



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**BİYOETANOL ÜRETİM AŞAMASINDA ORTAYA ÇIKAN
KOYU ŞİLEMPENİN İN-VİTRO RUMEN ORTAMINDA
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Özlem HİÇCAN

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Gültekin YILDIZ

**Ankara
2024**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOETANOL ÜRETİM AŞAMASINDA ORTAYA ÇIKAN
KOYU ŞİLEMPENİN İN-VİTRO RUMEN ORTAMINDA
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Özlem HİÇCAN

**HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Gültekin YILDIZ**

**Ankara
2024**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Biyometanol Üretim Aşamasında Ortaya Çıkan Koyu Şilempenin İn-Vitro Rumen Ortamında Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı : Özlem HİÇCAN

Tarih:

İmza:

KABUL ve ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

.....Anabilim Dalında

..... tarafından hazırlanan

“.....” adlı

tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ/OY
ÇOKLUĞU ile kabul/ret edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Jüri Başkanı

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Raportör

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

.....Üniversitesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Unvanı Adı ve Soyadı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Biyotanol Üretim Aşamasında Ortaya Çıkan Koyu Şilempenin İn-vitro Rumen Ortamında Etkilerinin Araştırılması

Türkiye’de de giderek yaygınlaşmakta olan ve ayrıca tarımsal üretim hacmini artıran biyotanol tesislerinin ham maddesi olan melasın distilasyon yolu ile alkolü uzaklaştırıldıktan sonra ortaya çıkan yan ürünlerden birisi koyu şilempedir. Koyu şilempe protein ve mikro besin maddelerince zengindir. Bu yan ürünün işlenerek et gibi yüksek kaliteli gıda ürününe dönüşmesi beslenme maliyetini azaltırken üreticiye gelir sağlar. Ruminantlar biyotanol gibi önemli bir maddeden sağlanan yan ürünü insanlar için yenilebilir gıdaya dönüştürmesi açısından önemli rol oynamaktadır. Öte yandan koyu şilempenin düşük pH’sı, içerdiği yüksek oksijen ve mineral tuzları bu yan ürünü doğru şekilde bertaraf edilmediği takdirde çevre için potansiyel bir tehlikeye dönüştürmektedir.

Bu çalışmada Türkiye’de giderek artan biyotanol üretimi esnasında oluşan koyu şilempenin ruminant hayvanların rasyonlarında geleneksel yüksek kaliteli pahalı protein kaynaklarına alternatif olarak kullanımı ve bu hayvanlarda fermentasyon ile sindirilebilirliğe etkisi in-vitro çalışmada değerlendirilmiştir. Bu amaçla rumen sıvıları 2 adet kanüllü hayvandan alınmıştır. Çalışma için kullanılan kaba yem:konsantre yem oranı 50:50 olacak şekilde ayarlanmıştır. Koyu şilempe, Türkiye’nin büyük biyotanol üreticilerinden olan Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş.’den temin edilmiştir. Çalışma bütün gruplarda üç tekrar olarak gerçekleştirilmiştir. Koyu şilempe yemin %5, %10 ve %15’i olarak ilave edilmiştir. 48 saatlik inkubasyonun sonucunda toplam gaz hacmi kayıtları edilmiş, alınan örneklerde pH, amonyak azotu, UYA düzeyleri ve metan gazı miktarı tespit edilmiş olup ANKOM tekniği kullanılarak aynı düzende oluşturulmuş grupların kuru madde, organik madde ve NDF sindirilebilirlikleri ortaya konmuştur.

Sonuç olarak, koyu şilempenin yüksek protein içeriği (HP=%21,56), sindirilebilirliğe herhangi olumsuz bir etkisinin olmaması ($P>0,05$), rumen pH’sını değiştirmemesi ($P>0,05$), UYA konsantrasyonlarında belirlenmiş sınırlar dışında bir etki yaratmaması ve hatta en yüksek dozda (%15) az miktarda metan gazı üretimini baskılamış olması ruminant besleme de kullanılabilecek bir yan ürün olabileceğini göstermektedir. Yapılan bu çalışma gereği %5 ve %10 koyu şilempe dozlarının kullanım için uygun olabileceği, bununla birlikte daha yüksek dozlarının kullanımının başka çalışmalarla desteklenmesi gereklidir. Aynı zamanda koyu şilempenin, ruminantlarda kullanımı sınırlayıcı olan potasyum ve sülfatı alınmış formları ile bu çalışmaların yapılmasının yem olarak kullanılabilirliğinin artırılması için gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Biyotanol, İn-vitro Fermentasyon, Koyu Şilempe, Metan, Sindirilebilirlik

SUMMARY

Investigation of the Effects of Concentrated Vinasse Formed in the Bioethanol Production Process on the In-Vitro Rumen Environment

One of the by-products that emerges after the alcohol is removed from molasses, which is the raw material of bioethanol facilities that are becoming increasingly widespread in Türkiye and also increasing agricultural production volume, through distillation is concentrated vinasse. Concentrated vinasse is rich in protein and micronutrients. The processing of this by-product and transforming it into a high-quality food product such as meat reduces the nutritional cost and provides profit to the producer. Ruminants play an important role in terms of converting the by-product obtained from an important substance such as bioethanol into edible food for humans. On the other hand, the low pH and high oxygen and mineral salt content of concentrated vinasse transform this by-product a potential hazard for the environment if not disposed of properly.

In this study, the use of concentrated vinasse, which is formed during the increasing bioethanol production in Türkiye, as an alternative to traditional high-quality expensive protein sources in the rations of ruminant animals, and its effect on digestibility with fermentation in these animals were evaluated in the in-vitro study. For this purpose, rumen fluids were taken from 2 cannulated animals. The roughage:concentrate feed ratio used for the study was set to 50:50. Concentrated vinasse was obtained from Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş., one of Türkiye's major bioethanol producers. The study was carried out in three repetitions in all groups. Concentrated vinasse was added as 5%, 10% and 15% of the feed. As a result of the 48-hour incubation, the total gas volume was recorded, pH, ammonia nitrogen, VFA levels and methane gas amount were determined in the samples taken, and the dry matter, organic matter and NDF digestibility of the groups formed in the same order using the ANKOM technique were revealed.

As a result, the high protein content of concentrated vinasse (HP=21.56%), the absence of any negative effect on digestibility ($P>0.05$), the absence of any change in rumen pH ($P>0.05$), the absence of any effect outside the determined limits in VFA concentrations and even the suppression of methane gas production in small amounts at the highest dose (15%) indicate that it can be a by-product that can be used in ruminant feeding. According to this study, 5% and 10% concentrated vinasse doses may be suitable for use, however, the use of higher doses should be supported by other studies. It was also concluded that conducting these studies with the potassium and sulfate-removed forms of concentrated vinasse, which are limiting for use in ruminants, is necessary to increase its usability as feed.

Keywords: Bioethanol, Concentrated Vinasse, Digestibility, In-vitro Fermentation, Methane

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN	ii
KABUL VE ONAY	iii
ÖZET	iv
SUMMARY	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÖNSÖZ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xiii
ÇİZELGELER	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1. Rumen Sindirim Fizyolojisi Genel Bilgiler	2
1.1.1. Ruminal Gaz Üretimi	4
1.1.2. Uçucu Yağ Asitleri (UYA)	5
1.1.3. Ruminal pH	6
1.1.4. Amonyak	6
1.1.5. Metan	8
1.2. Tarımsal Sanayi Yan Ürünlerin Ruminant Beslenmesinde Kullanımı	9
1.3. Koyu Şilempenin Hayvan Beslemede Kullanımı	12
2. GEREÇ VE YÖNTEM	18
2.1. Numune Materyali	18
2.1.1. Kuru Madde Tayini	19
2.1.2. Ham Protein Tayini	19
2.1.3. Ham Yağ Tayini	20
2.1.4. Ham Kül Tayini	22
2.1.5. Ham Selüloz Tayini	22
2.2. Hayvan Materyali	23
2.3. Yem Materyali	23
2.4. Deney Gruplarının Oluşumu	23
2.5. Kullanılan Yemin Besin Madde İçerikleri	24
2.5.1. NDF Analizi	24
2.6. İn-Vitro Gaz Üretim Tekniği	26
2.7. İn-Vitro Rumen Sıvısında Ph Tayini	28
2.8. İn-Vitro Rumen Sıvısında Amonyak Tayini	28

2.9. İn-Vitro Metan Üretiminin Saptanması	30
2.10. İn-Vitro Rumen Sıvısında Uçucu Yağ Asidi Analizi	31
2.11. İn-Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi	32
2.13. İstatistik Analizler	34
3. BULGULAR	35
3.1. Koyu Şilempenin Besin Madde Değerleri	35
3.2. Yem Maddelerinin İçerikleri Ve Besin Madde Değerleri	35
3.3. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Ortaya Çıkan Gaz Üretim Değerleri	37
3.4. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Oluşan Ph Değerleri	38
3.5. İn-Vitro Fermantasyonun Amonyak Üretimine Etkisi	39
3.6. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Metan Üretim Değerleri	40
3.7. İn-Vitro İnkübasyon Sonunda Ölçülen Uçucu Yağ Asitleri	41
3.8. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Ortaya Çıkan Sindirilebilirlik Değerleri	42
4. TARTIŞMA	43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	51
EKLER	58
Ek.1. Etik Kurul Kararı	58

ÖNSÖZ

Günümüzde çok önemli hale gelmiş bulunan sürdürülebilir gıda ve beslenme sistemlerine ruminant hayvanların katkısı tartışılmazdır. Ruminantlar insanlar için yenilebilir olmayan gıdaları değerli protein kaynakları olarak insanlara sunarlar. Özellikle de gıda güvensizliğinin çok ciddi bir boyuta ulaştığı bu günlerde insanlığa hem mikro hem de makro düzeyde temel besin sağlarlar. Ayrıca hem çevreye büyük zararları olan endüstriyel atıkların bertarafı ve bunlardan kar etme yönüyle hem de gıda güvenliğinin kilit bölümlerinden birisi olan gıda kayıp ve israflarının önlenmesi açısından temel roldedirler. Bu yüzden rumenin eşsiz fermentasyon yeteneği geçmişte olduğu gibi günümüzde de yoğun olarak araştırılmaktadır.

Ham proteinin yanı sıra mikro minerallerce zengin ayrıca minimum düzeyde lif ve yağ içeriğine sahip ve prebiyotik özelliklerle de karakterize edilen şilempe bir fermentasyon endüstrisi yan ürünüdür. Bu yan ürün değerlendirilmesi amacıyla Türkiye’de daha çok gübre sektörü ön plandadır. Ancak günümüzde yem maddelerinin kısıtlılığı ve artan maliyetleri bu tür yan ürünlerin kullanımının artırılması ihtiyacını doğurmaktadır. Hayvan yemi olarak pahalı ve kaliteli yem maddelerinin tamamının veya belli bir bölümünün yan ürünlerle ikamesi üreticinin karını artıracak gibi hayvana da zengin içerikleri ile fayda sağlayacaktır.

Yürütülen bu çalışma ile ruminantlarda ülkemizde üretilen koyu şilempenin kaliteli ve maliyetli protein kaynaklarına alternatif olarak kullanımının artırılması ve bir yan ürün olan bu maddenin ruminantlarca değerlendirilebilirliği araştırılmış bu alanda ileride yapılacak araştırmalara yönelik veri sağlayıp katkı sunulması amaçlanmıştır.

Doktora çalışmam süresince engin bilgi birikimi ve tecrübesiyle her zaman bana yol gösteren, bu aşamaya gelmemde büyük katkısı olan, karşılaştığım zorluklardan yılmamamı sağlayan, desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen kıymetli Hocam ve danışmanım Prof. Dr. Gültekin YILDIZ’a teşekkürlerimi ve minnettarlığımı bildirmeyi bir borç bilirim.

Yine doktora öğrenimim süresince desteklerini ve katkılarını esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Sakine YALÇIN’a, Prof. Dr. Seher KÜÇÜKERSAN’a, Prof. Dr. Kemal KÜÇÜKERSAN’a, Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI’ya, Prof. Dr. Adnan ŞEHU’ya, Prof. Dr. Özge SIZMAZ’a, Prof. Dr. Ergun AKÇAY’a ayrıca Prof. Dr. Şakir Doğan

TUNCER’e, Prof. Dr. Ahmet ERGÜN’e, Prof. Dr. İrfan ÇOLPAN’a; lisans eğitimimde ve daha sonrasında bu alanda bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Mehmet BAŞALAN’a ve Prof. Dr. İlkey AYDOĞAN’a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez jürimde yer alan ve kıymetli fikir ve önerilerini benimle paylaşan Prof. Dr. İsmail BAYRAM’a ve Doç. Dr. Emre BUĞDAYCI’ya teşekkür ederim.

Çalışmamda ve analizlerimde bana desteklerini, yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen anabilim dalı araştırma görevlisi Atakan BUNDUR’a, anabilim dalı doktora öğrencileri Elif Vildan ŞİMŞEK’e ve İsra Mahmoud ALHAMAD’e, anabilim dalı personellerinden UĞUR ÇARLI’ya ve Serpil KOÇYİĞİT’e katkıları ve ilgilerinden ötürü teşekkürlerimi sunarım.

Doktora öğrenimim süresince yardımını ve desteğini her zaman gösteren değerli arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Erinç GÜMÜŞ’e teşekkür ederim.

Ayrıca, bu çalışmanın gerçekleşmesinde katkıları olan Ziraat Mühendisi Dr. Ali ÜSTÜN’e, Ziraat Mühendisi Selçuk PARLA’ya, Konya Şeker San. ve Ticaret A.Ş Biyoetanol Fabrikasından Biyoetanol Üretim Yöneticisi, Gıda Mühendisi Mehmet KESİK’e ve yine Konya Şeker San. ve Ticaret A.Ş Gübre Satış Müdürü Ahmet ÇOĞAL’a teşekkür ederim.

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim kıymetli aileme, değerli eşim Ömer Atahan HİÇCAN’a, biricik oğlum Ata Aslan HİÇCAN’a ve hayatta her zaman yolumu bulmamı sağlayan annem Nuran IŞIK’a teşekkürlerimi ve minnettarlığımı bildirmeyi bir borç bilirim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Celsius Santigrat Derece
AA	Asetik Asit
ABA	Analiz Sonrası Beher Ağırlığı
AÇK	Ayçiçeği Küspesi
A/P	Astetat/Propiyonat
B	Boş Beher Darası
BA	Bütirik Asit
CaCl ₂ .2H ₂ O	Kalsiyum Klorid Dihidrat
C1	Boş Kese Düzeltme Faktörü
C2	Boş Kese Kül Düzeltme Faktörü
CH ₄	Metan
CO ₂	Karbondiyoksit
CoCl ₂ .6.H ₂ O	Kobalt Klorür Heksahidrat
D	Kroze Darası
DCP	Dikalsiyum fosfat
dH ₂ O	Distile Su
dk	Dakika
FeCl ₂ .6.H ₂ O	Demir II Klorür heksahidrat
g	Gram

HK	Ham Kül
HP	Ham Protein
HS	Ham selüloz
HY	Ham Yağ
IVTD	İn-vitro Gerçek Sindirilebilirlik
IVTD _{KM}	İn-vitro Gerçek Kuru Madde Sindirilebilirliği
IVTD _{OM}	İn-vitro Gerçek Organik Madde Sindirilebilirliği
IVTD _{NDF}	İn-vitro Gerçek NDF Sindirilebilirliği
İBA	İsobütirik Asit
İVA	İsovalerik Asit
KA	Kaproluk Asit
K ₂ O	Potasyum oksit
KH ₂ PO ₄	Monopotasyum fosfat
K	Analiz Sonrası Kroze Ağırlığı + Numune Miktarı
KM	Kuru Madde
KN	Kül Sonrası Kroze + Numune Miktarı
kPA	Kilopaskal
L	Litre
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum sülfat heptahidrat
MnCl ₂ .4H ₂ O	Manganez klorid tetrahidrat
ml	Mililitre
Mmol	Milimol
MV	Milivolt

Na	Sodyum
NaCl	Sodyum Klorür
Na ₂ HPO ₄	Dihidrojen fosfat
Na ₂ S.9H ₂ O	Sodyum sülfür nanohidrat
NaHCO ₃	Sodyum bikarbonat
NH ₄ HCO ₃	Amonyum bikarbonat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NDF	Nötral Deterjan Selülozu
NH ₃	Amonyak
NM	Numune Miktarı
NPN	Protein niteliğinde olmayan azotlu maddeler
OM	Organik Madde
P	Anlamlılık (önemlilik) testine ilişkin olasılık değeri
PA	Propiyonik Asit
pH	Hidrojen Potansiyeli
rPM	1 dk'daki Devir Sayısı
SFK	Soya Fasülyesi Küspesi
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
TS	Toplam Sarfıyat
UYA	Uçucu Yağ Asitleri
W1	Kese ağırlığı
W2	Numune ağırlığı
W3	Ekstraksiyon sonrası ağırlık
W4	Organik Materyal Ağırlığı

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Koyu şilempenin endüstriyel fermantasyon süreci	11
Şekil 2.1.	Koyu şilempe	18
Şekil 2.2.	Hassas terazi ve etüv	19
Şekil 2.3.	Gerhardt vadopest 45s carousel azot protein tayin cihazı ve Gerhardt kjeldatherm cihazı	20
Şekil 2.4.	Gerhardt SOX-416 otomatik yağ tayin cihazı	21
Şekil 2.5.	Protherm PLF 110/6 kül fırını	22
Şekil 2.6.	Ankom fiber analiz cihazı	25
Şekil 2.7.	Cam şırıngalar (Model fortuna, Haberle Labortechnik, Almanya)	26
Şekil 2.8.	İnkübatör	27
Şekil 2.9.	Spektrofotometre (UV-1208, Shimadzu)	29
Şekil 2.10.	Gaz kromatografi cihazı (Shimadzu GC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)	30
Şekil 2.11.	ANKOM F57 filtre keseleri	32
Şekil 2.12.	DAISY II inkübatörü ve kavonozlar	33
Şekil 3.1.	Yem gruplarında gaz üretim değeri (ml) ile ilgili istatistikler ve karşılaştırmalı sonuçlar	37
Şekil 3.2.	Yem gruplarında gaz üretiminin yüzdesel saatlik değişimi	38
Şekil 3.3.	İnkübasyonun 2., 4., ve 48. saatlerde pH değişimi	39
Şekil 3.4.	Tüm gruplarda 48 saat sonunda % amonyak üretimi	40
Şekil 3.5.	İnkübasyonun 48. saati sonunda metan üretim değerlerindeki değişim (%)	41
Şekil 3.6.	İnkübasyonun 48. saati sonunda UYA üretim değerlerindeki değişim (%)	42

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Rumen ekosisteminin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri	3
Çizelge 1.2. Rumendeki metanogenezis için substratlar	8
Çizelge 1.3. Türkiye’deki biyoetanol üreticileri (2023)	10
Çizelge 1.4. 2023 yılı I. dönem yakıt biyoetanolü istatistikleri (Ocak–Şubat–Mart)	11
Çizelge 2.1. İn-vitro gaz ölçümünde grupların teşekkülü	24
Çizelge 2.2. İn-vitro sindirilebilirlik ve NDF analizinde grupların teşekkülü	24
Çizelge 2.3. İn-vitro gaz üretiminde kullanılan kimyasal solüsyonların içeriği	28
Çizelge 2.4. Amonyak analizde kullanılan solüsyonlar	29
Çizelge 2.5. Metan analizinde gaz kromatografi belirlemeye yönelik teknik veriler	30
Çizelge 2.6. UYA analizinde gaz kromatografi belirlemeye yönelik teknik veriler	31
Çizelge 2.7. İnkübasyonda kullanılan tampon çözeltiler	33
Çizelge 3.1. Koyu şilempenin besin madde içerikleri analizi	35
Çizelge 3.2. Koyu şilempenin weende analiz değerleri (KM üzerinden ortalama sonuç %)	35
Çizelge 3.3. Kullanılan kaba yemin bileşimi	35
Çizelge 3.4. Kullanılan konsantre yemin bileşimi	36
Çizelge 3.5. Kullanılan yemin besin madde içerikleri (KM’de)	36
Çizelge 3.6. Gruplarda gaz üretim değeri (ml) ile ilgili istatistikler ve karşılaştırmalı sonuçlar	37
Çizelge 3.7. Yem Gruplarında Bir Önceki Zamana Göre Gaz Üretim Düzeyi, %	37
Çizelge 3.8. İnkübasyonun 2, 4 ve 48. saatlerinde gruplarda pH değişimi	38
Çizelge 3.9. İnkübasyonun 48. saatinde gruplarda amonyak düzeyi (%)	39
Çizelge 3.10. Gruplarda metan (%) üretim değeri	40
Çizelge 3.11. Gruplarda uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)	41
Çizelge 3.12. Yem gruplarında sindirilebilirlik (%)	42

1. GİRİŞ

Ruminantların sürdürülebilir tarım sistemlerindeki rolleri çok önemlidir ve bu alanda hizmet etmeye devam etmektedirler. Bu hayvanlar, mera ve mahsul atıkları ile diğer endüstriyel yan ürünleri insanlar için yenilebilir gıdalara dönüştürülmesinde özellikle faydalıdırlar. Ruminant hayvanlar, gübreleriyle işlenemeyecek kadar fakir veya aşınabilir toprakları verimli hale getirirler. Ayrıca yan ürünlerdeki besinleri de değerlendirilerek atık bertaraf sorunu yaşanmasına mani olurlar. İnsanlar tarafından yenmeyen bu gıda maddelerinden faydalanmak ve bunları insan tüketimi için yüksek kaliteli gıdalara dönüştürmek için ruminant hayvanların yetiştirilmesi ihtiyacı, birkaç bin yıldır gelişmiş toplumların bir özelliği olmuştur (Oltjen ve Beckett, 1996).

