



## Türk Doğa ve Fen Dergisi Turkish Journal of Nature and Science

<http://www.bingol.edu.tr/dergiler/turk-doga-ve-fen-dergisi.aspx>



### Son metodlara göre yemlerin kuru madde analizleri

Hüseyin NURSOY<sup>\*1</sup>, Emre ŞAHİN<sup>1</sup>

#### Özet

Bu derlemede, gıda ve yemlerin son metodlara göre nem veya kuru madde (KM) analizlerinin amaç, prensip, prosedür ve güvenlik önlemleri hakkında önemli bilgiler verilmektedir. Son yıllarda araştırma makalelerinin "Materyal ve Metod" bölümlerinde prosedürler ayrıntılı olarak istenmekte, "Literatürler" bölümlerinde ise literatür metninde metod numaralarının da yazılması önerilmektedir. Bu derleme ile ülkemizdeki analistler için standart oluşturulması amaçlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Nem analizi; kuru madde analizi; mikrodalga fırını; NIRS; Karl Fisher titrasyonu; gaz kromatografisi; toluen distilasyon

### Dry matter analysis of feedstuffs based on current methods

#### Abstract

In this review, important information is provided on the purpose, principle, procedure and safety precautions of moisture or dry matter (DM) analyzes of food and feed by using the latest methods. In recent years, the procedures in the "Materials and Methods" sections of the research articles are requested in detail, and in the "Literatures" sections, it is suggested to write the method numbers in the literature text. This review aims to establish a standard for analysts in our country.

**Keywords:** Moisture analysis; dry matter analysis; microwave oven; NIRS; Karl Fisher titration; gas chromatography; toluene distillation

#### 1. Giriş

##### 1.1. Kuru Madde Analizleri İçin Örneklerin Hazırlanması

Kuru Madde (KM) veya nem analizlerine uygun ve homojen numune hazırlanmak için yemlerdeki tel, taş, toprak, kökler, farklı yemler, vb. temizlenmelidir. Yem değirmene girebilecek büyüklüğe getirilmeli veya uygun doğranmalıdır. Öğütülen yemler tekrar karıştırılmalı, hava cereyanında savrulmamalı ve hava almayan desikatörlerde bekletilmelidir. KM oranı düşük veya çok yaş yemler öğütülmemeli kısmi kurutma yapılmalıdır. KM oranı %85-95 aralığında olan kuru-konsantre yemler için değirmenin öğütme ibresi 1 mm'ye ayarlanır. KM oranı %85'ten aşağı kaba yemler (Silajlar ve haylajların (soldurulmuş, haylage) ortalama partikül uzunlukları 2.5 cm olmalıdır) için 50 mm çaplı ve 40 mm derinlikli alüminyum tabaklarda önce 65°C'de ve 48 saatte kısmi kurutma yapılır sonra değirmenin öğütme ayarı 4-6 mm'ye ayarlanır. İkinci kurutmadan sonra konsantre yemler gibi örnekler 1 mm'de öğütülürler. Öğütme işleminde her seferde düzenli olarak fırçalarla değirmen temizlenmeli gerekirse vakumlu araçlar kullanılmalı, başka örnek kalıntıları bulunmamalıdır. Öğütülen örnekler ısı ve ışıktan uzak tutulmalı, hava

almayan desikatörlerde bekletilmelidir. Desikatörlerde, desikant olarak CaO, CaCl<sub>2</sub>, BaO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, CaSO<sub>4</sub> ve KOH kullanılmaktadır [1, 2].

##### 1.2. Güvenlik Önlemleri

Öğütücülerin giysileri uygun olmalı laboratuvar gözlüğü, tozların inhalasyonuna karşı ağız - burun maskeleri kullanılmalı ve sese karşı kulaklık takılmalıdır. Cihazın kullanım kurallarına uyulmalıdır. Çoğu değirmenlerde, aşırı öğütme motorun yanmasına neden olduğu için aralıklı yapmak gereklidir. Makinenin bıçakları periyodik olarak bilmeli veya değiştirilmelidir. Aynı şekilde motor kısmının tozlanmaması için temizliği sağlanmalıdır. Bu amaçla vakumlu araçlar kullanılabilir. Parmaklar ve kullanılan objeler değirmenin milleri arasına kaptırılmamalı dalgınlığa yer verilmemelidir [3].

#### 2. KM Analizleri

##### 2.1. Hava Akımlı Kurutma Fırınlarda KM Analizleri

##### 2.1.1. Kısmi KM Analizi

KM içeriği %85'in altındaki silajlar, yaş otlar veya diğer yaş numuneler öğütülemez. Bu nedenle 55-60 °C derecelerde ön, kurutma yapmakla, kimyasal kompozisyon (su veya nem

<sup>1</sup> Bingöl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 12000 Bingöl, Türkiye

\*Sorumlu yazar E-posta: [nursoymalatya@hotmail.com](mailto:nursoymalatya@hotmail.com)

dışında) minimal etkilenmektedir. Ön kurutmadan sonra esas veya son kurutma yapılır, sonra öğütülür ve diğer kimyasal analizlere geçilir. Ancak son kurutmaya geçmeden önce, ön kurutmadan çıkan numunelerde selüloz, asit deterjanda çözünmeyen azot (ADIN) ve lignin analizleri yapılır ve sonra son kurutmadaki KM değerine göre düzeltme yapılır. Hava akımlı kurutma fırını (Forced-air drying oven); raflı, vantilatörlü ve hava çıkışı olan bir cihazdır. Isıtma esasında hava çıkışı açık tutulmalıdır. Analitik elektronik tartı, (0.01g hassasiyetli) kaba yem ve benzeri numuneler için 250-300 g kapasiteli alüminyum kaplar ve desikatöre ihtiyaç vardır [2].

