

## PROTEİN İÇERİĞİ FARKLI AYÇİÇEĞİ TOHUMU KÜSPELERİNİN *IN VITRO* GAZ ÜRETİM TEKNİĞİ VE ENZİM TEKNİĞİ SONUÇLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Ünal KILIÇ<sup>1\*</sup>, Mustafa BOĞA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü SAMSUN

<sup>2</sup>Niğde Üniversitesi Bor Meslek Yüksek Okulu NİĞDE

### Özet

Bu çalışmada yüksek ham protein (HP) içeriğine sahip ayçiçeği tohumu küspesi (ATK, %44,34 HP, KM) ile düşük HP içeriğine sahip ayçiçeği tohumu küspesi (ATK2, %32,77 HP, KM) yemlerinin *in vitro* gaz üretim miktarları, gaz üretim parametreleri, organik madde sindirilebilirlikleri (OMS) ile metabolize edilebilir enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NE<sub>L</sub>) içerikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada ayrıca *in vitro* enzim tekniği kullanılarak ATK yemlerinin enerji ve OMS değerleri belirlenmiş ve metodlar arasındaki farklılıkların ortaya konulması amaçlanmıştır. *In vitro* gaz üretim tekniğinde dört yaşında rumen kanülü takılmış, 2 baş Sakız-Karayaka melesi koç kullanılmış ve yemler 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 ve 96 saat süre ile inkübasyona bırakılmışlardır. Denemede elde edilen bulgulara göre enzim tekniğinde OMS, ME ve NE<sub>L</sub> değerleri düşük HP içerikli grupta daha yüksek bulunurken; *in vitro* gaz üretim tekniğinde düşük HP içerikli grup yüksek HP içerikli gruba kıyasla daha düşük değerler göstermiştir (P<0.01). Sonuç olarak yemlerin enerji değerlerinin belirlenmesinde yöntemler arasında önemli farklılık olup (P<0.01), yemlerin değerlerinin belirlenmesinde her iki yöntem de önerilmemektedir. Ancak, bu yöntemler farklı yemlerin kendi aralarında kıyaslanması durumunda sorunsuzca kullanılabilir.

**Anahtar kelimeler:** Ayçiçeği tohumu küspesi, enerji, enzim tekniği, gaz üretim tekniği, *in vitro*

## DETERMING THE EFFECTS OF SUNFLOWER VARIETIES WITH DIFFERENT PROTEIN CONTENTS ON RESULTS OF *IN VITRO* GAS PRODUCTION AND ENZYME TECHNIQUES

### Abstract

In this study, the effects of sunflower meal with high crude protein (CP) content (SFM1, %44,34 CP, DM) and sunflower meal with low CP content (SFM2, %32,77 HP, DM) on *in vitro* gas production levels, gas production parameters, organic material digestibilities (OMD), metabolic energy (ME) and net energy lactation (NE<sub>L</sub>) contents were investigated. Furthermore, energy and OMD values of SFM feeds were determined by using *in vitro* enzyme technique and it was aimed to prove the differences between the methods. Two rumen-cannulated Sakız x Karayaka rams were used in *in vitro* gas production technique and feeds were incubated for 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 and 96 hours. While OMD, ME and NE<sub>L</sub> values in low CP group were higher compared to those in high CP group in enzyme technique, the corresponding values were lower in low CP group in *in vitro* gas production technique (P<0.01). In conclusion, significant differences were observed between two methods. As a result, there is a significant difference between methods used in determining the energy values of feeds (P<0.01) and both of these methods are not recommended for determining energy values of feeds. However, these methods can be used in comparing different feeds among each other.

**Keywords:** Sunflower meal, energy, enzyme technique, gas production technique, *in vitro*

\* E-Posta: unalk@omu.edu.tr

## 1. Giriş

Yemler arasındaki kimyasal farklılıkların (Ham protein (HP), Ham selüloz (HS), Ham kül (HK) ile Nitrojensiz öz maddeler (NÖM)) *in vitro* gaz üretimini ve bunlardan elde edilen parametreleri önemli ölçüde etkilediği bilinmektedir [1]. Yemlerin HP ve NÖM içeriğinin artması gaz üretimini azaltmaktadır [2]. Lifli maddelerin parçalanmasından elde edilen gaz miktarı, nişastanın parçalanmasından elde edilen gaz miktarından daha fazla olup, bu durum, selülozca zengin yemlerin ruminasyon zamanını artırmasına, rumen pH'sının bazik yöne kaymasına dolayısıyla, asetik asit oluşumunu artırmasına bağlanmaktadır [3].