Ruminantlar, çayırlardan ve insanlar için yenilebilir olmayan yemlerden insanlara gıda enerjisini ve besin maddelerini sağlarlar. Bu şekilde, ruminantlar, insanların kullanımı için güneş enerjisinin de kilidini açarlar ve otlakların kurulması ve bakımı için toplumsal değer yaratırlar. Buna karşılık, bu otlaklar gıda tedarikinin ötesinde su filtrelemeyen yaban hayatı habitatına ve karbon depolamaya kadar çok sayıda ekosistem hizmeti sağlarlar. Giderek artan iklimsel değişkenlik karşısında, bu hizmetlerin önemi muhtemelen daha da artacaktır; dolayısıyla ruminant hayvan üretimi, beslenme güvenliğine katkı sağladığı gibi toplumdaki sürdürülebilirlik sonuçlarıyla da bağlantılıdır (Place, 2024).

Ayrıca gıda kayıp ve israflarında hayvan beslenme biliminden yararlanmak, atık yönetimi, gıda güvenliği, kaynak ve çevre sorunlarına çözüm getirir. Hayvancılık, yenmeyen gıdaları et, yumurta ve süt şeklinde yüksek kaliteli proteine dönüştürme potansiyeli ile gıda kaybı ve israfının azaltılmasına yönelik çözümlerde kritik bir rol oynamaktadır (Dou vd., 2018).

Çiftlik içi veya çiftliğe yakın kayıplara ek olarak, küresel tarım üretiminin %30 kadarı (Ajila vd., 2012) alkol ve biyoyakıt üretimi, yağlı tohum işleme, meyve ve sebze işleme, şeker üretimi, kök ve yumru işleme ve bitki, baharat ve ağaç işleme dahil olmak üzere gıda ve endüstriyel işlemlerden kaynaklanan biyokütle atıklarından kaynaklanmaktadır (Salami vd., 2019).

Hayvancılıkta yaşanan hızlı değişimler, beslenme çalışmalarının hedef hayvanlara gre incelenmesini ve dşşk maliyetli teknoloji yaklaşımını zorunlu kılmaktadır. alışmalar, sindirilebilirlik, besin değeri, biyolojik tehlikeler ve atık ynetimi ve kullanımının fizibilitesine ilişkin beslenme değerlendirmesini içermelidir (Ajila vd., 2012).

Dolayısıyla, bu çalışmada bir fermantasyon endüstrisi yan ürünü olan ve Türkiye’de giderek artan biyoetanol üretimi esnasında oluşan koyu şilempenin ruminant hayvanların rasyonlarında geleneksel yüksek kaliteli pahalı protein kaynaklarına alternatif olarak kullanımı ve bu hayvanlarda fermantasyon ile sindirilebilirliğe etkisi araştırılmıştır.

1.1. Rumen Sindirim Fizyolojisi Genel Bilgiler

Ruminantlarda depolama, fermantasyon ve optimum üretkenlik performansının sağlanması söz konusu olduğunda sindirim sisteminin önemli bir bölümünü temsil eden organ rumendir. Rumen, ruminant hayvanların karakteristik tanımlayıcı özelliği ve en hacimli sindirim organıdır ve burada meydana gelen mikrobiyal fermantasyon, hayvanın enerji ve protein ihtiyaçlarını sırasıyla uçucu yağ asitleri (UYA) ve mikrobiyal hücre proteini formunda sağlamaktan büyük lde sorumludur (Hungate, 1966). Rumen, yaklaşık 2×10^{11} L’lik net hacmiyle dünyanın en büyük fermantasyon süreci olarak kabul edilmektedir (Weimer, 1992). Söz konusu fermantasyon ruminantların tamamen mikroorganizmalarla simbiyotik bir ilişkiye dayanan bir sindirim sistemi geliştirmelerinin sonucudur. Bu hayvanların enerjilerinin çoğu mikrobiyal sindirimin (fermantasyonun) son ürünlerinden gelir ki bu da ruminantların başka hiçbir omurgalıda olmayan bitki hücre duvarını kullanmasını sağlayan bir özelliktir (García-Yuste ve Pérez-Barbería, 2020).

Rumendeki mikrobiyal popülasyon çok yoğundur (10^{10} hücre/ml rumen sıvısı) ve çeşitlidir (2500’den fazla tanımlanmış tür), ancak rumen mikrobiyal popülasyonunun hala önemli bir kısmı (>%80) bilinmemektedir (Perez vd., 2024). Rumen ekosistemine dair fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikler izelge 1.1’de verilmiştir (Choudhury vd., 2015).

Tanımlanan ruminal mikrobiyal topluluğu iki grup prokaryottan (bakteri ve arkea) ve iki grup karyottan (protistler ve mantarlar) oluşur. Bakteriler ve protistler birlikte mikrobiyal biyokütlenin %90’ından fazlasını oluşturur ve özellikle bakteriler, topluluk kompozisyonu üzerine niceliksel çalışmaların çoğunun odak noktası olmuştur (Weimer, 2015). Mikroorganizmaların fermentatif etkisi sadece yapısal karbonhidratlarla sınırlı

değildir, aynı zamanda yapısal olmayan karbonhidratlar ve ilk olarak rumende sindirilen proteinler ile de ilgilidir. Ayrıca rumendeki mevcut mikroorganizmalar, parçaladıkları substrata göre de gruplandırılır. Genel olarak selülitik (selülozun parçalanması), hemiselülitik (hemiselülozun parçalanması), pektinolitik (pektinin parçalanması), üreolitik (ürenin NH_3 'e dönüştürülmesi), lipolitik (lipitlerin parçalanması), amilolitik (nişastanın parçalanması), metan üreten türler ve amonyak üreten türler olarak sınıflandırılabilirler (Cunningham ve Klein, 2008).

Rumen mikrobiyal ekosistemi, sindirim fizyolojisinin anlaşılmasında önemli bir role sahiptir ve aynı zamanda teknoloji geliştirme ve doğrulamada diğer mikrobiyal ortamlar için bir test ortamı sağlar. Ayrıca, uygun maliyetli ruminant yemi üretimi ve enterik fermentasyonun yönetimi için sanayide potansiyel bir uygulamaya sahip olması açısından önemlidir (Choudhury vd., 2015).

Çizelge 1.1. Rumen ekosisteminin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri

Fiziksel Özellikler	
Kuru Madde (%)	10-18
Ozmolarite	250–350 mOsmol/Kg–1
PH	5,5-6,9 (ortalama 6,4)
Redoks potansiyeli	-350'den -400 mV
Isı	38-41 °C
Kimyasal Özellikler	
Aminoasitler ve oligopeptidler	Yemlemeden 2-3 saat sonra <1 mmol/L ⁻¹
Amonyak	2–12 mmol/L ⁻¹
Selüloz, hemiselüloz, pektin içeriği	Her zaman mevcuttur
Endojenler (mukopolisakkaritler)	Her zaman mevcuttur
Gaz Fazları (%)	CO ₂ 65; CH ₄ 27, N ₂ 7; O ₂ 0.6, H ₂ 0.2
Büyüme Faktörleri	Yeterli miktarda; dallı zincirli yağ asitleri, uzun zincirli yağ asitleri, pürinler, pirimidinler, diğer bilinmeyenler
Lignin	Her zaman mevcuttur
Mineraller	Yüksek Na; genellikle yeterli miktardadır
Uçucu olmayan asitler (mol L ⁻¹)	Laktat <10
Çözünebilir karbonhidratlar	Yemlemeden 2-3 saat sonra <1 mmolL ⁻¹
İz elementler/vitaminler	Her zaman mevcuttur; yeterli miktarlarda B vitaminleri
Uçucu yağ asitleri (mol L ⁻¹)	Asetat 60-90; propiyonat 15-30, bütirat 10-25, dallı zincirli 2-5
Mikrobiyolojik özellikler	
Anaerobik fungus	10 ³⁻⁵ g ⁻¹ (6 jenerasyon)
Bakteri	10 ¹⁰⁻¹¹ g ⁻¹ (200 tür)
Bakteriyofaj	ml ⁻¹ de 10 ⁷⁻⁹ g ⁻¹ partikül
Siliat protozoa	10 ⁴⁻⁶ g ⁻¹ (25 jenerasyon)

1.1.1. Ruminal Gaz Üretimi

Ruminal ortam anaerobiktir ve gaz fazı çoğunlukla karbondioksit (~%65) ve metandan (~%35) oluşur, ancak küçük miktarlarda başka gazlar da (H_2 , N_2 , O_2 , vb.) mevcuttur ki (Nagaraja, 2016) bunlar yaklaşık olarak %0,2 hidrojen, %0,5 oksijen, %7 azot şeklindedir (Cunningham ve Klein, 2008).

Yetişkin büyükbaş hayvanlar saatte 30-50 lt gaz üretirken, koyun ve keçiler saatte yaklaşık 5 lt gaz üretir (Cunningham, 2011). Ayrıca bir büyükbaş hayvan dakikada 0,5-1 lt gaz üretirken (Membrive, 2016) normal rumen gazı üretim hızı tipik olarak 0,2–2,0 L/dk'dır (Kumar vd., 2013).

Karbondioksit, mikrobiyal faaliyetlerle tükürük ve kandan rumene giren bikarbonatın asitleri nötralize etmesiyle üretilir. Eser miktarlardaki O_2 ve N_2 , yem ve su yoluyla giren havadan gelen kirlenici maddelerdir. Oksijenin yokluğu, rumeni 150 ila -350 mV arasında bir redoks potansiyeli ile oldukça anaerobik hale getirir (Nagaraja, 2016).

Üretilen karbondioksitin bir kısmı rumenden kan dolaşımına yayılır. Ancak karbondioksitin çoğu, metanın hemen hemen tamamı (kandaki çözünürlüğünün düşük olması nedeniyle) ve hidrojen sülfürün büyük kısmı ructus (geğirme) yoluyla gaz halinde rumenden uzaklaştırılır (Owens ve Basalan, 2016).

Ruminal fermentasyon sırasında üretilen, başta metan olmak üzere diğer gazlar ructus yoluyla dışarı atılırken, arka bağırsak fermentasyonunun küçük bir kısmı anüs yoluyla dışarı atılır. Bu gazlar ruminant hayvanlarda sindirilebilir enerjinin %5 ila %8'ini oluşturur ve sığırlarda bu oran %12'ye kadar çıkabilir. Enterik fermentasyon yolu ile gazların üretimi, rasyondaki kaba yem oranıyla birlikte artar, yüksek düzeyde konsantre rasyon verilmesiyle azalır (García-Yuste ve Pérez-Barbería, 2020).

Normal şartlarda, rumen fermentasyonu büyük miktarda gaz üretse de, ruminantlar bunları ructus yoluyla vücutlarından dışarı atabilirler (Meyer ve Bryant, 2017), böylece gazlar rumende büyük miktarlarda birikmez. Ancak bazen rumendeki gaz üretimi gazın uzaklaşma hızını aşan miktarda olduğunda rumende gazlar birikebilir. Bu durumun devam etmesi rumenin ciddi şekilde şişmesine neden olabilir, ardından rumen kasılmaları engellenir ve rumen atonisi ortaya çıkar. Rumendeki basınç 70 mm Hg'ye ulaştığında hayvanda rumen şişkinliği oluşabilir (Vardar-Sukan, 1998).

1.1.2. Uçucu Yağ Asitleri (UYA)

Rumenin eşsiz fermentasyon sürecinde mikrobiyal bozunma ile yağlar ile yapısal ve yapısal olmayan karbonhidratlar mikroorganizmalar tarafından UYA'lara dönüştürülür. Bu dönüşüm sonucunda UYA'lar, karbondioksit ve hidrojen oluşur (Ellis vd., 2008). Ruminantlar enerjilerinin %50-70'ini rumende üretilen UYA'dan alırlar (Membrive, 2016).

Rumende üretilen temel UYA'lar asetik, propiyonik ve bütirik asitlerdir. Rumende iyonize formlarına hızla dönüşürler ve bu nedenle yaygın olarak sırasıyla asetat, propiyonat ve bütirat olarak anılırlar. En çok üretilen UYA asetat olup bunu propiyonat ve bütirat takip etmektedir. UYA'nın oranı, hayvanın rasyonuna göre değişir. Rasyonda konsantre yem miktarı ne kadar fazla olursa, toplam UYA üretimi de o kadar fazla olur. Ayrıca propiyonat üretimi asetatla karşılaştırıldığında artar ancak şunu da belirtmek gerekir ki, rumen pH'sı 5,7'nin üzerinde kalırsa asetat üretimi her zaman baskın üretim olur (Cunningham ve Klein, 2008). Bununla birlikte, UYA oranı substrat tipine, substrat konsantrasyonuna ve fermentasyon koşullarına, özellikle pH'ya göre de değişir. Üretilen UYA oranları, salınan gazların belirli miktarını ve bileşimini, fermentasyon ürünlerinde enerji tutulmasını ve mikrobiyal büyüme için mevcut ATP verimini stokiyometrik olarak belirler (Owens ve Basalan, 2016).

UYA'lar, altıdan az karbon atomuna sahip kısa zincirli yağ asitleridir. Temel olan üç UYA olan asetat, propiyonat ve bütiratın atom sayıları sırasıyla 2, 3 ve 4'tür, bunlar, gradyan konsantrasyonuyla sürekli olarak rumen epitelinden uzaklaştırılır ve ruminal damarlar yoluyla karaciğere ulaşan portal damara taşınır. Bu asitlerin rumenden sürekli olarak uzaklaştırılması, fermentasyon oranlarını tehlikeye atabilecek düşük seviyelerdeki rumen pH'sını önler. Ruminal epitel verimli emilim için tasarlanmamasına rağmen yapısı UYA, su, elektrolitler ve laktik asit için hızlı emilim oranlarına izin verir. Rumendeki yüksek UYA konsantrasyonları, rumen papillalarının boyutunun, uzunluğunun ve yoğunluğunun gelişimini teşvik ettiğinden, rumendeki UYA konsantrasyonu ile rumen duvarı yoluyla emilim kapasitesi arasında da bir geri bildirim vardır. Farklı UYA'lar farklı metabolik dönüşümlere uğrar. Asetat ve propiyonat, rumen duvarından geçerken değişikliğe uğramaz, ancak bütirik asit, beta-hidroksibütirik asite metabolize olur. Asetik asit, karaciğerde dönüşüme uğramaz, ancak ATP üretmek için dokularda oksitlenir ve lipidlerin sentezinde asetil CoA'nın (yani enerji üretimi için protein, karbonhidrat ve lipid metabolizmasında anahtar bir molekül) ana kaynağı olarak kullanılır. Propiyonik asit, karaciğer tarafından portal kandan yakalanır ve glukoneojenez için ana substrat olarak kullanılır ve glikozun çoğu rumen fermentasyonunu atlayamadığı ve emilim için ince

bağırsağa ulaşmadığı için bu, ruminant hayvanlarda büyük önem taşır. Bütirik asit, beta hidroksibütirik asite dönüşerek dokularda enerji kaynağı olarak oksitlenir (García-Yuste ve Pérez-Barbería, 2020).

1.1.3. Ruminal pH

Ruminal pH, rumen sağlığı ve fermentasyon süreci için oldukça önemlidir. Normal bir rumen pH'sı 5,5-6,9 (ortalama 6,4) aralığındadır (Choudhury vd., 2015). Nötr bir rumen pH'sının korunması, mikroorganizmaların parçalayıcı aktivitesi ve besin emilimi için çok önemlidir (Russell ve Hespell, 1981).

Rumendeki fermentatif sindirim, rumen pH'sını düşüren UYA'ların sürekli oluşumuna neden olur. Sığır tükürüğü günlük 250 g Na_2HPO_4 ve 1-2 kg NaHCO_3 infüzyonuna katkıda bulunur. Bu nedenle, tükürük aracılığıyla rumene sürekli bikarbonat infüzyonu, rumen ortamında bir tamponlama fonksiyonuna sebep olur ve pH mikroorganizmaların hayatta kalması ve çoğalması için uygun hale gelir, çünkü mikroorganizmalar genel olarak pH'sı 5,7 ile 6,8 arasında değişen rumen ortamını tercih ederler (Cunningham ve Klein, 2008). Ruminal pH'nın azalması rumen hareketliliğinin azalmasına neden olur. Ruminal pH 5,0'ın altına düştüğünde hareketliliği yoğun bir şekilde baskılanır. Bu tepki, fermentasyonun da artma ihtimali olduğu göz önüne alındığında koruyucu bir mekanizmadır. Böylece, pH'nın azalmasına bağlı olarak motilitenin baskılanması, fermentasyonu azaltır ve UYA rumen pH'sını artırır (Membrive, 2016).

Uzun süre boyunca düşük rumen pH'sı, yem alımını, mikrobiyal metabolizmayı etkiler ayrıca enflamasyon, laminit, diare ve süt yağı depresyonu ile ilişkilidir (Dijkstra vd., 2012).

1.1.4. Amonyak

Azot, bakteriler de dahil olmak üzere canlılar için önemli bir sınırlayıcı unsurdur. Ruminal bakteriler azotu çok çeşitli bileşiklerden elde eder ancak azot kaynakları bakımından farklılık gösterir (Jung vd., 2014).

Ruminantlarda, hayvanlar tarafından tüketilen azot yaklaşık %60-90'ı rumen bakterileri tarafından amonyağa (NH_3) dönüştürülür. Yeni bakteri sentezinde kullanılan azotun %50 ila %70'inin amonyaktan geldiği tahmin edilmektedir. Rumende bulunan amonyanın çoğu iyonizedir (NH_4). Bakterilerin içindeki amonyak konsantrasyonu,

rumende bulunandan yaklaşık 15 kat daha fazladır; amonyak aktif taşıma yoluyla bakteri zarından geçer (Membrive, 2016). Uygun bir rumen iç ortamı (pH, amonyak konsantrasyonu, vb.), rumendeki ham selülozun parçalanmasını ve mikrobiyal protein sentezinin etkili bir şekilde gerçekleşmesini sağlamak için kritik öneme sahiptir (Russell ve Rychlik, 2001).

Ruminantlarda rasyondan ve karaciğerlerinden alınan geri dönüştürülmüş üre, rumendeki mikroorganizmalar tarafından emilebilir ve süt veya kas proteini sentezi için iyi bir protein kaynağı niteliğinde olan mikrobiyal proteine dönüştürülmek üzere metabolize edilebilir (Tadele ve Amha, 2015). Üre normalde ruminant hayvanların rasyonuna protein niteliğinde olmayan azot (NPN) olarak eklenir, bu da hayvancılığa fayda ve azot maliyetlerinden tasarruf sağlar (Hailemariam vd., 2021). Hayvan beslemede dünya çapında ruminant hayvanların üre veya NPN ile beslenmesi üzerine kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. Başlangıçta, üre besleme konusunda yetersiz bilgi nedeniyle hayvanların üre zehirlenmesinden ölmesi, ruminant hayvanların beslenmesinde ürenin yaygın şekilde kullanılmasını engellemiştir. Bununla birlikte, birçok beslenme koşulunda güvenliğini ve kullanışlılığını gösteren kapsamlı araştırmaların ardından üre, ruminantların beslenmesinde yaygın olarak kabul edilen bir içerik haline gelmiştir (Patra, 2015).

