



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**YONCA KURU OTUNA MALİK ASİT VE FUMARİK ASİT
İLAVESİNİN İN VİTRO GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİK VE
RUMEN FERMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed Ali AKYÜREK

**Samsun
Haziran-2019**



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**YONCA KURU OTUNA MALİK ASİT VE FUMARİK ASİT
İLAVESİNİN İN VİTRO GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİK VE
RUMEN FERMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed Ali AKYÜREK

**Danışman
Doç. Dr. Mustafa SALMAN**

**Samsun
Haziran-2019**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek lisans öğrencisi Muhammed Ali AKYÜREK tarafından Doç. Dr. Mustafa SALMAN Danışmanlığında hazırlanan “**YONCA KURU OTUNA MALİK ASİT VE FUMARİK ASİT İLAVESİNİN İN VİTRO GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİK VE RUMEN FERMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ**” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından /..... /..... tarihinde yapılan sınav ile Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

Üye :
(Unvanı, Adı Soyadı, Üniversite)

ONAY

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

..... / /.....

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bana gerekli tüm desteği sağlayan saygıdeğer tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Mustafa SALMAN'a,

Samsun Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı yüksek lisans eğitim sürecinde emeği geçen hocalarım Sayın Prof. Dr. Nurcan ÇETİNKAYA, Sayın Prof. Dr. Ömer Hakan MUĞLALI, Sayın Prof. Dr. İsmail KAYA, Sayın Doç. Dr. Zehra SELÇUK, Sayın Yrd. Doç. Dr. Buğra GENÇ, Sayın Yrd. Doç. Dr. Habip MURUZ'a,

Laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Bora BÖLÜKBAŞ'a, Sayın Doktora Öğrencisi Ahmet Arda ÇINAR'a

Gösterdiği sabır ve verdiği her türlü destek için aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma, PYO.VET.1904.18.007 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesine Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

ÖZET

YONCA KURU OTUNA MALİK ASİT VE FUMARİK ASİT İLAVESİNİN *İN VİTRO* GERÇEK SİNDİRİLEBİLİRLİK VE RUMEN FERMENTASYONU ÜZERİNE ETKİSİ

Amaç: Bu çalışmada yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen fumarik asit ve malik asit ilavesinin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve rumen fermentasyonu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışma fumarik asit ve malik asit için ayrı ayrı yürütüldü. Fumarik asit ve malik asitin kullanılmadığı ilk fermentör (kavanoz) kontrol grubunu oluşturdu. Fumarik ve malik asit %0,1, 0,2 ve 0,3 düzeylerinde ayrı fermentörlere konularak sırasıyla deneme grubu 1, 2 ve 3 oluşturuldu. Yem örnekleri her bir grup için 16 adet tekerrür olarak planlandı. İnkübasyon süresi 48 saat olarak uygulandı.

Bulgular: Yonca kuru otunun *in vitro* gerçek sindirilebilirliği üzerine %0,1 ve 0,2 düzeylerinde ilave edilen fumarik asitin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında herhangi bir olumsuz ($P>0,05$) etkisi gözlenmezken, %0,3 düzeyinde kullanılan fumarik asitin ise azaltıcı ($P<0,05$) yönde bir etkisi olmuştur. Yonca kuru otunun *in vitro* gerçek sindirilebilirlik düzeyi üzerine malik asitin etkisine bakıldığında kontrol grubu ile deneme grubu 1 arasında istatistiksel bir farklılık ($P>0,05$) bulunmazken, deneme grubu 2 ve 3'de istatistiki olarak önemli ($P<0,05$) bulunmuştur. En düşük *in vitro* gerçek organik madde sindirilebilirlik düzeyi fumarik asit ve malik asitin %0,3 düzeyinde ilave edilen gruplarda tespit edilmiştir. *In vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği bakımından fumarik ve malik asitin %0,3 düzeyinde kullanılan deneme grubu 3 ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir farklılık ($P<0,05$) bulunmuştur.

Sonuç: Yonca kuru otuna %0,3 düzeyinde fumarik asit ve malik asit ilavesinin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliğini azalttığını göstermiştir. Fumarik asit ve malik asitin %0,1 düzeyinde kullanımının *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmamıştır. Elde edilen bu verilerin ışığında malik asit ve fumarik asitin *in vivo* çalışmalar ile yem tüketimi, performans ve rumen fermentasyonu üzerine etkileri araştırılabilir.

Anahtar kelimeler: Fumarik asit; malik asit; sindirilebilirlik; yonca kuru otu

Muhammed Ali AKYÜREK, Yüksek Lisans Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Haziran-2019

ABSTRACT

THE EFFECTS OF DIFFERENT LEVELS OF FUMARIC ACID AND MALIC ACID ADDED TO ALFALFA HAY ON *IN VITRO* TRUE DIGESTIBILITY AND RUMEN FERMENTATION

Aim: The aim of this study was to investigate the effects of different levels of fumaric acid and malic acid added to alfalfa hay on *in vitro* true digestibility and rumen fermentation.

Material and Method: Fumaric acid and malic acid were carried out separately. The first fermentor (jar) in the incubator without fumaric acid and malic acid formed the control group. Each acid (fumaric and malic acid) was added to individual fermentors at 0.1, 0.2 and 0.3% levels to form experiment groups 1, 2 and 3, respectively. The feed samples were planned to have 16 replications for each group. Incubation period was 48 hours.