Yemlerin hücre duvarı içerikleri (asit çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (ADF), nötr çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (NDF)) ile gaz üretimi arasında, mikrobiyal aktivitenin azalması nedeniyle negatif bir ilişki olduğu görülmekte olup [4] NDF içeriğinin artması ile gaz üretim miktarının düştüğü belirlenmiştir [5;6]. Bununla birlikte, NDF miktarının artması ile gaz üretiminin arttığı [7] ve yemlerin NDF miktarı yanında sindirilebilirliğinin de gaz üretim miktarını doğrusal olarak etkilediği [8] bildirilmektedir. Dolayısıyla yemlerin NDF içeriklerinin artmasıyla gaz üretim miktarlarının da artacağı ya da azalacağını söylemek her zaman mümkün değildir [9].

Yemlere uygulanan işlemlerin gaz üretim tekniğinde elde edilen sonuçları etkilediği [10] yemleri soldurma, dondurarak kurutma ve öğütme işlemlerinin yemlerin fermentasyon oranını artırdığı [11], ısıtma işlem uygulamalarının ise gaz üretimini azalttığı [12] bilinmektedir. Çünkü yemlere uygulanan öğütme, ısıtma, buharlama, gevretme, doğrama gibi işlemler sonucu mikroorganizmalar bu yolla parçalanmış küçük parçacıklara daha kolay ve yoğun şekilde saldırırlar. Yağlar rumen fermentasyonunda UYA konsantrasyonunu azaltmakta dolayısıyla gaz üretimini düşürmektedir [13]. Bu bakımdan yemlerdeki yağ oranlarının sonuçları etkilediği dikkate alınmalıdır.

Bu çalışmada ise farklı besin madde içeriklerine sahip olan ayçiçeği tohumu küspelerinin (yüksek ve düşük ham protein içerikli ATK) *in vitro* gaz üretim miktarları, gaz üretim parametreleri, organik madde sindirilebilirlikleri (OMS), kuru madde sindirilebilirlikleri (KMS) ile metabolize edilebilir enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NE<sub>L</sub>) içerikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada ayrıca *in vitro* enzim tekniği kullanılarak ATK yemlerinin enerji değerleri belirlenmiş ve metodlar arasındaki farklılıkların ortaya konulması amaçlanmıştır.

## 2. Materyal ve yöntem

Denemede rumen kanüllü, 48.2 kg ve-50.4 kg canlı ağırlıklarında 4 yaşlı 2 baş SakızXXKarayaka melezi koç kullanılmıştır. Denemede yüksek HP içeriğine sahip ayçiçeği tohumu küspesi (ATK1, %44,34 HP, KM) ile düşük HP içeriğine sahip ayçiçeği tohumu küspesi (ATK2, %32,77 HP, KM) yemleri kullanılmıştır. Yemler piyasadan ve 3 farklı yem fabrikasından temin edilmiştir. Denemede kullanılan kanüllü hayvanların beslenmesinde rumen sıvısı niteliğini denetim altına almak için besin madde içerikleri belirlenmiş standart yem maddeleri (iyi kalitede kuru çayı otu ve ticari kuzu besi yemi) kullanılmıştır. Hayvanlar yaşama payı x 1.25 esasına göre (1 kg kuru çayı otu + 0.4 kg kesif yem) yemlenmiş ve yemleme iki öğünde (sabah:8.30 ve akşam:16.30) yapılmıştır. Kanüllü hayvanların beslenmesinde kullanılan yemler ile deneme yemlerinin içerikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

**Çizelge 1.** Denemede kullanılan ATK1 ve ATK2 yemleri ile hayvanların beslenmesinde kullanılan yemlerinin besin madde içerikleri ve hücre duvarı yapı elemanları, (% KM)

YEMLER	KM	HP	HY	HS	HK	NÖM	NDF	ADF	ADL
Kuru ot	89.04	8.92	0.96	40.23	7.97	40.32	61.90	44.04	10.04
Kuzu besi yemi	85.62	16.87	4.73	9.95	10.12	58.34	42.17	21.61	6.11
ATK 1	89,36	44,34	1,80	17,75	7,20	28,93	38,87	26,97	9,97
ATK 2	89,43	32,77	0,68	24,69	6,81	35,03	49,48	35,27	11,18

KM:Kuru madde, HP: Ham protein, HY:Ham yağ, NÖM: Nitrojensiz öz maddeler, NDF: Nötr çözücülerde çözünmeyen lifli bileşikler, ADF: Asit çözücülerde çözünmeyen lifli bileşikler, ADL: Asit çözücülerde çözünmeyen lignin

*In vitro* gaz üretim tekniğinin uygulanmasında Almanya'dan getirilen (Model Fortuna. Häberle Labortechnik. Lonsee-Ettlenschieß. Germany) 100:1 ml'lik orijinal enjektörler; enzimatik yöntemle sindirilebilirliğin ve enerji değerinin belirlenmesinde ise *Trichoderma viride* mikroorganizmasından elde edilen sellülaz (Onuzuka), *Aspergillus niger* mikroorganizmasından elde edilen hemisellülaz (Sigma H-0771), Porcine pancreas'tan elde edilen  $\alpha$ -amilaz (Sigma A-3176) ve pepsin (Merck 2000 FIP-U/g) enzimleri kullanılmıştır.

