

Bazı Esansiyel Yağların *In vitro* Sindirim, Rumen Fermantasyonu ve Metan Gazı Üretimi Üzerine Etkileri

Önder CANBOLAT¹

ÖZET: Bu araştırmanın amacı, rumen sıvısına 300 mg lt⁻¹ kekik (KY), nane (NY), portakal (PY), karanfil (KAY) ve tarçın (TY) esansiyel yağlarının *in vitro* gaz üretimi (İGÜ), organik madde sindirimi (OMS), metabolik enerji (ME) ile rumen fermantasyonu ve metan gazı üretimi (MGÜ) üzerine olan etkilerini belirlemektir. Araştırmada (ko-yun) rumen sıvısına KY, NY, PY, KAY ve TY ilavesi, korunga kuru otunun İGÜ, OMS ve ME içeriğini düşürmüştür (P<0.01). Esansiyel yağlar, rumen sıvısı parametrelerinden uçucu yağ asitleri (UYA), amonyak azotu (NH₃-N) ve MGÜ üretimini de azaltmıştır (P<0.01). Bu araştırmanın sonuçlarına göre, esansiyel yağların çalışmada incelenen tüm parametreleri olumsuz etkilediği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Esansiyel yağ, gaz üretimi, rumen fermantasyonu, uçucu yağ asitleri, metan



The Effect of Some Essential Oils on *In vitro* Digestibility, Rumen Fermentation Characteristics and Methane Gas Production

ABSTRACT: The aim of the current study was to determine the effect of supplementation of oregano, peppermint, orange, clove and cinnamon essential oils to rumen fluid (300 mg L⁻¹) on *in vitro* gas production (IGP), organic matter digestibility (OMD), metabolisable energy (ME), rumen fermentation and methane gas production (MGP). The supplementation of oregano peppermint, orange, clove and cinnamon oils into rumen fluid decreased (P<0.01) the IGP, OMD and metabolisable energy (ME). Also, essential oils used in the current study reduced (P<0.01) the volatile fatty acids (VFA), ammonia nitrogen (NH₃-N) and MGP. The results of the present study indicated that essential oils affected negatively all parameters measured.

Keywords: Essential oil, gas production, rumen fermentation, volatile fatty acids, methane

¹ Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, Bursa, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Önder CANBOLAT, canbolat@uludag.edu.tr

GİRİŞ

Bazı bitki ekstraktları ve özellikle bitki esansiyel yağları antimikrobiyal özellikleri (Ouattara ve ark., 1997; Calsamiglia ve ark., 2007) ve antibiyotiklere alternatif olabilmeleri nedeniyle rumen fermentasyonunun kontrolünde kullanılabilirlerdir (Wallace et al., 2002; Tekeli et al., 2007). Nitekim, bazı esansiyel yağların rumen bakterileri üzerinde farklı etkilere sahip olduğu ve bazı durumlarda mikrobiyal aktiviteyi uyardığı (Newbold et al., 2004) bildirilmiştir. Bununla birlikte birçok çalışmada söz konusu özellikleri olumsuz etkilediği de belirlenmiştir (Wallace et al., 2002; Benchaar et al., 2007; Castillejos et al., 2008). Gerçekten de Newbold et al., (2004) ve Benchaar and Greathhead (2011) esansiyel yağların (timol, kekik, tarçın, sarımsak, yabancurpu yağı) toplam uçucu yağ asitleri (TUYA), amonyak azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) ve metan (CH_4) üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Benzer sonuçlar kekik yağı (KY), nane yağı (NY) ve portakal (PY)'i ile çalışan Canbolat ve ark., (2011) ve timol ile çalışan Kamalak ve ark., (2011) tarafından da bildirilmiştir. Diğer taraftan, Evans and Martin (2000), Benchaar et., (2007) ve Castillejos et al., (2007) farklı esansiyel yağların (timol, karanfil, tarçın, sarımsak, biber) rumen fermentasyonunu sınırladığını da saptamışlardır. Esansiyel yağların yemlerin sindirilebilirliğini dolayısıyla metabolik enerji (ME) değerlerini düşürdüğünü gösteren çalışmalar da vardır (Bozkurt ve ark., 2007; Canbolat ve ark., 2011; Kamalak ve ark., 2011).