**Prosedür:** Kuru alüminyum folyo üzerine kodlama yapılır. Alüminyum ve benzeri metal kaplar ve porselen krozelere 105°C'de 2 saat, kağıt malzemeli ve benzeri kaplar 55°C'de 8 saat boş olarak fırında kurutulurlar. Fırından sonra hemen desikatöre alınır ve 20-30 dk. soğuması beklenir. Boş ağırlık belirlenir (A1). Saf numune tartılır A2 olarak kaydedilir. Düşük nemli (% 50'den az KM) kaba yem örnekleri için 70-130 g, yüksek nemli (% 50'den fazla KM) kaba yem örnekleri için 150-250 g, mısır silajı örnekleri için 150-250 g, yüksek nemli tane mısır örnekleri için 150-250 g örnekler alınır. Tabaklar çalkalanır ve numunenin üniform ve maksimum alanda kurumasa sağlanır. Örnekler hava akımlı kurutma dolabında, 55°C'de 16-24 saat kurutulur. Fırında hava akımı olmalı aşırı doldurulmamalıdır. Proteinlerin zarar görmemesi için fırın içi sıcaklığı 60°C'yi kesinlikle geçmemelidir. Bu sıcaklık uçucu asitleri korumak için katılan toluenli silaj örneklerine yakın bir KM sıcaklık değeridir. Örnekler desikatöre alınmadan, dışarıda 2-4 saat bırakılır. Sonra teraziye alınır, 0.1 mg'lık bir rakam farklılığı oluşuncaya kadar sabitleme beklenir ve A3 olarak yazılır. KM oranı % 85'in üzerine çıkması işlemin doğruluğunu gösterir [2, 4].

Hesaplama:

$$KM, g = (A3 - A1/A2).$$

A1 = alüminyum folyo darası,

A2 = saf yem ağırlığı,

A3 = Kurutulduktan ve soğutulduktan sonra dara+ yem,

[4].

**Güvenlik Önlemleri:** Elektrikli fırının kullanım kurallarına uyulmalıdır. Fırının metoduna uygun sıcaklık ve sürede çalıştırılmasına uyulmalıdır. Fırın aşırı doldurulmamalı hava sirkülasyonu sağlanmalıdır. Desikatör

kapağının sıcaklık basıncına bağlı olarak açılmamasına karşı gres yağı veya vazelinle kaydırılabilir hale getirildikten sonra kullanılmalı ve bu basınca karşı ilk aşamada çok az bir kapak açıklığı verilmelidir. Desikatörün nemi absorbe eden materyali (kireç, vb.) yılda 2 defa değiştirilmelidir. Her numune en az 2-3 paralel yapılmalıdır. Paraleller arası standart sapma 0.10'u geçmemelidir [2, 4].

### 2.1.2. Normal KM Analizi

Kuru madde analizleri, yem alırken fazla neme veya suya para vermemek, besin maddelerinin tablo değerleri KM'ye göre belirlendiği için doğru rasyonların hazırlanması ve küf oluşumunu önlemek, depolanacak yemlerde nem içeriğinin %12.5'ten fazla olmaması için mutlaka yapılması gereken temel bir yem analizidir. Prensipten olarak yemdeki nemin buharlaştırılması ve gravimetrik (kütle ölçümüne dayalı) ölçümle bu miktarın bulunmasıdır. Konsantr yemler ve toprak gibi materyallerde en çok kullanılan KM analiz metodudur. KM oranı düşük silaj, yeşil yemler gibi uçucu asitler ve alkol (-OH) içeren materyallerde selüloz, asit deterjanda çözünmeyen azot (ADIN) ve lignin analizleri bu metodla yanlış sonuç vermektedir. Ekipman olarak; 2.1. bölümdeki ekipmanlara ilave olarak konsantr yem v.b numuneler için yaklaşık 50 ml hacimli porselen krozelere veya potalar kullanılır [2].

**Prosedür:** Kuru alüminyum folyo veya porselen krozelere etiketlendirme yapılır. Alüminyum ve benzeri metal kaplar ile porselen krozelere 105°C'de 2 saat, kağıt malzemeli ve benzeri kaplar 55 °C'de 8 saat boş olarak fırında kurutulurlar [5].

### 2.2. Vakumlu/Basınçlı Kurutma Fırınında KM Analizleri

Bu KM analizleri, fırın içi basıncı 20 mm Hg'dan aşağı olmayan ve sıcaklığı 20-100 °C arasında olan vakum fırınlarında 5-20 saat numunenin kurutulmasıyla yapılır. Şeker ve su içeriği yüksek yemlerde, şeker su moleküllerine bağlandığı ve normal fırında basınç olmadığı için su ayrılmamaktadır. Melas ve benzeri yemlerin KM analizleri vakumlu/basınçlı kurutma dolabında yapılmalıdır [2, 6].

