğunluğa göre fraksiyona ayırma

Numuneler sedimentasyon (çöktürme) ve flotasyon (yüzdürme) sıvıları ile ayrıştırılır.

4. Karma yemlerde hayvansal proteinlerin belirlenmesinde mikroskopik analiz tekniği

Karma yemlerde hayvansal proteinlerin belirlenmesi, 'Commission Regulation (EU) No 51/2013' direktifine göre yapılmaktadır (Anonim, 2013). Bu metodun prosedürü aşağıda belirtilmiştir.

4.1. Hayvansal proteinlerin mikroskopik incelenmesi

Hayvansal proteinlerde; kas lifleri ve diğer et parçaları, kıkırdak, kemik, boynuz, tüy, kan, kanat, yumurta kabuğu, balık kılçığı ve iskeleti, pul gibi tipik ve mikroskopik olarak ayırt edilebilen özellikler tanımlanmaktadır.

4.1.1. İşlemsiz mikroskopik inceleme

Hayvansal proteinlerin ön işlemsiz incelenmesinde, yem materyalleri fiziksel özelliklerine göre kırma, ezme, parçalama, öğütme gibi işlemlere tabi tutulmadan 500 µ, 1 mm ve 2 mm'lik elek setinden elenerek 3 fraksiyona ayrılır. Bu fraksiyonlar, stereo mikroskop altında 10X, 20X ve 40X büyütmelerinde incelenir.

4.1.2. İşlemlili mikroskopik inceleme

Hayvansal proteinlerin ön işlemlili incelenmesinde; yem materyalleri fiziksel özelliklerine göre kırma, ezme, parçalama, öğütme gibi işlemlere tabi tutularak flotasyon uygulanır.

Hayvansal proteinlerin mikroskopik incelenmesinde kullanılan kimyasal madde ve ekipmanların özellikleri Çizelge 1 ve Çizelge 2'de, indikatör çözeltileri ve hazırlanışları ise Çizelge 3'te verilmiştir.

Çizelge 1. Mikroskopik incelemede kullanılan kimyasal maddeler ve özellikleri

Kimyasal Adı	Formül	Katalog No	Özellikleri
Kloral hidrat	C ₂ H ₃ Cl ₃ O ₂	M.102425	%99.5 saflıkta
Tetrakloroetilen	C ₂ Cl ₄	M.100965	%99.5 saflıkta
Potasyum iyodat	KIO ₃	M.105050	%99.8 saflıkta
Alizarin kırmızısı	C ₁₄ H ₇ NaO ₇ S	M.106278	
Kurşun asetat trihidrat	C ₄ H ₆ O ₄ Pb. 3 H ₂ O	M.107372	
Sodyum hidroksit	NaOH	M.106462	%98 saflıkta
Potasyum iyodür	KI	M.105043	%99.5 saflıkta
Potasyum sodyum tartarat tetrahidrat	C ₄ H ₄ KNaO ₆ .4 H ₂ O	M.108087	%99.0 - 102.0 saflıkta
Gliserol	C ₃ H ₈ O ₃	M.356350	%99 saflıkta
Parafin		M.107160	Vizkozitesi %34.5
Aseton	C ₃ H ₆ O		Teknik
Hidroklorik asit	HCl	M.1.00317	%37.38 saflıkta, d=1.19
Etil alkol	C ₂ H ₅ OH		Teknik %99.5 saflıkta
İyot	I ₂	M.104763	
Sodyum hipoklorit	NaOCl	M.105614	%9-14 aktif klor
Norland Optik Yapıştırıcı 65			Vizkozite:1.200
Fenol	C ₆ H ₅ OH	M.100206	%99.0 - 100.5 saflıkta
Coomassie Brilliant blue	C ₄₅ H ₄₄ N ₃ NaO ₇ S ₂	M.112553	
Fosforik asit	H ₃ PO ₄	M.100573	%85saflıkta
Sudan III	C ₂₂ H ₁₆ N ₄ O	M.111747	

4.1.2.1. Sediment ve flotat hazırlama

Öğütülmüş yem materyali numunesinden 3-10 g'lık kısmı 250 ml'lik ayırma hunisine alınır ve 50 ml tetrakloroetilen eklenir. Karışım kuvvetli bir şekilde en az 30 saniye kadar çalkalanır. Çalkalama esnasında huninin iç yüzeyine yapışan parçacıklar sonradan eklenecek olan en az 50 ml tetrakloroetilen ile sıvı içine indirilir. Karışımından sedimentin ayrılması için ayırma hunisinin kapağı açılmadan en az 5 dakika beklemeye bırakılır. Bu süre sonunda sediment ve flotat 2 fraksiyona ayrılır:

1) Sediment (ayırma hunisinin dip kısmına çöken kısım) teflon musluk açılarak tüp içerisine aktarılır. Tüp içerisine ayrılan sediment etüvde kurutulur. Kurutulduktan sonra,

a) Fenol-gliserin indikatörü ile incelemede 200 ve 500 µ'luk eleklerden elenerek 200 µ elek altı ve elek üstü 2 fraksiyonda preparat hazırlanarak,

b) Alizarin kırmızısı ile boyama yapıldıktan sonra 200 ve 500 µ'luk eleklerden elenerek 200 µ elek altı ve 500 µ elek altı 2 fraksiyonda preparat hazırlanarak, ışık mikroskobunda incelenir.