Denemede kullanılan yem materyallerinde kuru madde (KM), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham selüloz (HS) ve ham kül (HK) analizleri A.O.A.C, [14]'nin bildirdiği gibi, asit çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (ADF), asit çözücülerde çözünmeyen lignin (ADL) ve nötr çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (NDF) analizleri Van Soest [15]'in bildirdiği gibi; nitrojensiz öz maddeler (NÖM) değerleri ise hesaplama yoluyla belirlenmiştir. Rumen sıvısı toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) ve amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) içerikleri Markham [16] steam distilasyonuna göre aşağıda belirtildiği gibi yapılmıştır. Bütün kimyasal analizler üç tekrarla yapılmıştır.

#### **Rumen sıvısı toplam uçucu yağ asitlerinin (TUYA) belirlenmesi**

Rumen sıvısından 10 ml'lik miktar santrifüj tüplerine alınmış, 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan berrak kısımdan (Süpernatant) 2 ml alınmış, üzerine MgSO<sub>4</sub> ile doyurulmuş 10N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 'ten 2 ml konularak, Markham Steam Distilasyon düzeneğine yerleştirilerek 50 ml destilat toplanmıştır. Düzenekten alınan destilata %1 lik fenol fitalein indikatöründen 3 damla damlatılmış ve 0.02N NaOH ile kalıcı pembe renk elde edilene kadar titre edilmiştir. Titrasyon sonunda harcanan 0.02N NaOH miktarı kayıt edilmiştir. Aynı işlemler kör deneme için yapılmıştır. Harcanan NaOH miktarından kör deneme için harcanan NaOH miktarı çıkartılarak (1) ve 1 ml 0.02N NaOH 20 µmol (=0.02 mmol) UYA'ne denk olduğundan yola çıkarak, 20 µmol UYA, 1 ml 0.02N NaOH'a bölünmüş ve (3), elde edilen değerlerin çarpımıyla (1x2x3) toplam UYA miktarı, mmol/lit cinsinden hesaplanmıştır.

#### **Rumen amonyak azotu miktarının belirlenmesi**

Rumen sıvısından 10 ml'lik miktar alınmış, 50 ml'lik bir beher içerisine konulmuş ve üzerine 4-5 damla %98'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> katıldıktan sonra karıştırılarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 10 ml'lik santrifüj tüplerine alınarak 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan berrak kısımdan 2 ml alınmış, Markham steam distilasyon düzeneğine yerleştirilmiştir. Üzerine 1 ml %40'lık NaOH çözeltisi ilave edilmiş, içerisinde 5ml %2'lik borik asit bulunan erlen içerisine damıtılarak 50 ml destilat toplanmıştır. Toplanan destilatın üzerine 3 damla indikatör (0.25 g metil kırmızısı ve 2 ml 0.1N NaOH çözeltisi %95'lik etanol ile 100 ml'ye tamamlanır) ilave edildikten sonra bu karışım 1/70 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile titrasyon yapılmış ve rengin yeşilden kırmızıya döndüğü nokta kayıt edilmiş ve titrasyona son verilmiştir. Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

Amonyak azotu konsantrasyonu mg/lit:  $F \times 0.2 \times 1000/B$

F: titrasyonda harcanan asit miktarı (ml) - kör deneme için harcanan asit miktarı (ml)

B: kullanılan rumen sıvısı miktarı (ml)

#### ***In vitro* gaz üretim tekniği**

Yemlerin toplam gaz miktarlarının belirlenmesinde *in vitro* gaz üretim tekniği (İVGÜ) uygulanmıştır (2;17;18). Tekniğin uygulanmasında yem örneği 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş, yaklaşık 250mg havada kuru yem maddesi (200 mg KM) tartılarak, enjektörün dibine yerleştirilmiştir Rumen sıvısı alınmadan hemen önce, 400 ml saf suya 0.1 ml mikromineral çözeltisi, 200 ml rumen tampon çözeltisi, 200 ml makromineral çözeltisi, 1.0 ml resazurin çözeltisi ve 40 ml indirgeme çözeltisi karıştırılarak hazırlanmış vasat CO<sub>2</sub> altında 39 °C' deki su banyosunda bekletilmiştir. Rumen sıvısı hayvanlardan, yemlemeden hemen önce alınmış, karbondioksit ile beslenen 2 litrelik 39 °C' de ısıtılmış bir erlen içine iki kat tülbentten süzülmuş ve sıcaklığı muhafaza edilerek bir termos içerisinde laboratuvara seri şekilde taşınmıştır. Bir kısım rumen sıvısı iki kısım vasat ile karıştırılarak karışım içine sürekli olarak karbondioksit gazı verilmiştir. Rumen sıvısı vasat karışımından her bir enjektöre 30 ml ilave edilmiştir. İnkübasyonlar sabah başlatılmıştır. Okumalar 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde, sıcaklık değişikliklerini de önlemek için mümkün olduğu kadar hızlı yapılmıştır. Ayrıca 96 saatlik inkübasyon sonrasında enjektörlerde kalan sıvıda pH ölçümü yapılmıştır.

