



MUŞ ALPARSLAN ÜNİVERSİTESİ

TARIM VE DOĞA DERGİSİ

MUŞ ALPARSLAN UNIVERSITY

JOURNAL OF AGRICULTURE AND NATURE



Yonca kuru otuna (*Medicago sativa*) atık kahve ekstraktı ilavesinin antimetanojenik etkisinin *in vitro* gaz üretim metoduyla belirlenmesi

Bilal Selçuk¹ • Tuğba Bakır¹ • Ali Kaya² • Atilla Başer¹

¹ Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

✉ Corresponding Author: blselcuk46@gmail.com

Please cite this paper as follows:

Selçuk, B., Bakır, T., Kaya, A., & Başer, A. (2022). Yonca kuru otuna (*Medicago sativa*) atık kahve ekstraktı ilavesinin antimetanojenik etkisinin *in vitro* gaz üretim metoduyla belirlenmesi. *Muş Alparslan Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 2(2), 77-82.

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi: 06.06.2022

Kabul Tarihi: 02.09.2022

Online Yayınlanma: 05.09.2022



Anahtar Kelimeler:

In vitro

Atık kahve ekstraktı

Metan üretimi

Ö Z E T

Bu çalışmada, çiçeklenme döneminde hasat edilmiş olan yonca kuru otuna (*Medicago sativa*) farklı dozlarda atık kahve ekstraktı ilavesinin; yonca kuru otunun fermantasyon parametreleri; pH değerleri, amonyak azotu (NH₃-N) üretim miktarları, metabolize edilebilir enerji ve *in vitro* organik madde sindirimi üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Atık kahve ekstraktı ilavesi yonca kuru otunun *in vitro* gaz üretimlerini ve metan üretim değerlerini önemli düzeyde etkilemiştir (P<0,001). *In vitro* gaz üretim metodu ile belirlenen 24 saatlik gaz üretim miktarları 44,76 ile 62,52 ml 200mg⁻¹ kuru madde (KM) arasında bulunmuştur. Yonca kuru otunun gaz üretim değerleri atık kahve ekstraktı ilavesi ile önemli derece artmış olup en yüksek değer 1,2 ml ilaveli grupta bulunmuştur. Fermantasyon sonrası % CH₄ üretiminde en düşük değer %16,98 ile kontrol grubunda bulunurken; en yüksek üretim %24,31 ile yonca kuru otuna 1,8 ml atık kahve ekstraktı ilave edilen grupta bulunmuştur. Atık kahve ekstraktı ilavesi ile amonyak azotu (NH₃-N) üretim miktarları 19,27 ile 23,77 mg 100ml⁻¹ arasında değişmiş olup en yüksek değer kontrol grubunda, en düşük değer ise 1,2 ml ilave edilen grupta bulunmuştur. Atık kahve ekstraktı ilavesinin yonca kuru otunun NH₃-N üretim miktarlarını azalttığı görülmüştür (P<0,05). Metabolize edilebilir enerji ve *in vitro* organik madde sindirimi düzeylerini önemli seviyede etkilemiştir (P<0,001). Fermantasyon sonrası rumen sıvılarının pH değerlerinde kontrol grubuna oranla herhangi bir farklılık görülmemiştir (P>0,05). Sonuç olarak yonca kuru otuna atık kahve ekstraktı ilavesinin ruminant hayvanlarda antimetanojenik bir etki göstermediği görülmüştür.