**Tablo 1.** Konsantr yemlerin hava akımlı kurutma dolabında yapılan KM Analizlerinin Prosedürleri [6].

Materyal	Örnek Miktarı	Fırın Sıcaklığı	Süre	AOAC Metod Numarası
Tüm konsantr yemler	2 ± 0.01 g	105 °C± 2 °C	16 saat (1 gece) ± 5dk.	AOAC-967.03
Tüm konsantr yemler	2 ± 0.01 g	100 °C± 2 °C	24 saat ± 5dk.	AOAC-967.03
Tüm konsantr yemler, yağ, üre, şeker içeriği % 4'ten fazla olan yemler ve sütler, UYA ve alkol içeriği düşük olan kaba yemlere uygulanır. Bu metod ileri kimyasal analizler yapılacak numuneler için uygun değildir.	2 ± 0.01 g	135 °C± 2 °C	2 saat ± 5dk.	AOAC-930.15
Unlar	2 g	130°C	1 saat	AOAC 925.10
Soya Unu	5 g	130°C	2 saat	AOAC 925.10
Malt	5-10 g	103-104°C	3 saat	AOAC 935.29
Ham veya rafine şekerler, şekerleme ürünleri	5 g	100°C son 10 dk. 110°C'ye çıkarılır.	3 saat	AOAC 925.45
Et ve tavuk unu (yağ oranı düşük)	2 g	100-102°C	16-18 saat	AOAC 950.46a
Süt	5 g	100 ± 2 °C	3 saat	AOAC 990.19

**Tablo 2.** Bazı maddelerin vakumlu kurutma dolabında yapılan KM Analizlerinin Prosedürleri [6]

Materyal	Örnek miktarı	Basınç, mm Hg	Sıcaklık	Süre	AOAC Metod Numarası
Kuru yemler (Üre içeriği % 5'ten az olan yemler için)	2 g	≤100	95-100°C	5 saat	AOAC 934.01
Yüksek şekerli yemler melas, sıvı veya yarı-katı yemler	2 g	≤20	70°C	18 saat	AOAC 31.007
Yüksek melaslı yem karmaları	2 g	≤50	70°C	20 saat	AOAC 934.01
Un, (İçinde NaHCO <sub>3</sub> olmamalıdır)	2 g	≤25	98-100°C	5 saat	AOAC 925.09
Et ve tavuk unu (Yağ oranı düşük )	2 g	≤100	95-100°C	5 saat	AOAC 950.46a
Ham veya rafine şekerler	2-5 g	≤50	60°C	18 saat	AOAC 925.45
Sıvı ve katı yağlar	5 g	≤100	20-25°C	1 saat	AOAC 926.12

### 2.3. Mikroalga Fırınında KM Analizi

Mikroalga fırını ile hızlı, basit fakat güvenilir olmayan nem içeriği belirlenebilir. Mikroalga fırını 1-1000 GHz arasında frekans ve 0.1-100 cm arası elektromanyetik dalga yayan aletlerdir. Evlerde kullanılan mikroalga fırınlarında suyun rezonans veya emilim değeri 2.45 GHz frekansındadır. Bu dalga boyunda su molekülleri ısınmakta ve maddenin kendisi de pişmektedir [7]. Bu metotta 100 g numune, mikroalgaya dayanıklı porselenlerde mikroalga fırınında maksimum 3 dakika tutulur. Fazla tutulması numuneyi yakar. Kuru otlar gibi uçucu yağ asitleri az olan örnekler için bu fırınlar sadece KM içeriğinin belirlenmesi için kullanılabilir. Ancak mikroalga ile kurutulan örneklerde selüloz, lignin, ADIN ve NIR analizi yapılmaz, çünkü fırın sıcaklığı 70°C'nin üzerindedir [8]. Oetzel ve ark. [9] mikroalga fırınında kurutulan mısır silajı ve yonca silajının normal fırında kurutulanlarla benzer KM değerleri verdiğini bildirmektedirler. Prensipten dolayı; Nem içeriğinin mikroalga radyasyonu ile buharlaştırılması ve kalan kısmın gravimetrik (ağırlık esasına göre) olarak belirlenmesi prensibine dayanır [2].

**Ekipman:** Minimum 500-600 wattlık, dönen tablalı, mikroalga fırını, 0.01g hassasiyetli analitik elektronik tartı, kaba yem ve benzeri numuneler (3-5 cm kesilirler) için 250-300 g ve konsantre yemler için 10-20 g kapasiteli kağıt, mikroalgaya dayanıklı porselen, cam veya özel plastik kaplar kullanılabilir. [10].

**Önemli Uyarılar:** Mikroalga fırını periyodik olarak radyasyon kaçırma riskine karşı test edilmelidir. Çünkü bu kaçak radyasyon dalgaları vücudumuz tarafından absorbe edilmekte, vücut ısısını arttırmakta, kalp pili olan kişilerde ölümlere neden olmaktadır. Ayrıca göz lensini parçalamaktadır. Metal, alüminyum folyo, alüminyum kaplamalı süt kutuları, naylon ve plastik materyaller ve mikroalgaya dayanıksız porselenler mikroalga fırında parçalandığı için kesinlikle kullanılmamalıdır. Mikroalga fırınına, yanmaya karşı dayanıklı plastik kapta 20 ml soğuk su bırakılmalıdır. Numuneler 5 dk.'dan fazla fırında tutulmamalıdır [10].