Esansiyel yağlarla yapılan çalışmalarda esansiyel yağların rumen fermentasyonunu sınırladığı ve yemlerin sindiriminde olumsuz etkide bulunduğu bildirilmektedir (Castillejos et al., 2007; ve Benchaar and Greathhead 2011). Esansiyel yağların rumen fermentasyonunu sınırlaması kısmen olumsuzmuş gibi görünmesine karşın, rumende oluşan ve önemli düzeylerde enerji ve azot kaybına neden olan CH_4 , karbondioksit (CO_2) ve amonyak ($\text{NH}_3\text{-N}$) gazlarının üretiminin azaltılması ba-

kımından da önemli avantajlar sağlayacağı bildirilmektedir (Ensminger et al., 1990; Johnson and Johnson 1995). Bu gazların ayrıca küresel ısınmaya yol açtıkları da bildirilmektedir (Agarwal et al., 2009). Atmosfere salınan sera gazı emisyonunun azaltılması açısından da esansiyel yağlardan yararlanma ön plana çıkmaktadır. Gelecekte esansiyel yağların rumen ortamının düzenlenmesinde kullanılması hem yemlerin enerjisinden yararlanma oranını artıracak, hem de sera gazı üretiminin azaltılmasına katkı sağlayacaktır. Esansiyel yağların yukarıda sıralanan olumlu ve olumsuz etkilerini ortaya koymak için Dünya ve ülkemizde üretimi en yaygın olan esansiyel yağların bazıları bu çalışmada denemeye alınmıştır.

Bu çalışma, ruminant beslemede kullanılacak bazı esansiyel yağların (kekik yağı, nane yağı, portakal yağı, karanfil yağı ve tarçın yağı) kullanımının İGÜ, *in vitro* sindirim, rumen fermentasyonu ve MGÜ üzerine etkilerini belirlemeyi amaçlamaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Yem Ve Hayvan Materyali

Bu çalışmada besin maddeleri içeriği Çizelge 1'de verilen, tam çiçeklenme döneminde hasat edilen korunga kuru otu kullanılmıştır. Denemede kullanılan KY (katalog no: W28281-2), NY (katalog no: W28482-3), PY (katalog no: W28252-9), KAY (katalog no: W232300) ve TY (katalog no: W229202) saf olarak piyasadan sağlanmıştır (Sigma-Aldrich). Araştırmada rumen kanüllü 3 baş Kıvrıkcık koç kullanılmış ve hayvanlar deneme süresince yonca kuru otu (% 60) ve kesif yemden (% 40) oluşan bir karma (180 g kg^{-1} KM ham protein, 2800 kcal ME kg^{-1} KM) ile yemlenmişlerdir.

Çizelge 1. Korunga kuru otunun kimyasal bileşimi*

Besin maddeleri	g kg^{-1} KM
Organik maddeler	942.7
Ham kül	57.3
Ham protein	150.7
Ham yağ	30.6
Nötr deterjan lif, NDF	500.8
Asit deterjan lif, ADF	348.0
Asit deterjan lignin, ADL	79.0

* Kuru madde, ham kül, ham protein ve ham yağ analizi AOAC (1990), NDF, ADF ve ADL analizi ise Van Soest ve Robertson (1985) tarafından bildirilen metotlara göre belirlenmiştir.

İn Vitro Gaz Üretimi

Bu çalışmada Menke et al., (1979) ve Menke and Steingass (1988) tarafından bildirilen “*in vitro* gaz üretim tekniği” kullanılmıştır. Yemin (korunga) İGÜ miktarları ile ME ve OMS'nin saptanmasında 100 ml hacimli özel cam tüplere (Model Fortuna, Häberle Labor-technik, Lonsee-Ettlenschie, Germany) üç paralel olarak her bir esansiyel yağ (KY, NY, PY, KAY ve TY) 300 mg lt⁻¹ olacak şekilde rumen sıvısına (RS) ilave edilmiştir. Cam şırıngaların her birine yaklaşık 200±10 mg yem örneği konmuştur. Daha sonra üzerine Menke et al., (1979) tarafından bildirilen yöntemle hazırlanan rumen sıvısı/tampon çözeltisinden 30 ml ilave edilmiştir. Bu işlemten sonra tüpler 39 °C'deki su banyosunda inkübasyona alınmışlar ve sırasıyla 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde fermantasyonla oluşan gaz miktarları ölçülmüştür.

İnkübasyonun sonunda tüpler içerisinde kalan rumen sıvısında pH, NH₃ ve TUYA ile birlikte, asetik (AA), propiyonik (PA), butirik (BA), izobutirik (İBA), valerik (VA) ve izovalerik (İVA) asitleri konsantrasyonları Wiedmeier ve ark. (1987)'nin bildirdikleri metoda göre analiz edilmiştir. İn vitro ortamda fermantasyon ile oluşan karbondioksit (CO₂) ve metan (CH₄) gazları ise inkübasyon sonunda elde edilen rumen sıvılarında yapılan UYA'den yararlanılarak aşağıdaki eşitlikler ile hesaplanmıştır (Blümmel et al., 1999).

$$\text{Karbondioksit, CO}_2 = (\text{AA}/2) + (\text{PA}/4) + (1.5 \times \text{BA})$$

$$\text{Metan (CH}_4) = (\text{AA} + (2 \times \text{BA})) - \text{CO}_2$$

Bu eşitliklerde UYA'nin konsantrasyonları mmol olarak alınmıştır.