2) Ayırma hunisinde tetrakloroetilen içerisindeki flotat (yüzen yem materyali) ise bir huni vasıtasıyla kaba filtre kağıdından süzülür. Ayrılan flotatın buharlaşmayla çeker ocak altında hava yolu ile kurutulması yapılır. Kurutulan flotat, 250 µ, 500 µ ve 1 mm'lik elek setinden elenerek 3 fraksiyona ayrılır. Ayrılan fraksiyonlar,

a) 500 µ ve 1 mm elek üstü fraksiyonları stereo mikroskopta makroskobik olarak,

b) 250 µ ve 500 µ elek altı fraksiyonları Fehling, Lye, Logol ve Sistin indikatörleri ile boyama yapıp preparat hazırlanarak ışık mikroskobunda histolojik olarak incelenir.

Çizelge 2. Mikroskopik incelemede kullanılan bazı ekipmanlar ve özellikleri

Ekipman Adı	Özellikleri
Hassas terazi	0.001 g hassasiyette
Öğütücü ekipman	Havan, değirmen
Elek seti	200 µ, 250 µ, 500 µ, 1 mm ve 2 mm gözenek çaplı
Stereo mikroskop	En az 6,5X-40X büyütme oranına sahip, fotoğraf ve video çekebilen
Işık mikroskobu	En az 40X-400X büyütme oranına sahip, polarize ışık verebilen, fotoğraf ve video çekebilen
Ayırma hunisi	250 ml hacimli, teflon musluklu
Standart laboratuvar cam malzemeleri	Lam, lamel vb.

4.1.2.2. Sedimentin alizarin kırmızısı ile boyanması

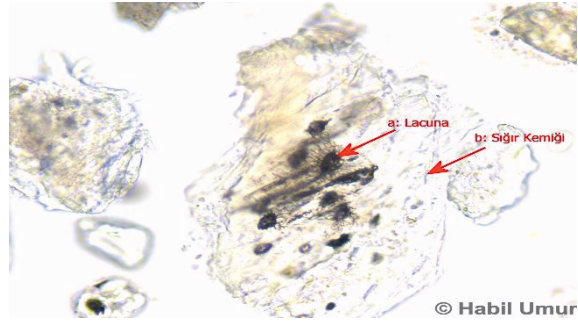
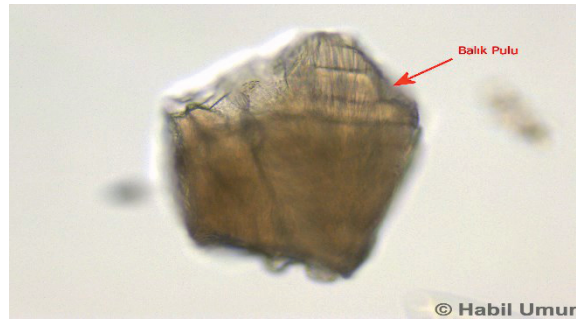
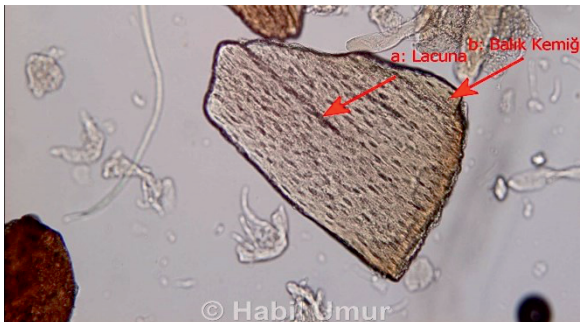
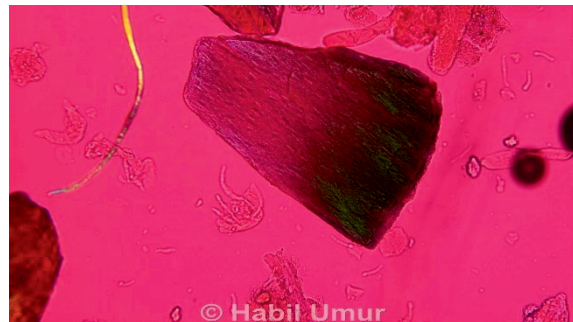
Kurutulmuş sediment test tüpüne aktarılır ve yıkama işlemi için yaklaşık 5 ml etanol ilave edilir (her seferinde 30 saniyelik bir süre vortekslenmeli ve etanolün 1,5 dakika durulması beklenmeli ve boşaltılmalıdır). Sediment en az 1 ml sodyum hipoklorid ilave edilerek ağartılır, reaksiyon gerçekleşmesi için 10 dakika beklenir. Süre sonunda test tüpü saf su ile doldurularak 2-3 dakika bekletilir, su ve yüzen parçalar nazikçe dökülerek boşaltılır. Sediment 10 ml saf su ile en az iki kere daha yıkanır (en az 30 saniye vortekslenir, çökmesi beklenir, yıkama suyu boşaltılır). Yıkanan sedimente 2 ile 10 damla arasında alizarin kırmızısı çözeltisi eklenir ve karışım vortekslenir. Reaksiyonun oluşması için 30 saniye beklenir ve boyanmış sediment yaklaşık 5 ml etanol ile iki kere yıkanır, daha sonra bir defa aseton ile yıkanır. En az 30 s vortekslenerek, 1 dakika