Ayrıca amonyak, rumen asitlerini nötralize etmek ve idrar çıkışını arttırmak için bir baz görevi de görür. Bu da su alımını ve rumen sıvısının devrini artırır. Üre sentezi aynı zamanda uygun kan asit-baz dengesinin korunmasında da yararlı olabilir. Rasyondaki ürenin aynı zamanda öğün boyutunu küçülttüğü ve öğün sıklığını artırdığı, çiğneme süresini ve tükürük üretimini artırabilen faktörler ile rumen ve toplam sindirim kanalının kapsamını arttırdığı görülmektedir (Owens ve Basalan, 2016).

Bununla birlikte rumenden amonyak emiliminin hızı, karaciğerin amonyağı kandan uzaklaştırma kapasitesini aştığında (periferik kandaki amonyağın 10 mg/l'tnin üzerine çıkması) durumunda amonyak toksik etki gösterir (McDonald, 1958). Amonyak toksisitesinin göstergeleri arasında 1.000 mg/l'tnin üzerindeki rumen amonyak konsantrasyonu, 8'in üzerindeki rumen pH'sı ve 20 mg/l'tnin üzerindeki kan amonyak konsantrasyonu yer alır (Owens ve Bergen, 1983). Kandaki amonyak konsantrasyonu 40 mg/l'tyi aştığında genellikle hayvanların ölümü meydana gelebilir (Patra, 2015).

1.1.5. Metan

Rumende, fermentatif sindirim süreci sırasında fazla miktarda metan (CH_4) üreten büyük bir metanojenik arke grubu bulunur. Metan üretimi, rumen içindeki aşırı hidrojen iyonlarının dış ortama salınmasına izin verir, bu da rumen pH'sının korunması için temel bir koşuldur (Membrive, 2016). Çoğu metanojen türü, enerji kaynağı olarak H_2 ve formik asidi kullanarak büyüyebilir ve H_2 ve formattan türetilen elektronları CO_2 'yi indirgeyerek metan oluşturmak için kullanabilir (Çizelge 1.2) (Nagaraja, 2016).

Çizelge 1.2. Rumendeki metanogenezis için substratlar

Substratlar	Reaksiyonlar		
Majör			
H ₂ ve CO ₂	4H ₂ + CO ₂		CH ₄ + 2H ₂ O
Format	4HCOOH	→	CH ₄ + 3CO ₂ + 2H ₂ O
Minör →			
Metanol	4CH ₃ OH	→	3CH ₄ + CO ₂ + 2H ₂ O
Metilamin	4CH ₃ NH ₂ CL + 2H ₂ O	→	3CH ₄ + CO ₂ + 4NH ₄ CL
Dimetilamin	2(CH ₃) ₂ NHCL + 2H ₂ O	→	3CH ₄ + CO ₂ + 2NH ₄ CL
Trimetilamin	4(CH ₃) ₃ NHCL + 2H ₂ O	→	3CH ₄ + CO ₂ + 2NH ₄ CL CH ₄ + CO ₂
Asetat	CH ₃ COOH	→	3CH ₄ + CO ₂ + 2H ₂ O

Metan rumen boşluğunda birikemez; bu nedenle başlangıçta rumenin dorsal kısmını doldurur ve ructus adı verilen bir mekanizma ile rumenden dış ortama salınır. Yetişkin bir büyükbaş hayvan günde yaklaşık 500-1000 litre gaz çıkarır. Ructus, geviş getiren hayvanların hayatta kalması için hayati ve temel bir fizyolojik mekanizmadır (Membrive, 2016).

Bununla birlikte, ruminantlarda metanın ructus yoluyla atılması sonucu rasyondaki brüt enerjinin %2-12'sini kaybedebilir. Bu yüzden mümkün olan en iyi besleme verimliliğini, yani kilo alımı ile kuru madde alımı arasındaki en iyi ilişkiyi elde ederek yüksek verimlilik elde etmek ana amaçtır. Ayrıca metanın güçlü bir sera etkisi vardır. Metanın kızılötesi radyasyonu karbondioksitten 23 kat daha fazla soğurma kapasitesine sahip olduğu ve atmosferdeki 10 yıllık yaşam süresi dikkate alındığında, dünyada şu anda meydana gelen tüm ısınma potansiyelinin yaklaşık %18'ine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Dünyadaki yıllık metan emisyonunun yaklaşık %16'sı hayvancılık faaliyetlerinden kaynaklanmaktadır (%73'ü ruminant hayvan sürülerinden kaynaklanmaktadır). Bu nedenle, dünyadaki sığır, manda, koyun ve keçi sürülerinin ürettiği metan göz ardı edilemez ve küresel ısınma endişesi göz önüne alındığında, ructus ve bunun sonucunda çevreye metan emisyonunu en aza indirecek stratejiler giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Rodrigues, 2016). Metan emisyonlarını azaltmak için rumen

ekosistemini değiştirmek, hayvan sağlığı, çiftlik yönetimi ve hayvan verimliliği üzerindeki etkilerinin dikkate alınması gereken önemli bir bilimsel zorluktur (Choudhury vd., 2015).

1.2. Tarımsal Sanayi Yan Ürünlerin Ruminant Beslenmesinde Kullanımı

Tarımsal sanayi yan ürünlerinin hayvan yemi olarak kullanılması, özellikle çevresel kaygılar ile geleneksel yem içeriklerinin artan maliyetleri nedeniyle hayvan beslemede giderek artmaktadır. Hayvanları yan ürünler ve gıda atıklarıyla beslemek, çevresel kaygıları azaltabilir ve karlılık ile üretkenliklerini artırabilir (Zali vd., 2017). Ayrıca son yıllarda nüfus artışına bağlı olarak hayvansal ürünlere olan talebin artış göstermesiyle birlikte (Webb ve Erasmus, 2013), hayvan yemi kıtlığı da göz önüne alındığında, hayvan beslenmesinde kısmen besin maddesinin yerini alabilecek yan ürünlerin kullanılması büyük önem taşımaktadır (Maneerat vd., 2015).

Tarımsal atıklar çeşitli türlerdedir. Mahsul atıkları ve kalıntıları, meyve ve sebze işleme endüstrisinden kaynaklanan yan ürünler, şeker, nişasta ve şekerleme endüstrisi yan ürünleri, tahıl ve baklagil değirmenciliği endüstrisinden kaynaklanan yan ürünler ve petrol endüstrisi ile damıtma tesisleri ve bira fabrikalarından elde edilen yan ürünler olarak sınıflandırılabilirler (Ajila vd., 2012).

Küresel ölçekte tarımsal olarak üretimin yaklaşık %30 gibi büyük bir bölümünü tarımsal sanayi yan ürünleri oluşturmaktadır. Ruminantlar mide yapıları sayesinde insanlar için yenilebilir olmayan selüloz ve hemiselüloz içeriği yüksek hammaddeleri tüketebilirler ve bunun sonucunda insanlar için yüksek nitelikli hayvansal ürüne dönüştürebilirler (Gültepe ve Bayram, 2019).

Besi alanları gibi büyük ölçekli üretim sistemlerinde, rasyon başına maliyetteki hafif bir azalma, yem maliyetlerinde ve dolayısıyla kârlılıkta büyük bir fark yaratabilir (DiCostanzo vd., 1996).

Rumenin eşsiz fermentasyonu ile bu atık ürünler değerdendirerek hem hayvan sağlığına fayda sağlarken hem de ekonomik açıdan yem maliyetleri düşürülebilir. Söz konusu yan ürünlerden birisi ve bu teze konu olan deneyin ana maddesi koyu şilempedir.

Çözünür yoğunlaştırılmış melas olarak da bilinen koyu şilempe, melas fermantasyonu sırasında oluşan biyoetanol endüstrisinin bir yan ürünüdür (Fernández vd., 2009).

Organik kimya açısından, biyoetanol (C_2H_5OH) yenilenebilir bir biyoenerji, biyolojik olarak parçalanabilir berrak-renksiz bir sıvı, otomotiv motorlarına güç sağlamak için çevre dostu potansiyel yakıt ve aynı zamanda petrol için potansiyel bir alternatif olarak ortaya çıkan bir alkol şeklidir (Hossain ve Jalil, 2018). Genellikle biyoetanol, ham maddeden veya ham madde dışı kaynaklardan, çeşitli biyokütle türlerindeki sakkarozun veya basit şekerlerin alkolik fermantasyonundan sentezlenir (Gnansounou, 2005)

Biyoetanol üretimi küresel çapta mevcut olan çevresel, ekonomik ve enerji sorunlarına alternatif bir çözüm sunmaktadır. Ülkemizde de tüm dünyada olduğu üzere biyoetanol üretimi artmıştır ve biyoetanol üretim tesisleri kurulmuştur (Melikoğlu ve Albostan, 2011).

Tarım ve Orman Bakanlığı istatistiklerine göre Türkiye'deki Biyoetanol üreticileri ve istatistikleri Çizelge 1.3 ve 1.4'te verilmektedir (TOB, 2023).

Çizelge 1.3. Türkiye'deki biyoetanol üreticileri (2023)

Yakıt Biyoetanolü Üreticileri

1. Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş. (Çumra Biyoetanol Tesisi Şubesi)
2. Tezkim Tarımsal Kimya San. ve Tic. A.Ş.
3. Tarımsal Kimya Teknolojileri San. ve Tic. A.Ş
4. Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Eskişehir Şeker Fabrikası

Çizelge 1.4. 2023 yılı I. dönem yakıt biyoetanolü istatistikleri (Ocak–Şubat–Mart)

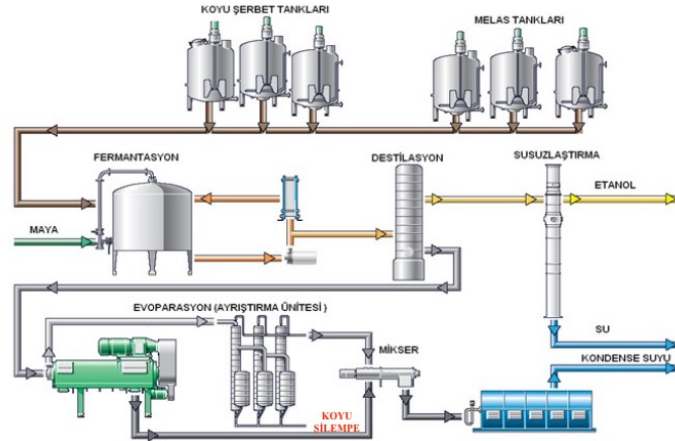
	Gümrük Tarife İstatistik Pozisyonu (GTİP)	Ürün Adı	Miktar (litre mA)*
Toplam Üretim	2207.10.00.10.11	Denatüre Edilmemiş Etil Alkol (Dökme)	17.469.093
Toplam Satış	2207.20.00.10.13	Yakıt Biyoetanolü (Dökme)	16.688.001
	2207.20.00.10.13	Sanayi Tipi Etil Alkol (Dökme)	2.081.888
	2207.20.00.10.14	Sanayi Tipi Etil Alkol (Ambalajlı)	6600
Toplam İhracat	2207.10.00.10.11	Yakıt Biyoetanolü (Dökme)	-

* Ay İçinde Alınan Miktar (mA litre): Yetkili Alkol Dağıtım Firmalarından parti bazında alınan etil alkolün, mutlak alkol miktarı üzerinden karşılığıdır.

Dünyada biyoetanol üretimi için kullanılan hammaddeler çeşitlilik gösterirken, Türkiye’de bu hammadde şekerpancarıdır ve biyoetanol üretimi de şeker endüstrisine bağlı olarak büyümektedir (Melikoğlu ve Albostan, 2011). Türkiye, şeker pancarından şeker üretiminde Dünyada beşinci (yaklaşık 2,5 milyon ton yıllık üretim), Avrupa Kıtası’nda dördüncü sıradadır (Türkşeker, 2021).

Biyoetanol üretimi sırasında açığa çıkan yan ürünlerden birisi de koyu şilempedir. Biyoetanol üretim sürecinde, bir litre etanol başına 12 ila 20 L şilempe üretilmektedir (Cazetta ve Celligoi, 2006). Ayrıca şilempenin ortaya çıkışında şeker fraksiyonlarının çekilmesinden sonra kalan organik şeker dışı bileşikler ve melastaki mineral fraksiyonu yoğunlaşmış kalıntıda birikmektedir.

Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş. biyoetanol üretiminden alınan bilgilere dayanarak üretim sürecinde melas fermentasyon ve distilasyon süreçlerine tabi tutulmakta ve oluşan seyreltik şilempeden evaporasyon yolu ile koyu şilempe üretilmektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Koyu şilempenin endüstriyel fermentasyon süreci

Bu yan ürünün artık üretim süreciyle bir ilgisi yoktur dolayısıyla endüstrinin onu kullanmanın etkili bir yolunu bulması gerekmektedir. Şilempenin büyük miktarlarda üretilen konsantre bir atık su olduğu göz önüne alındığında, çevresel kaygılardan kaçınmak için uygun şekilde bertaraf edilmesi çok önemlidir (Sheehan ve Greenfield, 1980).

1.3. Koyu Şilempenin Hayvan Beslemede Kullanımı

Ruminant rasyonlarında şilempenin bir yem bileşeni olarak kullanılması bu yan ürünü sadece atık olarak değil bir ürün haline getirecektir ve maliyetini azaltacaktır. Ayrıca şilempenin satışı, biyoetanol üretiminin maliyetini de azaltacak, biyoetanölün bir yakıt kaynağı olarak uygulanabilirliğini artıracaktır (Grasser vd., 1995).

Şilempe esas olarak aspartik asit, glutamik asit ve betain gibi protein olmayan azot formunda ham proteinin (NPN) yanı sıra kül (özellikle potasyum) içerir. Ayrıca minimum düzeyde lif ve yağ içeriğine sahipken prebiyotik özelliklerle karakterize edilir (Rahimi ve Rafiee, 2024).

Bununla birlikte, şilempenin rumen ortamını iyileştirebilen ve rumen mikroorganizmaların büyümesini teşvik edebilen ölü *Saccharomyces cerevisiae* mayasını içerdiğini bildirilmiştir (Chuppa-Tostain vd., 2018).

Ayrıca şilempenin dengeli bir bağırsak mikroflorasının korunmasına yardımcı olan ve patojenik bakterilerin istenmeyen büyümesini önleyen prebiyotik özelliklere sahip olduğunu belirtmiştir (Oliveira vd., 2013).

Kuzuların rasyonunda mısır tanesi %10 oranında şilempe ile ikame edildiğinde, yemden yararlanma oranı ve KM alımı kontrol grubundakilerden daha yüksek olarak bulunmuştur (Manfredini ve Cavani, 1980). 1985 yılında yapılan bir ruminant besleme çalışmasında rasyon KM'sinin %5'inden fazla şilempenin rasyona ilavesinin günlük ağırlık artışında azalmaya ve daha az yemden yararlanmaya neden olduğu, karkas özelliklerinin etkilenmediği, %10 veya %15 şilempe içeren rasyonlarda ruminal propiyonik asit konsantrasyonunun azaldığı, bütirik asidin ise tüm şilempe seviyeleri için arttığı bildirilmiş; şilempenin, sığır besi bitirme yemlerinde bir bileşen olarak mısırdan daha az değeri olduğu rapor edilmiştir (Potter vd., 1985).

Stemme vd. (2005), maya üretiminden elde edilen yoğunlaştırılmış melas kalıntısı olan şeker pancarı şilempesinin yem değerini belirlemek için besi sığırlarında ve domuzlarda bir araştırma yürütmüşlerdir. Şilempe kg kuru madde başına (KM içeriği %66,8), 293 g ham protein, 305 g azotsuz öz madde (NÖM) (bunun 34,4 g toplam şeker) ve 395 g ham kül içeriyordu. Deney, üç besi sığırı (Alman Holstein) ve dört yetişkin domuzla (Göttingen mini domuzu) gerçekleştirilmiştir. Besi sığırlarında, her biri 20 gün süren (10 gün adaptasyon; 10 gün örnek toplama) şilempesiz ve şilempeli bazal rasyon (%14 KM) içeren iki deneme yürütülmüştür. Domuzlarda 12 günlük denemenin son 5 günü örnek toplama dönemi olan üç deneyden oluşmakta idi. İlk denemede, domuzlara şilempe içermeyen bazal bir rasyon verilmiş ve ardından sırasıyla %16 ve %43 şilempe (KM'de) içeren karışık bir rasyon verilmiştir. Besi sığırlarında şilempedeki bileşenlerin sindirilebilirlikleri: organik madde %73,5, ham protein %72,6 ve azotsuz öz madde %52,3 idi. Besi sığırlarında, KM'de %14 şilempe ile beslenirken dışkı kalitesi üzerinde hiçbir etki tespit edilememiştir. Domuzlar KM'de %16 şilempe ilavesi ile beslenirken, organik maddenin sindirilebilirliği %72,3'e (ham protein %71,8; NÖM %74,6) ulaşmıştır. Domuzların rasyonunda daha yüksek miktarda şilempe (KM'de %43) ile besleme yapıldığında, sindirilebilirlikler azalmıştır (organik madde: %61,6), bu da şilempe içindeki beklenmedik derecede yüksek sülfat (136 g/kg KM) içeriği nedeniyle ozmotik olarak tahrik edilen bir ishal sonucu kimüsün tutulma süresinin azalmasının bir sonucu olabileceği belirtilmiştir. Sığır ve domuzlar için organik madde sindirilebilirliğinin >%70 olması nedeniyle, bu türlerde küçük oranlarda şilempe kullanımının makul olduğu sonucuna varılmıştır. Stemme vd. (2005) yaptıkları bu çalışmada sülfat, kalsiyum, fosfor, magnezyum, sodyum, potasyum ve klor düzeylerini g/kg KM'de 136, 7,30, 2,14, 1,91, 33,7, 104 ve 25,1 olarak tespit etmişlerdir.

Koyunlarda kurutulmuş şeker pancarına KM bazında %13 oranında şilempe eklenmesi rumendeki kuru maddenin sindirilebilirliğini artırmıştır. Ancak rumen pH'ı, amonyak azotu ve toplam veya tek kısa zincirli yağ asitleri etkilenmemiştir (Fernández vd., 2009).

Şeker pancarı şilempesi ile koyunlarda iki deney halinde bir çalışma gerçekleştirilmiştir. İlk deneyde, şilempe ve buğday samanı ad libitum olarak verilmiş ve her bir koyun için yem tüketimi ölçülmüştür. İkinci deneyde ise 4 fistüle edilmiş koyundan alınan rumen sıvısı şilempenin hayvan performansı üzerine etkisini incelemek üzere incelenmiştir. Bütün çalışma gruplarında yemlemeden 2. saat sonra rumen pH'sında düşüş gözlenmiştir. Yine bütün çalışma gruplarında rumen sıvılarında ruminal amonyak

azotu ve protozoa popülasyonu artmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yem alımı ve rasyon sindirilebilirliği yine bütün çalışma gruplarında artış göstermiştir. Söz konusu çalışmada her bir koyuna her gün TMR rasyonun 100g/kg KM'sinde şilempe kullanımının ruminal fermentasyona, yem tüketimine, rasyon sindirilebilirliğine olumlu katkısı olduğunu bildirmiştir (Iranmehr vd., 2011).

Ananas kabuğu, tatlı mısır kabuğu ve koçanın şeker kamışı yan ürünü olan posa ve şilempe ile karıştırılmasıyla (posa/şilempe=30/70) elde edilen silajlar, kimyasal bileşimleri ve fermentasyon özelliklerinin yanı sıra besi danalarındaki besi performanslarını belirlemek için değerlendirilmiştir. Deney sonucunda, ananas kabuğu silajı ile posa-şilempe karışımının dana besi rasyonlarında geçerli bir yem maddesi olduğu ve ayrıca çiftçiler için ekonomik olarak uygun bir tarımsal-endüstriyel yan ürün olabileceği ortaya konmuştur (Maneerat vd., 2015).