Results: Fumaric acid added at 0.1% and 0.2% levels to alfalfa hay on *in vitro* true digestibility was not observed in any negative ($P > 0.05$) effect compared to the control group. However, fumaric acid used at 0.3% level had a decreasing ($P < 0.05$) effect. While the effect of malic acid on *in vitro* true digestibility level of alfalfa hay was examined, there was no statistical difference ($P > 0.05$) between control group and experimental group 1, whereas there was a statistically significant difference ($P < 0.05$) between the control groups, experimental groups 2 and 3. The lowest *in vitro* true organic digestibility level was found in the groups added at 0.3% of fumaric acid and malic acid. Fumaric acid and malic acid were statistically significant ($P < 0.05$) in experimental group 3 compared to control group in terms of *in vitro* true NDF digestibility.

Conclusion: This study showed that the addition of 0.3% fumaric acid and malic acid to alfalfa hay reduces *in vitro* true digestibility and *in vitro* gerçek NDF digestibility. The use of fumaric acid and malic acid at 0.1% did not have any negative effect on *in vitro* true digestibility and *in vitro* true NDF digestibility. However, further studies are required to investigate the effects of fumaric and malic acids on *in vivo* ruminal fermentation with feed consumption and performance in ruminants.

Keywords: Fumaric acid; malic acid; digestibility; alfalfa hay

Muhammed Ali AKYÜREK, Master Thesis
Ondokuz Mayıs University - Samsun, June-2019

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-------------------------|---|
| ADF | :Asit Deterjan Fiber |
| ADL | : Asit Deterjan Lignin |
| HK | : Ham Kül |
| HP | : Ham Protein |
| HS | : Ham Selüloz |
| HY | : Ham Yağ |
| KM | : Kuru Madde |
| OM | : Organik Madde |
| NDF | :Nötral Deterjan Fiber |
| NED | : Negatif Enerji Dengesi |
| IVTD | : <i>İn Vitro</i> Gerçek Sindirebilirlik |
| IVTNDFD | : <i>İn Vitro</i> Gerçek NDF Sindirebilirliği |
| UYA | : Uçucu Yağ Asiti |
| NH₃-N | : Amonyak Azotu |

TABLolar

| | |
|--|----|
| Tablo 1. Yem Katkı Maddesi olarak kullanılan Önemli Organik Asitler ve Formülleri..... | 4 |
| Tablo 2. Organik Asitlerin Kimyasal ve Fonksiyonel Özellikleri..... | 6 |
| Tablo 3. Bazı asit ve tuzların kimyasal özellikleri..... | 7 |
| Tablo 4. İn vitro Gerçek Sindirilebilirlik İçin Gerekli Tampon Çözeltiler..... | 10 |
| Tablo 5. Araştırmada Kullanılan Yonca Kuru Otuna Ait Besin Madde İçerikleri | 13 |
| Tablo 6. Yonca Kuru Otuna Farklı Düzeylerde İlave Edilen Fumarik Asitin İn Vitro Gerçek Sindirilebilirlik Üzerine Etkisi..... | 13 |
| Tablo 7. Yonca Kuru Otuna Farklı Düzeylerde İlave Edilen Malik Asitin İn Vitro Gerçek Sindirilebilirlik Üzerine Etkisi..... | 14 |
| Tablo 8. Yonca Kuru Otuna Farklı Düzeylerde İlave Edilen Fumarik Asitin İn Vitro NDF Sindirilebilirliği Üzerine Etkisi..... | 14 |
| Tablo 9. Yonca Kuru Otuna Farklı Düzeylerde İlave Edilen Malik Asitin İn Vitro NDF Sindirilebilirliği Üzerine Etkisi..... | 15 |
| Tablo 10. Yonca Kuru Otuna Farklı Düzeylerde İlave Edilen Malik Asit ve Fumarik Asitin UYA ve NH ₃ -N Düzeyi Üzerine Etkisi..... | 15 |

ŞEKİLLER

| | |
|--|----|
| Şekil 1. Malik Asitin Kimyasal Yapısı | 3 |
| Şekil 2. Fumarik Asitin Kimyasal Yapısı | 3 |
| Şekil 3. İnkübasyon sonrası NDF sindirilebilirliğinin tespiti | 11 |
| Şekil 4. Taze rumen içeriği ve inkübasyon sonrası protozoa sayımı..... | 12 |



| | |
|---|------|
| İÇİNDEKİLER | |
| KABUL VE ONAY | ii |
| TEŞEKKÜR | iii |
| ÖZET | iv |
| ABSTRACT | v |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | vi |
| TABLolar | vii |
| ŞEKİLLER | viii |
| İÇİNDEKİLER | ix |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Organik Asitler..... | 3 |
| 2.1.1. Tanımı ve Formülü..... | 3 |
| 2.1.2. Hayvan Beslemedeki Önemi, Etkileri ve Özellikleri..... | 5 |
| 3. MATERYAL-YÖNTEM | 9 |
| 3.1. Hayvan Materyali..... | 9 |
| 3.2. Yem Materyali..... | 9 |
| 3.3. Yemlerin Kimyasal Analizleri..... | 9 |
| 3.4. İn vitro Gerçek Sindirilebilirliğin Belirlenmesi..... | 9 |
| 3.5. Numune Toplanması ve Analizler..... | 11 |
| 5. BULGULAR | 13 |
| 6. TARTIŞMA | 17 |
| 7. SONUÇ ve ÖNERİLER | 23 |
| 8. KAYNAKLAR | 26 |
| ÖZGEÇMİŞ | 31 |