Korunganın OMS ve ME aşağıdaki eşitliklere göre hesap yolu ile bulunmuştur (Menke and Steingass, 1988).

$$\text{OMS, \%} = 15.38 + 0.8453 \times \text{GÜ} + 0.0595 \times \text{HP} + 0.0675 \times \text{HK}$$

$$\text{ME, MJ/kg KM} = 2.20 + 0.1357 \times \text{GÜ} + 0.0057 \times \text{HP} + 0.0002859 \times \text{HY}^2$$

(GÜ: 200 mg kuru yem örneğinin 24 saat inkübasyon süresi sonundaki net gaz üretimi,

HP: % ham protein, HY: % ham yağ ve HK: % ham kül).

Kimyasal Analizler

Rumen sıvısı parametrelerinden pH, dijital pH metre cihazı ile (Sartorius PB-20, Goettingen, Ger-

many), amonyak (NH₃) ise Kjeldahl metodundan yararlanarak Blümmel et al., (1997)'nin bildirdiği yöntemle analiz edilmiştir. Rumen sıvısı uçucu UYA, Wiedmeier et al., (1987)'nin önerdiği yöntemle gaz kromatografisi (Agilent Technologies 6890N gaz kromatografisi, Stabilwax-DA, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df. Max. temp: 260 °C. Cat. 11023) ile analiz edilmiştir.

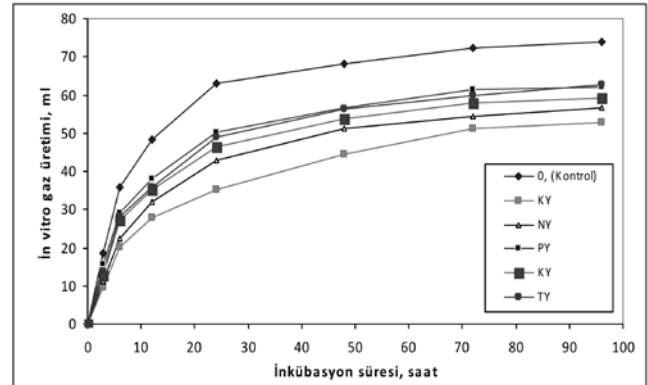
İstatistik Analizler

Esansiyel yağ asitlerinin incelenen parametreler üzerine etkisi tesadüf parselleri deneme desenine göre tek yönlü varyans analizi ile belirlenmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılığın kaynağının araştırılması için Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Snedecor and Cochran, 1976).

BULGULAR ve TARTIŞMA

İn vitro Gaz Üretimi, Organik Madde Sindirilebilirliği ve Metabolik Enerji

Bazı esansiyel yağların İGÜ üzerindeki etkileri Şekil 1'de, organik madde sindirimi (OMS) ve metabolik enerji (ME) üzerine olan etkileri ise Çizelge 2'de verilmiştir.



Şekil 1. Bazı esansiyel yağların *in vitro* gaz üretimi.

Bu çalışmada kullanılan esansiyel yağlar, İGÜ'ni düşürmüştür (P<0.01). Kontrolle karşılaştırıldığında en yüksek düşüşe KY neden olmuştur. Nitekim İGÜ kontrol grubunda 73.8 ml iken KY grubunda 52.7 ml olarak ölçülmüştür. Bunu sırasıyla NY, KAY, PY ve TY izlemiş, ancak bu yağ asitlerinin İGÜ değerleri arasında farklılık bulunmamıştır (P>0.01). Rumen sıvısına KY, NY, KAY, PY ve TY'nin ilavesi İGÜ'ni azaltması, bu esansiyel yağlar ve aktif bileşenlerinin antimikrobiyal özellik göstermesi (Evans and Martin, 2000; Benchaar

Çizelge 2. Esansiyel yağların *in vitro* gaz üretimleri, OMS ve ME içeriklerine etkisi

Muamele	OMS, %	ME, MJ kg ⁻¹ KM
Kontrol	69.7 ^a	10.8 ^a
Kekik yağı	46.3 ^e	7.0 ^e
Nane yağı	52.8 ^d	8.1 ^d
Portakal yağı	58.9 ^b	9.1 ^c
Karanfil yağı	55.7 ^c	8.6 ^c
Tarçın yağı	57.0 ^{bc}	8.8 ^{bc}
OSH	0.594	0.095
P	0.01	0.01

OMS: Organik madde sindirimi; ME: Metabolik enerji; OSH: Ortalamaların standart hatası

and ark., 2007; Calsamiglia et al., 2007; Benchaar and Greathead, 2011) ve bunun sonucu olarak, rumen mikroorganizmaları sayısı ve fonksiyonunda sınırlamaya (Newbold et al., 2004; Benchaar and Greathead, 2011; Canbolat ve ark., 2011) ve mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etki göstermesinin neden olduğu söylenebilir. Yapılan birçok çalışmada da (Benchaar et al., 2007; Agarwal et al., 2009; Canbolat ve ark., 2011; Kamalak ve ark., 2011) esansiyel yağların (kekik, nane, portakal, timol) İĞÜ'yü azalttığı bildirilmektedir. Kullanılan esansiyel yağ asitlerinin aktif maddelerinin antimikrobiyal etkilerinin farklı olması nedeniyle (Ouatara et al., 1997; Calsamiglia et al., 2007), araştırmada kullanılan esansiyel yağlar İĞÜ'ne farklı etkide bulunmuşlardır.