Determination of antimethanogenic effect of addition of waste coffee extract to alfalfa hay (*Medicago sativa*) by *in vitro* gas production method

Research Article

A B S T R A C T

Article History

Received: 06.06.2022

Accepted: 02.09.2022

Published online: XX.XX.2022

Anahtar Kelimeler:

In vitro

Waste coffee extract

Methane production

In this study, the addition of waste coffee extract at different doses to alfalfa hay (*Medicago Sativa*) harvested during flowering; fermentation parameters of alfalfa hay; The effects on pH values, ammonia nitrogen (NH₃-N) production amounts, metabolizable energy and *in vitro* organic matter digestion were determined. The addition of waste coffee extract significantly affected the *in vitro* gas productions and methane production values of alfalfa hay ($P<0.001$). The 24-hour gas production amounts determined by the *in vitro* gas production method were found to be between 44.76 and 62.52 ml 200mg⁻¹ dry matter (DM). Gas production values of alfalfa hay increased significantly with the addition of waste coffee extract, and the highest value was found in the group with 1.2 ml addition. While the lowest value in % CH₄ production after fermentation was found in the control group with 16.98%; The highest production was found in the group that added 1.8 ml of waste coffee extract to alfalfa hay with 24.31%. Production amounts of ammonia nitrogen (NH₃-N) with the addition of waste coffee extract varied between 19.27 and 23.77 mg 100ml⁻¹, and the highest value was found in the control group and the lowest value in the group with 1.2 ml added. It was observed that the addition of waste coffee extract decreased the NH₃-N production amounts of alfalfa hay ($P<0.05$). It significantly affected the levels of metabolizable energy and *in vitro* organic matter digestion ($P<0.001$). No difference was observed in the pH values of the rumen fluids after fermentation compared to the control group ($P>0.05$). As a result, it was observed that the addition of waste coffee extract to alfalfa hay does not have an antimethanogenic effect in ruminant animals.

1. GİRİŞ

Ruminantlar için hayati bir öneme sahip olan kaba yemlerin sindirilebilirliğini arttırmak amacıyla rumendeki mikrobiyal faaliyetin olumlu yönde manipüle edilmesi ve rumen performansını iyileştirme çalışmaları son yıllarda hayvan besleme alanındaki araştırmacılar için en önemli hedeflerden biridir (Teferedegne, 2000). Sürekli artan insan nüfusu nedeniyle, otlaklar ve yem ekimi yapılan alanlar, çoğunlukla insan ihtiyaçlarını karşılamak ve ticari mahsullerin yetiştirilmesine yönlendirildiği için hızla azalmaktadır. Bu nedenle, ruminantların besin ihtiyacını karşılamak ve yem maliyetini azaltmak için geleneksel yemlerin yerini alacak alternatif yem kaynaklarına ve bitkisel atıklara ihtiyaç duyulmaktadır (Venkateswarlu ve ark., 2020). Mahsullerin ve gıda ürünlerinin işlenmesinden elde edilen yan ürünler, tutarlı ve seri üretimleri nedeniyle yem alternatifleri olarak çok dikkat çekmiştir (Seo ve ark., 2015). Kahve üretimi dünya genelinde yıllık ortalama 168 milyon poşet olup, gelişmekte olan tropik ülkelerin en önemli gelir kaynaklarından biridir (TCI, 2016; ICO, 2019). Vignoli ve ark. (2011) 'de yaptıkları çalışmada kahve yan ürünlerinin zengin, düşük maliyetli karbonhidrat, protein kaynağı içerdiğinden dolayı kafein, polifenoller ve melanoidin gibi biyoaktif bileşiklerin hayvanlar üzerinde faydalı etkileri olabileceğini bildirmiştir. Ruminantlardan kaynaklı atmosfere yayılan

metan gazı yıllık 80-115 milyon ton olup, üretilen bu gazın küresel ısınmadaki oranı CO₂ 'den sonra 23 kat daha fazladır ve insanlar tarafından üretilen metan üretiminin %15-20' sini kapsamaktadır (IPCC, 2001). Metan gazının sahip olduğu enerjiden ruminant hayvanlar yeteri kadar faydalanamaz ve fermantasyon sonrası ruminantlar bu gazları geçirme yoluyla atmosfere salar. Bu kayıp hem ekonomik ve hem de ekolojik olarak çeşitli problemlere yol açmaktadır (Öztürk, 2008). Yüksek konsantrasyonda sekonder metabolitlere sahip bitki ekstraktları yapısında tanen ve kafein içeren atık ürünler rumende protozoaları baskıladığı aynı zamanda metan ve amonyak üretimini azalttığı yapılan çalışmalarda görülmüştür (Śliwiński ve ark., 2002; Lila ve ark., 2003; Venkateswarlu ve ark., 2020). Kaba yemlere ekstrakt ilavelerinin rumen performansı üzerine ne gibi etkiler göstereceği literatürde yeterli düzeyde mevcut değildir.