1. GİRİŞ

Hayvanların büyüme hızları ve verim güçleri, yem etkin kullanımı ile doğrudan ilişkilidir. Hayvanlarda hedeflenen yüksek verime erişebilmeleri için sağlıklarının devamlılığının sağlanması yanında yem etkili kullanma yeteneklerini de artırmak gerekir. Bu amaç doğrultusunda hayvan besleme alanında kullanımı her geçen gün yaygınlaşan en önemli faktörlerden biri de yem katkı maddeleridir. Antibiyotik ve kemoterapötikler, hayvanların büyüme ve sağlıklarını korumaya yönelik olumlu etkilerinin bilinmesi nedeniyle uzun süreler boyunca yem katkı maddesi olarak kullanılmıştır (Aydın ve Koçak, 1999). Ancak bu maddelerin bilinçsizce kullanılması ile hayvansal ürünlerde kalıntı bırakması, bakterilerde direnç gelişimine neden olduğu, (Kaya ve ark., 2007) insanlarda ise antibiyotiklere karşı çapraz direnç oluşturduğu da bilinmektedir (Durrani ve ark., 2007). Bu olumsuz etkileri nedeniyle Avrupa Birliği ülkelerince antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak hayvan besleme alanında kullanımının yasaklanması 22 Ekim 2003 (Anonim, 2011a), Türkiye’de ise 21 Ocak 2006 tarihinde kararı alınmıştır (Anonim, 2011b). Bu kararlar, hayvan yetiştiriciliği alanında yem katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotik ve kemoterapötiklerin yerine, hayvan besleme alanında açılan bu büyük boşluğu kapatabilmek amacıyla yapılan araştırmaların önemi artmıştır (Wenk, 2002). Organik asitlerin düşük toksiteye sahip doğal bileşikler olması (Kirchgeßner ve Roth, 1988) nedeniyle son yıllarda hayvan besleme alanında yem katkı maddesi olarak popüleritesi gittikçe artmaktadır (Aydın ve Koçak, 1999).

Malik asit ve fumarik asit gibi organik asitler, ruminant rasyonlarında yer almaya başlamasıyla ve her geçen gün hayvanların büyüme ve sağlığını koruyucu etkilerinin görülmesi, yapılan çalışmalarla sözü edilen bu bilgilerin desteklenmesi sonucunda kullanımları yaygınlaşmış, antibiyotiklere alternatif yem katkı maddesi grubunun önemli bir parçası olmuştur. Bu organik asitlerin suya ilave edilerek kullanılan formları da mevcuttur (Philipsen, 2005). Yem katkı maddesi olarak organik asitler ve tuzlarının kullanılması rasyonun lezzetini artırıcı ve midedeki sindirimi iyileştirici etkisinin yanında bağırsakta mevcut patojen mikroorganizmaların üzerinde gösterdiği bakteriyostatik ve bakterisidal etkileri ile, hayvansal organizmanın büyümesine ve sağlıklı olmalarında ciddi katkıları bulunan yararlı mikroorganizmaların gelişmelerine ve bunların sindirim sistemi üzerine hakim konuma geçmelerine öncülük yaparlar (Arıpınar ve Sulu, 2005).

Suni rumen ortamında yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen malik asit ve fumarik asit ilavesinin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve rumen fermentasyonu üzerine etkileri ortaya çıkarılmamıştır. Bu nedenle bu proje ile; ülkemizde önemli bir yem kaynağı olan yonca kuru otunun ruminantlar tarafından kullanım etkinliği ile gerçek sindirilebilirlik ve NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

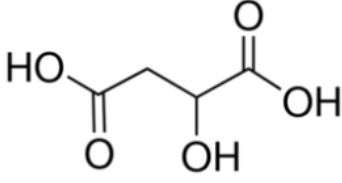


2. GENEL BİLGİLER

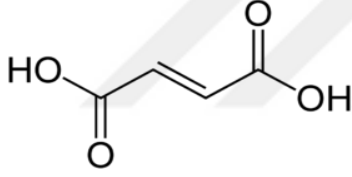
2.1. Organik Asitler

2.1.1. Tanımı ve Formülü

Kimyasal bir grup olarak organik asitler, yağ asidi ve aminoasit içermektedirler. Malik asit ve fumarik asitin kimyasal yapısı (R-COOH) aşağıda sunulmuştur (Şekil 1 ve Şekil 2).



Şekil 1. Malik Asitin Kimyasal Yapısı



Şekil 2. Fumarik Asitin Kimyasal Yapısı

Yem katkı maddesi olarak kullanılan organik asitlerin genel özellikleri (kimyasal adları ve formülleri vd.) Tablo 1’ de sunulmuştur. Organik asit ve tuzları antimikrobiyal aktiviteleri yanında hayvan performansı üzerinde de olumlu etkileri sözkonusudur (Dibner ve Buttin, 2002).

Tablo 1. Yem katkı maddesi olarak kullanılan önemli organik asitler ve formülleri (Lückstädt, 2011’den uyarlanmıştır)

| Asit | Kimyasal Adı | Formülü | Molekül Ağırlığı | pKa |
|------------|--|--|------------------|------|
| Formik | Formik Asit | HCOOH | 46,03 | 3,75 |
| Asetik | Asetik Asit | CH ₃ COOH | 60,05 | 4,76 |
| Propiyonik | 2-Propanoik Asit | CH ₃ CH ₂ COOH | 74,08 | 4,88 |
| Bütirik | Bütanoik Asit | CH ₃ CH ₂ CH ₂ COOH | 88,12 | 4,82 |
| Laktik | 2-Hidroksipropanoik Asit | CH ₃ CH(OH)COOH | 90,08 | 3,83 |
| Sorbik | 2-4-Heksandienoik Asit | CH ₃ CH:CHCH:CHCOOH | 112,14 | 4,76 |
| Fumarik | 2-Bütenedioik Asit | COOHCH:CHCOOH | 116,07 | 3,02 |
| Malik | Hidroksibütanedioik Asit | COOHCH ₂ CH(OH)COOH | 134,09 | 3,40 |
| Tartarik | 2-3-Hidroksi-Bütanedioik Asit | COOHCH(OH)CH(OH)COOH | 150,09 | 2,93 |
| Sitrik | 2-Hidroksi-1,2,3-Propanetrikarboksili Asit | COOHCH ₂ C(OH)(COOH)CH ₂ COOH | 192,14 | 3,13 |