Gaz üretim parametreleri, NEWAY adlı PC paket programı yardımıyla aşağıdaki modele göre hesaplanmıştır [19].

$$y = a + b(1 - e^{-ct})$$

Burada; a: hemen çözünebilir fraksiyondan oluşan gaz miktarı (ml), b: zamana bağlı oluşan gaz miktarı (ml), c: gaz üretim hızı, a+b: potansiyel gaz üretimi (ml), t: inkübasyon süresi (saat), y: "t" zamandaki gaz üretimini temsil etmektedir.

Organik maddenin sindirilebilirliği (OMS, %), 24. saatteki gaz üretim miktarı (GÜ), ham protein (HP, g/kg KM) ve ham külden (HK, g/kg KM) aşağıdaki formül [17] kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{OMS, \%} = 14.88 + 0.889 \text{ GÜ} + 0.45 \text{ HP} + 0.065 \text{ HK}$$

Yemlerin net enerji laktasyon ( $NE_L$ ) [2], metabolize edilebilir enerji (ME) içeriklerinin [20] belirlenmesinde aşağıdaki eşitliklerden yararlanılmıştır. Bu eşitliklerle elde edilen veriler daha sonra kcal/kg KM'ye dönüştürülmüştür.

$$NE_L, (MJ/kg KM) = 0.075GÜ + 0.087HP + 0.161HY + 0.056 NÖM - 2.422$$

$$ME, (MJ/kg KM) = 1.06 + 0.157GÜ + 0.00884HP + 0.022HY - 0.0081 HK$$

Burada; GÜ: 24 saatlik inkübasyon sonrası gaz üretimi (ml/200mg KM), HP: g/kg KM, HY: g/kg KM, HK: g/kg KM, NÖM: g/kg KM

### Enzim Tekniği

Yem örneğinden 0.5g tartılmış (B1) santrifüj tüpüne konmuş üzerine 50ml tampon çözeltisi ilave edilerek 38-40°C'deki su banyosunda 48 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda santrifüj tüpü 10 dak. (1800-2500 dev/dak) santrifüj edilmiştir. daha sonra üst kısımda bulunan tampon çözeltisi alınarak yerine 50ml pepsin çözeltisi ilave edilmiş ve aynı sıcaklıktaki su banyosunda 24 saat süre ile tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyondan sonra tüp darası alınmış (105°C de 48 saat tutulmuş ve tartılmış (Ao) ve G3 kapları içerisinde yıkanmıştır. G3 kapları 105°C'ye ayarlı kurutma dolabında 24 saat kurutulmuş ve soğuduktan sonra tartılmıştır (A1), Tartılan G3 kapları, 550°C 'ye ayarlı yakma fırınında 3-4 saat süre ile yakılmış ve soğutulmuş tartılmıştır (A2).

Enzimatik yöntemle göre yemlerin *in vitro* OM sindirilebilirliği saptanmış [21] ve Brüt enerji (BE), sindirilebilir enerji (SE), metabolize edilebilir enerji (ME) ve net enerji laktasyon ( $NE_L$ ) değerlerinin belirlenmesinde aşağıdaki eşitlikler kullanılmıştır [22; 23].

$$OMS, \% = [1 - (A1 - A2 / B1 - B2)] \times 100$$

$$BE(kcal/kgKM) = 5.99HP + 6.71HY + 4.28HS + 4.73NÖM$$

$$SE(kcal/kg KM) = (BE \times OMS) / 100$$

$$ME(kcal/kg KM) = [(86.82 - 0.0099HS - 0.0196HP)SE] / 100$$

$$q = ME / BE$$

$$NE_L(kcal/kg KM) = kxME, (k = 0.60 + 0.24(q - 0.57))$$

Elde edilen değerler tesadüf parselleri deneme planında tertiplenmiş ve analiz edilmiştir. Yöntemler arasındaki etki ise 2\*2 tesadüf parsellerinde full faktör olarak analiz edilmiştir.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Burada;  $Y_{ijk}$  = i. yem ve j. Zamanında elde edilen k'nci gözlemi,  $\mu$  = populasyon ortalamasını,  $\alpha_i$  = yemin etkisi,  $\beta_j$ : zaman etkisi,  $(\alpha\beta)_{ij}$ : i'nci yem ve j'inci zamanın birlikte etkisini,  $e_{ijk}$  = tesadüfi hatayı göstermektedir.