Bu çalışmada yonca kuru otuna (*Medicago sativa*) atık kahve ekstraktı çeşitli dozlarda eklenerek *in vitro* gaz üretim metoduyla fermantasyon parametrelerine, metabolize edilebilir enerji düzeylerine, *in vitro* organik madde sindirimi, pH değerlerine ve amonyak üretim miktarlarına bakılmıştır. Ruminantların beslenmesinde yaygın olarak kullanılan yonca kuru otuna atık kahve ekstraktı ilavesinin rumen performansını arttırması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Yem ve Rumen Sıvısı Materyali

Çalışmada kullanılan yonca kuru otu (*Medicago sativa*) Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi ekim alanından çiçeklenme dönemi hasat edilmiştir. Örnekler 105 °C' de 2 saat boyunca etüvde kurutulmuştur (AOAC, 1990). Laboratuvar koşullarında 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülmüştür. Rumen sıvısı, Kahramanmaraş ilinde bulunan özel bir mezbahadan etik kurulu onayı almış ve rumen gelişimi tamamlamış olan 57-62 kg canlı ağırlığında 1-2 yaş aralığındaki 3 baş ivesi ırkı koyunlardan alınmıştır. Koyunlar kesilir kesilmez rumeninden Kılıç ve Abdiwali (2016) bildirdiği şekilde alınıp 39 °C sıcaklık içeren termos yardımı yemler ve hayvan besleme laboratuvarına getirilmiştir.

Kimyasal analizler

Yonca kuru otunun kuru madde (KM), ham kül (HK), ham protein (HP), ham yağ (HY), içerikleri AOAC (1990)' a göre belirlenmiştir. Yonca kuru otunun asit deterjan fiber (ADF) ve nötr deterjan fiber (NDF) içeriği ise Van Soest ve ark. (1991)' in bildirdiği yöntemlere göre saptanmıştır. Çiçeklenme döneminde hasat edilmiş yonca kuru otunun kimyasal kompozisyonu Çizelge 1' de verilmiştir.

Çizelge 1. Çiçeklenme dönemi hasat edilen yonca kuru otunun kimyasal kompozisyonu

Table 1. Chemical composition of alfalfa hay harvested during flowering

Besin maddeleri	%Oran
Kuru Madde (KM)	92.6
Ham Kül (HK)	9,48
Ham Protein (HP)	16.47
Ham Yağ (HY)	1.2
Nötr Deterjan Lif (NDF)	46.22
Asit Deterjan Lif (ADF)	29.85

Kahve ekstraktının hazırlanması

Atık kahve telvesi ekstraktı Salem (2012) bildirdiği yönteme göre; 10 g kahve atığı 100 ml %10'luk metanol-etanol çözeltisiyle (80 ml saf su, 10 ml metanol, 10 ml etanol) 3 gün boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Kahve telvesi karışımdan süzülerek atık kahve ekstraktı kullanıma hazır hale gelmiştir.