2.1.2. Hayvan Beslemedeki Önemi, Etkileri ve Özellikleri

Organik asitler, doğada saf olarak canlı organizmalarda bulunan organik bileşiklerdir. Aynı zamanda doğal yollarla da elde edilebilirler. Hayvansal organizmada metabolize olduktan sonra okside olarak su ve karbondioksit açığa çıkarırlar. Böylece canlı organizmada hayvan sağlığı için problem teşkil eden ve gelecek için risk faktörü içeren herhangi bir kalıntı bırakmazlar. Organik asitler, yemlerin pH değerlerini artırıcı özellikleri ile bozulmasını engelleyerek depolama süresini uzatmak, sindirim sistemi üzerine olan etkisiyle probiyotik ve patojen bakterilerin dengesini sağlamak, hayvanların büyümesinde ve sağlıklarının korunması gibi olumlu etkileri dolayısıyla hayvanların beslenmesinde önemli rol oynamaktadır (Arıpınar ve Sulu, 2005). Küçükersan (2000) ve Yıldırım (2002) organik asitlerin etkilerini aşağıdaki gibi özetlemişlerdir.

- Yemlere lezzet katarak tüketimini kolaylaştırır.
- Mide asitliğini artırıcı etkisi bulunur.
- Sindirim sistemi üzerinde salivasyon artırıcı ve enzim üretimine teşvik edici etkisiyle yemlerden faydalanmayı artırır.
- Biyojenik aminlerin şekillenmesini engeller.
- Yeminlerin muhafaza sürelerini artırır.
- Sindirim ve dolaşım sistemi üzerine metabolizmayı artırıcı etki gösterir.
- Sindirim üzerine olumlu etkisi olan *Lactobacillus spp.* gelişimini sağlar.
- Vücutta aktif maddelerin salınımını artırır.
- Organik asit ve tuzlarının sindirim sisteminde kullanımını artırır.
- *pH* değerini düşürücü etkisi ile patojen mikroorganizmaların gelişimini inhibe eder.
- Doğal bileşenler olması nedeniyle vücutta metabolize edilerek zararsız bir şekilde vücuttan atılabilirler.
- Hayvanların yemlerden yararlanmalarını artırarak beslenmesine ve gelişimine olumlu etki ederler.

Bazı organik asitlerin kimyasal ve fonksiyonel özellikleri (fiziksel form ve uygulama şekilleri vd.) Tablo 2’de sunulmuştur.

Tablo 2. Organik asitlerin kimyasal ve fonksiyonel özellikleri (Yıldırım, 2006' dan uyarlanmıştır)

| | Sıvı asitler | Toz asitler | Ca/Na/K-tuzları | Amonyum tuzları |
|-------------------------------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Ürünler | Formik | Sorbik | Ca – format | Amonyum Format |
| | Asetik | Sitrik | Ca – propiyonat | Amonyum Propiyonat |
| | Propiyonik | Fumarik | Ca – laktat | Amonyum Sorbat |
| | Laktik | Benzoik | Na – propiyonat | Asitlerle kombine Edilmiş |
| Fiziksel form | Orta zincirli yağ asidi | Malik | K – benzoat | |
| | Sıvı | Toz | Toz | Sıvı |
| Substratın pH azalması | Çok yüksek | Çok yüksek | Hiç | Yüksek |
| Suda çözünürlük | Yüksek | Sitrik, malik | Ca>düşük, Na/K>yüksek | Yüksek |
| İşleme tarzı | Korosiv Uçucu | Hiçbiri/ irritan | Hiçbiri/irritan | Hiçbiri/ irritan, Kısmen Uçucu |
| Uygulaması | Su, yem | Yem, premix, yem katkıları | Yem, premix, yem katkıları | Su, yem |
| Uyuşmazlık | Ca – tuzları | | Asitlerle | Ca tuzlarıyla |

Hayvanların beslenmesinde yem katkı maddesi olarak kullanılan organik asitlerin pH düşürücü etkileri ile antibakteriyel aktiviteleri, ayrışma durumuna göre değişkenlik gösterir. Bu durum spesifik ayrışma sabiti (pK) değeri olarak tanımlanır. Asitler için ayrışım sabiti değeri azaldıkça ortamın pH değerini düşürmesine etki eden asit miktarıda artmaktadır (Lückstädt, 2007).

Organik asitlerin tümünün bağırsak mikroflorası üzerine etkili olmadığı bilinmektedir. Bu etkileri gösteren asitler formik asit, propiyonik asit ve asetik asit gibi basit monokarboksilik olanlar ile tek hidroksil grubuna bağlı kısa zincirli asitler olan (C1-C7), laktik asit ve sitrik asit gibi organik asitlerdir. Antimikrobiyel etkileri olan organik asitlerin pKa değeri 3-5 aralığında değişkenlik gösterir (Dibner ve Buttin, 2002). Bazı asit ve tuzlarının kimyasal özellikleri Tablo 3'te sunulmuştur.