Esansiyel yağların OMS ve ME üzerine olan etkileri ile ilgili sonuçlara bakıldığında (Çizelge 2), esansiyel yağlar, korunga otunun OMS ve ME değerini önemli derecede azaltmıştır ($P < 0.01$).

Esansiyel yağların korunga kuru otunun OMS'ne etkisi saptanmış ve % 46.3 ile % 58.9 arasında değişmiştir. En yüksek OMS esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda (% 69.7), en düşük OMS ise KY ilave edilen grupta (% 46.3) saptanmıştır. Esansiyel yağ çeşitlerinin OMS üzerine etkisi incelendiğinde KY'nın OMS'ni en fazla olumsuz etkilediği, bunu sırasıyla NY,

KAY, TY ve PY'ların izlediği saptanmıştır ($P < 0.01$). Sonuçlar esansiyel yağların korunga kuru otunun ME düzeyine etkisi açısından değerlendirildiğinde ise esansiyel yağ çeşidinin ME üzerine farklı etkide bulunduğu saptanmıştır ($P < 0.01$). Korunga kuru otunun ME içeriği esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak 7.0 ile 9.1 MJ kg⁻¹ KM arasında değişmiştir. Esansiyel yağ çeşitlerinden KY en düşük etkiyi gösterirken, PY'nda daha yüksek (9.1 MJ kg⁻¹ KM) ME saptanmıştır. En yüksek ME esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda (10.8 MJ kg⁻¹ KM), en düşük ME ise 7.0 MJ kg⁻¹ KM ile KY'da bulunmuştur.

Esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak OMS ve ME içeriğindeki düşüş rumen fermantasyonunun sınırlanması (Benchaar et al., 2007; Calsamiglia et al., 2007; Garcia et al., 2007; Benchaar and Greathead, 2011; Canbolat ve ark., 2011) ile açıklanabilir. Esansiyel yağların antimikrobiyal etki (Friedman et al., 2002; Agarwal et al., 2009; Benchaar and Greathead, 2011) göstererek gaz üretimini (Çizelge 2) düşürmesi OMS ve ME içeriğini azaltıcı yönde etki yapmıştır. McIntosh et al., (2003) esansiyel yağların kullanımı ile rumende UYA üretiminde gerçekleşen düşmeye bağlı olarak sellüloolitik enzim aktivitesinin ve yemlerin sindiriminin düştüğünü bildirmişlerdir (Benchaar and Greathead, 2011). Araştırmada saptanan OMS düzeyi ile ME içerikleri KY, NY ve PY'ı ile çalışan Canbolat ve ark., (2011),

Çizelge 3. Esansiyel yağların rumen fermantasyonu üzerine etkileri

Esansiyel yağlar	UYA, mmol lt ⁻¹							NH ₃ -N
	TUYA	AA	PA	BA	DUYA	AA/PA	pH	
Kontrol	105.3 ^a	52.3 ^a	25.9 ^a	18.0 ^a	9.1 ^a	2.0 ^b	6.0 ^c	32.6 ^a
Kekik yağı	51.3 ^e	33.9 ^d	8.3 ^e	7.5 ^e	1.6 ^e	4.1 ^a	6.8 ^a	16.2 ^d
Nane yağı	61.3 ^d	33.0 ^d	15.3 ^d	8.9 ^d	4.1 ^c	2.2 ^b	6.5 ^{ab}	19.7 ^{cd}
Portakal yağı	78.7 ^b	40.8 ^{bc}	21.6 ^b	10.8 ^b	5.5 ^b	1.9 ^b	6.2 ^{bc}	23.4 ^b
Karanfil yağı	68.1 ^c	36.6 ^{cd}	17.2 ^{cb}	9.8 ^c	4.5 ^{bc}	2.1 ^b	6.4 ^b	21.4 ^{bc}
Tarçın yağı	73.6 ^c	42.1 ^b	18.7 ^c	9.4 ^d	3.4 ^d	2.3 ^b	6.5 ^{ab}	22.0 ^{bc}
OSH	1.594	1.076	0.502	0.289	0.158	0.134	0.071	0.710
P	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

Martinez ve ark., (2006), Bozkurt ve ark., (2007) ile NY ile çalışan Benchaar ve ark. (2007)'nin bulgularıyla benzer bulunmuştur. Yemlerin OMS ile ME'si üzerine en etkili esansiyel yağ çeşidi KY olurken, bunu NY'yi izlemiştir. Simitzis et al., (2005) ve Canbolat ve ark., (2011), KY ve NY'nin yem tüketimi ve değerlendirilmesi üzerinde PY'dan daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Rumen Fermantasyonu

Esansiyel yağların rumen fermantasyonu üzerine etkileri saptanmış ve Çizelge 3'de verilmiştir.