In vitro gaz ve metan üretiminin belirlenmesi

Yonca kuru otunun gaz ve metan üretim değerleri Menke ve ark. (1979) tarafından bildirilen tekniğe göre yapılmıştır. 0.2 gr yonca kuru otu 100 ml hacimli cam şırıngalara tartılmıştır. Her şırınga için tamponlanmış rumen sıvısından

1:2 oranında 30 ml konulmuştur. Atık kahve ekstraktı 0.6, 1.2, 1.8 ml miktarlarında yonca kuru otuna ilave edilmiş ve spesifik kör rumen sıvılarına %10'luk etanol-metanol karışımı 0.6, 1.2 ve 1.8 ml cam şırıngalara eklenmiştir. Çözelti ve yem karışımını içerecek şekilde hazırlanan şırıngalar 39°C'de 24 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Fermantasyon sonucunda cam şırıngalarda üretilen CH₄ İnfrared özellikli metan cihazı yardımıyla ölçülmüştür (Goel ve ark., 2008). 24 saatlik fermantasyondan sonra şırıngalardaki rumen sıvısı içeriklerinin pH değerleri pH 4 ve 7 ile kalibre edilmiş ph metre yardımıyla ölçülmüştür. Daha sonra örneklerden 20 ml rumen sıvısı alınmış ve amonyak (NH₃-N) üretim miktarları destilasyon cihazı yardımıyla belirlenmiştir (AOCC, 1990). Örneklerin metabolize edilebilir enerji (ME/kg KM) ve *in vitro* organik madde sindirimi (IVOMS) ise Menke ve Steingass (1988) bildirdikleri yöntemle saptanmıştır.

$$ME \text{ (MJ/kg KM)} = 1.06 + 0.1570G\ddot{U} + 0.084HP + 0.220HY - 0.081HK \dots \dots \dots (1)$$

$$IVOMS \text{ (\%)} = 28.49 + 0.7967G\ddot{U} + 0.325HP \dots \dots \dots (2)$$

GÜ: 24 saat inkübasyon sonucundaki örneklerin (200 mg KM) gaz üretimi

HP: Ham protein (%)

HY: Ham Yağı (%)

HK: Ham Kül (%)

İstatistik analizler

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 20.0 (2011) paket programında tek yönlü varyans (ANOVA) analizine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testiyle belirlenmiştir (Duncan, 1955).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Farklı dozlarda atık kahve ekstraktı ilave edilen yonca kuru otlarının fermantasyon parametreleri, pH değerleri ve amonyak üretimleri Çizelge 2' de verilmiştir. Atık kahve ekstraktı ilavesi yonca kuru otunun *in vitro* gaz üretimini; metan üretim değerlerini, metabolize edilebilir enerji ve *in vitro* organik madde sindirimini önemli düzeyde etkilemiştir (P<0,001). 24 saatlik fermantasyon sonunda örneklerin *in vitro* gaz üretim miktarları 44,76 ile 62,52 ml-200mg⁻¹ KM arasında bulunmuştur. Yonca kuru otuna kahve ekstraktı eklenen dozlarda *in vitro* gaz üretim miktarlarını önemli seviyede arttırmıştır. Yonca kuru otuna eklenen 1,2 ml kahve ekstraktı *in vitro* gaz üretimi en yüksek düzeyde çıkmıştır. Fermantasyon sonrası % CH₄ üretimi en düşük kontrol grubunda %16,98 olup en yüksek %24,31 yonca 1,8 ml atık kahve ekstraktın da görülmüştür. Yonca kuru otuna atık kahve ekstraktı ilavesinin metabolik enerji seviyelerini arttırdığı görülmüştür. Metabolize edilebilir enerji düzeyi en

düşük kontrol grubunda 8,96 olurken en yüksek 11,75 MJ/kg KM yonca kuru otuna ilave edilen 1.2 ml kahve ekstraktında saptanmıştır. *In vitro* organik madde sindirim seviyeleri en

düşük kontrol grubunda %69,49 olurken en yüksek yonca kuru otuna 1,8 ml kahve ekstraktı ilavesinde %83,37 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 2. Atık kahve ekstraktının yonca kuru otunun rumen fermantasyon parametreleri, amonyak azotu, metabolize edilebilir enerji, *in vitro* organik madde sindirimine etkisi.