Tablo 3. Bazı asit ve tuzların kimyasal özellikleri (Kirchgeßner ve Roth, 1991'den uyarlanmıştır)

| Asit/Tuz | pK değeri | Sudaki çözünürlük | Molekül ağırlığı (g) | Brüt enerji (KJ/g) | Fiziksel yapı |
|-----------------|----------------|-------------------|----------------------|--------------------|---------------|
| Formik asit | 3.75 | Çok İyi | 48.0 | 5.8 | Sıvı |
| Asetik asit | 4.75 | Çok İyi | 60.1 | 14.8 | Sıvı |
| Propiyonik asit | 4.87 | Çok İyi | 74.1 | 20.8 | Sıvı |
| Laktik asit | 3.08 | İyi | 90.1 | 15.1 | Sıvı |
| Fumarik asit | 3.03/4.44 | Düşük | 116.1 | 11.5 | Katı |
| Sitrik asit | 3.14/5.95/6.39 | İyi | 210.1 | 10.3 | Katı |
| Ca-format | | Düşük | 130.1 | 3.9 | Katı |
| Na-format | | Çok İyi | 68.0 | 3.9 | Katı |
| Ca-Propiyonat | | İyi | 16.6 | 16.6 | Katı |
| Ca-laktat | | Düşük | 10.2 | 10.2 | Katı |

Laktik asit, fumarik asit ve sitrik asitin spesifik ayrışım sabiti değerleri, diğer asitlerden daha düşük değer olan 3'e yakın olması nedeniyle daha güçlü özellik gösterirler. Organik asit ve tuzları için sudaki çözünürlükleri iyi derecelerde değişkenlik göstermesine rağmen fumarik asit, Ca-format ve Ca-laktat için bu geçerli değildir. Sahip oldukları enerji bakımından aralarında önemli ölçüde farklılıklar görülmekle birlikte, en yüksek enerji değerine sahip olan propiyonik asit iken, formik asit ile tuzları en düşük değere sahiptir. Kullanım açısından değerlendirildiğinde ise katı olan asitler daha az koroziv olmaları nedeniyle sıvı olanlardan daha kullanışlıdır (Kirchgesner ve Roth, 1991).



3. MATERYAL-YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Araştırmada; Samsun Florya Mezbahanesinde kesilen üç adet erkek Holştayn ırkı hayvanların kesim sonrası rumen sıvısı alınarak, uygun şartlarda ve en kısa süre içerisinde laboratuvar ortamına ulaştırıldı. Rumen sıvısı alınan hayvanlar kuru madde bazında %60 kaba yem ve %40 konsantre yem ile beslendiği tespit edildi.

3.2. Yem Materyali

Araştırmada ruminant beslemede önemli bir kaba yem olan yonca kuru otu kullanıldı. Yemlerin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarındaki mevcut cihazlardan faydalanıldı. Yemlerin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik tespiti için Daisy inkübatör (D200, D200I) cihazı kullanıldı.

3.3. Yemlerin Kimyasal Analizleri

Yemlerin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesi için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarındaki mevcut cihazlardan faydalanıldı. Yemler elek çapı 1 mm olan değirmende öğütüldü. Yemler, 105°C'de 4 saat kuru madde dolabında kurutulmuş kuru maddeleri, 550°C'de 4 saat kül fırınında yakılarak ham kül içerikleri saptandı. Azot (N) içeriğinin saptanmasında Kjeldahl metodu kullanıldı. Yemdeki ham protein miktarı %16 N esas alınarak hesaplandı. Soxhlet extraction cihazından faydalanılarak ham yağ analizi yapıldı (AOAC,2006). ANKOM 200 Fiber Analyzer cihazı kullanılarak nötral deterjan fiber (NDF), asit deterjan fiber (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) içerikleri saptandı (Van Soest ve ark. 1991).

3.4. *In vitro* Gerçek Sindirilebilirliğin Belirlenmesi

Yemlerin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik analizi için Daisy inkübatör (D200, D200I) kullanıldı. Araştırmada; Samsun Florya Mezbahanesinde kesilen hayvanların kesim sonrası rumen sıvısı alınarak, uygun şartlarda ve en kısa süre içerisinde laboratuvar ortamına ulaştırıldı. Hayvanlardan rumen sıvısı alınırken sıvı kısım ile birlikte bir miktar

katı rumen içeriği de alındı. Taze rumen içeriğindeki katı ve sıvı kısımları birbirinden ayırmak için üç katlı gazlı bez kullanıldı. Fermentörlerin her birine tampon solüsyonu (Tablo 4) olarak 1600 ml, rumen sıvısı olarak da 400 ml ilave edildi. Anaerobik ortam araştırma süresince CO₂ gazı ile sağlandı. İlk fermentöre herhangi bir ilave yapılmayıp kontrol fermentörü olarak kullanıldı. Deneme fermentörlerine %0.1, 0.2 ve 0.3 düzeylerinde herbir organik asit için (malik ve fumarik asit) ayrı ayrı ilave edildi. Etkileri araştırılan organik asitler doğrudan fermentörler içerisindeki rumen sıvısı ve tamponlara eklendi. Daha önceden numaralı F57 torbalarına tartılan yem örnekleri her bir grup için 16 adet tekerrür olacak şekilde fermentörlere (kavanozlara) koyularak inkubasyona bırakıldı (Czerkawski ve Breckenridge, 1977). İnkübasyon periyodu 48 saat olarak uygulandı.