Mandalarda in-vitro rumen tekniklerinin kullanıldığı ve sorgum şilempesinin metan üretimi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise şilempe ilavesinin (3 uygulama, A (şilempe içermeyen yemlik sorgum), B (sorgum yemi+ %5 şilempe içeren sorgum) ve C (sorgum yemi+ %10 şilempe içeren sorgum) rumen fermentasyonunu etkilediği sonucuna varılmıştır. Çalışmada pH değeri, organik madde yıkımlanması ve gaz üretimi artmış, buna karşın uçucu yağ asidi ve amonyak içeriği azalmıştır. Şilempe ilavesiyle bakteri ve protozoa oranı artarken, protozoa biyokütlesinin azalması metanojenik bakterilerin azalmasına neden olmuştur ve metan üretiminde bir azalma meydana gelmiştir (Sugoro vd., 2016).

Şilempenin rumen fermentasyonu ve hayvan performansına etkilerinin incelendiği in-vivo ve in-vitro araştırmalar yapılmıştır. Farklı şilempe seviyeleri içeren rasyonların fermente edilebilirliğini ve gaz bileşimini belirlemek için in-vitro araştırmalarda %0, %5, %10 veya %15 şilempe içeren dört rasyon uygulaması, benzer kuru madde değerlerine sahip olmanın yanı sıra izo-azotlu ve izo-enerjik olacak şekilde formüle edilmiştir. In-vivo deneyde ise yeni sütten kesilmiş buzağılarının rasyonlarına %0, %5, %10 veya %15'te şilempe ilavesinin etkisi incelenmiştir. Araştırmaların sonucunda şilempenin melasın olası bir alternatifi olduğu belirlenmiş yalnız in-vivo ve in-vitro araştırmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır (Pienaar, 2016).

Buzağı rasyonlarına %5, %10 ve %15 şilempe eklenerek yapılan araştırmalarda KM bazında %5 oranında şilempenin eklenmesi azot alımını olumlu yönde etkilemiş ve incelenen karkas parametreleri bakımından olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Zali vd., 2017).

Yüksek konsantre yem içeren koyun rasyonunda melas yerine şeker kamışı şilempesinin kullanıldığı bir besleme çalışmasında, %12'ye kadar şilempe ilavesinin herhangi bir olumsuz etki göstermediği bildirilmiştir (O'Reilly, 2017).

In-vitro gaz üretim tekniği kullanılarak koyunlarda melas ve şilempenin besin değerlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, %0, %5, %10 ve %15 şilempe içeren rasyonlar ile çalışmalar yapılmıştır. Melasın gaz üretim potansiyeli, gaz üretim hızı, metabolize olabilir enerjisi, organik madde sindirilebilirliği ve kısa zincirli yağ asitleri, şilempeden daha yüksek bulunmuştur. Mikrobiyal biyokütle verimliliği %10 şilempe seviyesinde kontrole kıyasla daha az olarak bulunmuştur. %15 şilempe içeren rasyondan elde edilen gaz üretim hacmi, fermantasyon süresi boyunca kontrolden daha fazla olarak tespit edilmiştir. Yine %15 şilempe içeren rasyondan elde edilen metabolize olabilir enerji, organik madde sindirilebilirliği ve kısa zincirli yağ asitleri kontrole kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olarak bulunmuş, genel olarak, şilempenin %15'e kadar melasla değiştirilmesi rasyonların besin değerini artırmıştır (Saniei vd., 2017).

Oğlaklarda yapılan in-vivo bir çalışmada ise rasyona %12'ye kadar (KM bazında) şilempe ilavesinin oğlaklarının büyüme performansı üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı bildirilmiş; karkas özellikleri, rumen ve kan parametreleri üzerine etkileri ise önemsiz düzeyde bulunmuştur (Zali vd., 2019).

Ayrıca kuzu yetiştirme rasyonuna soya fasulyesi küspesi yerine alternatif protein kaynağı olarak kurutulmuş pirinç şilempesi kullanılmasının etkileri in-vitro ve in-vivo çalışılmıştır. Soya fasulyesi küspesinden gelen protein, 0 (kontrol), 250, 500 ve 750 g seviyelerinde kurutulmuş pirinç şilempesi proteini ile kısmen değiştirilmiştir. In-vivo araştırmada ise kontrol ve 500g/kg KM kurutulmuş pirinç şilempesi ilavesi ile 60 günlük bir deney gerçekleştirilmiştir. Rasyonda kurutulmuş pirinç şilempesinin artırılmasından sonra, net CH₄ üretimi azalmıştır. Ruminal amonyak azotu konsantrasyonu ve toplam protozoa sayısı, kurutulmuş pirinç şilempesi seviyeleri arttıkça doğrusal olarak azalmıştır. İn-vitro mikrobiyal protein ve propionat oranı (C3) artarken, toplam kısa zincirli yağ asitleri, asetat (C2) bütirat, izobütirat ve C2:C3 oranı azalmıştır. 500 g kurutulmuş pirinç şilempesi/kg KM ile beslenen kuzular, kontrol ile karşılaştırıldığında daha yüksek günlük canlı ağırlık artışı, yemden yararlanma ve ham protein sindirilebilirliği göstermişlerdir. Kurutulmuş pirinç şilempesi eklenen rasyon kontrol ile karşılaştırıldığında daha yüksek sindirilebilir, metabolize olabilir ve net enerji göstermiştir. 500 gr'lık kurutulmuş pirinç şilempesi rasyonu kontrol ile karşılaştırıldığında yem maliyetlerini düşürmüş ve net karı artırmıştır. Kuzu yetiştirme rasyonlarında kurutulmuş pirinç şilempesi kullanımının,

büyüme performansı üzerinde olumsuz etkilere yol açmadan ekonomik avantajlar için ekstra potansiyele sahip, enerji açısından ümit verici bir kaynak sağladığı bildirilmiştir (El-Zaiat vd., 2019).

Melas ve potasyumu alınmış şilempenin (depotash şilempe) in-vitro rumen fermantasyon parametreleri üzerindeki etkisini gözlemek amacıyla 2019 yılında yapılan bir deneyde depotash şilempe ve melas peletlerinin (%8'e kadar) eklenmesi nedeniyle rumen fermantasyon parametrelerinde gözle görülür bir değişiklik olmadığı, KM, OM ve HP sindirilebilirliği ile mikrobiyal üremenin ve amonyak azotun miktarının tüm gruplarda benzer olduğu bildirilmiş, depotash şilempenin pelet yapımında ve sonrasında hayvanlara yedirilmesinde rumen fermantasyon parametrelerine herhangi bir zarar vermeden kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Singh vd., 2019).

Buzağı rasyonuna protein kaynağı olarak farklı seviyelerde şilempe içeren rasyonların etkileri araştırılmıştır. Araştırmada buzağı rasyonlarında pamuk tohumu küspesi yerine 0, %5, %10 ve %15 oranlarında şilempe kullanılmıştır. Büyüme performansı, besin sindirilebilirliği ve yem tüketimi incelenmiştir. Canlı ağırlık, ortalama günlük canlı ağırlık artışı ve kuru madde tüketimi, %10 şilempe içeren rasyonla beslenen buzağılarda diğer uygulamalara kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olarak bulunmuş, rumen pH'sı %15'lik grupta önemli ölçüde artmıştır. Ham yağ, NDF, lifsiz karbonhidrat ve kuru madde sindirilebilirliği uygulamalar arasında önemli bir farklılık göstermemiştir ancak %10 ve %15 şilempe içeren uygulamalar kontrol ile karşılaştırıldığında organik madde ve ham protein sindirilebilirliğini önemli ölçüde artmıştır. Buzağı rasyonunda pamuk tohumu küspesinin %10 şilempe ile tamamen değiştirilmesi, rumen pH'sında önemli bir etki yaratmadan canlı ağırlık artışı ve organik madde sindirilebilirliğini artırmıştır (Gerimipour vd., 2019).

Yine şilempe ile yapılan başka bir ruminant besleme çalışmasında sığır besi bitirme rasyonunda melasın yerine alternatif yem maddesi olarak şilempe ve melasın kullanılabileceği, bitirme rasyonunda %15 şilempe melas karışımının kullanılmasının, KM tüketimini ve konsantre yem tüketimini azalttığı ve böylece yem maliyetini düşürdüğü bildirilmiştir. Sığır rasyonlarında şilempe melas karışımının kullanılmasının, sığır eti üretiminin sürdürülebilirliğini desteklerken, şeker üretimi yan ürünlerinden kaynaklanan kirliliğin azaltılmasını da sağlayabileceği belirtilmiştir (Fassah vd., 2022).

Buzağı başlangıç yemine şilempenin dahil edilmesinin performans, rumen fermantasyonu ve kan metabolitleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Deney sonucunda, buzağılarda beslenmesinde soya fasulyesi küspesinin bir kısmının yerine

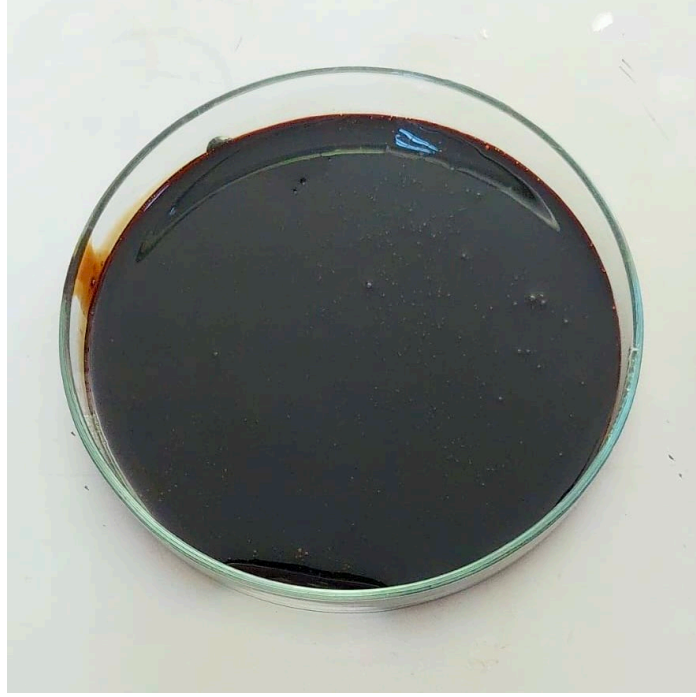
şilempe kullanımının uygulanabileceği, Holstein süt buzağılarının başlangıç yemine KM bazında %8'e kadar şilempe eklenmesinin önerildiği belirtilmiştir. Ayrıca bu oranda şilempenin rasyona eklenmesinin yemden yararlanma, günlük canlı ağırlık artışı ile rumen pH'sında ve rumen molar asetat artışı üzerinde olumlu etkilerle sonuçlandığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, buzağı başlangıç rasyonuna daha yüksek oranda şilempe eklenmesi (yani KM bazında %12), kalp çevresi ve vücut gövdesi gibi belirli iskelet büyüme parametreleri üzerinde zararlı etkiler yarattığı ve ruminal propiyonat ve toplam UYA üretimini azalttığı rapor edilmiştir (Rahimi ve Rafiee, 2024).

Bu çalışmada Türkiye'de ve dünyada artan biyoetanol üretimi sonucu oluşan yan ürün koyu şilempenin ülkemizde ruminant beslemede kullanılmasına yönelik potansiyeli araştırılmış, ortaya konulan sonuçlar ile koyu şilempenin kaliteli ve maliyetli protein kaynaklarına alternatif olarak kullanımının artırılması ve bu alanda ileride yapılacak araştırmalara yönelik veri sağlayıp katkı sunulması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Numune Materyali

Çalışmada kullanılan Koyu Şilempe Konya ilindeki Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş. ye ait biyoetanol üretim merkezinden temin edildi. Fiziksel görünüm olarak koyu kahve renginde hafif kıvamlı bir sıvı olan koyu şilempe (Şekil 2.1) ağzı kapaklı konteynır ile Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi. Gelen şilempenin Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş. laboratuvar analizleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. Koyu şilempe

Deneyin ana maddesi koyu şilempenin ayrıca Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında Weende Analiz yöntemi ile kuru madde (KM), ham kül (HK), ham yağ (HY), ham protein (HP) ve ham selüloz (HS) AOAC 2000’e göre yapılmıştır.

2.1.1. Kuru Madde Tayini

KM düzeyinin ölçülebilmesi amacıyla öncelikle kurutma işlemine tabi tutulan koyu şilempe 105 °C'de 24 saat süreyle etüvde kurutuldu ve yaklaşık 0,5 gr olarak üç örnek halinde porselen krozelere konularak desikatörde sabit ağırlığa geldikten sonra tartımları yapıldı (Şekil 2.2). Ardından üç örneğin ortalaması üzerinden KM düzeyi belirlenmiştir.

KM düzeyi için aşağıdaki formül kullanıldı;

$$\% \text{ KM} = ((K-D)/(NM)) \times 100$$

K: Analiz sonrası kroze ağırlığı + Numune Miktarı

D: Kroze Darası

NM: Numune Miktarı

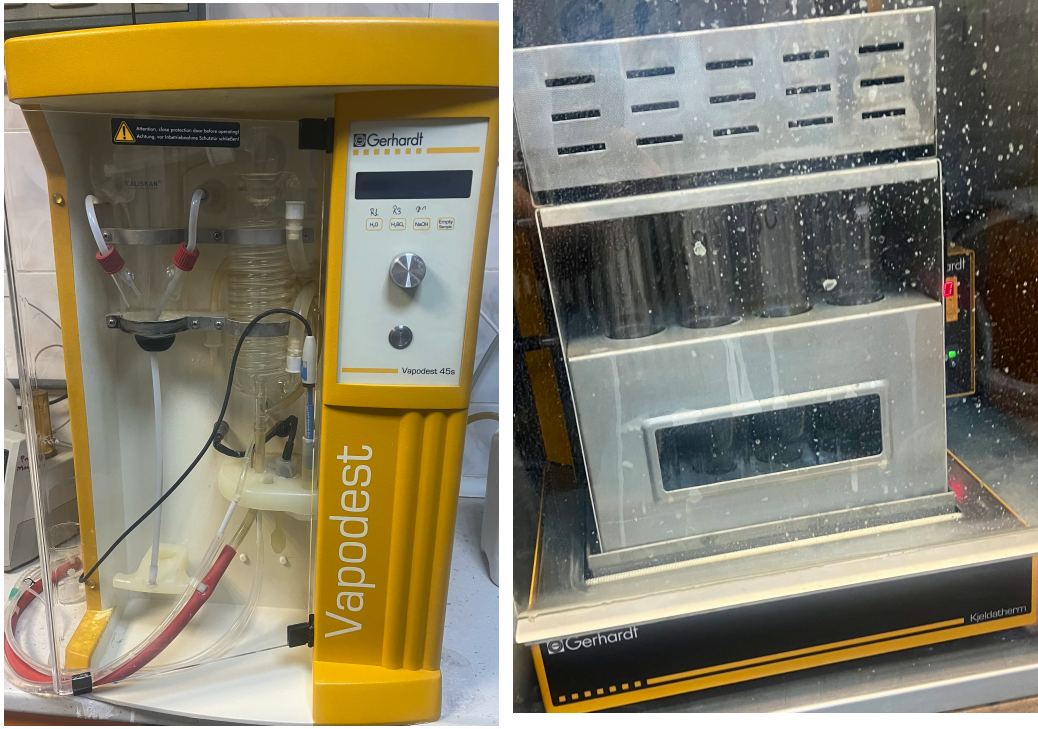


Şekil 2.2. Hassas terazi ve etüv

2.1.2. Ham Protein Tayini

Koyu Şilempenin HP tayininde ise yaş yakma, distilasyon ve titrasyon olmak üzere üç aşamalı Kjeldahl yöntemi kullanıldı. Yaş yakma aşamasında Gerhardt VAPODEST 45s Carousel Azot Protein Tayin Cihazı, titrasyon ve distilasyon aşamalarında ise Gerhardt Kjeldatherm cihazı (Şekil 2.3) kullanıldı. Numunelerden

Kjeldahl tüplerine yaklaşık olarak 1 gr olmak üzere üç örnek halinde konuldu. Bir adet Gerhardt katalizör tablet ile 25 ml konsantre H₂SO₄ her bir kjeldahl tüpü içerisine eklendi ve yakma ünitesine alındı. Yakma işleminden sonra sırasıyla distilasyon ve titrasyon işlemleri gerçekleştirildi. Distilasyon ve titrasyon aşamalarında kullanılan sarfiyat ise NaOH, borik asit çözeltisi, sülfürik asit ve distile sudur.



Şekil 2.3. Gerhardt Vadopest 45s carousel azot protein tayin cihazı ve Gerhardt kjeldatherm cihazı

Sonuçlar AOAC 2000'e aşağıdaki formül kullanılarak ve ortalamaları alınarak göre KM üzerinden yüzde olarak ifade edildi;

$$\% \text{ HP} = (\text{TS} \times 1,2495) / \text{NM}$$

TS: Toplam Sarfiyat

NM: Numune Miktarı

2.1.3. Ham Yağ Tayini

Analiz için Gerhardt SOX-416 Otomatik Yağ Tayin cihazı (Şekil 2.4) kullanıldı. Yağ beherlerinin darası alındı ve içerisine soxhlet ekstraksiyon kartuşları yerleştirildi. Etüvde kurutulmuş koyu şilempe numuneleri üç örnek halinde yaklaşık 0,5 gr tartılarak kartuş içerisine alındı ve 150 ml eter ilave edildi. Cihaz 39 °C'ye ayarlanarak 8 saat

sirkülasyonda bırakıldı. Daha sonra beherler, etüvde 105°C’de yaklaşık 2 saat bekletildi ve desikatöre alındı. Ardından beherlerin tartımı yapıldı.

Aşağıdaki formül uyarınca ham yağ değeri KM üzerinden AOAC 2000’e göre yüzdesel olarak hesaplandı;

$$\% \text{ HY} = ((\text{ABA}-\text{B})/\text{NM})) \times 100$$

ABA: Analiz sonrası beher ağırlığı

B: Boş beher darası

NM: Numune miktarı



Şekil 2.4. Gerhardt SOX-416 otomatik yağ tayin cihazı

2.1.4. Ham Kül Tayini

Boş porselen krozelerin hassas terazide tartımları yapılarak her birine üç örnek halinde yaklaşık 0,5 gr numune eklendi ve yaklaşık 5-6 saat 600 °C’de Protherm PLF 110/6 kül fırınında (Şekil 2.5) yakıldı.



Şekil 2.5. Protherm PLF 110/6 kül fırını

Daha sonra desikatörde bekletilerek tartımları yapıldı ve AOAC 2000’e göre aşağıdaki formül uyarınca ham kül oranı KM üzerinden yüzdesel olarak ifade edildi;

$$\% \text{ HK} = ((K-D)/NM) \times 100$$

K: Analiz sonrası Kroze ağırlığı + Numune Miktarı

D: Kroze Darası

NM: Numune miktarı

2.1.5. Ham Selüloz Tayini

Yem numuneleri üç örnek halinde yaklaşık 0,5 gr tartıldı ve üzerlerine 12,5 ml glasiyel asetik asit (12,5 ml) ve konsantre nitrik asit (2,5 ml) ilave edildi. Ardından yarım saat su banyosunda kaynatılarak, Gooch krozesinden süzüldü. Krozedeki kalıntı sıcak saf su ile yıkandı ve birkaç kez aseton ile yıkanarak süzüldü. Gooch krozesi sabit ağırlığa

ulaşıncaya kadar kurutma dolabında 105°C’de kurutuldu, desikatörde sabit ağırlığa gelmesi beklendi ve tartıldı. Daha sonra kroze 600°C’de kül fırınında 2-3 saat yakıldı, desikatörde soğutuldu, tartıldıve AOAC 2000 uyarınca aşağıdaki formüle göre KM üzerinden ortalama alınarak yüzdesel olarak hesaplandı;

$$\% HS = ((K - KN) / NM) \times 100$$

K: Kurutma sonrası kroze + numune miktarı

KN: Kül sonrası kroze + numune miktarı

NM: Numune miktarı

2.2. Hayvan Materyali

Rumen sıvısı Lalahan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğıtim Merkezi bünyesinde bulunan kanüllü ineklerden sabah yemlemesinden 1 saat sonra toplandı. Kanüllü holstein ineklerden toplanan rumen sıvısı önceden ısıtılmış termosaa aktarıldı ve hızlıca Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarına getirildi.