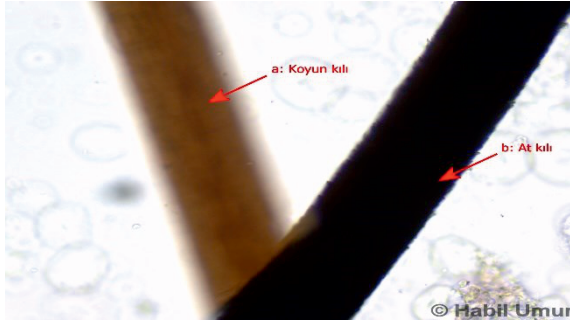
beklenir ve süre sonunda aseton boşaltılır. Boyanmış sediment etüvde kurutulur.

Karma yemlerde hayvansal proteinlerin mikroskopik analiz tekniğiyle tanımlanmasında kullanılan bazı görseller Şekil 1 - 10'da verilmiştir. Bu görseller 'TAGEM/HSGYAD/Ü/21/A3/P1/2319' numaralı 'Türkiye'de Bazı Yem Hammaddelerinin Karakteristik Özelliklerinin Mikroskopik Yöntemle Belirlenmesi ve Yem Mikroskopi Atlasının Oluşturulması' isimli projeden elde edilmiştir (Umur vd., 2021). Görsellerin üretilmesinde; LED aydınlatma sistemine sahip, alttan ve üstten beyaz ışık veren, 0,61-5,5X zoom aralığında, 10 megapiksel görüntü çözünürlüğünde kameralı görüntü sistemine sahip Leica S9 i stereo mikroskop ile 5X, 10X, 20X, 50X zoom büyütme oranına sahip, polarize ışık verebilen, 10 megapiksel görüntü çözünürlüğünde kameralı görüntü sistemine sahip Leica DM750 P polarize ışık mikroskobu kullanılmıştır.

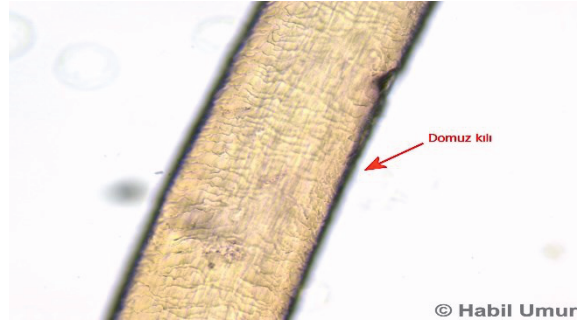
Çizelge 3. Mikroskopik incelemede kullanılan indikatör çözeltileri ve hazırlanışı

İndikatör Adı	Hazırlanışı
Alizarin kırmızısı çözeltisi	2.5 ml 1M HCl çözeltisi 100 ml saf su ile seyreltilir ve bu çözeltiye 200 mg alizarin kırmızısı eklenir
Lye	%2.5 NaOH çözeltisi (w/v)
Lugol	2 g potasyum iyodür 100 ml su ile çözülür ve sürekli çalkalanarak 1 g iyot eklenir
Fehling	A ve B stok çözeltilerinden 1/1 oranında kullanım öncesi hazırlanır. Çözelti A: 100 ml suda 6.9 g demir(II) sülfat pentahidrat çözülür. Çözelti B: 34.6 g potasyum sodyum tartarat tetrahidrat ve 12 g NaOH 100 ml saf suda çözülür.
Sistin	10 g NaOH 100 ml saf su ile çözülür, çözeltiye 2 g kurşun asetat eklenir
Fenol-gliserin	100 g fenol 20 ml gliserin içerisinde oda sıcaklığında çözülür.
Bradford reaktifi	25 mg Coomassie brilliant blue G-250, 12.5 ml %95 etanolde çözündürülüp, 25 ml %85 fosforik asit (H ₃ PO ₄) eklenir. Bu boya çözeltisi 250 ml'ye tamamlanır. Kullanılacağı zaman 5 kat sulandırılır. Whatman No:1 filtre kağıdından geçirilir ve bir cam şişede, oda sıcaklığında saklanır.
Sudan-gliserin reaktifi	Sudan III (Aminoazobenzen-betanaphtol) %96'lık sıcak alkolde doyuncaya kadar çözülür, süzülür. Eşit hacimde gliserin ilave edilir.

**Şekil 1.** Et-kemik ununun stereo mikroskop görüntüsü, 10X (a: et parçaları, b: kıl, c: kemik)**Şekil 2.** Alizarin kırmızısı ile boyanmış sığır kemiğinin ışık mikroskopundaki görüntüsü, 200X (a: lacuna, b: sığır kemiği)**Şekil 3.** Alizarin kırmızısı ile boyanmış kanatlı kemiğinin ışık mikroskopundaki görüntüsü, 200X (a: lacuna, b: kanatlı kemiği)**Şekil 4.** Balık pulunun ışık mikroskopundaki görüntüsü, 200X**Şekil 5.** Alizarin kırmızısı ile boyanmış balık kemiğinin ışık mikroskopundaki görüntüsü, 200X (a: lacuna, b: balık kemiği)**Şekil 6.** Balık kemiğinin ışık mikroskopunda polarize ışıktaki görüntüsü, 200X