### 3. Bulgular ve tartışma

Denemede kullanılan yemlere ait ham besin maddeleri içerikleri ve hücre duvarı yapı elemanları Çizelge 1'de verilmiştir. Rumen sıvısına ait pH = 5.97 (5.73-6.34), TUYA = 121 mmol/l (847-141 mmol/l) ve NH<sub>3</sub>-N miktarları 319 mg/l (247-502 mg/l) olarak saptanmıştır.

ATK1 ve ATK2 yemlerine ait gaz üretim miktarları ve gaz üretim parametreleri Çizelge 2 ve Şekil 1'de verilmiştir. Buna göre farklı besin madde içeriklerine sahip aynı yemler arasında gaz üretimleri ( $P < 0.05$ ) ve OMS, ME ve  $NE_L$  içerikleri ( $P < 0.01$ ) bakımından önemli düzeyde farklılık saptanmıştır.

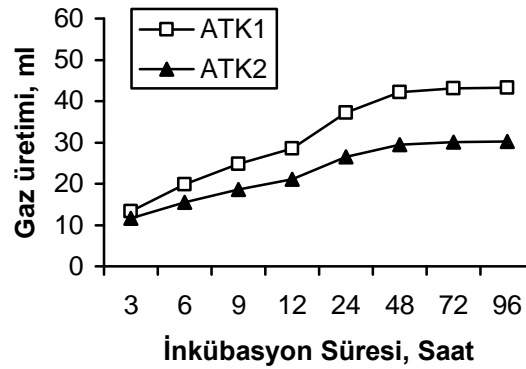
Zamana bağlı gaz üretim miktarları Şekil 1'de görüldüğü gibi yüksek ham protein içerikli ayçiçeği tohumu küspelerinde (ATK1), düşük ham protein içerikli olanlara (ATK2) kıyasla daha yüksek değerler göstermiştir.

Kanüllü hayvanların beslenmesinde kullanılan standart yemler ile denemede kullanılan yemlere ait besin maddeleri içerikleri ve hücre duvarı yapı elemanları içerikleri genel olarak literatür bildirişleri ile uyum içerisinde bulunmuştur. Bununla birlikte, bazı farklılıkların bulunduğu gerçeği de göz ardı edilemez. Bu farklılıkların yemlerin yetiştiği bölgelerin iklimi, toprak yapısı, yetiştirme teknikleri, gübreleme, çeşit farklılıkları, hasat zamanı, yemlere uygulanan işlemler, yemlerin saklanma koşulları v.b. bir çok faktörden ileri geldiği söylenebilir [24].

**Çizelge 2.** Deneme yemlerinin *in vitro* gaz üretimleri ve gaz üretim parametreleri

İnkübasyon süresi (saat)	ATK1	ATK2	P
	Gaz üretim miktarları (ml)		
3	13,36±0,41	11,57±0,71	0,04
6	19,82±0,84	15,53±1,45	0,02
9	24,76±1,06	18,62±1,83	0,01
12	28,57±1,14	21,02±1,97	0,05
24	37,15±0,91	26,46±1,58	0,000
48	42,10±0,51	29,50±0,89	0,000
72	43,09±0,50	30,08±0,86	0,000
96	43,30±0,51	30,21±0,88	0,000
96 saat . pH	6,62±0,09	6,35±0,15	0,16
Gaz üretim parametreleri			
a, ml	4,87±0,51	6,46±0,89	0,14
b, ml	38,49±0,81	23,80±1,41	0,000
c, ml/h	0,082±0,01	0,08±0,01	0,99
RSD	0.66±0.10	0.59±0.04	

a: hemen çözünebilir fraksiyondan oluşan gaz miktarı (ml), b: zamana bağlı oluşan gaz miktarı (ml), c: gaz üretim hızı, RSD: kalıntı standart sapması (rsd : 0-4 arasında ise gaz üretim tekniği sonuçları güvenilirdir)

**Şekil 1.** ATK1 ve ATK2 yemlerine ait gaz üretim miktarları

Çizelge 3'te *in vitro* gaz üretim tekniğinde (İVGÜ) ve enzim tekniğinde elde edilen veriler karşılaştırılmıştır. Buna göre yemler ve yöntemler arasındaki interaksiyon OMS, ME ve NE<sub>L</sub> içerikleri bakımından önemli bulunmuştur (P<0.01).