2.3. Yem Materyali

Kanüllü ineklere verilen yemden örnek alındı. Kanüllü ineklerin beslenmesinde konsantre:kaba yem oranı 40:60 idi.. Konsantre ve kaba yemin içerikleri Çizelge 3.3 ve 3.4’te verilmektedir. Kaba ve konsantre yemin besin madde içerikleri de Ankara Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Laboratuvarında yukarıda anlatıldığı şekilde Weende yöntemiyle analiz edildi.

2.4. Deney Gruplarının Oluşumu

Çalışma dizaynına göre kullanılacak yem öğütölerek ve kaba yem:konsantre yem 50:50 olacak şekilde ayarlandı. Koyu şilempe yemin %5’i, %10’u ve %15’i şeklinde ilave edildi. Çalışma bütün gruplarda üç tekrar olacak şekilde gerçekteştirildi.

Koyu şilempe Konya şeker San. ve Tic. A.ř.’den temin edildi. şilempe miktarı yemin %5, 10 ve 15’i olduğından in-vitro gaz ölçüm, sindirilebilirlik ve NDF analizlerinde grupların teşekkölü Çizelge 2.1 ve 2.2’de verilmektedir.

Çizelge 2.1. İn-vitro gaz ölçümünde grupların teşekkülü

Grup	İçerik
A (% 5 Koyu Şilempe)	95 mg kaba + 95 mg konsantre + 10 mg koyu şilempe
B (% 10 Koyu Şilempe)	90 mg kaba + 90 mg konsantre + 20 mg koyu şilempe
C (% 15 Koyu Şilempe)	85 mg kaba + 85 mg konsantre + 30 mg koyu şilempe
K (Kontrol)	100 mg kaba yem + 100 mg konsantre yem

Çizelge 2.2. İn-vitro sindirilebilirlik ve NDF analizinde grupların teşekkülü

Grup	İçerik
A (% 5 Koyu Şilempe)	118,75 mg kaba + 118,75 mg konsantre + 12,5 mg koyu şilempe
B (% 10 Koyu Şilempe)	112,5 mg kaba + 112,5 mg konsantre + 25 mg koyu şilempe
C (% 15 Koyu Şilempe)	106,25 mg kaba + 106,25 mg konsantre + 37,5 mg koyu şilempe
K (Kontrol)	125 mg kaba yem + 125 mg konsantre yem

2.5. Kullanılan Yemin Besin Madde İçerikleri

Çalışmada kullanılan yem maddelerinin besin madde bileşenleri Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı laboratuvarında analiz edildi. Analizler yukarıda koyu şilempenin besin madde analizinde olduğu gibi Weende analiz yöntemiyle, NDF ise Van Soest'e göre belirlendi (Van Soest vd., 2000).

2.5.1. NDF Analizi

NDF Analizi için Ankom 2000 fiber analiz cihazı (Şekil 2.6) kullanılmıştır.

Analiz için gerekli kimyasallar;

- Nötral Deterjan Solüsyonu (ND); 30 gr Sodyum Laurly Sulfate, 18,61 gr EDTA-di sodyum salt dihydrate, 6,81 gr sodyum tetra borat decahydrate, 4,56 gr sodyumfosfatdibasic, 10 ml trietilen glikol, 1 lt distile su
- Nötral Deterjan Tozu (FND20C/1)
- Trietilen glikol (FND20C/2)
- Alfa Amilaz (FAA)
- Sodyum Sülfat (FSS)
- Aseton (Analitik saflıkta) olarak hazırlanmıştır.



Şekil 2.6. Ankom fiber analiz cihazı

Öncelikle keselerin numaralandırılması yapıldı ve filtre boş iken tartıldı. Keselere numune eklenmeden tartımları yapıldı ve daha sonra 250 mg yem ve %5, %10 ve %15'i olacak şekilde koyu şilempe eklendi. Numuneler cihazın kompartımanlarına kondu. Raf sistemi hazneye yerleştirildi. 2000 ml ND solüsyonu eklendi. Ardından 20 gr sodyum sülfid ve 4,0 ml alfa amilaz direkt olarak cihazın haznesine ilave edildi. Cihaz 75 dk ya zamanı ayarlandı ve ağzı sıkıca kapatıldı ve çalıştırıldı. 75 dk sonra cihaz kapandı çözelti boşaldıkça kapağı yavaşça açıldı. Çözelti boşalınca numune kompartımanına 2000 ml sıcak su ve 4,0 ml alfa amilaz eklendi ve yıkama yapıldı. Bu basamak 2 defa tekrarlandı, bir defa da sadece sıcak su ile toplamda 3 kez yapıldı. Her seferde su boşaltıldı ve keselerin suyu süzüldü. Bu işlemlerin ardından soğuk su ile durulama yapıldı ve asetonda 3 dk bekletildi. Ardından keseler preslendi ve 10 dk kadar bekletip asetonun uçması sağlandı. Sonra 105 °C'de etüve kuruması için keseler alındı. Son olarak keseler desikatöre alındı ve sabit ağırlığa geldikten sonra tartımları yapıldı.

KM bazında NDF değeri için aşağıdaki formül kullanılmıştır;

$$\% \text{ NDF} = ((W3 - (W1 \times C1)) \times 100) / W2 \times \text{KM}$$

W1: Kese ağırlığı

W2: Numune ağırlığı

W3: Ekstraksiyon sonrası ağırlık

C1: Boş kese düzeltme faktörü (etüvde kurutma sonrası ağırlık / boş kesenin kendi ağırlığı)

2.6. İn-Vitro Gaz Üretim Tekniği

Fermantasyon sonucu rumende ortaya çıkan gaz üretimini ölçmek amacıyla in-vitro gaz üretim tekniği kullanıldı. Söz konusu teknikte 100 ml'lik cam şırıngalar (Model Fortuna, Haberle Labortechnik, Almanya) kullanıldı (Menke vd., 1979). Yaklaşık olarak 200 mg substrat tartımları yapılarak 100 ml ölçülü cam şırıngalara yerleştirildi (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Cam şırıngalar (Model Fortuna, Haberle Labortechnik, Almanya)

Distile su, tampon solüsyon, makromineral solüsyon, mikromineral solüsyon ve rezazurin solüsyonu (Çizelge 2.3) erlene eklendi. 39 °C'ye ayarlanmış sıcak su banyosu üzerindeki erlene CO₂ ile yapay tükürük indirgenene kadar muamele edildi.

Kanüllü inekten alınan ve Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'na getirilen rumen sıvısı hızlıca 4 kat filtreden geçirildi. Süzölmüş rumen sıvısı hazırlanan yapay tükürüğe eklendi ve rumen sıvısı: yapay tükürük 1:2 (hacimsel) olacak şekilde ayarlandı.

Tamponlu rumen sıvısı karışımından yem numunelerinin yerleştirildiği cam şırıngalara 30 ml eklendi. Kör örnek şırıngalara ise sadece rumen sıvısı/yem karışımı konuldu.

Şırıngalar içerisindeki hava alınarak 39°C de bulunan ve dakikada bir tur tamamlayan döner inkübatöre yerleştirildi (Şekil 2.8) ve 48 saat inkübasyona tabi tutuldu. İn-vitro çalışmada 48 saatlik inkübasyonun 2., 4., 6., 10., 24. ve 48. saatlerinde üretilen gaz miktarı cam şırıngalar üzerinden okunarak belirlendi.



Şekil 2.8. İnkübatör

Çizelge 2.3. İn-vitro gaz üretimininde kullanılan kimyasal solüsyonların içeriği

Solüsyon	İçerik
Makro mineral solüsyonu	5,7 g sodyum dihidrojen fosfat (Na_2HPO_4) 6,2 g Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) 0,6 g Magnezyum sülfat (MgSO_4) 1 lt'ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Mikro mineral solüsyonu	13,2 g Kalsiyum klorid dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 10 g Mangan klorid tetrahidrat ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 1,0 g Kobalt Klorür Heksahidrat ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0,8 g Demir II Klorür heksahidrat ($\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 1 lt'ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Tampon solüsyonu	35 g Sodyum bikarbonat (NaHCO_3) 4 g Amonyum bikarbonat ($(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$) 1 lt'ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Resazurin solüsyonu	100 ml'ye 100 mg resazurin

2.7. İn-Vitro Rumen Sıvısında pH Tayini

Çalışmada in-vitro gaz üretimi için inkübasyona bırakılan şiringalardan 2., 4., ve 48. Saatlerde dijital pH metre (Mettler Toledo, S220 pH/ion metre, Ohio, ABD) ile pH düzeyleri belirlendi.

2.8. İn-Vitro Rumen Sıvısında Amonyak Tayini

İnkübasyonun 48. saatinde her bir şiringadan toplanan rumen sıvıları 20 ml'lik kaplara alındı. Bunlara 3-4 damla %98'lik sülfirik asit damlatıldı. Toplanan örnekler 20 dakika santrifüj edildi ve 1 ml miktarında alınarak analize kadar -20 °C'de saklandı.

Analize başlanmadan +4°C 'de çözdürülen örneklerde amonyak azotu konsantrasyonu, spektrofotometre (UV-1208, Shimadzu) kullanılarak (Şekil 2.9) kolorimetrik olarak 546 nm'de dalga boyunda indefenol mavisi yöntemi ile ölçüldü (McCullough, 1967).

Örnekler 15 dk santrifüje edildi (19000 rpm). 50 mikrolitre süpernatant sıvıdan bir tüpe konuldu ve üzerine sırasıyla 5 ml solüsyon 1'den ve 5 ml solüsyon ikiden eklendi. Amonyak analizinde kullanılan solüsyonlar Çizelge 2.4'te verilmektedir.

Çizelge 2.4. Amonyak Analizde Kullanılan Solüsyonlar

Solüsyon	İçerik
Solüsyon 1	106 mmol/l Fenol (9,9976 g/l) 0,17 mmol/l Sodyum Nitroprussid (0,051 g/l) 1 lt'ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Solüsyon 2	125 mmol/L NaOH (5 g/l) 10 ml/l Sodyum hipoklorit (%5 klorlu) 1 lt'ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Standart solüsyon	5 mmol/l Amonyum klorür (0,267 g/l) 1 lt'ye dH ₂ O ile tamamlanır.



Şekil 2.9. Spektrofotometre (UV-1208, Shimadzu)

Kör tüp için ise 50 mikrolitre numune yerine 50 mikrolitre distile su konulup üzerlerine solüsyon 1 ve 2'den konuldu. Standart tüp için 50 mikrolitre numune yerine 50 mikrolitre amonyum klorür standart solüsyon konuldu ve üzerlerine solüsyon 1 ve 2'den eklendi. Tüpler parafinle kapatılıp alt üst edildikten sonra sıcak su banyosunda (60 °C) yaklaşık 10 dakika tutuldu ve ardından amonyak konsantrasyonu için spektrofotometre ile ölçüldü (546 nm).

Amonyak ölçümlerinde aşağıdaki formül kullanılmıştır;

$$\text{Mmol / L Amonyak} = \text{Absorbant} \times 5 / \text{Std.}$$

2.9. İn-Vitro Metan Üretiminin Saptanması

48 saatlik inkübasyon sonunda her bir enjektörden 10 ml gaz örneği alınarak gaz kromatografi (GC) cihazında (Shimadzu GC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan), Carboxen-1006 PLOT, 30 m x 0,53 mm kolon ile analiz edildi (Şekil 2.10) Kalibrasyon için ise analiz öncesi fluka metan standardı kullanıldı.



Şekil 2.10. Gaz kromatografi cihazı (Shimadzu GC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)

Metan analizinde kullanılan gaz kromatografi cihazına ilişkin teknik veriler Çizelge 2.5’de verilmektedir

Çizelge 2.5. Metan analizinde gaz kromatografi belirlemeye yönelik teknik veriler

Cihaz	Shimadzu 2010
Sütun Uzunluğu	30 m
Dolgu Malzemesi	Carboxen-1006 PLOT, 30 m x 0.53 mm kolon
Sıcaklık	220°C
Dedektör	FID (220)
Enjeksiyon Bloğu	200°C
Taşıyıcı gaz	Helyum Akış hızı: 11,15 ml/dak
Basınç	49,0 kPa

2.10. İn-Vitro Rumen Sıvısında Uçucu Yağ Asidi Analizi

İnkübasyonun 48. saatinde her bir şırıngadan 1 ml fermentasyon sıvısı örneği toplandı ve içine 0,2 ml %25 meta-fosforik asit konulan Eppendorf tüplerine aktarıldı. Daha sonra -20 °C'de saklandı.

Analiz günü numuneler oda sıcaklığında 30 dakika çözdürüldükten sonra santrifüj edildi (5000 rpm'de 10 dakika). Eppendorf tüplerinden her numuneden 1 ml alınarak viallere yerleştirildi ve gaz kromatografisinde (Shimadzu GC, Shimadzu Co., Kyoto, Japan) otomatik enjeksiyon sistemli 1 µL sampler ile dozlandı. Cihaz kalibrasyonu için Volatile Free Acid Mix standardı kullanıldı. Uçucu yağ asitleri analizi için alınan numuneler, gaz kromatografisi (Shimadzu GC-2010, Shimadzu) içine yerleştirilen TRB-FFAP UYA kolonu (Teknokroma, 30m x 0,53 mm iç çap) ve alev iyonizasyon dedektörü kullanılarak analize alındı. Enjektör bloğu 230°C ve dedektör sıcaklığı 250°C'ye ayarlandı. Numuneler başlangıçta 120°C'de 4 dakika tutulduktan sonra sıcaklık dakikada 4°C artış ile 4 dakika süresinde 160°C'ye çıkarıldı. Kullanılan enjeksiyon hacmi 1 ul'dır ve helyum taşıyıcı gazı kullanılmıştır.

UYA analizinde kullanılan gaz kromatografisine yönelik teknik veriler çizelge 2.6'da verilmektedir.

Çizelge 2.6. UYA analizinde gaz kromatografisi belirlemeye yönelik teknik veriler

Cihaz	Shimadzu 2010
Sütun Uzunluğu	30 m
Kolon Malzemesi	Teknokroma TRB-FFAP Part Number TR-150535 30 m x 0.50 um
Sıcaklık	220°C
Dedektör	FID (250)
Enjeksiyon Bloğu	230°C
Taşıyıcı gaz	Helyum Akış hızı: 11,15 ml/dak
Basınç	49,0 kPa
Volatile Free Acid Mix standardı	Accustandard 10 mM each in Water 100 mL
Kat no	FAMQ-004

2.11. İn-Vitro Rumen Sindirilebilirliğinin Belirlenmesi

Yem maddelerinde bulunan bazı besin maddelerinin (OM, NDF) ve KM'lerinin in-vitro olarak rumen sindirimlerinin belirlenebilmesi amacı ile 'ANKOM F57' filtre keseleri (Şekil 2.11) ve 'DAISY II' inkübatörü (ANKOM Technology, Fairport, New York, USA) kullanıldı.



Şekil 2.11. ANKOM F57 Filtre Keseleri

DAISY II inkübatörü ısıtıcısı bulunan ve 48 x 55 x 30 cm ebatlarında bir inkübatördür. İçerisine 4 adet kavanoz yerleştirilebilmektedir (Şekil 2.12). Söz konusu kavanozlar dakikada 0.95 tur tamamlamaktadır. Kullanılacak keseler poliester/polietilen yapıdadır ve dizaynları 25 µm'den büyük partikülleri içerisinde tutacak şekildedir.

Filtre keseleri mikrobiyel sindirimi inhibe edecek etkenleri uzaklaştıracak şekilde aseton ile ön durulamaya tabi tutulup sonrasında kurutuldu. Sonrasında her bir kese tartılıp ağırlıkları not edildi. Daha sonra tartılıp her keseye ANKOM Technology firması tarafından önerildiği şekilde 0,25 g yem numunesi ve toplam yem numunesinin %5, %10 ve %15'i oranında koyu şilempe keselere tartılarak yerleştirildi. Her bir inkübasyon kavanozu için 25 kese olacak şekilde gerçekleştirildi. Ayrıca, her kavanoza 1 adet boş ve mühürlenmiş kese düzeltme faktörü hesabı için konmuştur.



Şekil 2.12. DAISY II inkübatörü ve kavonozlar

İnkübasyonda kullanılan tampon solüsyonları Çizelge 2.7’de verilmektedir (Robinson vd., 1999). Her kavanoza sıcaklıkları 39 °C’ye ayarlanan A/B çözeltisinden yaklaşık 5:1 olacak şekilde konuldu ve numune bulunan kavanoza 1600 ml eklendi. Üzerine taze alınmış ve süzölmüş rumen sıvısından 400 ml ilave edilerek 30 saniye süreyle CO₂ gazı verildi ve ağzı sıkıca kapatılarak inkübatördeki yerlerine yerleştirildi. 48 saat sonunda inkübasyon sonlandırıldı. Akan su temiz oluncaya kadar keseler musluk suyu ile yıkandı ve -20 °C’de beklemeye alındı. Analiz günü oda sıcaklığında çözdürülen keselerin içeriği ANKOM Fiber analyzer’da analiz edilmiştir.

Çizelge 2.7. İnkübasyonda kullanılan tampon çözeltiler

Çözelti	İçerik
Tampon Çözelti A	10 g mono potasyum fosfat (KH ₂ PO ₄), 0,5 g magnezyum sülfat heptahidrat (MgSO ₄ •7H ₂ O), 0,5 g sodyum klorür (NaCl), 0,1 g kalsiyum klorür dihidrat (CaCl ₂ •2H ₂ O), 0,5 g üre (reaktif) 1 lt’ye dH ₂ O ile tamamlanır.
Tampon Çözelti B	5 g sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃), 1,0 g sodyum sülfür nonahidrat (Na ₂ S•9H ₂ O) 1 lt’ye dH ₂ O ile tamamlanır.

KM sindirilebilirliğinin hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanıldı;

$$\%IVTD: 100 - ((W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100 / W_2)$$

$$\%IVTD_{DM}: 100 - ((W_3 - (W_1 \times C_1)) \times 100) / W_2 \times KM / 100$$

$$\%IVTD_{OM}: 100 - ((W_2 \times NDF / 100) - ((W_3 - (W_1 \times C_1)) / W_2 \times NDF / 100))$$

$$\%IVTD_{NDF}: 100 - ((W_2 \times W_4) - ((W_3 - (W_1 \times C_2)) \times OM / 100)) / W_2 \times W_4$$

W₁: Boş Kese ağırlığı

W₂: Numune ağırlığı

W₃: Ekstraksiyon sonrası ağırlık

W₄: Organik materyal ağırlığı (OM) (Numune dolu keselerin yakılması sonucu ortaya çıkan ağırlık kaybı)

C₁: Boş kese düzeltme faktörü (etüvde kurutma sonrasındaki ağırlık / boş kesenin kendi ağırlığı)

C₂: Boş kese kül düzeltme faktörü (yakma sonrasındaki boş kese ağırlığı / boş kesenin kendi ağırlığı)

KM: Yem KM Oranı

2.13. İstatistik Analizler

SPSS 18.0 paket programı (Inc., Chicago, IL, USA) rumen fermentasyon ve gaz parametre değerlerinden elde edilen sonuçların istatistik analizleri için kullanıldı. Grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemliliği ve gruplara ait istatistik hesaplamalar için tek yönlü varyans analiz metodu (ANOVA) uygulandı (Dawson, 2001).

3. BULGULAR

3.1. Koyu Şilempenin Besin Madde Değerleri

Deneyin ana maddesi olan koyu şilempenin temin edildiği yer olan Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş.'den elde edilen koyu şilempe analiz değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Koyu şilempenin besin madde içerikleri analizi

Analiz Adı	Birim	Analiz Sonucu
Toplam Organik Madde	%	50,1
Organik Karbon	%	19,6
Toplam Organik Azot	%	3,0
Suda Çözünür Potasyum Oksit (K ₂ O)	%	7,1
pH		5,6

Koyu şilempenin Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim dalı Laboratuvarında Weende analiz yöntemiyle yapılan besin madde analizi Çizelge 3.2'de verilmektedir.