Tablo 4. *In vitro* gerçek sindirilebilirlik için gerekli tampon çözeltiler

| Tampon Çözelti A | g/litre | Tampon Çözelti B | g/litre |
|-------------------------------------|---------|------------------------------------|---------|
| KH ₂ PO ₄ | 10,0 | Na ₂ CO ₃ | 15,0 |
| MgSO ₄ 7H ₂ O | 0,5 | Na ₂ S9H ₂ O | 1,0 |
| NaCl | 0,5 | | |
| CaCl ₂ 2H ₂ O | 0,1 | | |
| Üre | 0,5 | | |

3.5. Numune Toplanması ve Analizler

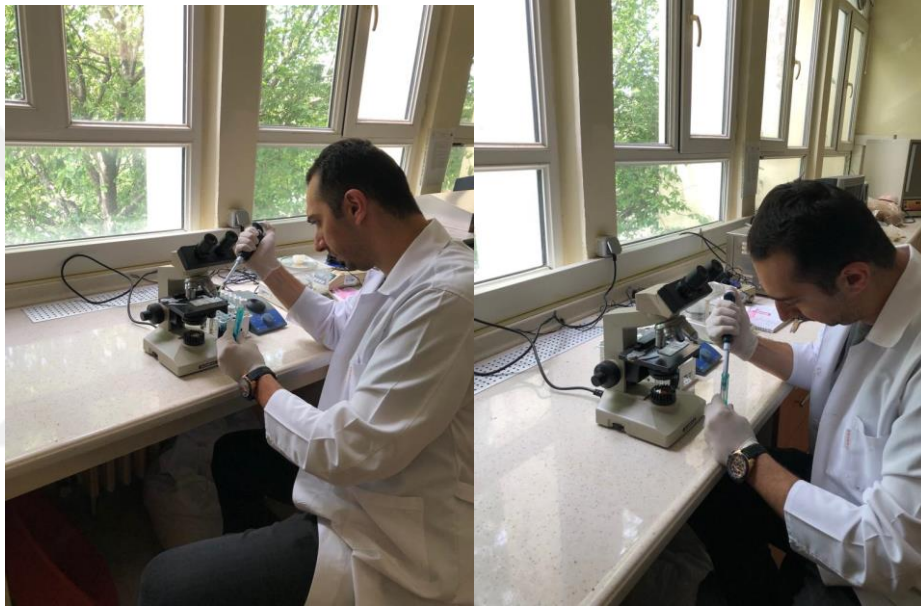
Denemenin başında alınan taze rumen içeriği ile inkübasyon periyodunun sonunda fermentörlerden alınan örnekler pH metre (Mettler Toledo S220 K seven compact) ile pH değerleri ölçüldü. Kuru madde sindirilebilirliğin belirlenmesi için yemler;60 °C'lik etüvde 48 saat bekletilerek nemleri uzaklaştırıldı ve kuru madde miktarları belirlendi. Kuru madde miktarları arasındaki fark sindirilebilirlik oranı olarak kabul edildi (Ørskov ve ark., 1980). İnkübasyon periyodu sonrası NDF sindirilebilirliğinin tespiti Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3. İnkübasyon sonrası NDF sindirilebilirliğinin tespiti

NH₃-N analizi için 10 ml rumen sıvısı 50 ml'lik behere konulup üzerine 4-5 damla %98'lik H₂SO₄ ilave edilerek karışım sağlandı. Örnekler oda ısısında 2 saat bekletildikten sonra 10 dakika 3000 rpm'de santrifüj edildi. Üst sıvı fazdan 2 ml alınarak distilasyon (Buchi marka 811) düzeneğine konulup, üzerine %40'lık NaOH çözeltisinden 1 ml ilave edilerek rumen sıvısındaki NH₃ buhar distilasyonu ile 5 ml %2'lik borik asit çözeltisi içerisine distile edildi. Toplanan 50 ml distilat üzerine 0.2 ml indikatör ilave edilerek 1/70 N H₂SO₄ çözeltisi ile titrasyon yapıldı. Renk dönüşüm (yeşilden kırmızıya) noktası kaydedilerek hesaplamada kullanıldı (Markham, 1942).

Protozoon sayımında kullanılacak çözelti için 1 litrelik balon jöle içerisine 0.6 g metil yeşili, 8 g NaCl, 100 ml % 37'lik formaldehit konulduktan sonra ölçü çizgisine (1 L) kadar saf su ile tamamlandı. Protozoon sayımı için taze rumen içeriği ile fermentörlerin herbirinden alınan 1 ml rumen sıvısı 1 ml protozoon sayım çözeltisi ile karıştırılarak ışık mikroskobu ve Fuchs-Rosenthal lamı (derinlik: 0.2 mm, küçük kare alanı: 0.0625 mm²) ile yapıldı (Harmayer, 1965). Taze rumen içeriği ve inkübasyon sonrası protozoa sayımı Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. Taze rumen içeriği ve inkübasyon sonrası protozoa sayımı

5. BULGULAR

Araştırmada kullanılan yonca kuru otuna ait besin madde içerikleri Tablo 5’de verilmiştir. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen fumarik asit ve malik asit ilavesinin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik değerleri sırasıyla Tablo 6 ve Tablo 7’de; aynı sıra ile *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirlik değerleri Tablo 8 ve Tablo 9’ da verilmiştir. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen malik asit ve fumarik asitin UYA ve NH₃-N düzeyleri Tablo 10’da sunulmuştur.

Tablo 5. Araştırmada kullanılan yonca kuru otuna ait besin madde içerikleri

| Parametreler | Yonca kuru otu |
|--------------|----------------|
| KM, % | 96.00 |
| HY, % | 3.25 |
| HP, % | 17.85 |
| HK, % | 10.45 |
| ADF, % | 37.02 |
| NDF, % | 48.72 |
| ADL, % | 9.39 |

Tablo 6. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen fumarik asitin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik üzerine etkisi,%

| | Kontrol | Deneme Grubu 1 | Deneme Grubu 2 | Deneme Grubu 3 | P |
|---------------------|--------------|----------------|----------------|----------------|---|
| IVTD _{YEM} | 69.15±0.545a | 68.49±0.837a | 67.26±0.855a | 63.88±0.559b | * |
| IVTD _{KM} | 67.86±0.568a | 67.18±0.872a | 65.90±0.224a | 62.37±0.311b | * |
| IVTD _{OM} | 68.78±0.602a | 68.01±0.832a | 66.81±0.255a | 63.30±0.252b | * |