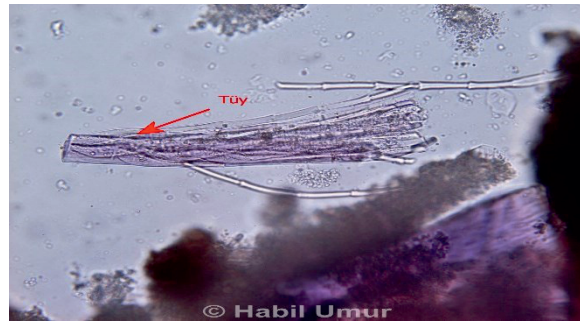
Şekil 7. Farklı türlere ait kılların ışık mikroskopundaki görüntüsü, 300X (a: koyun kılı, b: at kılı)



Şekil 8. Domuz kılının ışık mikroskopundaki görüntüsü, 400X



Şekil 9. Fehling indikatörü ile boyanmış kas dokularının ışık mikroskopundaki görüntüsü, 200X



Şekil 10. Fehling indikatörü ile boyanmış tavuk tüyünün ışık mikroskopundaki görüntüsü, 200X

5. Karma yemlerde % bileşen belirlenmesinde mikroskopik analiz tekniği

Karma yemlerde % bileşenin belirlenmesinde, IAG tarafından belirtilen 'Method for the Identification and Estimation of Constituents in Animal Feedingstuff IAG-Method A2' kaynağı kullanılmaktadır (Anonim, 2007a). Bu metodun

prosedürü aşağıda belirtilmiştir.

Karma yemlerde % bileşenin belirlenmesinde kullanılan kimyasal madde ve ekipmanların özellikleri Çizelge 1 ve Çizelge 2'de, indikatör çözeltileri ve hazırlanışları Çizelge 3'te, mikroskopik incelemede kullanılan indikatörün etkilediği bileşenler ise Çizelge 4'te verilmiştir.

Çizelge 4. Mikroskopik incelemede kullanılan indikatörün etkilediği bileşenler

Reaktif	Boyanan Bileşen	Renk
Bradford reaktif	Protein ihtiva eden hayvan ve bitki bileşenleri	Mavi renklenme
Lugol çözeltisi	Protein ihtiva eden hayvan ve bitki bileşenleri, maya, bakteri	Kahverengi renklenme
	Boynuz içeren hayvan parçaları, bağ doku, tüyler	Kahverengi-sarı renklenme
	Nişasta	Mavi- menekşe renklenme
	Hidrolize nişasta	Mavi renklenme
Sudan-gliserin reaktifi	Sıvı yağlar ve katı yağlar	Turuncu-kırmızı renklenme

Karma yemlerde % bileşenin belirlenmesi, yemlerde bulunan bileşenlerin tanımlaması ve yüzdellik tahmini için kullanılır. Yemlerde bulunan bileşen maddeler, standardize yöntem kullanılarak hazırlanan temsili bir örnek ile tanımlanır. Tanımlama tipik makroskopik ve mikroskopik özelliklere dayanır. Farklı optik yöntemler ve boyama işlemleri, tanımlama işlemine yardımcı olur. % bileşenin tahminlenmesi řu şekilde yapılır:

5.1. Analiz prosedürü

5.1.1. Tanımlama

IAG-Method A1 analiz hazırlama prosedürüne göre hazırlanmış bir örnek kullanılır. Kaba elek fraksiyonlarından (> 0,5 mm) alınan parçalar, stereo mikroskop kullanarak sistematik olarak taranır ve tanımlanır. Tanımlanmamış fragmanlar ayrılır ve ışık mikroskobu veya boyama reaktifleri kullanılarak

incelenir. Gerekirse bileşenler teşhis edilebilir, özelliklerini ortaya çıkarmak için parçalanabilir. İnce elek fraksiyonlarından ($\leq 0,5$ mm) oluşan parçalar, cam lamel üzerine gliserin ile slayt hazırlanır ve ışık mikroskobu yardımı ile tanımlanır.

Bileşen maddeler, görsel ve yazılı açıklamalar kullanılarak ve referans malzeme ile karşılaştırılarak tanımlanır. Mikroskopik inceleme sırasında, iletilen ışık, polarize ışık, faz kontrastı gibi farklı optik yöntemler kullanılabilir.

5.2. Bileşenlerin tahmini

5.2.1. Ağırlığa göre belirleme

Kaba elek fraksiyonlardan ($> 0,5$ mm), stereo mikroskop kullanılarak bileşenlerin parçaları (veya bir bütün parça) tek tek seçilir ve tartılır. Kalansız tam bölünen bütün bir parça fraksiyonu kullanıldığında her bir bileşen en az 0,01 g ile temsil edilmelidir. İnce elek fraksiyonları ($\leq 0,5$ mm) ile en az iki slayt hazırlanır. Bunlar, bileşik mikroskop kullanılarak incelenir ve örnek içindeki benzer parçacıkların oranı tahmin edilip, ağırlıkları hesaplanır.

5.2.2. Görsel tahminle belirleme

Her bir elek fraksiyonu içindeki özgün bileşenlere ait karakteristik parçalar hem stereo hem de bileşik mikroskop yardımıyla tahmin edilir. İnce elek fraksiyonlarından ($\leq 0,5$ mm) en az iki slayt hazırlanır. Bileşen içeriği referans materyali yardımıyla tahmin edilebilir.