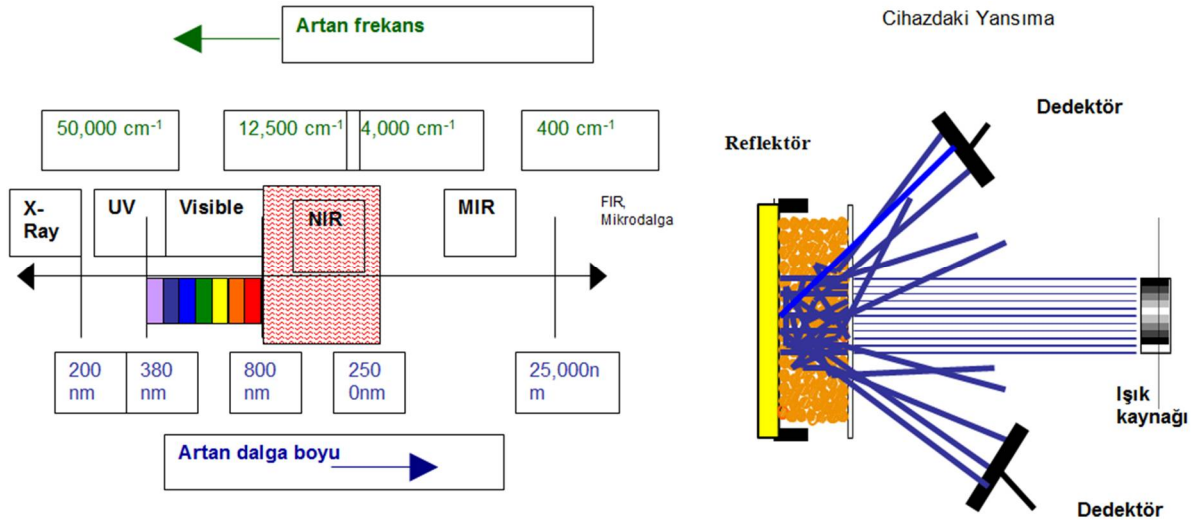
**Prosedür:** Kuru boş kap alınır 3 dk. full çalıştırılır. Dışarı alınır ve havada soğutulduktan sonra tartılır, A1. Kuru numune eklenir, A2. Kap+Numune fırına yerleştirilir. Fırın yaklaşık 3-5 dk. ve %80-100 güçte çalıştırılır. Numunenin yanmasını önlemek için 5 dk.'dan fazla fırında tutulmamalıdır. Kap+Numune fırından çıkartılır, 3-5 dk. dışarıda soğutulur, tartılır ve tekrar fırına yerleştirilir. Süre 1 dk. ve güç %50 azaltılır, bu işlem %50'den fazla nemli maddeler için 4-5 kez, aşağısı için 3 kez yapılır. Son tartımda 0'dan sonraki rakamlarda oynama 0.01'e kadar düşerse ağırlık kaybı sabitlenmiş demektir. Ayrıca bir önceki tartımla aralarında 0.5 g fark olursa son tartım kabul edilir. Fazla fırında kalması numunenin yanmasına, yanık kokusuna, siyahlaşmaya neden olursa KM yüksek çıkar (2, 10]. Hesaplama:  $KM, \% = (A3 - A1/A2) \times 100$  A1 = Kabin

darası, g A2 = Saf yem ağırlığı, g A3 = Kurutulduktan sonra dara+ yem, g [10]

### 2.4. Kızılötesine Yakın Işın Yansıtma (İletme) Spektroskopisi (Near Infrared Reflectance (Transmittance) Spectroscopy, NIR (T) S) ile KM Tayini

Yemlerin nem içeriği, Kızılötesine Yakın Işın Yansıtma veya İletme Spektroskopisi (NIR(T)S) cihazı ile yemler öğütülmeden çok hızlı şekilde belirlenmektedir. Granül ve sıvı formda analizler yapılabilmektedir. NIRS'ta kimyasal maddeler kullanılmaz. Numunenin, kalibrasyonu doğru olan cihazdan 1 defa geçirilmesi nem veya KM tayini için yeterlidir. Genel olarak organik maddelerde Hidrojen bağı olduğu için NIRS'ın kızılötesi ışıkları veya dalgaları yansıma yapabilmektedir. Ca, P gibi mineral ölçümleri için farklı yansıtma kaynakları geliştirilmiştir. Yemlerdeki su, protein, yağ, NDF, ADF selüloz vb. gibi maddelerin içindeki C-H, N-H, O-H, S-H, vb. Hidrojen bağlarının üzerine en az 400-2500 nm dalga boylarındaki bir tungsten telli halojen bir lamba veya ışık (en az 100 W) kaynağından dalgaların gönderilmesi ve bu bağlardaki tekrar yansıtılan ışık enerjisinin bir spektrometre tarafından 2 nm'de bir absorbe edilmesi ve logaritmik rakama çevrilmesine dayanır. Absorbe edilen bu dalga değerleri  $\log(1/R)^6$  olarak kaydedilir. Burada, R: Yansımanın dalga boyudur. Örneğin 800 nm dalga boyunda 1 saniyede yansıtılan bir ritmik enerji  $1/800 \times 1000000 = 125000 \text{ cm}^{-1}$  dalga sayısı (frekans) üretir [2,11,12].