UYA: Uçucu yağ asidi; TUYA: Toplan uçucu yağ asidi; AA: Asetik asit; PA: Propiyonik asit; BA: Butirik asit; DUYA: Diğer uçucu yağ asitleri; AA/PP: Asetik asit/Propiyonik asit; NH_3N : mg 100 ml⁻¹; OSH: Ortalamaların standart hatası

Rumen sıvısı parametrelerinde TUYA ile AA, PA ve BA içerikleri esansiyel yağların ilavesi (KY, NY, PY, KAY ve TY) ile önemli düzeyde düşmüştür ($P<0.01$). Rumen sıvısı parametreleri üzerinde en etkili esansiyel yağın KY olduğu ve bunu sırasıyla NY, KAY, TA ve PY izlediği belirlenmiştir. Uçucu yağ asitlerindeki azalma esansiyel yağların rumen mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etki göstermesi sonucu rumen fermantasyonunu sınırlanması ile açıklanabilir (Dorman and Deans, 2000; Busquet et al., 2006; Benchaar and ark., 2008; Benchaar and Greathead, 2011; Canbolat ve ark., 2011). Busquet et al., (2005)'nin *in vitro* koşullarda yapmış oldukları bir çalışmada karvakrol düzeyinin (300 mg lt⁻¹ RS) artışının rumen pH ve BA düzeyini artırdığı, TUYA ile AA ve PA oranını ise düşürdüğü belirlenmiştir. Canbolat ve ark., (2011) rumen sıvısına (400 mg lt⁻¹ KY, NY ve PY ilavesinin TUYA, AA, PA ve BA oranını önemli düzeyde düşürdüğünü bildirmişlerdir. Garcia et al., (2007)'da 500 mg lt⁻¹ RS düzeyinde ilave edilen karvakrolün rumen sıvısı UYA'lerini önemli düzeyde düşürdüğünü bildirmişlerdir ($P<0.01$). Ayrıca Busquet ve ark., (2006)'da *in vitro* koşullarda yaptıkları bir çalışmada KY dozunun artışına (3, 30, 300 ve 3000 mg lt⁻¹ RS) bağlı olarak TUYA ile AA düzeyinde azalma, PA ve BA düzeyinde artış meydana geldiğini belirlemişlerdir. Agarwal et al., (2009)'da rumen sıvısına NY ilavesinin AA oranını artırdığı, PA oranını ise düşürdüğünü bildirmişlerdir. Söz konusu çalışmalardan elde edilen bulguların, araştırma bulguları ile uyum içinde oldukları söylenebilir.

Araştırmada saptanan AA/PA oranı, esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak 1.9 ile 4.1 arasında değişmiş ve deneme grupları arasındaki farklılıklar önemli bulun-

muştur ($P<0.01$). En yüksek AA/PA oranı KY içeren grupta (4.1), en düşük AA/PA oranı ise PY'da (1.9) saptanmıştır. Araştırmada saptanan AA/PA oranı Castillejos et al., (2006)'nin saptadıkları değerlerden daha düşük (3.55-3.66) bulunmuştur. Araştırma sonucu saptanan AA/PA oranı sarımsak yağı ile çalışan Calsamiglia ve ark., (2007)'nin saptadıkları değerlerle benzer, KY, NY ve PY ile çalışan Canbolat ve ark., (2011)'nin bulgularından (KY dışındakiler) düşük saptanmıştır. Araştırmada AA/PA oranının düşmesinin denemede kaba yem kullanımı ve bu kaba yemi değerlendirerek AA üreten mikroorganizmaların azalmasının bir sonucu olduğu söylenebilir (Calsamiglia et al., 2007).

Rumen sıvısı pH düzeyi ise esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak 6.0 ile 6.8 arasında değişmiş olup, çeşitler arası farklılıklar önemli bulunmuştur ($P<0.01$). En düşük pH esansiyel yağ içermeyen kontrol grubunda, en yüksek pH ise KY'nin bulunduğu grupta saptanmıştır. Esansiyel yağların rumen sıvısına ilavesine bağlı olarak pH'daki artış, rumende asit ortamının kaynağını oluşturan UYA'nin azalması ile açıklanabilir (Çizelge 3). Araştırmada saptanan pH farklı esansiyel yağlar ile çalışan Calsamiglia ve ark., (2007) ile KY ile çalışan Busquet et al., (2005) ve Canbolat ve ark., (2010)'nin bulguları ile benzer bulunmuştur. Aynı bulgular KY, NY ve PY ile çalışan Canbolat ve ark., (2011)'nin bildirdikleri sonuçlarla da uyum içinde bulunmuştur.