5.3. Hesaplama ve rapor

5.3.1. Hesaplama

Madde 5.2.1.'de açıklanan ağırlığın belirlenmesi yöntemi kullanılarak bileşenlerin tek tek yüzde içeriği belirlenir ve Çizelge 5'te verilen örneğe göre hesaplama yapılır. Sonuçlar %5'lik artışlarla raporlanır. Madde 5.2.2'de açıklanan görsel tahminleme yöntemi ile her bir bileşenin yüzde içeriği belirlenir ve Çizelge 6'da verilen örneğe göre hesaplama yapılır. Sonuçlar %5'lik artışlarla raporlanır.

Çizelge 5. Ağırlığa göre belirlemeye dayalı hesaplama örneği (Anonim, 2007b).

Numune Miktarı: 10g = %100	Fraksiyon 1 > 1 mm 4.550 g	Fraksiyon 2 $\leq 1.0-0.5$ mm 1.570 g	Fraksiyon 3 ≤ 0.5 mm 3.880 g	Toplam bileşen miktarı 10.000 g			
Bileşen	Fraksiyon 1 ^{*)}	Fraksiyon 2 ^{*)}	Fraksiyon 3 ^{**)}	Toplam bileşen miktarı		Sonuçlar ^{***)}	
Mısır	2.550	0.630	%5 – 0.194	3.374	- %33.74	%35	%30-35
Buğday	1.200	0.440	%5 – 0.194	1.843	- %18.34	%20	%15-20
Soya Fasulyesi	0.800	0.500	%5 – 0.194	1.494	- %14.94	%15	%10-15
Pirinç unu	-	-	%30 – 1.164	1.164	- %11.64	%10	%10-15
Manyok unu	-	-	%40 – 1.552	1.552	- %15.52	%15	%15-20
Patates nişastası	-	-	%15 – 0.582	0.582	- %5.82	% 5	%10
Toplam	4.550	1.570	%100 – 3.880	10.000	- %100	%100	

Not : Tablo bir örnektir ve elek fraksiyonlarının numarasına, sayısına ve boyuta göre değiştirilebilir.

*)seçilmiş

**) Tahmin edilen(%), g/fraksiyon'dan hesaplanan

***) yuvarlanmış tahmini değer (%), belirtilen yüzde, tahmin aralığı olarak belgelenebilir.

5.3.2. Rapor

5.3.2.1. Bildirimde bulunulmadan

'Bir mikroskop kullanılarak görülebilir olduğu kadarıyla aşağıdaki bileşenler gönderilen örnekte bulundu' ifadesi kullanılır. Analistin deneyimine bağlı olarak, örnekteki bileşenler ve bunların miktarları ile ilgili ek açıklamalar yapılabilir.

5.3.2.2. Kısmen açık beyan (azalan dizi)

'Mikroskop kullanılarak görülebilir olduğu kadarıyla, gönderilen örnekteki bileşenler bildirilen diziler içinde bulundu' ifadesi kullanılır.

5.3.2.3. Açık beyan (yüzdeler beyanı)

'Bir mikroskop kullanılarak görüldüğu kadarıyla, bildirilen bileşenler beyan edilen miktarlarda gönderilen örnekte bulunmuştur' ifadesi kullanılır. Analistin deneyimine bağlı olarak, örnekteki bileşenler ve bunların miktarları ile ilgili ek açıklamalar yapılabilir.

Çizelge 6. Görsel tahminle belirlemeye dayalı hesaplama örneği (Anonim, 2007b).

Numune Miktarı: 10g = %100	Fraksiyon 1 > 1 mm 4.550 g	Fraksiyon 2 ≤ 10-05 mm 1.570 g	Fraksiyon 3 ≤ 0.5 mm 3.880 g	Toplam bileşen miktarı 10.000 g	
Bileşen	Fraksiyon 1*)	Fraksiyon 2*)	Fraksiyon 3**)	Toplam bileşen miktarı **)	
				Sonuçlar	
	% * 45.5	% * 15.7	% * 38.8	%	%
Mısır	50 22.75	50 7.85	5 1.94	32.54	30-35
Buğday	30 13.65	25 3.93	5 1.94	19.52	15-20
Soya Fasulyesi	20 9.10	25 3.93	5 1.94	14.97	10-15
Pirinç unu	-	-	30 11.64	11.64	10-15
Mançok unu	-	-	40 15.52	15.52	15-20
Patates nişastası	-	-	15 - 5.82	5.82	5-10
Toplam	%100	%100	%100	%100	

Not: Tablo bir örnektir ve elek fraksiyonlarının numarasına, sayısına ve boyuta göre değiştirilebilir.

*) Fraksiyon miktarı üzerinden hesaplanan tahmin (%)

***) % olarak yuvarlanmış tahmini değer, tahmin aralığı olarak belgelenebilir.

5.3.2.4. Olumsuz sonuç

'Bir mikroskop kullanılarak görüldüğü kadarıyla, belirtilen bileşen [isim], gönderilen örnekte bulunamadı' ifadesi kullanılır.