Aşağıda, X-Işınları (X-Ray); Görünen (Visible); Morötesi (Ultraviyole, UV); Yakın Kızılötesi Bölge/Radyasyon/Yansıma=Region, Radiation, Reflectance, (Near Infrared, NIR); Orta Kızılötesi (Mid Infrared, MIR) ve Uzak Kızılötesi (Far Infrared, FIR) ışınların dalga boyları ve saniyedeki frekansları görülmektedir [12, 13]. Genel olarak kaba yemler için R değeri 1100-2500 nm dalga boyu aralığındadır [2]. Şu anda kullanılan monokromator (tek renkli) NIRS cihazlarında KM, yağ, protein, şeker, selüloz, antinutrisyonel faktörler güvenilir olarak analiz edilirken, fazla güvenilir olmayan mineral maddelerin analizleri yapılabilmektedir. Cihazın kalibrasyonu için veya referans data sağlamak için farklı yemlerden en az 150-350 kimyasal analize gereksinim vardır, bunlardan daha düşük kalibrasyon örneklemeleri yapılmamalıdır. Ancak toplam olarak düşünüldüğünde NIRS kullanımı ile daha az kimyasal madde kullanılmakta, çalışan insanlara ve çevreye atık ürün olarak zarar verilmemekte, daha az laboratuvar malzemesi kullanılmakta, cihazın kullanım eğitimi daha az zaman almakta, daha az masrafla ve yaklaşık 10 saniye gibi çok kısa sürede yemlerdeki bazı maddelerinin miktarları belirlenebilmektedir. NIRS cihazlarında kalibrasyonlar için network kurulumu çok önemlidir. Örneğin MLR-Multiple Linear Regression az verili küçük kalibrasyonlarda güvenilir olmayan bir metottur. PLS-Partial Least Square ve MPLS-Modified form of PLS orta ölçekli bireysel kalibrasyonlar da



Şekil 1. Farklı Işınlr ve NIRS Cihazlarındaki Yansıma Modeli [13]

tercih edilir. ANN-Artificial Neural Network büyük ölçekli kalibrasyonlarda doğrusallık sorununu çözen en sağlam kalibrasyon geliştirme metodudur. NIRS cihazının fiyatı gündün güne düşmesine rağmen yine de bugünkü koşullara göre pahalıdır [2,11,12].

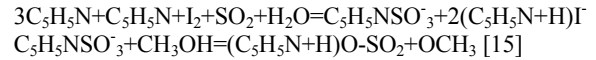
**Prosedür:** İyi bir kalibrasyon için en az 150-350 örnek analiz edilir ve sonuç değerleri programa aktarılır. Cihazın en iyi sonuçları soğukken değil bir miktar çalıştırıldıktan (lambası yanmadan) (15 dk.-1 saat) sonra elde edilir. Konulacağı kapların derinliği 1-4.3 cm'yi geçmemeli ve temiz olmalıdır. Gerekirse vakumla çok iyi temizlenmelidir. Bu amaçla temiz cam krozeler kullanılabilir. Taneli, toz, katı, sıvı, pasta ve kıvamlı her numune için darası alınmış özel kaplar veya cam petripler kullanılmaktadır. Bu malzemeler 135°C'de 2 saat kurutulduktan sonra içlerine numuneler bırakılır. Normal olarak yemler öğütülmeden ve tartılmadan cihaza konulabilir. NIRS'ta tüm tartımları cihaz yapmaktadır. Eğer kalibrasyonda örnekler kurutulmuş ve öğütülmüşse aynı şekilde öğütülmelidir. Örneğin; KM oranı %85'ten fazla olan yemlerin hem kalibrasyon yemleri hem de örnekleri 1 mm elekli değirmende öğütüldükten sonra okutulabilir. Numune miktarı cihazın kullanım kılavuzuna göre belirlenir. Örneğin, KM oranı %85'ten fazla ve 1 mm'de öğütülmüş kaba yemler genellikle 0.75-1.75 g kullanılır. Numune yerleştirildikten sonra kapağı sıkıca kapatılır, tarama yapılır veya okutulur. NIRS'ta okutulan aynı yem numunesinden 2 g alınır ve normal KM ile karşılaştırma yapılır [2, 11, 12]. Üretici firmanın NIRS cihazı kullanım kılavuzuna uyulmalıdır. NIRS cihazı tozlu yerlerde kesinlikle konuşlandırılmamalıdır. Oda sıcaklığı 25-30°C ve nispi nem %60 olmalıdır. Radyasyon yayan fırın, ütü, kurutma dolapları, telefon, radyo, televizyon, vb. elektrikli cihazlardan uzak tutulmalı veya aynı anda çalıştırılmamalıdır [11].

Donnelly ve ark. [14], kalibrasyonu düzgün yapılan NIRS cihazında mısır ve yonca silajlarının nem veya KM içeriğinin fırında 60 °C'de kurutulan numunelere benzer değerler verdiğini bildirmişlerdir.