Table 2. Effect of waste coffee extract on rumen fermentation parameters, ammonia nitrogen, metabolizable energy, *in vitro* organic matter digestion of alfalfa hay.

Parametreler	Kontrol	AKE 0.6 ml	AKE 1.2 ml	AKE 1.8 ml	SHO	Ö.S.
Gaz (ml)	44.76 ^b	61.45 ^a	62.52 ^a	62.17 ^a	1.703	***
CH ₄ (ml)	7.60 ^c	12.57 ^b	14.22 ^{ab}	15.11 ^a	1.046	***
CH ₄ (%)	16.98 ^c	20.37 ^b	22.77 ^{ab}	24.31 ^a	1.392	**
NH ₃ N(mg/100ml)	23.77 ^a	19.98 ^b	19.27 ^b	20.15 ^b	1.333	*
pH	6.88	6.95	6.95	6.93	0.031	Ö.D.
ME (MJ)	8.96 ^b	11.59 ^a	11.75 ^a	11.70 ^a	0.268	***
IVOMSD (%)	69.49 ^b	82.80 ^a	83.65 ^a	83.37 ^a	1.268	***

^{abc} Aynı simgeye sahip ve aynı satırda yer alan ortalamalar arasında fark yoktur. Ö.S: Önem seviyesi, Ö.D. Önemli değil. SHO: Standart hata ortalaması. NH₃-N: Amonyak azotu (mg-100ml). ME: Metabolize edilebilir enerji (MJ/kg KM). IVOMS: *In vitro* organik madde sindirimi (%)

Bu araştırmada kullanılan atık kahve ekstraktı *in vitro* gaz üretimini ve CH₄ miktarını önemli seviyede arttırmıştır (P<0,001). Patra ve ark. (2006) farklı sekonder metabolitlere sahip bitkisel ekstraktlar da yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar bulmuştur. *In vitro* gaz üretimi ve CH₄ üretimindeki artışın sebebi olarak ekstraktın içinde bulunan suda çözünebilir karbonhidratların sebep olduğunu bildirmişlerdir (Patra ve ark., 2006). Bu araştırmada ekstrakt işlemi için kullanılan etanol-metanol karışımının içerdiği organik maddeler arkealar tarafından kullanılabilceğini ve ayrıca etanolün fermantasyon esnasında asetik aside dönüşüp, metan üretiminde de kullanılabilceği yapılan çalışmalarda görülmüştür (Van Lier ve ark., 2008). Salinas-Rios ve ark. (2015)' de yaptıkları araştırmada kahve posası eklenen rasyonda asetik asit miktarının kontrol grubuna kıyasla arttığını rapor etmişlerdir. Hem etanol hem de metanol fermantasyon aşamasında arkealar tarafından kullanılmasından dolayı atık kahve ekstraktının gerçek etkisini bulabilmek için her doz grubuna spesifik körler oluşturulmuştur. Spesifik körlerin ürettiği *in vitro* gaz üretimi ve CH₄ üretimi yonca kuru otuna eklenen ekstraktların ürettiği *in vitro* gaz üretimi ve CH₄ üretiminden çıkarılmıştır. Buna rağmen doz gruplarında *in vitro* gaz üretimi ve CH₄ üretimi önemli derecede yüksek çıkmıştır. Gaz üretimindeki artışın fermantasyon esnasında asetik asit üretiminin artmasından dolayı olabileceği söylenebilir. CH₄ üretimindeki artışın sebebi ise arkealar ekstrakt içerisinde bulunan etanol ve metanolu kendisi için substrat kaynağı olarak kullanmasından dolayı artmış olabileceği belirtilebilir. Benzer şekilde yapılan diğer