5.3.2.5. Ek sonuç

'Gönderilen örneğin bildirilen bileşenlerine ek olarak, bileşen [isim] mikroskopik inceleme ile bulundu' ve 'Mikroskop kullanılarak görülebildiği kadarıyla gönderilen örnekteki % [sayı] miktar tahmin edildi' ifadeleri kullanılır. Tanımlanan bileşenlere bağlı olarak, %2'den düşük miktarlar iz miktar olarak rapor edilir.

5.3.2.6. Bir bileşenin beyan edilen miktarının eksikliği

'Bileşen [isim], mikroskopik inceleme ile gönderilen örnek içerisinde beyan edilen değerden sapan bir miktarda bulundu' ve 'Mikroskop kullanılarak görülebildiği kadarıyla gönderilen örnekteki % [sayı] miktar tahmin edildi' ifadeleri kullanılır. Tanımlanan bileşenlere bağlı olarak, %2'den düşük miktarlar iz miktar olarak rapor edilir.

5.3.2.7. Ek açıklamalar

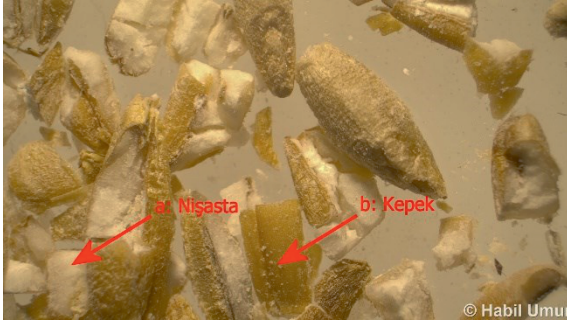
Mikroskopi ile yapılan miktar belirlemede, özellikle peletlenmiş yemlerde önemli varyasyonlar görülebilir. Katı ve sıvı yağ, melas, balık kaynakları ve karakteristik morfolojik yapılardan yoksun diğer maddeler gibi bileşenler mikroskopik olarak belirlenemeyebilir. Bu nedenle tahmin edilen sonuçlarda varyasyon olabilir.

5.4. Validasyon

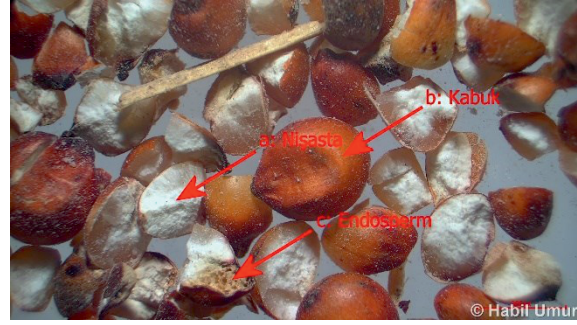
Mikroskopik incelemeyle yem bileşenlerinin yüzde tahmininin doğruluğu, yem mikroskopistinin kontrolü dışında olan çeşitli faktörlerden çok fazla etkilenir. Bu faktörler, bileşenlerin özgün yapısı, yem üretiminde kullanılan yöntemler ve hammadde seçimi olarak sıralanabilir. IAG tarafından yürütülen kapsamlı ring testi çalışmaları sonucunda aşağıda belirtilen belirsizlik aralıkları geliştirilmiştir:

> %2 – 5	+/- 100 r
> %5 – 10	+/- 5 a
> %10 – 20	+/- 50 r
> %20 – 50	+/- 10 a
> %50	+/- 20 r

Karma yemlerde % bileşimin mikroskopik analiz tekniğiyle belirlenmesinde kullanılan bazı görseller Şekil 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 ve 18'de verilmiştir. Bu görseller 'TAGEM/HSGYAD/Ü/21/A3/P1/2319' numaralı ve 'Türkiye'de Bazı Yem Hammaddelerinin Karakteristik Özelliklerinin Mikroskopik Yöntemle Belirlenmesi ve Yem Mikroskopi Atlasının Oluşturulması' isimli projeden elde edilmiştir (Umur vd., 2021). Görsellerin üretilmesinde; LED aydınlatma sistemine sahip, alttan ve üstten beyaz ışık veren, 0,61-5,5X zoom aralığında, 10 megapiksel görüntü çözünürlüğünde kameralı görüntü sistemine sahip Leica S9 i stereo mikroskop kullanılmıştır.



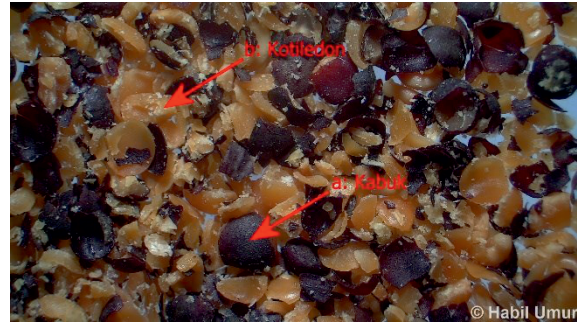
Şekil 11. Buğday danelerinin stereo mikroskop görüntüsü, 20X (a: nişasta, b: kepek)



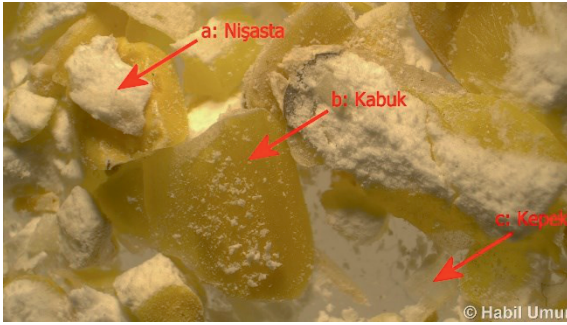
Şekil 12. Sorgum danelerinin stereo mikroskop görüntüsü, 20X (a: nişasta, b: kabuk, c: endosperm)