## 2.5. Karl Fisher Titrasyon Metodu İle KM Analizi

Uçucu asitleri olan sıvı yağlar, bal, protein, organik asit ve sebzelerin nem veya KM içeriklerinin belirlenmesinde kullanılan bir metottur. Kimyasal maliyetinden dolayı yemlerin nem analizinde rutin olarak kullanılmamaktadır. Ancak melastaki su miktarının belirlenmesinde tercih edilmektedir. Volümetrik titrasyonda; Karl fisher Cihazı, Otomatik büret, titrasyon erleni, otomatik karıştırıcıya

ihtiyaç vardır [15]. Prensiptir olarak; Metilsülfonik asit anyonu, su ve SO<sub>2</sub> ile birlikte I<sub>2</sub>'yi oksitler ve harcanan iyodun volumetrik veya kulometrik (iyodun elektriksel iyodid iyonuna dönüşmesi ve sudaki iyodun elektroliz miktarını belirleme metoduna dayanır) olarak ölçülmesiyle serbest su miktarı hesaplanır. Methanolun %25 ve üzeri çözücü olduğu reaktiflerde pH'nın 5-8 olması sağlanır ve bu pH'da her mol su için 1 mol I<sub>2</sub> harcanır. Yani aşağıdaki denklemdeki gibi iyotlu Karl Fisher reaktifi ve su 1:1 oranında reaksiyon oluşturmaktadır:



**Karl Fisher Reaktifi:** 2-Methoxyethanol % 52.25, kükürt dioksit % 7.80, iyot %14.55 ve piridin (C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N) % 25.40 kullanılır. Piridin baz toksik olduğu için son yıllarda imidazol veya primer aminler kullanılmaktadır. Hazırlanışı: 425 mL anhidrik piridin içinde 133g I<sub>2</sub> çözülür. Bu çözelti üzerine 425 mL anhidrik metanol veya etilen glkol mono etil eter eklenir. Buzdolabında soğutulur, sonra üzerine 102-105 g SO<sub>2</sub> eklenir, karıştırılır ve 12 saat buzdolabında tekrar bekletilir. Karl Fisher KM analizi için bazı firmalar hazır Volümetrik ve kulometrik Karl Fisher Titrator'lerini geliştirmişlerdir [15,16]. Karl Fisher metodu ile sıvı ve katı yağlardaki nem içeriği AOAC 984-20 nolu metotla da belirlenebilmektedir [2, 6].

### Prosedür:

**1-KM Oranı % 70-80 Olan Yemler İçin;** AOAC 991.02 nolu metoda göre [6, 15, 16]; 8-10 g, nem oranı % 20-30 ve ucucu asitleri olan yemler doğrayıcıdan (ev tipi karıştırıcı) geçirildikten sonra erlene alınır üzerine 200 ml anhidrik metanol eklenir ve manyetik karıştırıcıda 15 dk. karıştırılır. Üst sıvıdan 10 ml alınır ve küçük tüplere bırakılır. Büret yardımıyla önce metanolle sonra Karl Fisher Reaktifi ile titre edilir. Çift platinli elektrotla yaklaşık -250 mv'luk elektrik düzeyinde titrasyon son noktaya gelmektedir. Hesaplama: Su, % = (2x (Harcanan Karl Fisher Reaktif miktarı, ml x Faktör (mg H<sub>2</sub>O/mL Reaktif oranı)) / Yem miktarı, g.

**2-Silaj ve Melas İçin:** 15 g 10 mm uzunluğunda doğranmış silaj numunesi erlene alınıp üzerine 150 ml anhidrik metanol eklenir ve 24 saat oda sıcaklığında bekletilir. Bu esnada 5-6 kez çalkalanır. 2100 g x 10 dk. santrifüj edilir ve 1 saat çöktürülür. Supernatanttan 2 ml sıvı tüplere alınır ve ve büret yardımıyla önce yaklaşık 25 ml metanolle sonra Karl Fisher Reaktifi ile titre edilir. Çift



platinli elektrotla yaklaşık -250 mv'luk elektrik düzeyinde genellikle titrasyon son noktaya gelmektedir. Silajdaki Su, g/kg = Su için titre edilen Karl Fisher Reaktif tüketimi, ml x faktör (mg H<sub>2</sub>O/mL Reaktif oranı) /silaj sıvısı volümü, ml [15]. Melastaki su: Melas için faktör 5 mg/mL alınır. Su, % = Faktör x mL Karl Fisher reaktif/ melas miktarı, g x 10, [15].

## 2.6. Gaz Kromatografi (GC) ile KM Analizi

Silaj gibi yemlerin nem içeriğinin belirlenmesinde GC'den de yararlanır. Petit ve ark [17] göre Toluenli distilasyon, Gaz Kromatografi (GC) ve Karl Fisher metodları ile 65°C ve 3 saat olan metod arasında KM oranı bakımından bir farklılık görülmediği bildirilmektedir. Porter ve Borton [18] ise toluenli silajlarda kg silajda 0.008 kg laktik asit, uçucu yağ asitleri, alkol ve amonyaktan dolayı kurutma dolabındaki 65°C de kurutulanlara göre daha az olduğunu bildirmektedirler. Ayrıca GC ve Karl Fisher metodlarının daha emniyetli ancak GC ile KM analizinin rutin numunenin olduğu laboratuvarlarda daha düşük maliyetli olduğunu bildirmektedirler. Prensipten dolayı; yem maddesindeki suyun metanole bağlanması ve pik eğrileri su içeriğinin belirlenmesi esasına dayanır.