**Çizelge 3.** Denemede kullanılan yemlerin OMS, ME ve NE<sub>L</sub> içerikleri ile metodlar arasındaki etkiler

	ATK1		ATK2		Etkiler		
	İVGÜ Tek.	Enzim Tek.	İVGÜ Tek.	Enzim Tek.	yemler	metod	yemler x metod
ME, kcal/kg KM	1737,8±29,4	876,0±50,9	1306,2±50,9 b	1309,9±50,9	0,980	0.000	0.000
NE <sub>L</sub> , kcal/kg KM	1467,5±17,2	500,6±29,8	1072,5±29,8 b	714,8±29,8	0,003	0.000	0.000
OMS, %	68,4±0,8	51,6±1,4	53,6±1,4	60,7±1,4	0,034	0.000	0.000
	a	c	C	b			

Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiki farklılık vardır.

Çalışmamızda kullanılan HP içeriği yüksek, HS ve hücre duvarı yapı elemanları içerikleri düşük olan ATK1 yemi bütün inkübasyon sürelerinde ATK2 yemine göre daha yüksek gaz üretim değerlerine sahip olmuştur. Yemlerin besin maddeleri içeriklerindeki farklılıklar *in vitro* gaz üretimini, gaz üretim parametrelerini, bunlardan

hesaplanan enerji değerlerini ve OMD değerlerini önemli ölçüde etkilemektedir. Yemlerin HK ve NÖM içeriğinin artması durumunda gaz üretim miktarlarının azaldığı bilindiğinden [2], çalışmamızda kullanılan yemlerin HK içeriklerinin birbirlerine çok yakın olması nedeniyle çalışmamızda kullanılan yemlerin HK içeriklerinin gaz üretimini etkilemediği düşünülmekte, NÖM içeriği bakımından yüksek değer gösteren ATK2 yeminin ise gaz üretim miktarının ATK1 yeminden daha az olmasında etkisi olduğu görülmektedir. Ancak NÖM içeriği yüksek olan yemlerde her zaman gaz üretiminin de en düşük olacağı söylenilememektedir [24]. Bu durum sadece NÖM içeriğine göre değerlendirme yapmanın yanıltıcı olabileceğini göstermektedir.

Yemlerin HP içeriklerinin yüksek olmasının gaz üretimlerini azaltacağı bildirilmekle [10] birlikte, mikrobiyal faaliyetlerin optimum olarak gerçekleşmesi için yemlerde en az %10 HP bulunmalıdır [26]. Bu nedenle HP içeriğinin %10 sınırının altında olması mikrobiyal aktiviteyi azaltacak, dolayısıyla gaz üretiminde de azalmalara yol açabilecektir. Çalışmamızda kullanılan yemler HP içeriğince zengin oldukları için mikrobiyal aktivitenin düşmesine sebep olduğu düşünülmektedir.

İn vitro gaz üretim tekniğinde 96. Saatlik inkübasyon sonrasında belirlenen pH değerleri bakımından yemler arasında farklılığın olmaması ortamda tampon bileşiklerin gaz üretim miktarlarındaki farklılığa etkisinin olmadığını göstermektedir.

İn vitro gaz üretim tekniğinde kullanılan rumen sıvılarına ait pH, TUYA ve NH<sub>3</sub>-N düzeyleri literatür bildirişleriyle uyumlu bulunmakla birlikte, bu değerler rasyonun yapısına, rumen sıvısının alınma zamanına, hayvanın türüne, yemlere uygulanan işlemlere ve ölçümlerin yapıma zamanına göre [27; 28] değişebilmektedir.

Yemlerin OMS ile gaz üretim hızı arasında kuvvetli bir ilişki vardır [10]. Selülozca zengin yemlerde OMS'nin düştüğü bilinmekte olup, çalışmamızda kullanılan ATK2 yeminde de gaz üretim miktarının düştüğü saptanmıştır. Yemler arasında c değeri bakımından farklılık görülmemiştir (P>0.05).

Metabolize edilebilir enerji değerinin hesaplanmasında ATK2 yemi için metodların etkisinin görülmemesi ancak, ATK1 yemi için metodlar arasında önemli farklılıkların bulunması, yemlerin metod belirlemede etkili olduğu kanaatini doğurmaktadır. Bundan dolayı yemlerin HP içeriği ya da HS içeriklerindeki farklılıkların metod tercih etmede rol oynadığı düşünülmektedir. NE<sub>L</sub> ve OMS değerlerinin hesaplanmasında hem yemler hem de metodlar arasında önemli farklılıkların görülmesi elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde araştırmacılara güven vermemektedir.