Çizelge 3.2. Koyu şilempenin weende analiz değerleri (KM'de, %)

İçerik	%
Ham Protein	23,56
Ham Yağ	0,15
Ham Selüloz	0,12
Ham Kül	16,33
Kuru Madde	61,61

3.2. Yem Maddelerinin İçerikleri Ve Besin Madde Değerleri

Lalahan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi bünyesinde bulunan kanüllü ineklere verilen kaba yemin bileşimi Çizelge 3.3'de verilmektedir. Buna göre kaba yem %25 yonca, %20 çayır otu, %15 buğday samanı ve %40 mısır silajından oluşmaktadır.

Çizelge 3.3. Kullanılan kaba yemin bileşimi

Kaba Yem	%
Yonca	25
Çayır Otu	20
Buğday Samanı	15
Silaj	40

Lalahan T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi bünyesinde bulunan kanüllü ineklere verilen konsantre yemin bileşimi Çizelge 3.4’de verilmektedir.

Çizelge 3.4. Kullanılan konsantre yemin bileşimi

İçerik	%
Arpa	50
Kepek	5
Mısır	25
Ayçiçeği Küspesi	10
Soya Fasulyesi Küspesi	7
Dikalsiyum Fosfat	1
Kireç Taşı	1,35
Tuz	0,5
Vit- Min Rovimix 302 Fm 30	0,05
Min Karma Rum pak	0,05
Mycosorb	0,05
Toplam	100

Deneyde kullanılan kaba ve konsantre yemin Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Ana bilim dalı Laboratuvarında Weende analiz yöntemiyle yapılan besin madde analizi Çizelge 3.5’de verilmektedir.

Çizelge 3.5. Kullanılan yemin besin madde içerikleri (KM’de, %)

	Silaj	Yonca	Çayır Otu	Buğday Samanı	Konsantre Yem
Kuru Madde	31,20	93,24	93,41	94,10	90,23
Ham Protein	7,66	15,80	7,61	3,04	15,47
Ham Yağ	2,64	1,62	1,24	1,19	1,41
Ham Kül	5,46	6,25	10,35	6,44	3,34

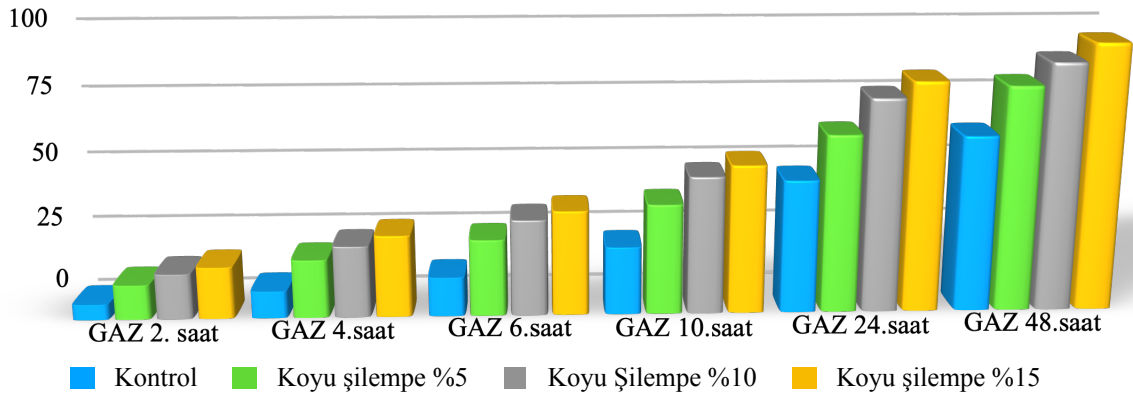
3.3. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Ortaya Çıkan Gaz Üretim Değerleri

Koyu şilempenin 48 saat boyunca in-vitro gaz üretim tekniği ile fermantasyonu sonunda 2, 4, 6, 10, 24 ve 48. saatlerde gaz değerleri ölçüldü. Tüm gruplarda fermantasyonun bütün saatlerinde gaz üretimi arttı. Gaz üretim değeri (ml) ile ilgili istatistikler ve karşılaştırmalı sonuçlar Çizelge 3.6 ve Şekil 3.1’de; bir önceki zamana göre gaz üretim artışı (%) ise Çizelge 3.7 ve Şekil 3.2’de verilmektedir.

Çizelge 3.6. Gruplarda gaz üretim değeri (ml) ile ilgili istatistikler ve karşılaştırmalı sonuçlar

	GAZ 2. saat	GAZ 4. saat	GAZ 6. Saat	GAZ 10. Saat	GAZ 24. Saat	GAZ 48. Saat
Kontrol	5,67±0,41d	9,88±0,72d	14,29±0,89d	24,83±0,87d	48,67±0,92d	64,20±1,24d
Koyu şilempe %5	12,67±0,33c	21,25±0,49c	28,00±0,72c	40,33±0,76c	65,00±0,93c	82,00±1,22c
Koyu şilempe %10	16,56±0,73b	26,13±0,95 b	35,14±1,32b	50,33±1,31b	78,00±1,15b	90,20±1,24b
Koyu şilempe %15	18,89±0,61a	29,88±0,74a	38,29±1,08a	54,33±1,43a	83,83±1,67a	97,00±2,32a
P	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
n	9	8	7	6	6	5

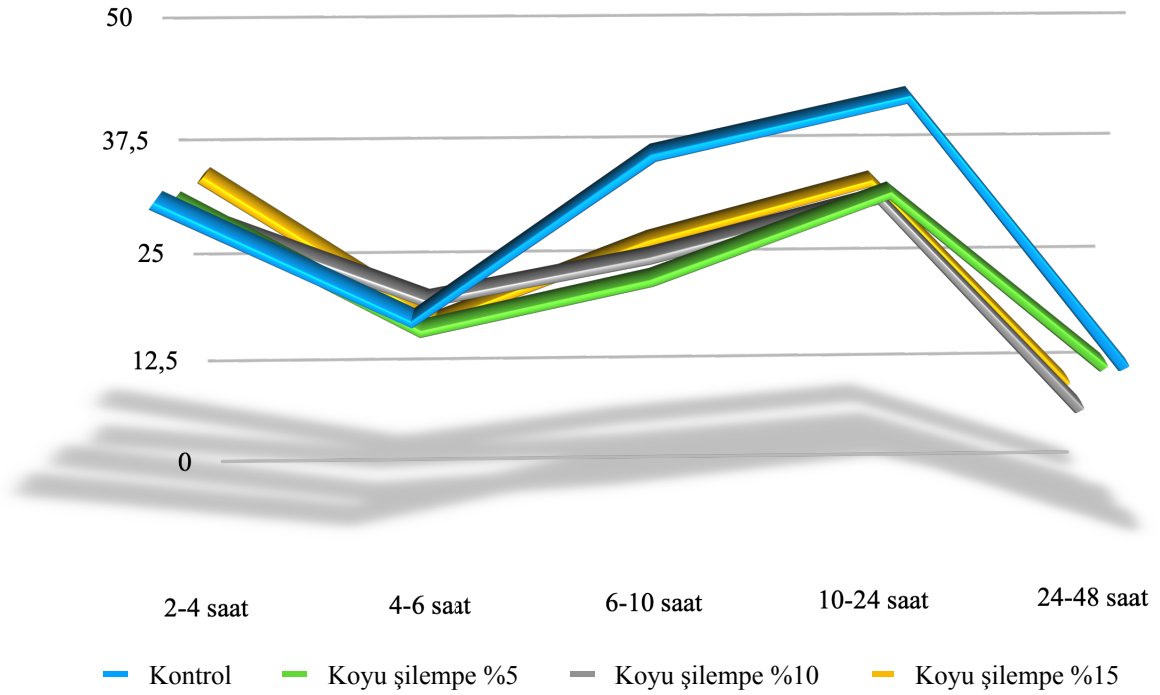
a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (P<0.001). Değerler her bir grupta in-vitro gaz üretim metodu ile 2, 4, 6, 10, 24 ve 48. saatlerde ortaya çıkan toplam gaz ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.



Şekil 3.1 Yem gruplarında gaz üretim değeri (ml) ile ilgili istatistikler ve karşılaştırmalı sonuçlar

Çizelge 3.7. Yem Gruplarında Bir Önceki Zamana Göre Gaz Üretim Düzeyi, %

Grup	2- 4 saat	4-6 saat	6-10 saat	10-24 saat	24-48 saat
Kontrol	40,0	28,5	44,0	49,0	23,4
Koyu şilempe %5	38,0	25,0	30,0	38,4	20,7
Koyu şilempe %10	34,6	25,7	30,0	35,9	13,3
Koyu şilempe %15	36,6	21,0	29,6	35,7	13,4



Şekil 3.2. Yem gruplarında gaz üretiminin yüzdesel saatlik değişimi

3.4. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Oluşan Ph Değerleri

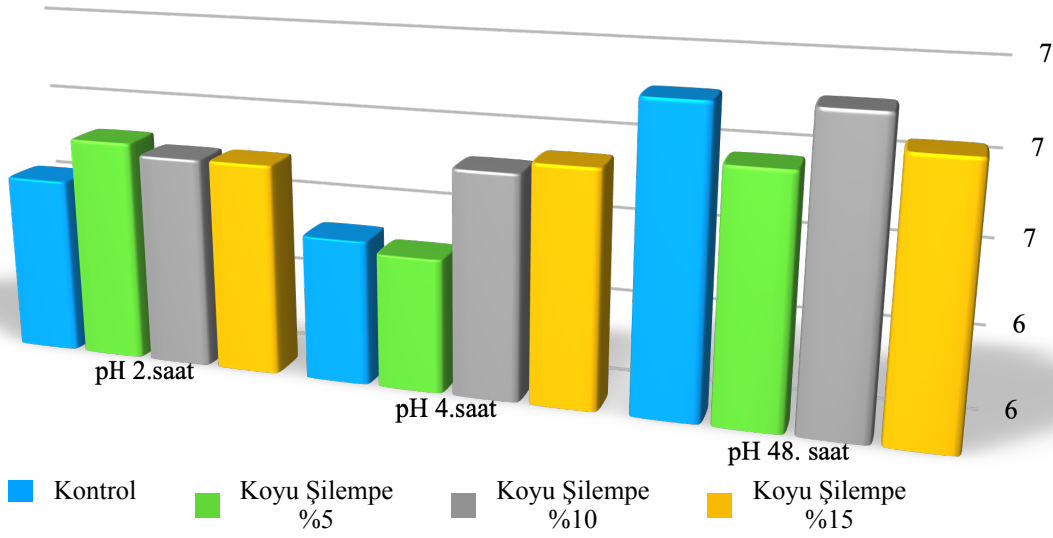
Deneyde kullanılan rumen sıvısının 0. saatteki pH ölçüm değeri rumenin fizyolojik pH sınırları içerisinde 6,53 olarak ölçüldü. İnkübasyon aşamasında ise istatistiki açıdan anlam ifade edebilmesi amacıyla 2., 4. ve 48. saatlerde pH ölçümleri yapıldı. Sonuç olarak pH değerlerinde istatistiki açıdan anlamlı bir değişim saptanmadı ($p>0,05$). İnkübasyonun 2, 4 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi Çizelge 3.8 ve Şekil 3.3’de verilmektedir.

Çizelge 3.8. İnkubasyonun 2, 4 ve 48. saatinde gruplarda pH değişimi

Grup /Yem	Kontrol	Koyu Şilempe %5	Koyu Şilempe %10	Koyu Şilempe %15	p
pH2	6,56±0,02	6,60±0,00	6,59±0,08	6,59±0,09	0,951
pH4	6,53±0,01	6,52±0,10	6,60±0,07	6,61±0,05	0,662
pH48	6,67±0,06	6,62±0,04	6,67±0,01	6,64±0,01	0,431

pH 2 ve 4. saatler n:3, pH 48 n:5.

P>0.005. Değerler her bir grupta in-vitro gaz üretim metodu ile 2, 4 ve 48. saatlerde ortaya çıkan pH değerinin ortalamasını ve standart hatasını göstermektedir.



Şekil 3.3. İnkubasyonun 2., 4., ve 48. saatlerde pH değişimi

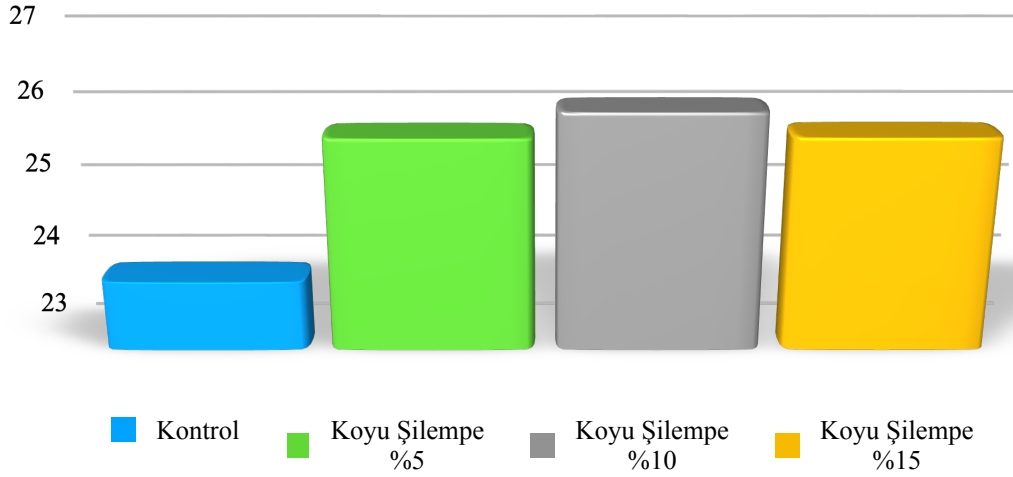
3.5. İn-Vitro Fermantasyonun Amonyak Üretimine Etkisi

Tüm gruplarda inkubasyonun 48. saati sonunda alınan örneklerde yapılan amonyak ölçümlerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan önemli bir fark oluşmuştur ($p<0,01$). Tüm koyu şilempe ilaveli gruplarda amonyak miktarı artış gösterdi. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda amonyak değişimi Çizelge 3.9 ve Şekil 3.4’de verilmektedir.

Çizelge 3.9. İnkubasyonun 48. saatinde gruplarda amonyak düzeyi (%)

Grup /Yem	Kontrol	Koyu Şilempe %5	Koyu Şilempe %10	Koyu Şilempe %15	p
Amonyak Mmol/L	23,93±0,30b	25,81±0,47a	26,14±0,37a	25,82±0,25a	0,002 **

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (** $p<0,01$). n:5 Değerler her bir grupta in-vitro gaz üretim metodu ile 48. saatte ortaya çıkan amonyak ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.



Şekil 3.4. Tüm gruplarda 48 saat sonunda amonyak düzeyi (%)

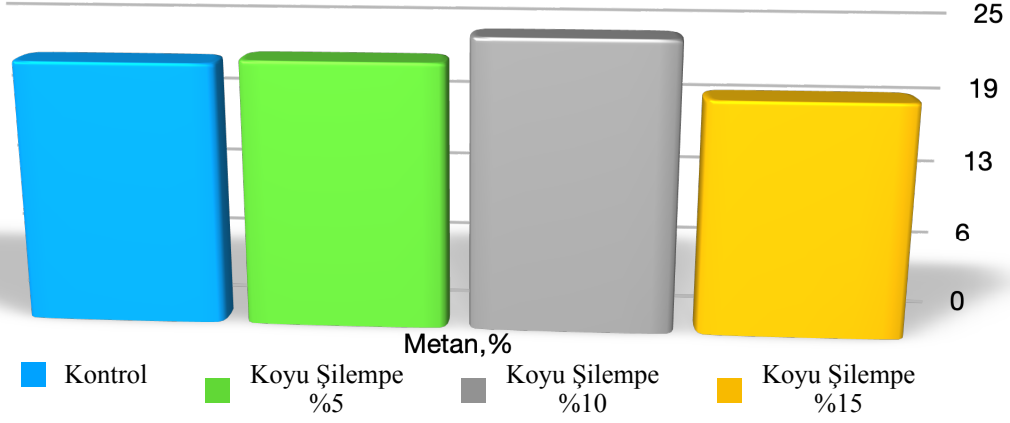
3.6. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Metan Üretim Değerleri

İnkübasyonun 48. saatinde alınan gaz örneklerinde yapılan metan ölçümlerinde kontrol grubuna nazaran istatistiki açıdan %5 ve %10'luk grubun fark yaratmadığı, %15'lik grubun %10'luk gruba göre istatistiki açıdan düşürdüğü görüldü ($p<0,05$). Gruplarda metan (%) üretim değeri Çizelge 3.10 ve Şekil 3.5'de verilmektedir.

Çizelge 3.10. Gruplarda Metan (%) Üretim Değeri

Grup	Kontrol	Koyu Şilempe %5	Koyu Şilempe %10	Koyu Şilempe %15	p
Metan,%	21,73±0,92 ab	22,01±0,54 ab	24,09±1,01 a	19,34±1,13 b	0,019 *

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (* $P<0.05$). n:5. Değerler her bir grupta in-vitro gaz üretim metodu ile 48. saatte ortaya çıkan metan ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.



Şekil 3.5. İnkübasyonun 48. saati sonunda metan üretim değerlerindeki değişim (%)

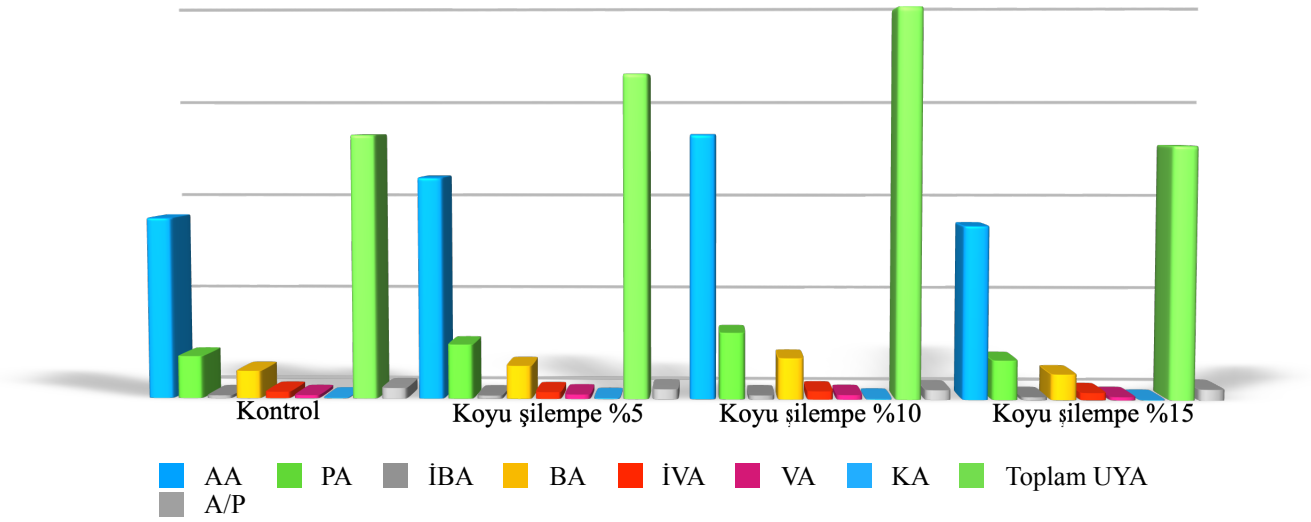
3.7. İn-Vitro İnkübasyon Sonunda Ölçülen Uçucu Yağ Asitleri

İnkübasyonun 48. saati sonunda yem gruplarından UYA analizleri için alınan örneklerin sonucunda toplam UYA oranında istatistiki açıdan %10 şilempe grubunda artış görülürken, %15'lik grupta ise diğer şilempe gruplarına göre bir azalma gözlenmiştir. Asetik asit miktarına bakıldığında en yüksek miktar %10'luk koyu şilempe grubunda ($p<0,01$) olmakla birlikte, %15'lik grubun asetik asit miktarını diğer şilempe gruplarına göre düşürdüğü görülmektedir. Propiyonik ve bütirik asit açısından da yine aynı durum söz konusudur. Asetat/Propiyonat oranı ise %5 ve %10'luk şilempe gruplarında en düşük seviyede gerçekleşmiştir ($p<0,001$). Gruplarda Uçucu Yağ Asitleri Değeri (mmol/L) Çizelge 3.11 ve Şekil 3.6'da verilmektedir.