çalışmalarda da bitkisel ekstraktların metabolize edilebilir enerji ve *in vitro* organik madde sindirimini arttırdığı görülmüştür (Jiménez-Peralta ve ark., 2011; Salem ve ark., 2014). Venkateswarlu ve ark., (2020) yaptıkları çalışmada kahve posasının ürettiği gaz ve metan değerleri düşük çıkmıştır. Kahve posasına etanol-metanol çözeltisiyle ekstraksiyon muamelesi uygulamadıkları için fermantasyonda *in vitro* gaz üretim ve CH₄ üretiminde etanol-metanolden kaynaklı bir artış görülmemiştir. Selçuk ve Kamalak, (2022)' de yaptıkları çalışmada yonca kuru otuna biberiye (*R. officinalis*) ekstraktı ekleyerek *in vitro* gaz üretim ve CH₄ üretiminde önemli derecede artış gözlemlenmişlerdir ve rumen kabiliyetini arttırmak için kullanılan bitki ekstraktlarının etanol-metanol karışımıyla ekstraksiyon yapılmamasını veya ekstraktan etanol-metanolün uzaklaştırılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kullanılan atık kahve ekstraktı ilave edilen yonca kuru otunun amonyak NH₃-N üretim miktarları en yüksek 23,77 mg-100ml kontrol grubunda olup en düşük 19,27 mg-100ml yonca 1,2 ml kahve ekstraktı dozunda görülmüştür. Atık kahve ekstraktı yonca kuru otunun amonyak NH₃-N üretim miktarını azalttığı görülmüştür (P<0,05). Salinas-Rios ve ark. (2015) ruminant rasyonuna kattıkları %8 ve %16 oranında kahve posaları kontrol grubuna kıyasla %8 kahve posası eklenen rasyonun fermantasyon sonrası rumen sıvısında amonyak NH₃-N miktarını düşürdüğünü bildirmişlerdir. Yonca kuru otuna eklenen atık kahve ekstraktının rumende nitrojen kaybını azalttığı görülmüştür. Fermantasyon sonrası rumen sıvısı

pH değerlerinde kontrol grubuna oranla bir farklılık görülmemiştir ($P>0,05$).

4. SONUÇ

Atık kahve ekstraktı ilavesinin yonca kuru otunun *in vitro* gaz üretim değerlerini; CH_4 üretim miktarını, metabolize edilebilir enerji ve *in vitro* organik madde sindirimini arttırdığı, amonyak azotu üretim miktarını ise düşürdüğü görülmüştür. Atık kahve ekstraktının antimetanojenik özelliği olmadığı görülmüştür. Ayrıyeten 24 saat fermantasyon sonrası yonca kuru otuna atık kahve ekstraktı ilavesinin rumen sıvısı pH değerlerinde hiçbir fark görülmemiştir. Bununla birlikte atık kahve ekstraktının ruminant rasyonlarında kullanılması durumunda yem tüketim miktarlarına etkisini görmek için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Etik Standartlar ile Uyum

Yazarların Katkı Oranı

Yazarlar, makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları, aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Etik Onay

Yazar bu tür bir çalışma için resmi etik kurul onayının gerekli olmadığını bildirmektedir.

KAYNAKLAR

- AOAC, (1990). Official method of analysis. 15th ed., pp.66-88. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Duncan, D. B. (1955). Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, 11(1): 1-42. <https://doi.org/10.2307/3001478>
- Goel, G., Makkar, H. P., & Becker, K. (2008). Effects of *Sesbania sesban* and *Carduus pycnocephalus* leaves and *Fenugreek* (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage-and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1-3): 72-89. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.010>
- ICO, (2019). International Coffee Organization Statistics. Retrieved on July 5, 2019 from http://www.ico.org/trade_statistics.asp.
- IPCC, (2001). Climate change, Intergovernment Panel on Climate Change 2001. The scientific basis. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