Rumen sıvısı amonyak (NH_3) düzeyi esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak 16.2 ile 32.6 mg N/100 ml arasında değişmiştir. En yüksek NH_3 esansiyel yağ bulunmayan kontrol grubunda, en düşük ise NH_3 16.2 mg N/100 ml ile KY'da saptanmıştır. Rumen sıvısı NH_3 düzeyindeki azalma başta rumen mikroorganizmalarının etkinliğinin azalması ile esansiyel yağların amino asitlerin deaminasyonunu önlemesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Mcintosh et al., 2003; Benchaar and Greathead, 2011). Ruminantlarda NH_3 şeklinde azot kaybının önlenmesi, yemlerin enerji ve azotundan yararlanmayı artırarak, verim düşüklüğünün önüne geçeceği, ayrıca atmosfere CH_4 ve NH_3 gazı salınımını azaltarak çevre kirliliğini önleyeceği de bildirilmektedir (Tamminga, 1996; Calsamiglia et al., 2007; Benchaar and Greathead, 2011). Wallace et al., (2002), rumende NH_3 üretiminin düşmesinin besleme açısından yararlı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada saptanan NH_3 farklı KY dozları (0, 3, 30, 300 ve 3000 mg lt⁻¹ RS) ile çalışan Busquet et al., (2005)'nin bulgularından yüksek, farklı timol dozları (0, 5, 50, 500 ve 5000 mg lt⁻¹ RS) ile çalışan Castillejos et al., (2006)'nin bulguları ile benzer bulunmuştur. Busquet et al., (2006)'da rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3.000 mg lt⁻¹ RS KY ilavesinin NH_3 dü-

Çizelge 4. Esansiyel yağların karbondioksit (CO₂) ve metan (CH₄) gazı üretimi üzerine etkileri

Esansiyel yağlar	Gaz üretimi, mmol lt ⁻¹	
	CO ₂	CH ₄
Kontrol	59.6 ^a	28.7 ^a
Kekik yağı	30.3 ^e	18.6 ^{de}
Nane yağı	33.7 ^d	17.1 ^e
Portakal yağı	42.0 ^b	20.4 ^b
Karanfil yağı	37.3 ^c	18.9 ^{bc}
Tarçın yağı	39.8 ^c	21.1 ^{bc}
OSH	0.960	0.540
P	0.01	0.01

zeyini % 30 ile % 50 arasında azalttığını bildirmişlerdir. Her iki araştırmacı da, esansiyel yağ dozu artışına bağlı olarak NH₃ azotu üretiminin azaldığını bildirmişlerdir. Nane yağı ile çalışan Agarwal et al., (2009)'da rumen sıvısına ilave edilen NY'nin amonyak düzeyini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Canbolat ve ark., (2011)'ı rumen sıvısına (400 mg/lt KY, NY ve PY ilavesinin NH₃ azotunu kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürdüğünü saptamışlardır. Araştırmada elde edilen sonuçlar yukarıdaki araştırmalarla desteklenmektedir.

Karbondioksit (CO₂) ve Metan (CH₄) Gazı Üretimi

Esansiyel yağların karbondioksit (CO₂) ve metan (CH₄) gazı üretimi üzerine etkileri saptanmış ve Çizelge 4'de verilmiştir.

Rumen sıvısı UYA'lerinden yararlanarak saptanan CO₂ esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak önemli düzeyde azalmıştır (P<0.01). Karbondioksit üretim sınırı esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak 30.3 ile 59.6 mmol lt⁻¹ arasında değişmiştir. En yüksek CO₂ üretimi esansiyel yağ bulunmayan kontrol grubunda, en düşük CO₂ üretimi ise 30.3 mmol lt⁻¹ ile KY bulunan grupta saptanmıştır.

Metan gazı üretimi ise esansiyel yağ çeşidine bağlı olarak 17.1 ile 28.7 mmol lt⁻¹ arasında değişmiştir. Esansiyel yağ çeşidi CH₄ gazı üretimini önemli düzeyde azaltmıştır (P<0.01). Karbondioksit ve CH₄ gazı rumen ortamında yemlerin fermantasyonu sonucu oluşan UYA ile hidrojen iyonlarını (H⁺) kullanan metajenik bakteriler tarafından üretilmektedir (Busquet et al., 2006; Benchaar and Greathead, 2011). Metajenik bakteriler de diğer rumen bakterilerinde olduğu gibi esansiyel yağların antimikrobiyal özelliğinden zarar görek sayıca azalma göstermekte, bu yolla rumen sıvısının