^{a,b}=Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir, *P<0.05

Tablo 7. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen malik asitin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik üzerine etkisi, %

| | Kontrol | Deneme Grubu 1 | Deneme Grubu 2 | Deneme Grubu 3 | P |
|---------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|
| IVTD _{YEM} | 70.016±0.128a | 68.39±0.634ab | 67.13±0.252b | 64.30±0.672c | * |
| IVTD _{KM} | 68.76±0.133a | 67.08±0.660ab | 65.77±0.263b | 62.81±0.700c | * |
| IVTD _{OM} | 69.77±0.109a | 68.04±0.601ab | 66.81±0.182b | 63.68±0.707c | * |

^{a,b,c}=Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir, *P<0.05

Tablo 8. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen fumarik asitin *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi, %

| | Kontrol | Deneme Grubu 1 | Deneme Grubu 2 | Deneme Grubu 3 | P |
|------------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|
| IVTNDFD _{YEM} | 23.95±0.215a | 23.43±0.582a | 22.88±0.049a | 19.79±0.349b | * |
| IVTNDFD _{KM} | 47.19±0.424a | 46.18±1.147a | 45.10±0.098a | 39.01±0.688b | * |
| IVTNDFD _{OM} | 27.73±0.127a | 27.25±0.661a | 26.51±0.223a | 22.38±1.220b | * |

^{a,b}=Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir, *P<0.05

Tablo 9. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen malik asitin *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği üzerine etkisi, %

| | Kontrol | Deneme Grubu 1 | Deneme Grubu 2 | Deneme Grubu 3 | P |
|----------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------|
| IVTND _{YEM} | 23.22±0.217a | 23.32±0.0219a | 20.54±0.149b | 19.63±0.490b | * |
| IVTND _{KM} | 45.76±0.427a | 45.95±0.041a | 40.48±0.293b | 38.68±0.966b | * |
| IVTND _{OM} | 26.72±0.152a | 27.08±0.066a | 25.18±0.911b | 23.83±0.717b | * |

^{a,b}=Aynı satırda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir, *P<0.05

Tablo 10. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde ilave edilen malik asit ve fumarik asitin toplam UYA (mmol/L) ve NH₃-N (mg/100ml) düzeyi üzerine etkisi

| | Fumarik asit | | Malik asit | | P |
|---------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|----------|
| | UYA | NH₃-N | UYA | NH₃-N | |
| Taze rumen içeriği | 4.54±0.040ab | 4.90±0.0461a | 8.06±0.277a | 8.80±0.127a | * |
| Kontrol | 4.40±0.109b | 3.62±0.115c | 5.78±0.051c | 7.70±0.063ab | * |
| Deneme Grubu 1 | 4.54±0.155ab | 4.21±0.034b | 6.36±0.155b | 7.50±0.652ab | * |
| Deneme Grubu 2 | 4.77±0.115a | 4.80±0.080a | 6.58±0.167b | 7.38±0.340b | * |
| Deneme Grubu 3 | 4.88±0.092a | 4.73±0.017a | 7.15±0.502b | 7.20±0.531b | * |

^{a,b,c}=Aynı sütunda farklı harf ile ifade edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemlidir (P<0.05).

İn vitro gerçek sindirilebilirliğin belirlenmesi amacı ile uygun şartlarda laboratuvara getirilen taze rumen içeriğindeki protozoa sayısı 570 10³/ml olarak belirlenmiştir. Araştırmada 48 saatlik inkübasyon periyodunun sonunda kontrol, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeyinde malik asit kullanılan gruplarda protozoa sayısı sırasıyla 156, 202, 172 ve 192 10³/ml olarak belirlenmiştir. Fumarik asit uygulanan gruplarda uygun koşullarda laboratuvar ortamına ulaştırılan rumen sıvısındaki protozoa sayısı 350 10³/ml olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde inkübasyon periyodunun sonunda kontrol, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeyinde fumarik asit kullanılan gruplarda protozoa sayısı sırasıyla 114, 126, 118 ve 116 10³/ml protozoa olarak belirlenmiştir.

Yonca kuru otuna malik asit uygulaması için alınan taze rumen sıvısının pH değeri 6.49 olarak ölçülmüştür. *İn vitro* malik asit uygulaması için ideal bir pH aralığında olması araştırma için önemlidir. İnkübasyon periyodu sonunda her bir fermentörde kontrol, deneme grubu 1, 2 ve 3'te sırasıyla pH değerleri 6.44, 6.35, 6.40 ve 6.33 olarak tespit edildi. Bu durum her bir fermentörde rumen mikrobiyotası için ideal pH aralığının sağlandığını göstermektedir. Aynı şekilde fumarik asit için taze rumen sıvısının pH değeri 6.54 olarak belirlendi. Fumarik asit uygulanan her bir fermentörde kontrol, deneme grubu 1, 2 ve 3'te sırasıyla pH değerleri 6.55, 6.51, 6.36 ve 6.30 olarak tespit edildi.

6. TARTIŞMA

Organik asitler (fumarik ve malik asit) rumen fermentasyonu üzerine olan etkileri nedeniyle rumen mikrobiyal yaşamını düzenlemek için kullanılmaktadır. Bu kapsamda rumen *pH* değerinin düşürülmesi, metanogenezisin engellenmesi, önemli ve faydalı mikroorganizmaların sayılarını ve etkinliğini artırmak gibi amaçlarla araştırmalarda yer almaktadır. Fumarik ve malik asit hücre metabolizmasında doğal olarak oluşan bileşiklerdir. Bu asitlerin rumen mikrobiyal ekolojisini etkileyerek hayvan sağlığı ve verimliliğini artırarak alternatif olabileceği (Castillo ve ark., 2004) bildirilmektedir. Ancak *in vitro* ortamda malik asit ve fumarik asitin rumen ekosistemini iyileştirdiği yönünde tartışmalı bildirimler de mevcuttur.