Şekil 13. Ayçiçeği tohumu küspesinin stereo mikroskop görüntüsü, 20X (a: kabuk, b: kotiledon)



Şekil 14. Kanola danelerinin stereo mikroskop görüntüsü, 20X (a: kabuk, b: kotiledon)



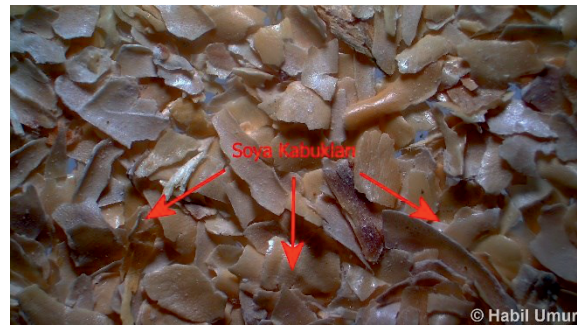
Şekil 15. Kırık mısır danelerinin stereo mikroskop görüntüsü, 30X (a: nişasta, b: kabuk, c: kepek)



Şekil 16. Mısır gluteninin stereo mikroskop görüntüsü, 10X (endosperm)



Şekil 17. Soya küspesinin stereo mikroskop görüntüsü, 20X (a: kabuk, b: hilum, c: kotiledon)



Şekil 18. Soya kabuklarının stereo mikroskop görüntüsü, 20X

6. Tartışma ve sonuç

Yukarıda verilen bilgiler doğrultusunda, deneyimli bir mikroskopist yem fabrikalarına hammadde alımı başta olmak üzere üretimin her aşamasında yemlerin kalite kontrolünde mikroskopik analiz tekniğinden yararlanabilir. Böylece yemlerin kalitesi ile ilgili çok kısa sürede ve az masrafla fikir sahibi olunabilir.

Mikroskopik analiz tekniğiyle yemlerde hayvansal proteinlerin incelenmesi, ulusal ve uluslararası kuruluşlar tarafından yayınlanan mevzuatlarda belirtilen standartlara uygun olarak yapılmaktadır. Karma yemlerde hayvansal proteinlerin mikroskopik analiz tekniği ile belirlenmesinde tek geçerli yöntem EU 51/2013 (Anonim, 2013)'te belirtilen resmi yöntemdir (Momcilovic ve Rasooly, 2000; Van Raamsdonk vd., 2007). Bu yöntem, ağırlıklı olarak kemik dokunun varlığı üzerinde yoğunlaşmış olup 1 g/kg tespit düzeyinde yanlış veya yanlış/pozitif sonuçlar vermemektedir (Van Raamsdonk vd., 2007). Karma yem içerisinde balık unu varlığı, karasal hayvanlardan gelen et ve kemik ununun doğru tespit edilmesinde mikroskopik analiz tekniğinin hassasiyetini azaltmaktadır (Prado vd., 2004; Fumiere vd., 2006). Bununla birlikte memeli hayvan grubuna ait hayvansal proteinler ile kanatlı hayvan grubuna ait hayvansal proteinler arasında güvenilir ayırım sağlanamamakta, fakat balık ürünleriyle olan ayırım kesin sınırlarla belirgin bir şekilde yapılabilmektedir (Van Raamsdonk vd., 2004).

7. Kaynaklar

Akyıldız, A.R. (1968). Yemler bilgisi laboratuvar kılavuzu. *A. Ü. Zir. Fak. Yayınları*, No. 358, Ankara.

Anonim (2007a). Method for the identification and estimation of constituents in animal feedingstuff IAG-Method A2. *International Association of Feedingstuff Analysis-Section Feedingstuff Microscopy*, Version 1, 1-9.

Anonim (2007b). Sample preparation for the macroscopic and microscopic analysis IAG-Method A1. *International Association of Feedingstuff Analysis*, Section Feedingstuff Microscopy. Version 1, 1-7.

Anonim (2011a). Yemlerin piyasaya arzı ve kullanımı hakkında yönetmelik. *Resmi Gazete*. 27.12.2011 tarih 28155 sayı.

Anonim (2011b). İnsan tüketimi amacıyla kullanılmayan hayvansal yan ürünler yönetmeliği. *Resmi Gazete*, 24.12.2011 tarih 28152 sayı.

Anonim (2013). Commission Regulation (EU) No 51/2013. *Amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards the methods of analysis for the determination of constituents of animal origin for the official control of feed*.

Türkiye'de ticarete konu olan yem fabrikalarının ürettikleri karma yemlerin resmi kontrollerinde etiket beyanlarının doğruluğu, mikroskopik analiz tekniği kullanılarak % bileşen olarak adlandırılan analiz yöntemi ile yapılabilmektedir. Bu analiz yöntemi, karma yemin etiket beyanında belirtilen yem hammaddelerin tanımlanması ve yüksekten düşüğe doğru % olarak sıralanmasında kullanılan tek geçerli yöntemdir.