Çizelge 3.11. Gruplarda uçucu yağ asitleri değeri (mmol/L)

Grup	Asetik Asit	Propiyonik Asit	İsobütirik Asit	Bütirik Asit	İsovalerik Asit	Valerik Asit	Kaproik Asit	Toplam UYA	Asetat/Propiyonat
Kontrol	73,07±2,70 bc	17,08±1,55 c	1,12±0,21	11,09±0,46bc	2,64±0,22	1,29±0,21	0,26±0,07	106,55±4,27 bc	4,28±0,03 a
Koyu şilempe %5	89,41±6,92 b	22,03±3,14 b	1,32±0,10	13,38±0,72 b	2,76±0,16	1,83±0,22	0,33±0,13	131,05±9,37 b	4,05±0,06 b
Koyu şilempe %10	106,68±4,56 a	27,03±2,78 a	1,65±0,10	16,73±0,78 a	3,35±0,19	1,89±0,14	0,37±0,07	157,69±6,91 a	3,95±0,03 b
Koyu şilempe %15	70,14±7,47 c	15,99±3,98 c	1,20±0,16	10,39±1,13 c	2,96±0,35	1,33±0,23	0,17±0,05	102,18±11,03 c	4,40±0,05 a
P	0,001 ***	0,001 ***	0,106	0,001 ***	0,223	0,111	0,373	0,001 ***	0,001 ***

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (***) $p<0,001$). N:5. Değerler her bir grupta in-vitro gaz üretim metodu ile 48. saatte ortaya çıkan UYA ortalaması ve standart hatasını göstermektedir.



AA: Asetik Asit, PA: Propiyonik Asit, İBA: İzobutirik Asit, İVA: İzovalelik asit, BA: Bütirik asit, KA: Kaproik Asit, A/P: Asetat/Propiyonat

Şekil 3.6. İnkübasyonun 48. saati sonunda UYA üretim değerlerindeki değişim (%)

3.8. İn-Vitro İnkübasyon Sonucu Ortaya Çıkan Sindirilebilirlik Değerleri

İn-vitro gerçek sindirilebilirlik (IVTD), KM sindirilebilirliği (IVTD_{KM}), organik madde sindirilebilirliği (IVTD_{OM}), NDF sindirilebilirliği (IVTD_{NDF}) bölüm 2’de verilen formüller uyarınca hesaplanmıştır. Çizelge 3.12’de verilen sonuçlara göre %5 koyu şilempe eklenen gruptaki örneklerin IVTD’si yaklaşık olarak %70,5 bulunmuşken, %10’luk grup için bu değer %71,5 %15 için ise %66,9 olarak bulunmuştur. IVTD_{KM} için ise %5, %10 ve %15 ilk gruplar için bu değerler sırasıyla, %67, %67,6 ve %64,3; IVTD_{OM} için sırasıyla %64,7, %65 ve %62,2 ve IVTD_{NDF} için ise sırasıyla %75,3, %77 ve %74 olarak bulunmuştur. Koyu şilempe gruplarının sindirilebilirlik değerlerine istatistiki açıdan bir etkisi görülmedi ($p>0,05$). Yem Gruplarında Sindirilebilirlik (%) değerleri Çizelge 3.12’de verilmektedir.

Çizelge 3.12. Yem gruplarında sindirilebilirlik (%)

Grup /Yem	Kontrol	Koyu şilempe %5	Koyu şilempe %10	Koyu şilempe %15	P
IVTD	66,77±1,33	70,48±0,80	71,45±1,16	66,86±2,63	0,107
IVTDKM	63,58±1,46	67,08±0,90	67,60±1,32	64,28±2,84	0,305
IVTDOM	61,18±1,56	64,64±0,96	64,91±1,43	62,23±3,00	0,439
IVTDNDF	72,61±1,31	75,34±0,64	76,51±0,93	73,64±1,96	0,174

n:9. $P>0,05$; Değerler her bir grupta in-vitro gaz üretim metodu ile ortaya çıkan sindirilebilirlik değerinin ortalamasını ve standart hatasını göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Koyu şilempe biyoetanol oluşum sürecinde ortaya çıkan proteince ve organik maddece zengin ayrıca atıldığı takdirde çevreye zararlı bir yan üründür. Bu araştırma koyu şilempenin ruminant rasyonlarında kullanılabilirliğine yöneliktir. Bunun yanı sıra koyu şilempenin temin edildiği yer olan Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş. ile yapılan görüşmelerde üretilen koyu şilempenin %90-95’lik bölümünün gübre sektöründe sadece yaklaşık %5’lik kısmının hayvan beslemede kullanıldığı öğrenilmiştir. Konu hakkında yapılmış çalışmaların çoğu in-vivo dur. İn-vitro çalışmalar kısıtlı sayıdadır.

Gerçekleştirilen in-vitro çalışma boyunca, Hohenheim Test gaz üretimi tekniği ve ayrıca ANKOM sindirilebilirlik testleri %5, %10 ve %15 koyu şilempe eklenen yemlerin fermantasyonu ve sindirilebilirliği açısından uygulanmıştır.

Koyu şilempenin öncelikle besin madde içerikleri analiz edilmiştir. Sonuçlar Gerimipour vd. (2019)’nin yaptıkları çalışma (KM %64,6; HK %14,8; HY % 0,15; HP %20) ile benzerlik göstermesine rağmen ve Zali vd. (2017)’nin yaptıkları çalışma (KM %50,54; HP %27,68; HK % 23,20) ile farklılık göstermektedir. Bir çok çalışma bu yönden birbirinden farklılık göstermektedir. Bu durum birkaç faktörden ileri gelmektedir. Öncelikle biyoetanol üretim sürecinde odaklanılan konu koyu şilempenin tutarlılığı değil, biyoetanolün etkinliğini artırmaktır. Fermantasyon sürecindeki pH, fermantasyon süresi veya ısı gibi değişiklikler besin madde değişikliklerine sebep olabilir (Bouallagui vd., 2013). Ayrıca şilempenin orijinal substratı da (şeker pancarı, şeker kamışı, sorgum, mısır vs) önemlidir. Bunlar orijinlerine göre içeriklerinde değişiklik gösterirler. Mesela şeker pancarı ve şeker kamışı şeker içerikleri, kül ve azot içerikleri açısından birbirinden farklıdır (Pienaar, 2016). Bunun yanı sıra bazı kullanımlarda şilempeden potasyum çıkarılmaktadır. Bu faktörler şilempenin besin madde içeriklerini etkilemektedir.

İn-vitro gaz üretim tekniği ile fermantasyonun 2, 4, 6, 10, 24 ve 48. saatlerde gaz değerleri ölçülmüştür. Tüm gruplarda fermantasyonun bütün saatlerinde beklendiği üzere gaz üretiminin arttığı gözlenmiştir. Rumendeki mikroorganizmalar tarafından oluşturulan gaz üretimi çoğunlukla asetik, propiyonik, bütirik asidin sentezi ile birlikte karbonhidratların fermantasyonundan ileri gelir. Protein fermentasyonundan oluşan gaz nispeten daha az iken yağların fermentasyonundan oluşan gazlar ise ihmal edilebilir düzeydedir (Wolin, 1960).

İn-vitro substratın gerçek sindirilebilirliği (IVTD) ve gaz üretim hacmi arasında pozitif yönde bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (Blümmel ve Becker, 1997). Buna göre gerçek sindirimi yapılmış olan substrat, tamamen fermente edilen yem miktarını ortaya koyan değerlerden birisidir denilebilir. Ayrıca koyu şilempe, rumendeki mikroorganizmalar tarafından kullanılabilen ve aynı zamanda yemin sindirimini iyileştirebilen büyük miktarlarda ham protein ve azot bileşikleri içerir (Gerimipour vd., 2019). Bu yönüyle de koyu şilempe fermantasyonu olumlu yönde etkileyen bir ürün olarak düşünülebilir.

Bu çalışmada tüm gruplarda fermantasyonun bütün saatlerinde gaz üretimindeki artış bakımından Saniei vd. (2017) ile uyumluluk gösterirken, Pienaar (2016) ve Singh vd. (2019)'nin yaptıkları çalışmaları desteklememektedir. Gaz üretimindeki değişikliklerin şilempenin orijinine ve kullanılan yemin besin madde içeriklerine göre farklılık gösterebileceği düşünülmektedir.

Deneyde 2., 4. ve 48. saatlerde yapılan pH ölçümlerinde istatistiki açıdan anlamlı bir değişim saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu sonuçlar, El-Zaiat vd. (2019), Fernandez vd. (2009) ve O'Reilly (2017) yaptıkları çalışmaları desteklemektedir. Fakat, rasyona şilempe eklenmesi ile pH değerinin düştüğünü bildiren çalışmadan (Iranmehr vd., 2011) ayrıca yükseldiğini rapor eden Gerimipour vd. (2019), Zali vd. (2019) ile Zali vd. (2017)'nin yaptıkları çalışmalardan farklılık göstermektedir. Ayrıca Rahimi ve Rafiee (2024) tarafından yapılmış in-vivo çalışmada 45. günde ruminal pH farklılık göstermezken, 85. günde pH'da yükselmeler görülmüştür. Söz konusu çalışmalarda pH değişiklikleri kullanılan rasyonun türüne, şilempenin potasyum içeriğine ayrıca in-vivo çalışmalarda hayvanların beslenme saatlerine göre değişiklik gösterebileceği düşünülmektedir.

Rumen pH'sı rumen fermantasyonunun sürdürülebilmesi için belli bir aralıkta tutulması gereken bir değerdir. Koyu şilempenin tüm yem gruplarında pH değerini istatistiki açıdan değiştirmemiş olması rumenin mikrobiyal fermantasyonu açısından olumlu bir katkısı olduğu yönünde değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, rumen pH'sı, UYA üretimini belirleyen ve bunların tamponlanmasını destekleyen mekanizmalardan etkilenir. UYA üretimi ruminal pH'nın azaltılmasının ana mekanizmasıdır (Millen vd., 2016). Bu araştırmada UYA'ların fermantasyonun bir sonucu olarak yükselmesi fakat pH'nın düşmemesi koyu şilempe de bulunan yüksek alkali bir mineral olan potasyumdan ileri gelebileceği düşünülmektedir. Şilempedeki yüksek potasyum konsantrasyonu (KM'nin %7,1'i) pozitif bir anyon-kasyon dengesine yol açarak bakteri üremesi için uygun bir rumen ortamı sağlayabilir. Bunun nedeni, rumen sıvısının asitliğinin normal bir

aralıkta tutulmasıdır, bu da çeşitli bakteri popülasyonlarının, özellikle de selüloz parçalayıcı bakterilerin aktivitesini destekler (Fernández vd., 2009).

İnkübasyonun 48. saati sonunda yapılan amonyak ölçümlerinde tüm gruplarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiki açıdan önemli artış gözlenmiştir ($p<0,01$). Bununla birlikte tüm koyu şilempe eklenmiş gruplardaki artış istatistiki açıdan aynı olmuştur.

Amonyak konsantrasyonundaki artış protein sindirimindeki artışa ya da mikrobiyal protein sentezindeki bir azalışa bağlanabilir. Koyu şilempenin fermantasyonunda gaz artışı sindirilebilirliği gösterdiğinden mikrobiyal protein sentezinin azalması daha düşük bir olasılık olarak görülmektedir. Bu nedenle NH_3 konsantrasyonlarında görülen artışın en makul açıklaması, koyu şilempenin yüksek protein içeriği de göz önünde bulundurulacak olursa, protein sindirimindeki artışa bağlı olacaktır. Ayrıca izo-büterik, valerik ve izo-valerik asit konsantrasyonlarındaki eş zamanlı rakamsal değişiklikler de bunu desteklemektedir ki, bu UYA'lar dallı zincirli aminoasit yan ürünleridir. Dalli zincirli UYA'lar rumende esas olarak rasyondaki proteinin parçalanmasından ve dallı zincirli amino asitlerin deaminasyonundan kaynaklandığından, protein içermeyen rasyonlarla beslenme bu asitlerde depresyona neden olabilir (Oltjen, 1969).

Bu çalışma amonyak konsantrasyonunun artışı açısından İranmehr vd. (2011) ve Hannon ve Trenkle (1990) tarafından yapılmış çalışmalar ile uyumluluk göstermesine rağmen, amonyak konsantrasyonlarının düştüğü; El-Zaiat vd. (2019), Sugoro vd. (2016) ile amonyak konsantrasyonlarının etkilenmediği Rahimi ve Rafiee (2024) tarafından yapılan çalışma ile Fernandez vd. (2009) yaptıkları çalışmayı ayrıca Zali vd. (2017) ile O'Reilly (2017) tarafından yapılmış çalışmaları desteklememektedir. Rasyona şilempe eklenmesi sonucu amonyak konsantrasyonundaki farklılıkların en olası açıklaması şilempenin orijini ve dolayısıyla azot içeriği ve kullanılan yem maddelerinin içeriğinden ileri geldiği düşünülmektedir. Ayrıca, yapılan bir çalışmada amonyak fazlalığının, 24 saate kadar yapılan inkübasyonda mikroorganizmaların ölüm aşamasına gelmesine neden olduğu bildirilmiştir (Kurniawati, 2004).

İnkübasyonun 48. saatinde alınan gaz örneklerinde yapılan metan ölçümlerinde kontrol grubuna nazaran istatistiki açıdan %5 ve %10'luk grubun fark yaratmadığı, %15'lik grubun %10'luk gruba göre istatistiki açıdan düşürdüğü görülmüştür ($p<0,05$). Koyu şilempe ilavesinin metan gazı üretimine etkisine dair çok kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. El-Zaiat vd. (2019) yaptıkları in-vitro çalışmada metan gazı üretiminde düşüş,

Pienaar (2016)'ın yaptığı in-vitro çalışmada ise yükselttiği görülmüştür. Fakat bu çalışmalarda kullanılan şilempenin orijini ve dolayısıyla besin madde içeriği, dozu ve kullanılan yemin bileşimlerinin farklı olması çalışmalardaki farklılıklara neden olmuş olabilir.

Bu çalışmada in-vitro sistemde %10 koyu şilempe eklenmiş grubun metan üretimi %5'lik gruba benzer; %15'lik gruptan ise yüksek bulunmuştur. Gruplar arasındaki bu farklılık, şilempe dozunun artırılmasıyla birlikte %10 düzeyinden sonra metan üretimini şilempeye ait bir özelliğin baskıladığını düşündürmektedir. Metan üretiminin baskılanması ile ilk olarak akla gelebilecek açıklamalardan birisi hidrojen metabolizması ile ilgili olacaktır. Mısır silajı gibi yüksek propiyonik asit oranına sahip yem kaynakları alternatif bir hidrojen havuzuna neden olur ve CH_4 'e çevrilen hidrojen miktarını artırır, ot silajlarında ise yüksek asetat oranı CH_4 miktarını artırır (Börsting vd., 2020). Çalışmada kaba ve konsantre yem %50-%50 kullanılmıştır ve araştırmadaki asetik asit miktarına bakıldığında en yüksek miktar %10'luk koyu şilempe grubunda ($p<0,01$) olmakla birlikte, %15'lik grubun asetik asit miktarını diğer şilempe gruplarına göre düşürdüğü görülmektedir. Propiyonik ve bütirik asit açısından da yine aynı durum söz konusudur. Asetat/Propiyonat oranı ise %5 ve %10'luk şilempe gruplarında en düşük seviyede gerçekleşmiştir ($p<0,001$). Bununla birlikte UYA üretimi normal sınırlar içerisinde kalmıştır. Ayrıca rumen pH'sındaki herhangi bir düşüşün propiyonat üretimini desteklediği ve böylece CH_4 üretimi için mevcut hidrojeni azalttığı gösterilmiştir (Murphy vd., 1982) ancak yapılan çalışmada rumen pH'sı değişmemiştir. Dolayısıyla metandaki değişimin kullanılan yem maddeleri ile ilgili değil koyu şilempe ile ilgili olduğu muhtemeldir. Ayrıca rasyondaki yüksek nişasta içeriğinin propiyonat oranını desteklerken, şeker içeriğinin butirat oranını artırdığı (Jentsch vd., 2007) ve bu şekilde hidrojen fazlalığına ve CH_4 üretiminin artmasına neden olduğu bildirilmiştir. Burada da koyu şilempenin ham selüloz oranının düşük olduğundan %10'luk gruptaki artışın koyu şilempenin fermentasyona olan olumlu etkisi ve sonucunda gaz üretiminin artması olarak düşünülmüştür.

Bununla birlikte %15'lik gruptaki metan üretiminin %10'luk gruba nazaran düşmesinin koyu şilempede yüksek miktarda bulunan sülfattan ileri gelebileceği düşünülmüştür. Koyu şilempenin sülfat içeriği bir çalışmada 136 g/kg KM olarak bildirilmiştir (Stemme vd., 2005). Sülfat indirgeyici bakteriler, rumendeki H_2 için metanojenlerle rekabet edebilir ve sonuç olarak metanogenezi inhibe ederler (Zhao ve Zhao, 2022). Burada toplam UYA oranında %15'lik grupta diğer şilempe gruplarına göre bir azalma gözlenmesi rumende bir H_2 yarışına sebep olduğu hipotezini doğurmuştur. Bu hipotezi desteklemek ve şilempenin bu ve daha yüksek dozlarının kullanımlarının önemli

bir sorun olan metan gazı emisyonlarını engellemede kullanılabilecek bir madde olup olmadığının yapılacak diğer çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Sorgum şilempesi kullanılarak yapılan bir araştırmada metan üretimi üzerine bulunan sonuçlar bu çalışma ile benzerdir (Sugoro vd., 2016). Söz konusu çalışmada metandaki azalmanın sebebi yüksek şilempe dozlarında kontrole nazaran protozoa biyokütlesinin daha az olmasına bağlanmıştır. Metajonik bakterilerin silikat protozoa ile ilişkili olduğu ve rumendeki meteogenesisin belli bir bölümünden sorumlu olduğu, dolayısıyla protozoa sayısının metan gazı üretimini baskılayabileceği ancak bunun hala kanıtlanması gerektiği öne sürülmüştür.

İnkübasyonun 48. saati alınan örneklerde molar asetat, propiyonat ve bütirat seviyeleri koyu şilempe seviyesi 0'dan %10 seviyesine çıkarıldığında genel olarak doğrusal olarak artış göstermiştir. Koyu şilempe dozu %15'e çıkarıldığında ise ters bir eğilim gözlenmesine rağmen UYA konsantrasyonları normal sınırlar içerisinde kalmıştır (asetat 60-90 mmol/L; propiyonat 15-30 mmol/L, bütirat 10-25 mmol/L, dallı zincirli UYA 2-5 mmol/L) (Choudhury vd., 2015). Ayrıca, %15'lik grubun UYA oranları kontrol grubu ile benzer olarak bulunmuştur. 48 saatin sonunda UYA oranlarına bakıldığında %10 koyu şilempe düzeyinden sonra ilave edilen dozun mikrobiyal sindirimi azalttığı düşünülebilir. Ayrıca %15'lik grupta azalan CH₄ üretimi, asetat üretimindeki düşüşten dolayı H₂'nin kullanılabilişindeki düşme ile ilgili olabileceği de çıkarılabilecek sonuçlar arasındadır.

Bu çalışmanın aksine Fernandez vd. (2009), Zali vd. (2019) rasyona şilempe ilavesiyle birlikte UYA oranında değişme görmezken, Zali vd. (2017) yılında yaptıkları çalışmada azalış görülmüştür. Burada da yine in-vivo çalışmalarda hayvanın yemleme saatleri, şilempenin orijini ve yem maddeleri fermentasyon durumunu ve dolayısıyla UYA konsantrasyonlarını etkilediği düşünülmektedir. Bununla birlikte, toplam UYA konsantrasyonunun değişmediği fakat molar asetatın arttığı, propiyonat oranının azaldığı çalışmalar olduğu gibi (Rahimi ve Rafiee, 2024) yine toplam UYA oranının arttığı çalışmalar (Leontowicz vd., 1994) mevcuttur.