- Jiménez-Peralta, F. S., Salem, A. Z. M., Mejia-Hernández, P., González-Ronquillo, M., Albarrán-Portillo, B., Rojo-Rubio, R., & Tinoco-Jaramillo, J. L. (2011). Influence of individual and mixed extracts of two tree species on *in vitro* gas production kinetics of a high concentrate diet fed to growing lambs. *Livestock Science*, 136(2-3), 192-200. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.09.008>
- Kılıç, Ü., & Abdıwalı, M. A. (2016). Alternatif kaba yem kaynağı olarak şarapçılık endüstrisi üzüm atıklarının *in vitro* gerçek sindirilebilirlikleri ve nispi yem değerlerinin belirlenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(6), 895-901. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2016.15617>
- Lila, Z. A., Mohammed, N., Kanda, S., Kamada, T., & Itabashi, H. (2003). Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3330-3336. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73935-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73935-6)
- Menke, K. H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.
- 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*. *The Journal of Agricultural Science*, 93(1), 217-222. <https://doi.org/10.1017/S0021859600086305>
- Öztürk, H. (2008). Ruminant beslemesinde probiyotik mayalar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 79(3), 37-42
- Patra, A. K., Kamra, D. N., & Agarwal, N. (2006). Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Animal Feed Science and Technology*, 128(3-4), 276-291. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.11.001>
- Salem, A. Z. M. (2012). Oral administration of leaf extracts to rumen liquid donor lambs modifies *in vitro* gas production of other tree leaves. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1-4), 94-101. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2012.07.011>
- Salem, A. Z., Kholif, A. E., Olivares, M., Elghandour, M. M., Mellado, M., & Arece, J. (2014). Influence of *S. babylonica* extract on feed intake, growth performance and diet *in vitro* gas production profile in young lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 46(1), 213-219. <https://doi.org/10.1007/s11250-013-0478-0>

- Salinas-Rios, T., Ortega-Cerrilla, M. E., Sánchez-Torres-Esqueda, M. T., Hernández-Bautista, J., Díaz-Cruz, A., Figueroa-Velasco, J. L., Guinzberg-Perrusquía, R., & Cordero-Mora, J. L. (2015). Productive performance and oxidative status of sheep fed diets supplemented with coffee pulp. *Small Ruminant Research*, 123(1), 17-21. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.09.008>
- Selçuk, B., & Kamalak, A. (2022). Biberiye yaprağı ekstraktının yonca otunun rumen fermantasyonu, metan ve mikrobiyal protein üretimine etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(3), 623-628. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.928188>
- Seo, J., Jung, J. K., & Seo, S. (2015). Evaluation of nutritional and economic feed values of spent coffee grounds and Artemisia princeps residues as a ruminant feed using *in vitro* ruminal fermentation. *PeerJ*, 3, e1343. <https://doi.org/10.7717/peerj.1343>
- Śliwiński, B. J., Soliva, C. R., Machmüller, A., & Kreuzer, M. (2002). Efficacy of plant extracts rich in secondary constituents to modify rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 101(1-4), 101-114. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(02\)00139-6](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00139-6)
- SPSS, (2011). IBM SPSS statistics for Windows, version 20.0. New York: IBM Corp 440.
- TCL, (2016). A brewing storm: the climate change risks to coffee. The Climate Institute. Retrieved on July 5, 2019 from <http://www.climateinstitute.org.au/coffee.html>
- Teferedegne, B. (2000). New perspectives on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(2), 209-214. <https://doi.org/10.1017/S0029665100000239>
- Van Lier, J. B., Mahmoud, N., & Zeeman, G. (2008). Anaerobic Wastewater Treatment. In Henze, M., van Loosdrecht, M. C. M., Ekama, G. A., Brdjanovic, D. (Eds.) *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modeling and Design*. Edit. (pp. 401-442) IWA Publishing, London UK.
- Van Soest, P. V., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74(10), 3583-3597. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- Venkateswarlu, S., Radhakrishnan, L., Karunakaran, R., & Parthiban, M. (2020). Evaluation of spent coffee waste as a ruminant feed by *in vitro* gas production technique. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 873-876. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2m.8875>
- Vignoli, J. A., Bassoli, D. G., & Benassi, M. D. T. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124(3), 863-868. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.008>