Türkiye'de bugüne kadar yemlerin mikroskopik analiz tekniği ile incelenmesi konusuna gerekli önem verilmemiştir. Bu tekniğin kullanımını bilen ve uygulayan mikroskopist sayısı sayılabilecek kadar azdır. Ayrıca bu konuda yapılan bilimsel ve akademik çalışma sayısı da oldukça sınırlıdır. Sonuç olarak, Türkiye'de mikroskopik analiz tekniğinin kullanımının yaygınlaşması için yem fabrikalarında yemlerin kalite kontrolünü yapan kişilerin, kamu ve özel sektör laboratuvarlarında ise ilgili personelin eğitilmesi gerekmektedir. Bu konudaki eğitim açığı, kamu laboratuvarlarında Tarım ve Orman Bakanlığı'nın hizmet içi eğitim programları ile yem fabrikaları ve özel laboratuvarlarda ise özel eğitim programları ile giderilebilir. Ayrıca üniversitelerdeki akademik çalışma açığını gidermek için lisansüstü tez çalışmalarında mikroskopik analiz tekniğine dayalı konulara yer verilmesi gerekmektedir.

Anonim (2022). https://stratfeed.cra.wallonie.be/page/description_projet.php. Erişime Tarihi: 18/01/2022.

Fumiere, O., Dubois, M., Baeten, V., Von Hols, C. and Berben, G. (2006). Effective PCR detection of animal species in highly processed animal byproducts and compound feeds. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385, 1045–1054.

Islam, S., Haque, M. and Hossain, S. (2015). Estimation of moisture and crude protein content of locally available raw materials for poultry feed. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 6(5), 1000-07.

Islam, S. and Haque, M. (2016). Quality control of raw materials for poultry feed. *Journal of Poultry Science and Technology*, 06(02), 19-27.

Islam, S., Haque, M. and Hossain, S. (2018). Studies on microscopic compositions of poultry feed and raw materials. *Journal of Poultry Science and Technology*, 06(04), 56-63.

Khajarern, J. ve Khajarern, S. (2008). Yem mikroskopisi ve kalite kontrol el kitabı. Türkiye Yem Sanayicileri Birliği, American Soybean Association ve United Soybean Board, Üçüncü Basım, Çeviri:2008, 208.

Liu, X., Han, L., Veys, P., Baeten, V., Xunpeng Jiang, X. and Dardenne, P. (2011). An overview of the legislation and light microscopy for detection of the processed animal proteins in feeds. *Microscopy Research and Technique*, 74, 735–743.

Momcilovic, D. and Rasooly A. (2000). Detection and analysis of animal materials in food and feed. *Journal of Food Protection*, 63(11), 1602–1609.

Prado, M., Jose' Casqueiro, J., Iglesias, Y., Cepeda, A. and Barros-Vela' zquez, J. (2004). Application of a polymerase chain reaction (PCR) method as a complementary tool to microscopic analysis for the detection of bones and other animal tissues in home-made animal meals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 505–512.

Ravn, J.L., Martens, H.J., Pettersson, D. and Pedersen, N.R. (2015). Enzymatic solubilisation and degradation of soybean fibre demonstrated by viscosity, fibre analysis and microscopy. *Journal of Agricultural Science*, 7(9), 1-13.

TSE. (2013). TS 10432, Hayvan yemleri- pirinç kepeği, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2014). TS 4715, Mısır özü (embriyo) küspesi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2015a). TS 316, Ayçiçeği tohumu küspesi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2015b). TS 8596, Hayvan yemleri- mısır kepeği, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2015c). TS 9979, Hayvan yemleri- sığır besi yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2015d). TS 9984, Hayvan yemleri- konsantre sığır besi yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2015e). TS 10052, Hayvan yemleri- kuzu başlangıç yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2015f). TS 10053, Hayvan yemleri- sığır süt yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2015g). TS 10428, Hayvan yemleri- buzağı büyütme yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2016a). TS 9311, Hayvan yemleri- hindi piliç büyütme yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2016b). TS 9312, Hayvan yemleri- hindi geliştirme yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2017a). TS 8477, Hayvan yemi- yemlik üre, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2017b). TS 9278, Hayvan yemleri- buğday kepeği, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2017c). TS 9281, Hayvan yemleri- hindi civciv yemi. Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2017d). TS 9310, Hayvan yemleri- damızlık hindi yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2017e). TS 10433, Hayvan yemleri- damızlık etçi (et tipi) piliç geliştirme yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

TSE. (2018). TS 9699, Hayvan yemleri- tavuk yumurta yemi, Türk Standartları Enstitüsü, Bakanlıklar/Ankara. Erişim Tarihi: 20/12/2021.

Umur, H., Küttükoğlu, F., Çetin, V., Manarga Birlik, P., Kara, S., Altınçekiç, E... ve Hanoğlu Oral, H.fts 2021. Türkiye'de bazı yem hammaddelerinin karakteristik özelliklerinin mikroskopik yöntemle belirlenmesi ve yem mikroskopi atlasının oluşturulması. T A G E M / H S G Y A D /Ü/21/A3/P1/2319 (Devam eden proje).

Van Raamsdonk, L.W.D., Vancutsem, J., Zegers, J., Frick, G., Jorgenson, J., Pinckaers, V... and Paradies-Severin, I. (2004). The microscopic detection of animal proteins in feeds. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*. 8(4), 241–247.