**Prosedür:** 20 g silaj numunesi üzerine 150 ml anhidrik metanol eklenir 24 saat bekletilir 5-6 kez çalkalanır.

## 2.8. Nem Ölçer Cihazlarıyla KM Analizleri

Rutubet Ölçer Adı	Çalışma Prensipleri	Kaynak
<b>Dielektrik Sabitleyicili Nem İndikatörü</b>	Serbest elektronu olmayan veya yalıtkan özelliği olan ancak elektriksel alan veya kutuplaşmadan etkilenebilen maddelere dielektrik maddeler denir. Silajlar, şeker pancarı posası mısır, arpa, vb. gibi su veya nem içeren yem ve gıdalara uygulanan elektromanyetik spektrumun radyo frekanslarının algılanmasından yararlanılarak nem içeriği belirlenmektedir. Daha önce test edilen yemlerle kalibrasyon yapılır ve iletkenlik miktarına göre numunenin nem içeriği saptanır. Bu tür portatif, kullanışlı ve taşınabilir nemölçer cihazları özellikle tahıllar için yem ve gıda sanayinde veya çiftliklerde kullanılmaktadır. Örneğin gece vakti gelen bir dökme mısır dolu bir kamyonun 200 g numune cihaza bırakılır ve yem maddesinin nemi belirlenir. Bu tür nem ölçümlerinin doğruluk derecesi gravimetrik ölçümlerden daha düşüktür.	20, 21, 22
<b>Elektrik Direncine Göre Nem Ölçer</b>	Cihazın nem ölçme metodu, iletkenliğin belirlenmesine dayanır. Özellikle ahşabın veya nem içeriği % 25 ve aşağı olan tüm maddeler için hata payı daha düşüktür. Numunede elektriğe karşı oluşan direnç, kalibre edilen örneklerle kıyaslanır.	22, 23
<b>Refraktometrik Nem Ölçer</b>	Işığın 20 °C'deki saf sakkaroz çözeltisindeki kırılma indisine göre örneğin yansıma değerleri belirlenir. Sadece berrak çözeltilerde analiz yapılabilir. Bulanık veya katı parçalar içeren çözeltilerde ışığın yansıması da yanlış olacaktır. El ve Abbe refraktometresi olarak 2 tür cihazı vardır.	24
<b>Metal Rezistanlı Hızlı Nem Dedektörleri</b>	Carter-Simon® (150 °C), Brabender® (200 °C), Bühler® (en az 40 bar), Computrac® (20-275°C), Mettler®, Koster®, vb. markalı cihazlar yemlerin nem içeriği farklı sıcaklık derecelerinde veya basınçta metal rezistanslarla ısıtma yaparak hızlı ölçüm yapabilmektedirler. Örneğin Carter-Simon® cihazına yaklaşık 7 g numune alınır ve darası alınan alüminyum tabağa konur, cihaza yerleştirilir ve 150°C ve 20 dk. ısıtılır, 10 dk. desikatörde soğutulan numune tartılır ve KM hesabı yapılır.	25, 26
<b>Halojen Lambalı Gravimetrik Nem Ölçer</b>	Metal rezistan ve infrared ışık yayan halojen lambadan dolayı numunedeki nemin buharlaşarak ağırlığın azalması ilkesine göre nem içeriği maksimum 20 dk. da belirlenir. Sadece numune cihaza yerleştirilir, tüm okumalar cihaz tarafından yapılır. Bu metodun doğruluk derecesi 2-3 saatte hava akımlı kurutma dolaplarında yapılan klasik KM analizlerine oldukça yakındır.	26

Supernatanttan 10 ml sıvı tüplere alınır ve 3500x g 10 dk. santrifüj edilir. Sonra 4 ml üst sıvı alınır ve 2 mikrolitre GC'ye enjekte edilir. GC'nin termal dedektörü ve 80/100 mesh Porapak QS kolonlu olması gereklidir [18].

## 2.7. Toluen Distilasyon Metodu İle KM Analizi

AOAC 925.04 nolu metoda göre [19]; su ile karışmayan organik, yanıcı ve deriyi tahriş eden bir çözücü olan toluenle özellikle baharatlar, soldurulmuş (haylage) veya normal silajlar ile katı ve sıvı yağlar gibi yemlerdeki suyun çıkarılması, toplanması ile miktarının belirlenmesi esasına dayanır.

Düşük sıcaklıklarda bile fırında kurutma yapılırken organik asitler ve alkollerle birlikte su kaybı da olmaktadır. En az 25 g yağ örneği (A), 500 ml'lik behere alınır, üzerine kaynama sıcaklığına yakın 5 ml sıcak su eklenir ve beraber kaynatılır. Buharı geri soğutmalı düzeneğe 1 saat distile edilir, su hacmi tartılır (B). Toluen, sudan daha hafiftir.  $KM \% = 1 - (B/A) \times 100$  ve Rutubet,  $\% = 100 - KM, \% [2]$ .