da UYA oluşumu ile birlikte CO₂ ve CH₄ gazı üretimi düşmektedir (Benchaar and Greathead, 2011). Ruminant beslemede CO₂ ve CH₄ gazı üretiminin azaltılması önem taşıyan konuların başında gelmektedir. Yapılan çalışmalar yem enerjisinin % 2-12'sinin CH₄ gazı şeklinde kayba uğradığını göstermektedir (Johnson and Johnson, 1995; Boadi et al., 2004). Bu gazların ayrıca küresel ısınmaya yol açtıkları da bildirilmektedir (Benchaar and Greathead, 2011). Metan gazının küresel ısınmaya katkısı CO₂ gazının 25 katı olması bakımından da önemlidir (Steinfeld et al., 2006). Hayvancılık sektörünün CH₄ gazı salınımına katkısı % 37 olduğu, bunun %18'nin ruminantlardan kaynaklandığı bildirilmektedir (Hu et al., 2005). Ruminantların neden oldukları sera gazının azaltılması bakımından esansiyel yağların önemli bir kaynak olacağı söylenebilir.

CO₂: Karbondioksit; CH₄: Metan; OSH: Ortalamaların standart hatası

Evans and Martin (2000) rumen sıvısına 400 µg ml⁻¹ düzeyinde timol, Canbolat ve ark., (2010) ise 800 mg lt⁻¹ RS KY'nin ilavesinin CH₄ gazı üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Agarwal ve ark., (2009)'ı ise NY'nin CH₄ gazı üretimi üzerine etkisini saptamak için 0.33, 1.0 ve 2.0 µl/ml NY'nı RS'na ilavesinin CH₄ gazı üretimini sırasıyla; % 19.9, % 46.0 ve % 75.6 oranında azaldığını (P<0.01) bildirmişlerdir. Busquet et al., (2006) da rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3000 mg lt⁻¹ RS KY ilavesinin, KY dozunun artışına bağlı olarak CH₄ gazı üretimini azalttığını saptamışlardır. Canbolat ve ark., (2011) rumen sıvısına KY, NY ve PY ilavesinin CO₂ ve metan gazını önemli düzeyde düşürdüğünü saptamışlardır. Macheboeuf et al., (2008) rumen sıvısına 246 mg lt⁻¹ TY ilavesinin CH₄ gazı üretimini % 13 oranında düşürdüğünü bildirmiştir. Chaves et al., (2008)'da rumen sıvısına 400 ve 500 mg lt⁻¹ dü-

zeyinde KAY ilave etmişler ve bu düzeyde ilave edilen KYA'nın CH₄ gazı üretimini önemli düzeyde azalttığını (% 30 ile % 35) saptamışlardır. Araştırmada saptanan CH₄ gazı üretimi Moss (2002) ve Eun et al., (2004)'nın koyunlarda saptadığı 31-33 ml g⁻¹ CH₄ KM ile Agarwal et al., (2009)'nın mandalarda saptadıkları CH₄ gazı üretiminden düşüktür.

SONUÇ

Sonuç olarak, rumen sıvısına KY, NY, PY, KAY ve TY ilavesinin başta İĞÜ olmak üzere yemlerin OMS ve ME düzeyini önemli düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir. Aynı durumun rumen pH'sı dışındaki, rumen sıvısı metabolitleri için de geçerli olduğu belirlenmiştir. Araştırmada saptanan tüm parametreler üzerine en etkili olan esansiyel yağın KY olduğu, bunu NY, KAY, TY ve PY'nin izlediği sonucuna varılmıştır. Araştırmadan elde edilen bulgular, yapılan diğer araştırma bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, ruminant hayvanların yemden yararlanma düzeyini azaltarak verim performansını düşüreceği söylenebilir. Bu nedenle esansiyel yağların ruminant beslemede kullanılmadan önce yemden yararlanma, verim düzeyi ile çevreye olan katkısı da düşünülerek verilecek esansiyel yağın belirlenmesinde yarar vardır. Esansiyel yağların ruminant beslemede kullanımına yönelik yürütülmüş çalışmaların çoğu *in vitro* koşullarda yürütülmüştür. Konunun daha iyi aydınlatılabilmesi için *in vitro* çalışmalardan elde edilen verilerin *in vivo* koşullarda denenmesi ve hayvanların verim performanslarına yönelik çalışmaların yapılmasına gereksinim duyulduğu söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Agarwal, N., Shekhar, C., Kumar, R., Chaudhary, L.C., Karma, D.N., 2009. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 148: 321-327.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1990. Official Method of Analysis. 15th ed., pp. 66-88. Washington, DC, USA.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A.V., Fraser, G.R., Colombatto, D., McAllister, T.A., Beauchemin, K.A., 2008. A review of plant derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 145: 209-228.
- Benchaar, C., Greathead, H., 2011. Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 166-167, 338-355.
- Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J., Chouinard, P.Y., 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J. Dairy Sci.*, 90: 886-897.
- Blümmel, M., Makkar, H.P.S., Becker, K., 1997. *In vitro* gas production- a technique revisited. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 77: 24-34.
- Blümmel, M., M Gomezulu, R., Chen, X. B., Makkar, H.P.S., Becker, K., Ørskov, E. R., 1999. The modification of *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. Agric. Sci. (Camb.)*, 133: 335-340.
- Boadi, D., Benchaar, C., Chiquette, J., Masse, D., 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: update review. *Can. J. Anim. Sci.*, 84: 319-335.
- Bozkurt, Z., Görgülü, M., Çelik, L., 2007. 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.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2005. 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.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C., 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.*, 89: 761-771.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A., 2007. Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.*, 90, 2580-2595.
- Canbolat, Ö., Karaman, Ş., Filya, İ., 2010. Farklı Kekik Yağı Dozlarının Yemlerin Sindirimi ve Rumen Fermantasyonu Üzerine Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, 16(6): 933-939.
- Canbolat, Ö., Kalkan, H., Karaman, Ş., Filya, İ., 2011. Esansiyel yağların sindirim, rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 17(4): 557-565.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A., 2006. Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *J. Dairy Sci.*, 89: 2649-2658.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A., Losa, R., 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 132: 186-201.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Martin-Tereso, J., Ter Wijlen, H., 2008. *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.
- Chaves, A.V., He, M.L., Yang, W.Z., Hristov, A.N., McAllister, T.A., Benchaar, C., 2008. Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. *Can. J. Anim. Sci.*, 88: 117-122.