Laboratuvar şartlarında uygulanabilen iş gücü ve maliyeti düşük olan enzim tekniğinin, ruminal ortamla karşılaştırıldığında uygulandığı ortamda tam bir enzim aktivitesinin gerçekleşemeyeceği ve bu nedenle enzim tekniğinin daha düşük değerler gösterdiği bilinmektedir (29). Çalışmamızda da enzim tekniği kullanılarak elde edilen ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerlerinin *in vitro* gaz üretim tekniğine göre genel olarak daha düşük olmasının sebebi enzim aktivitesinin yetersiz olmasına bağlanabilir.

Çizelge 4'ün incelenmesinden de görüldüğü gibi çalışmamızda gerek *in vitro* gaz üretim tekniği gerekse enzim tekniği kullanılarak elde edilen veriler, genel kabul gören literatür bildirişlerinden düşük değerler göstermişlerdir. Bu nedenle elde edilen verilerin değerlendirilmesinde yemlerin gerçek ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri olarak kullanmak uygulamada büyük problemlere neden olabilecektir.

**Çizelge 4.** Literatür bildirişlerinde farklı düzeyde HP içeren ATK'ne ait ME ve NE<sub>L</sub> içerikleri

HP içeriği, %	ME, kcal/kg	NE <sub>L</sub> , kcal/kg	Kaynak
30	2120		
36	2250		[24]
32.6	2720	1595	
38.6	2000	1475	[30]
28.4	2240	1380	[31]
41	2480	1660	
44	2230	1400	[32]

#### 4. Sonuçlar

Sonuç olarak farklı besin madde içeriklerine sahip aynı yemler (ATK1, ATK2) arasında gaz üretimleri (P<0.05) ve OMS, ME ve NE<sub>L</sub> içerikleri (P<0.01) bakımından önemli düzeyde farklılık saptanmıştır. İn vitro gaz üretim

tekniki ile elde edilen ME ve NE<sub>L</sub> değerleri enzim tekniği ile elden edilen değerlere göre daha yüksek olmakla birlikte, yemlerin geręek değerlerinden daha düşük değerler göstermektedirler. Bu nedenle denemede kullanılan yemlerin geręek enerji değerlerinin her iki yöntemle de belirlenmesi önerilmemektedir. Ancak, söz konusu iki teknik farklı yemlerin kendi aralarında kıyaslanması durumunda sorunsuzca kullanılabilir.