Kırk sekiz saatlik inkübasyon sonucu ortaya çıkan in-vitro gerçek sindirilebilirlik yüzdelere bakıldığında tüm gruplarda IVTD, IVTD_{OM}, IVTD_{KM} ve IVTD_{NDF} sindirimlerini kontrol grubuna nazaran sayısal olarak artırmışlardır. Fakat bu artışlar istatistiki açıdan anlamlı bulunmamıştır. Bulunan sonuçlara göre %15'e kadar eklenen koyu şilempe düzeyinin in-vitro gerçek sindirilebilirlik düzeylerine negatif bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır.

Şilempe kullanılarak yapılmış çok kısıtlı sayıda sindirilebilirlik denemesi vardır. Bunlardan birisi El-Zaiat vd. (2019) tarafından kurutulmuş pirinç şilempesi ile yaptıkları in-vivo ve in-vitro çalışmalardır. Söz konusu çalışma bu çalışmada bulunan $IVTD_{KM}$ ve $IVTD_{OM}$ 'nin değişmemesi ile tutarlı olmasına rağmen kullanılan şilempe orijini ve yem maddeleri uyarınca net bir karşılaştırma yapılamamaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye’de ve dünyada artan biyoetanol üretimi sonucu oluşan yan ürün koyu şilempenin ülkemizde ruminant beslemede kullanılmasına yönelik potansiyelinin araştırıldığı bu çalışmada;

1- Koyu şilempenin rumen pH değerlerinde istatistiki olarak bir değişime neden olmaması rumenin mikrobiyal fermantasyonu açısından olumlu bir katkı olduğu yönünde değerlendirilmiştir.

2- Koyu şilempe ilavesi ile artan ruminal gaz artışının in-vitro sindirilebilirlik arasında paralellik olduğu düşünülmüş ve koyu şilempenin fermantasyonu olumlu etkilediği sonucuna varılmıştır.

3- Ruminal amonyak üretim değerlerine bakıldığında, koyu şilempenin yüksek protein içeriği göz önünde bulundurularak, protein sindirimindeki artışa bağlı olarak amonyak üretiminin artması gözlenmiştir.

4- Metan üretimi açısından bu araştırmadaki en yüksek doz olan %15’lik koyu şilempe grubu %10’luk gruba nazaran metan üretimini baskılamıştır. Bu azalışın metaogenezisi baskılayan koyu şilempedeki sülfattan veya rumende oluşabilecek bir H₂ yarışından ileri gelebileceği sonucunu doğurmuş fakat koyu şilempenin metan gazı emisyonunun düşürülmesinde kullanılabilecek bir ürün olup olmadığının şilempenin sülfatı çıkarılmış formları ile de desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

5- UYA üretim oranları normal sınırlar içerisinde kalmış ve bu da yine koyu şilempenin fermantasyon ve sindirim üzerine olumlu etkisini yansıtmıştır.

6- Koyu şilempenin %15’e kadar olan dozları in-vitro sindirilebilirlik üzerine herhangi bir olumsuz etki yaratmamıştır.

Sonuç olarak, koyu şilempenin yüksek protein içeriği, sindirilebilirliğe herhangi olumsuz bir etkisinin olmaması, rumen pH’sını değiştirmemesi, UYA konsantrasyonlarında belirlenmiş sınırlar dışında bir etki yaratmaması ve hatta en yüksek kullanılan dozunun metan gazı üretimini baskılamış olması ruminant besleme de kullanılabilecek bir yan ürün olduğunu göstermektedir. Yapılan bu çalışma gereği %5 ve %10 koyu şilempe dozlarının kullanım için uygun olabileceği, bununla birlikte şilempede bulunan yüksek potasyum ve sülfatın daha yüksek dozlarda hayvanda yapabileceği

metabolik bozukluklar göz önüne alınarak, daha yüksek dozlarının kullanımının başka çalışmalarla desteklenmesi aynı zamanda koyu şilempenin, ruminantlarda kullanımı sınırlayıcı olan potasyum ve sülfatı alınmış formları ile de bu çalışmaların yapılması, yem olarak kullanılabilirliğinin artırılması için gereklidir.

KAYNAKLAR

- Ajila, C, Brar, S, Verma, M, Tyagi, R, Godbout, S and Valéro, J. (2012). Bio-processing of agro-byproducts to animal feed. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(4), 382-400.
- Blümmel, M and Becker, K. (1997). The degradability characteristics of fifty-four roughages and roughage neutral-detergent fibres as described by in vitro gas production and their relationship to voluntary feed intake. *British Journal of Nutrition*, 77(5), 757-768.
- Børsting, CF, Brask, M, Hellwing, ALF, Weisbjerg, MR and Lund, P. (2020). Enteric methane emission and digestion in dairy cows fed wheat or molasses. *Journal of dairy science*, 103(2), 1448-1462.
- Bouallagui, H, Touhami, Y, Hanafi, N, Ghariani, A and Hamdi, M. (2013). Performances comparison between three technologies for continuous ethanol production from molasses. *Biomass and Bioenergy*, 48, 25-32.
- Cazetta, ML and Celligoi, MAPC. (2006). Estudo de diferentes combinações de melaço/vinhaça como substrato para produção de proteínas e lipídios por microrganismos. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, 27(1), 3-10.
- Choudhury, PK, Salem, AZM, Jena, R, Kumar, S, Singh, R and Puniya, AK. (2015). Rumen microbiology: An overview. *Rumen microbiology: from evolution to revolution*, 3-16.
- Chuppa-Tostain, G, Hoarau, J, Watson, M, Adelard, L, Shum Cheong Sing, A, Caro, Y, Grondin, I, Bourven, I, Francois, J-M and Girbal-Neuhauser, E. (2018). Production of *Aspergillus niger* biomass on sugarcane distillery wastewater: physiological aspects and potential for biodiesel production. *Fungal biology and biotechnology*, 5, 1-12.
- Cunningham, J. (2011). *Tratado de fisiologia veterinária*. Elsevier Health Sciences.
- Cunningham, J and Klein, B. (2008). Glândulas endócrinas e suas funções. *Tratado de fisiologia veterinária*, 3, 350-381.
- Dawson, B. (2001). Probability & related topics for making inferences about data. Dawson B. ve Trapp RG (Eds.) Basic&Clinical Biostatistics.

- DiCostanzo, G, Zehnder, C and Chester-Jones, H. (1996). Factors affecting profitability in the feedlot. *Journal of Livestock Sciences*, 24, 3-23.
- Dijkstra, J, Ellis, J, Kebreab, E, Strathe, A, López, S, France, J and Bannink, A. (2012). Ruminal pH regulation and nutritional consequences of low pH. *Animal feed science and technology*, 172(1-2), 22-33.
- Dou, Z, Toth, JD and Westendorf, ML. (2018). Food waste for livestock feeding: Feasibility, safety, and sustainability implications. *Global food security*, 17, 154-161.
- El-Zaiat, HM, Ré, DD, Patino, HO and Sallam, SM. (2019). Assessment of using dried vinasse rice to replace soybean meal in lambs diets: In vitro, lambs performance and economic evaluation. *Small ruminant research*, 173, 1-8.
- Ellis, J, Dijkstra, J, Kebreab, E, Bannink, A, Odongo, N, McBride, B and France, J. (2008). Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *The Journal of Agricultural Science*, 146(2), 213-233.
- Fassah, D, Nuraini, N, Khotijah, L, Komalasari, K, Suharti, S, Astuti, D, Wiryawan, K, Sudarman, A and Diapari, D. (2022). Utilization of Vinasse-Molasses in The Finishing Ration on Growth Performance of Peranakan Ongole Cattle. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science,
- Fernández, B, Bodas, R, López-Campos, Ó, Andrés, S, Mantecón, A and Giráldez, FJ. (2009). Vinasse added to dried sugar beet pulp: Preference rate, voluntary intake, and digestive utilization in sheep. *Journal of animal science*, 87(6), 2055-2063.
- García-Yuste, S and Pérez-Barbería, FJ. (2020). The ruminant: Life history and digestive physiology of a symbiotic animal. *Sustainable and environmentally friendly dairy farms*, 19-45.
- Gerimipour, AR, Azin, M and Sanjabi, MR. (2019). The effect of vinasse on the growth performance and feed digestibility of Holstein male calves. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 41, e45666.
- Gnansounou, E. (2005). Ethanol fuel from biomass: a review. *J. Sci. Ind. Res.*, 64, 809-821.
- Grasser, L, Fadel, J, Garnett, I and DePeters, E. (1995). Quantity and economic importance of nine selected by-products used in California dairy rations. *Journal of dairy science*, 78(4), 962-971.

- Gültepe, E and Bayram, İ. (2019). Bitkisel ve endüstriyel atıkların ruminant beslemede etkin kullanımının hayvan verimi üzerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Animal Nutrition and Nutritional Diseases-Special Topics*, 5(3), 14-21.
- Hailemariam, S, Zhao, S, He, Y and Wang, J. (2021). Urea transport and hydrolysis in the rumen: A review. *Animal Nutrition*, 7(4), 989-996.
- Hossain, N and Jalil, R. (2018). Analyses of bio-energy properties from Malaysian local plants: sentang and sesendok. *Asia Pacific Journal of Energy and Environment*, 5(1), 7-10.
- Hungate, RE. (1966). *The rumen and its microbes*. Elsevier.
- Iranmehr, M, Khadem, A, Rezaeian, M, Afzalzadeh, A and Pourabedin, M. (2011). HRANJIVA VRIJEDNOST VINASSE KAO KRMIVA ZA PREŽIVAČE. *Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme*, 53(1), 3-8.
- Jentsch, W, Schweigel, M, Weissbach, F, Scholze, H, Pitroff, W and Derno, M. (2007). Methane production in cattle calculated by the nutrient composition of the diet. *Archives of animal nutrition*, 61(1), 10-19.
- Jung, M-Y, Well, R, Min, D, Giesemann, A, Park, S-J, Kim, J-G, Kim, S-J and Rhee, S-K. (2014). Isotopic signatures of N₂O produced by ammonia-oxidizing archaea from soils. *The ISME journal*, 8(5), 1115-1125.
- Kumar, S, Dagar, SS, Sirohi, SK, Upadhyay, RC and Puniya, AK. (2013). Microbial profiles, in vitro gas production and dry matter digestibility based on various ratios of roughage to concentrate. *Annals of Microbiology*, 63, 541-545.
- Kurniawati, A. (2004). The Growth Rate and Efficiency of Rumen Microbial Protein Digestion of Red Clover Silage (*Trifolium pratense* cv. Sabatron); Pertumbuhan Mikroba Rumen dan Efisiensi Pemanfaatan Nitrogen pada Silase Red Clover (*Trifolium pratense* cv. Sabatron).
- Leontowicz, H, Krzeminski, R, Leontowicz, M, Kulasek, G, Tropilo, J and Sobczak, E. (1994). Condensed beet molasses solubles for fattening bulls. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 3(1), 23-31.
- Maneerat, W, Prasanpanich, S, Tumwasorn, S, Laudadio, V and Tufarelli, V. (2015). Evaluating agro-industrial by-products as dietary roughage source on growth performance of fattening steers. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(5), 580-584.

- Manfredini, M and Cavani, C. (1980). Distillery effluents as animal feed: the use of condensed beet molasses stillage (CBMS) in broiler feeding. *Animal feed science and technology*, 5(3), 233-239.
- McCullough, H. (1967). The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clínica chimica acta*, 17(2), 297-304.
- McDonald, I. (1958). The utilization of ammonia-nitrogen by the sheep. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 2, 46-51.
- Melikoğlu, M and Albostan, A. (2011). Türkiye’de biyoetanol üretimi ve potansiyeli. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 26(1).
- Membrive, CMB. (2016). Anatomy and Physiology of the Rumen. *Rumenology*, 1-38.
- Menke, K, Raab, L, Salewski, A, Steingass, H, Fritz, D and 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.
- Meyer, NF and Bryant, TC. (2017). Diagnosis and management of rumen acidosis and bloat in feedlots. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 33(3), 481-498.
- Millen, DD, Pacheco, RDL, da Silva Cabral, L, Cursino, LL, Watanabe, DHM and Rigueiro, ALN. (2016). Ruminant acidosis. *Rumenology*, 127-156.
- Murphy, M, Baldwin, R and Koong, L. (1982). Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate diets. *Journal of animal science*, 55(2), 411-421.
- Nagaraja, T. (2016). Microbiology of the rumen. *Rumenology*, 39-61.
- O’Reilly, K. (2017). Effect of Condensed Molasses Solubles on Intake Growth Performance Digestibility and Certain Rumen Parameters of Sheep. *Master's thesis, University of Pretoria (South Africa)*.
- Oliveira, MCd, Silva, DMd, Carvalho, CdAF, Alves, MF, Dias, DMB, Martins, PC, Bonifácio, NP and Souza Júnior, MAPd. (2013). Effect of including liquid vinasse in the diet of rabbits on growth performance. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 42, 259-263.

- Oltjen, J and Beckett, J. (1996). Role of ruminant livestock in sustainable agricultural systems. *Journal of animal science*, 74(6), 1406-1409.
- Oltjen, RR. (1969). Effects of feeding ruminants non-protein nitrogen as the only nitrogen source. *Journal of animal science*, 28(5), 673-681.
- Owens, F and Bergen, W. (1983). Nitrogen metabolism of ruminant animals: historical perspective, current understanding and future implications. *Journal of animal science*, 57(suppl_2), 498-518.
- Owens, FN and Basalan, M. (2016). Ruminal fermentation
Springer International Publishing Switzerland. *Rumenology*, 63-102.
- Patra, AK. (2015). Urea/ammonia metabolism in the rumen and toxicity in ruminants. *Rumen microbiology: from evolution to revolution*, 329-341.
- Perez, HG, Stevenson, CK, Lourenco, JM and Callaway, TR. (2024). Understanding Rumen Microbiology: An Overview. *Encyclopedia*, 4(1), 148-157.
- Pienaar, GA. (2016). *The potential of condensed molasses solubles (CMS) to replace molasses in feedlot diets*, Doctoral thesis. University of Pretoria (South Africa).
- Place, SE. (2024). Examining the role of ruminants in sustainable food systems. *Grass and Forage Science*.
- Potter, S, Moya, A, Henry, P, Palmer, A, Becker, H and Ammerman, C. (1985). Sugarcane condensed molasses solubles as a feed ingredient for finishing cattle. *Journal of animal science*, 60(3), 839-846.
- Rahimi, A and Rafiee, H. (2024). Performance of Holstein dairy calves fed starter diet with incremental vinasse proportion. *Animal feed science and technology*, 308, 115874.
- Robinson, P, Mathews, MC and Fadel, J. (1999). Influence of storage time and temperature on in vitro digestion of neutral detergent fibre at 48 h, and comparison to 48 h in sacco neutral detergent fibre digestion. *Animal feed science and technology*, 80(3-4), 257-266.
- Rodrigues, PHM. (2016). Control and manipulation of ruminal fermentation. *Rumenology*, 157-187.

- Russell, JB and Hespell, RB. (1981). Microbial rumen fermentation. *Journal of dairy science*, 64(6), 1153-1169.
- Russell, JB and Rychlik, JL. (2001). Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, 292(5519), 1119-1122.
- Salami, SA, Luciano, G, O'Grady, MN, Biondi, L, Newbold, CJ, Kerry, JP and Priolo, A. (2019). Sustainability of feeding plant by-products: A review of the implications for ruminant meat production. *Animal feed science and technology*, 251, 37-55.
- Saniei, G, Bujarpur, M, Fayazi, J and Zahedifar, M. (2017). Effect of different dietary inclusions levels of sugarcane molasses and vinasses on in vitro gas production parameters.
- Sheehan, G and Greenfield, P. (1980). Utilisation, treatment and disposal of distillery wastewater. *Water Research*, 14(3), 257-277.
- Singh, GP, Leitanthem, VK, Sharma, AN, Mohini, M, Arora, N and Mondal, G. (2019). Effect of depotash vinasse on rumen fermentation kinetics in vitro. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 36(4), 353-357.
- Stemme, K, Gerdes, B, Harms, A and Kamphues, J. (2005). Beet-vinasse (condensed molasses solubles) as an ingredient in diets for cattle and pigs–nutritive value and limitations. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 89(3-6), 179-183.
- Sugoro, I, Wahyono, T and Sihono, WS. (2016). *Effect of Vinasse from Juice of Sorghum Var. Samurai 1 on The Methane Production by Buffalo Rumen Microbial* Proceeding of The 6th Annual Basic Science International Conference,
- Tadele, Y and Amha, N. (2015). Use of different non protein nitrogen sources in ruminant nutrition: A review. *Adv. Life Sci. Technol*, 29, 100-105.
- TOB. (2023). *Tarım ve Orman Bakanlığı, 2023 Yılı I. Dönem Yakıt Biyoetanolü İstatistikleri (Ocak–Şubat–Mart)*. https://www.tarimorman.gov.tr/TADAB/Belgeler/Resmi%20Istatistikler/2023%20Yılı/2023_1_donem.pdf
- Türkşeker. (2021). *Sektör Raporu 2021*. https://www.turkseker.gov.tr/data/dokumanlar/2021_Sektor_Raporu.pdf

- Van Soest, P, Van Amburgh, M and Tedeschi, L. (2000). Rumen balance and rates of fiber digestion. Proceedings of Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Rochester, NY,
- Vardar-Sukan, F. (1998). Foaming: consequences, prevention and destruction. *Biotechnology advances*, 16(5-6), 913-948.
- Webb, EC and Erasmus, LJ. (2013). The effect of production system and management practices on the quality of meat products from ruminant livestock. *South African Journal of Animal Science*, 43(3), 413-423.
- Weimer, PJ. (1992). Cellulose degradation by ruminal microorganisms. *Critical Reviews in Biotechnology*, 12(3), 189-223.
- Weimer, PJ. (2015). Redundancy, resilience, and host specificity of the ruminal microbiota: implications for engineering improved ruminal fermentations. *Frontiers in microbiology*, 6, 139401.
- Wolin, MJ. (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of dairy science*, 43(10), 1452-1459.
- Zali, A, Eftekhari, M, Fatehi, F and Ganjkanlou, M. (2017). Effect of vinasse (condensed molasses solubles) on performance and meat chemical composition of Holstein male calves. *Italian Journal of Animal Science*, 16(3), 515-520.
- Zali, A, Eftekhari, M, Pourasad, K, Ganjkanlou, M and Pour, HZ. (2019). Effect of vinasse (condensed molasses solubles) on performance, blood metabolites, ruminal parameters and carcass characteristics of Mahabadi goat male kids.
- Zhao, Y and Zhao, G. (2022). Decreasing ruminal methane production through enhancing the sulfate reduction pathway. *Animal Nutrition*, 9, 320-326.

EKLER

Ek.1. Etik kurul kararı



T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 25/10/2023
TOPLANTI NO : 2023-19
DOSYA NO : 2023-130
KARAR NO : 2023-19-175

Yürüttüğü Ankara Üni­ver­si­te­si­miz Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Gültekin YILDIZ' ın yaptığı, araştırmacı olarak Vet. Hek. Özlem HİÇCAN' ın katıldığı, “Biyotanol Üretim Aşamasında Ortaya Çıkan Koyu Şilempenin in vitro rumen Ortamında Etkilerinin Araştırılması” başlıklı çalışma Üniversite senatosunun 12/2/2016 tarihli toplantısında 430/3642 sayılı kararı ile kabul edilen ve Hayvan Deneyleri Merkezi Etik Kurulu’nun 19/2/2016 tarih ve 42 sayılı kararı ile onaylanan “Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi” ne göre değerlendirilmiş ve çalışmanın Etik Kurul iznine tabi olmadığına oy birliği ile karar verilmiştir.

Geçerlilik Süresi : 25/10/2023-25/10/2024

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof. Dr. M. Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viroloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof. Dr. Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof. Dr. Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Prof. Dr. Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof. Dr. Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü	Ziraat Fakültesi	K	
Prof. Dr. Halit KANCA (Üye)	Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof. Dr. Gülnur GÖLLÜ BAHADIR (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	