- Dorman, H.J.D., Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88: 308–316.
- Ensminger, M.E., Oldfield J.E., Heine-
mann, W.W., 1990. *Feed and Nutrition*. The Ensminger Publishing Company, pp 1544.
- Eun, J.S., Fellner, V., Gumpertz, M.L., 2004. Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermenters. *J Dairy Sci.*, 87: 112–121.
- Evans, J.D., Martin, S.A., 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr. Microbiol.*, 41: 336-340.
- Friedman, M., Henika, P.R., Mandrell, R.E. 2002. 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.
- Garcia, V., Catala-Gregori, P., Madrid, J., Hernandez, F., Megias, M.D., Andrade-Montemayor, H.M., 2007. Potential of carvacrol to modify *in vitro* rumen fermentation as compared with monensin. *Animal*, 1(5): 675–680.
- Hu, W., Wu, Y., Liu, J., Guo, Y., Ye, J., 2005. Tea saponins *in vitro* fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *J. Zhejiang. Univ. Sci.*, B, 6(8): 782-792.
- Johnson, K.A., Johnson, D. E., 1995. Methane emissions from cattle. *J. Animal Sci.*, 73: 2483–2492.
- Kamalak, A., Canbolat, O., Ozkan, C.O., Atalay, A.I., 2011. The effect of essential oil (Thymol) supplementation on *in vitro* gas production profiles and fermentation end products of alfalfa hay. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 17(2): 211-216.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D.P., Papon, Y., Mousset, J.L., Arturo-Schaan, M. 2008. Dose–response effects of essential oils on *in vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 145: 335–350.
- Martinez, S., Madrid, J., Hernandez, F., Megias M.D., Sotomator, J.A., Jord'an, M.J. 2006. 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.
- McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A., Newbold, C.J., 2003. Effects of essential oil on rumenial microorganism and their protein metabolism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(8): 5011-5014.
- Menke, K.H., Steingass, H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Develop.*, 28: 9–55.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W., 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J. Agr. Sci.*, 93(1): 217–222.
- Moss, A.R., 2002. 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.
- Newbold, C.J., McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., 2004. Effect of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 114: 105–112.
- Ouattara, B., R. E. Simard, R. A. Holley, G. J.-P. Piette, and A. Bégin. 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *Int. J. Food Microbiol.*, 37: 155–162.
- Simitzis, P.E, Feggeros, K., Bizelis, J.A., Deligeorgis, S.G. 2005. Behavioural reaction to essential oils dietary supplementation in sheep. *Biotech. Anim. Husb.*, 21(5-6): 97-103.
- Snedecor GW, Cochran, W. 1976. *Statistical Methods*. The Iowa State Univ. Pres. Amer. IA. USA, 1976.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., De Haan, D., 2006. *Livestock's Long Shadow: Environmental Issues and Options*, FAO, Rome, Italy.
- Tamminga, S., 1996. A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J. Anim. Sci.*, 74: 3112-3124.
- Tekeli, A., Çelik, L., Kutlu, H.R., 2007. Plant extract; A new rumen moderator in ruminant diets. *J. of Tekirdag Agric. Faculty.*, 4(1): 71-79.
- Van Soest, P., Robertson, J.B., 1985. *A laboratory manual for animal science*. 612. Cornell University, Ithaca, New York, USA.
- Wallace, R.J., McEwan, N.R., McIntosh, M., Teferedegne, B., Newbold, C.J., 2002. Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15(10): 1458-1468.
- Wiedmeier, R.D., Arambell, M.J., Walters, J.L., 1987. Effect of orally administered pilocarpine on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *J. Dairy Sci.*, 70: 284-289, 1987.