## Kaynaklar

- [1] Anonim, Animal Feed: Sample Preparation (950.02) Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists, 15th edition, Washington DC, 1990.
- [2] Undersander D., Mertens D.R., Thix N., Forage Analyses Procedures, South Dakota State University, National Forage Testing Association, Omaha Nebraska, 1993.
- [3] Anonim, National Forage Testing Association (NFTA), Forage analysis procedures, section a. laboratory sample preparation, [http://www.foragetesting.org/lab\\_procedure/old/sample.html](http://www.foragetesting.org/lab_procedure/old/sample.html), Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [4] Anonim, National Forage Testing Association (NFTA), Partial dry matter using forced-air drying ovens, [http://www.foragetesting.org/lab\\_procedure/sectionB/2.2/part2.2.1.1.htm](http://www.foragetesting.org/lab_procedure/sectionB/2.2/part2.2.1.1.htm), Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [5] Anonim, National Forage Testing Association (NFTA), Total dry matter by oven drying at 100 °c for 24 hr or 105 °c for 16 hr., [http://www.foragetesting.org/lab\\_procedure/sectionB/2.1/part2.1.2.htm](http://www.foragetesting.org/lab_procedure/sectionB/2.1/part2.1.2.htm), Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [6] Anonim, Association of Official Analytical Chemists, AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Edition, Maryland, 2000.
- [7] Anonim, Mikrodalga, Wikipedia, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Mikrodalga>, Erişim Tarihi: 14.05.2010.
- [8] Griggs, T.C., Determining forage dry matter concentration with a microwave oven, [http://extension.usu.edu/files/publications/publication/AG\\_Forage\\_&\\_Pasture\\_2005-01.pdf](http://extension.usu.edu/files/publications/publication/AG_Forage_&_Pasture_2005-01.pdf), Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [9] Oetzel, G.R., Villalba, F.P. Goodger, W.J. Nordlund. K.V., A comparison of on-farm methods for estimating the dry matter content of feed ingredients. *J. Dairy Sci*, 76:293-299, 1993.
- [10] Anonim, National Forage Testing Association (NFTA), Total dry matter by microwave drying to constant weight, [http://www.foragetesting.org/lab\\_procedure/sectionB/2.2/part2.2.2.3.htm](http://www.foragetesting.org/lab_procedure/sectionB/2.2/part2.2.2.3.htm), Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [11] Anonim, AOAC-991.01Chapter 4: Animal Feed. Moisture in Forage, Near Infrared Reflectance Spectroscopy. In: Official Methods of Analysis of AOAC International, Association of Official Analytical Chemists, 17th Edition, Maryland, , 2000.
- [12] Anonim, National Forage Testing Association (NFTA), 2017, Dry Matter by Near Infrared Reflectance Spectroscopy, [http://www.foragetesting.org/lab\\_procedure/\\_old/ldm.html#2.2.2.4](http://www.foragetesting.org/lab_procedure/_old/ldm.html#2.2.2.4) Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [13] Anonim, Foss NIRS Systems Inc. Analyzers/BenefitsAndFeatures.aspx. <http://www.foss.dk/Solutions/ProductsDirect/FeedForage> Erişim Tarihi: 20.04.2010.
- [14] Donnelly D.M., Yang H., Combs D.K., Comparison of dry matter measurements between three hand-held near-infrared units with oven drying at sixty degrees Celsius for forty-eight hours, *Journal of Animal Science*, 94, Suppl. 5, 311, doi:10.2527/jam2016-0652., 2016.
- [15] Thix N.J., Erem, T.V., Determination of water (moisture) and dry matter in animal feed, grain and forage (plant tissue) by Karl fisher titration: Collaborative Study, *Journal of AOAC International* , 85, 2: 318-327, 2002.
- [16] Anonim, The Japan Food Chemical Research Foundation, B. General Tests, Water Determination (Karl Fischer Method), [http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/7bd44c20b0dc562649256502001b65e9/146fd852cd5e269049256f32001a133e/\\$FILE/B43.pdf](http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/7bd44c20b0dc562649256502001b65e9/146fd852cd5e269049256f32001a133e/$FILE/B43.pdf) Erişim Tarihi: 11.04.2017.
- [17] Petit H.V., Lafreniere C., Veira D.M., Comparison of Methods to Determine Dry Matter in Silages, *J of Dairy Sci*, 80, 3, 558-562, [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75970-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75970-8), 1997.
- [18] Porter M.G., Borton D.A., Comparison of methods for the determination of dry matter concentration in grass silage including an extraction method for water, *Animul Feed Science Technology*, 68, 67-76, 1997.
- [19] Anonim, AOAC-925.04, Chapter 4:Moisture in Animal feed. Distillation ith Toluene In: Official Methods of Analysis of AOAC International, Association of Official Analytical Chemists, 17th Edition, , p.1, Maryland, 2000.
- [20] Anonim, AACC-44-11.01, Moisture-Dielectric Meter Method, American Association of Cereal Chemists, <http://methods.aaccnet.org/summaries/44-11-01.aspx>, Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [21] Tomaraei P., Tahıllda Nem Ölçümü İçin RF Nem Algılayıcısının Geliştirilmesi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Makinaları Anabilim Dalı, (Yüksek Lisans Tezi), Ankara, 2010.
- [22] Uytun A., Pekey, B., Kalemci, M., Toprak Nemi Ölçümler, VIII. Ulusal Ölçümbilim Kongresi, p. 1-9, Gebze-Kocaeli, 26-28 Eylül 2013.
- [23] Anonim, Nem Ölçme Yöntemleri, <https://www.ahsap.com/teknik/ahsap-ve-su/nem-olcme-yontemleri/>, Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [24] Karabulut A., Canbolat Ö.,Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri, Uludağ Üniversitesi Yayınları, Yayın No: 2.05.048.0424., Bursa, 2005.
- [25] Anonim, AACC, American Association of Cereal Chemists, <http://www.aaccnet.org/resources/checksample/cksubscribers/documents/checksampled.pdf>, Erişim Tarihi: 20.04.2017.
- [26] Anonim, Moisture Analyzer, [http://www.made-in-china.com/products-search/hot-china-products/Moisture\\_Analyzer.html](http://www.made-in-china.com/products-search/hot-china-products/Moisture_Analyzer.html), Erişim Tarihi: 20.04.2017.