### Kaynaklar

- [1] Owensby, C.E., Cochran, R.C., Auen, L.M., "Effect of elevated corbondioxide on forage quality for ruminants. In Carbon Dioxide, Populations, and Communities", (edited by Körner, C. Et al.) San Diego: Academic Press. p. 363-371, (1996).
- [2] Menke, K.H., Steingass, H., Estimation of the Energetic Feed Value Obtained from Chemical Analysis and *in vitro* Gas Production Using Rumen Fluid. Anim. Res. Devl., Separate Print, 28:7-55, (1988).
- [3] Anonymous, From Feed To Milk: Understandig Rumen Function. erişim tarihi: 02.08.2001 from <http://www-das.cas.psu.edu/den/catnut/422/index.html> (2001).
- [4] Abdulrazak, S.A., Fujihara, T., Ondilek, J.K., Ørskov, E.R., "Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya". Anim. Feed. Sci. and Technol.. 85:89-98, (2000).
- [5] Doane, P.H., Schofield, P., Pell, A.N., "Neutral detergent fiber disappearance and gas and volatile fatty acid production during the *in vitro* fermentation of six forages". J. Anim. Sci. 75:3342-3352, (1997).
- [6] Calabro, S., Infascelli, F., Bovera, F., Moniello, G., Piccolo, V., "*In vitro* degradability of three forages: fermentation kinetics and gas production of NDF and neutral detergent-soluble fraction of forages". J. Sci. Food Agric. 82:222-229, (2001).
- [7] Mertens, D.R., Weimer, P.J., Waghorn, G.C., "Inocula differences affect *in vitro* gas production kinetics". USA Dairy Forage Research Center, 1997 Research Summaries. Pp.53-54, (1997).
- [8] Pell, A.N., Doane, P.H., Schofield, P., "*In vitro* digestibility and gas production". Erişim tarihi: 15.10.2004, From <http://www.sbz.org.br/anais1997/simp/palest7.pdf>. (1997).
- [9] Kılıç, Ü., "Ruminant beslemede kullanılan bazı yem hammaddelerinin *in vitro* gaz üretim tekniği kullanılarak bazı fermentasyon ürünlerinin ve enerji içeriklerinin belirlenmesi". Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Samsun. (Basılmamış Doktora Tezi) (2005).
- [10] Chenost, M., Aufrere, J., Macheboeuf, D., "The gas-test technique as tool for predicting the energetic value of forage plants". Anim. Res. 50: 349-364, (2001).
- [11] Sanderson, R., Lister, S., A, S., Dhanoa, M., "Effect of particle size on *in vitro* fermentation of silages differing in dry matter content". Proceedings of British Society of Animal Science Annual Meeting, Scarborough, p 197, (1997).
- [12] Filya, İ., Karabulut, A., Canbolat, Ö., Deęirmencioęlu, 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 Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler serisi. No:25, Bursa, 1-16s, (2002).
- [13] Wettstein H.R., Machmuller, A., Kreuzer, M., "Effects of raw and modified canola lecithins compared to canola oil, canola seed and soy lecithin on ruminal fermentation measured with rumen simulation technique". Anim. Feed. Sci. and Technol.. 85 (3-4) 153-169, (2000).
- [14] A.O.A.C. "Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis", 15th (Ed.), Vol. 1. AOAC, Washington, DC, pp. 69-79, (1990).
- [15] Van Soest, P.J., "Analytical systems for evaluation of feeds. In: Nutritional ecology of the ruminant" (P.J. Van Soest Eds.) Cornel University Press. Chapter 6. Ithaka. NY. Pp.75-94, (1982)
- [16] Markham, R., "A steam distillation apparatus suitable for micro-kjeldahl analysis". Biochem. J., Pp. 36:790, (1942).
- [17] Menke, K.H., 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. Agric. Sci. Camb. 93:217-222, (1979).
- [18] Blümmel, M., Ørskov, E.R., "Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradabilities of roughages in predicting food intake of cattle". Anim. Feed. Sci. and Technol.. 40: 109-119, (1993).
- [19] Ørskov, E.R., McDonald, I., "The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage". J. Agric. Sci. Camb. 92: 499-503, (1979).
- [20] Close, W., Menke, K.H., "Selected topics in animal nutrition. Deutsche stiftung für internationale entwicklung", Dok 1350 C/a, Germany, pp:170, (1986).
- [21] Alçıçek, A., Wagener, P., "Bazı kaba yemlerde net enerji laktasyon içeriğinin sellülaöz yöntemi ve Hohenhaim yem testi ile saptanmasına yönelik araştırmalar". E. Ü. Zir. Fak. Dergisi, 32:67-74, (1995).
- [22] Jarrige, R., "Recommend Allowances and Feed Tables". Ruminant Nutrition Academic Press, 213-305. London, (1989).

- [23] Malossini, F., Bartocci, S., Terzano, G.M., Tibaldi, E., Bovolenta, S., "Estimation of gross energy in forages from chemical composition". NAR (Series B), 63:61 (Abst), (1993).
- [24] Kutlu, H.R., Baykal Çelik, L., "Yemler Bilgisi ve Yem Teknolojisi". Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Ders Kitapları Yayın No: A-86, Adana, (2005).
- [25] Kılıç, Ü., Garipoğlu, A.V., Boğa, M., Yurtseven, S., "Bazı Yem Hammaddelerinin İn Vitro Gaz Üretimi, Rumen Parçalanabilirlikleri ve Enerji İçeriklerinin Belirlenmesi", Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 4. Ulusal Zootekni Öğrenci Kongresi (248-253). 15-17 Mayıs, Samsun, (2008).
- [26] Norton, B.W., "The nutritive value of tree legumes". Erişim tarihi: 23.10.2003. from <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Pub/licat/Gutt-shel/x5556e0j.htm> , pp. 1-10, (2003).
- [27] Ørskov, E.R., "Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants". Livest. Prod. Sci. 39: 53-60, (1994).
- [28] Karlı, M.A., Taşal, T., "Ruminantlarda Fındık küspesinin Mikrobiyal Protein Sentezi Üzerine Etkisinin Soya Fasülyesi Küspesiyle Karşılaştırılması". II.Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 18-20 Eylül 2003, Konya. s. 397-402, (2003).
- [29] Çerçi, İ.H., Tatlı Seven, P., Azman, M.A., Birben, N., "Koyunlarda bazı kaba ve yoğun yemlerin naylon kese yöntemiyle kuru ve organik madde yıkımlanabilirliklerinin ve enzim tekniği ile kuru ve organik madde sindirilebilirliklerinin saptanması". F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi 2004, 18(2), 111-116, (2004).
- [30] Ergül, M., "Karma Yemler ve Karma Yem Teknolojisi". II. Baskı. Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları No: 384. Ege Üniversitesi Basımevi. Bornova-İzmir, (1994).
- [31] NRC., "Nutrient Requirements of Dairy Cattle". 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC, (2001).
- [32] Ensminger, M.E., Oldfield, J.E., Heinemann, W.W., "Feeds and nutrition (2nd ed.)" The Ensminger Comp., California, (1990).