Yonca kuru otunun besin madde içerikleri (Tablo 5) incelendiğinde yonca kuru otuna ait ham protein değerleri (Ünalp E, 2014; Alhidary ve ark, 2016), HK (Güngör ve ark., 2008; Alhidary ve ark., 2016, Opsi ve ark, 2011), HY (Bender ve ark., 2016), ADF (Canbolat ve ark.,2010; Opsi ve ark, 2011), NDF (Canbolat ve ark.,2010; Canbolat ve ark.,2013; Opsi ve ark, 2011; Alhidary ve ark., 2016) ve ADL (Güngör ve ark., 2008; Opsi ve ark, 2011) değerleri benzer bulunmuştur.

Yonca kuru otunun kontrol grubu ile %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde malik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik değerleri (%) sırasıyla 68.76±0.133a, 67.08±0.660ab, 65.77±0.263b ve 62.81±0.700c olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile %0.1 düzeyinde malik asit kullanılan grup arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken, %0.2 ve %0.3 düzeyinde malik asit ilavesinin yapıldığı deneme grubu 2 ve 3'te *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirliği üzerinde düşürücü bir etkisi olmuştur. Aynı sıra ile kuru madde *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği ise 45.76±0.427a, 45.95±0.041a, 40.48±0.293b ve 38.68±0.966b olarak tespit edilmiştir. Sniffen ve ark. (2006), malik asit ilavesinin kuru madde ve organik madde sindirilebilirliğini etkilemediğini belirtmiştir. Bu sonuçlar şimdiki çalışmanın deneme grubu 1 ile benzerlik gösterirken, deneme grubu 2 ve 3 ile farklılık göstermektedir. Aynı çalışmada (Sniffen ve ark., 2006), kontrol grubunun NDF sindirilebilirliği malik asit ilave edilen gruptan daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Şimdiki çalışmada da rakamsal olarak en yüksek NDF sindirilebilirliği kontrol grubunda tespit edilmiştir. Martin ve ark. (1999), rasyonlarında yüksek düzeyde konsantre yem kullanılan besi danalarında malik asiti hem 0, 27, 54 ve 80 g/gün düzeylerinde rumen kanülü yoluyla hem de doğrudan yemlerine

malik asit 0, 60 ve 120 g/gün olacak şekilde ilave edilerek deneme düzenini oluşturmuşlardır. Kanülle rumene malik asit verilmesinin rumende pH değerini artırdığını, toplam UYA miktarını azalttığını, propiyonat, bütirat ve laktat konsantrasyonlarını etkilemediğini asetat/propiyonat oranını da değiştirmedini belirtmiştir. Aynı araştırmacılar yeme ilave edilen malik asitin günlük canlı ağırlık artışı ile yemden yararlanma oranını da artırdığını rapor etmiştir. *In vitro* olarak gerçekleştirilen şimdiki araştırmada *pH* değerinde herhangi bir değişikliğe neden olmazken malik asit kullanılan deneme grupları ile kontrol grubu arasında toplam UYA miktarı bakımından istatistiksel olarak anlamlı ($P<0.05$) bir farklılık bulunmuştur. Carro ve Ranilla (2003) araştırmalarında kullandıkları malatın özellikle tane yem içeren rasyonlarda uçucu yağ asitleri düzeyini artırıcı ve laktat düzeyini düşürücü etkisine vurgu yapmıştır. Nisbet ve Martin (1993) malatın *in vitro* kültür ortamında rumen bakterilerinin %51'ini oluşturan gram (-) *Selenomonas ruminantium* bakterilerinin gelişimini desteklediğini rapor etmiştir. Bu etki organik asitlerin suksinat ve propiyonat üretiminde aracı olma özelliğine dayandırılabilir (Martin, 1998). Castillo ve ark. (2004), organik asit tuzlarının buffer özelliklerinin organik asit hallerine göre rumen fermentasyonunda daha yararlı olabileceği ifade etmiştir.

Sniffen ve ark. (2005), laktasyonun orta döneminde bulunan süt ineği bazal rasyonuna günlük 0, 50 ve 100 g malik asit olacak şekilde ilave etmişlerdir. Günlük 100g malik asit ilave edilen grupta NDF sindirilebilirliği kontrol grubuna göre istatistiki olarak daha yüksek ($P<0.05$) bulmuştur. Malik asit ilavesinin total uçucu yağ asitleri, propiyonik asit, asetik asit, butirik asit ve asetik asit/ propiyonik asit oranını ve pH düzeyini etkisinin olmadığını ($P>0.05$) belirtmiştir. Şimdiki çalışmada ise %0.1 düzeyinde kullanılan malik asit ilavesi NDF sindirilebilirliğini rakamsal olarak yükseltirken, toplam UYA miktarı bakımından kontrol grubu ile deneme grupları arasında farklılık ($P<0.05$) göstermiştir.

Kung ve ark. (1982), yaptıkları çalışmada laktasyonun farklı dönemlerindeki Holştayn ineklere günde 0, 70, 105 ve 140g malik asit olacak şekilde rasyonlarına ilave etmişlerdir. Malik asit verilen gruplarda rumen pH'sı üzerinde önemli bir etkisinin olmaması şimdiki çalışma ile benzerlik göstermektedir. Aynı araştırmacılar malik asitin toplam uçucu yağ asit düzeyini önemli bir düzeyde artırdığını ifade etmişlerdir. Şimdiki çalışmada da malik asit uygulanan gruplarda artış gözlenmiştir. Sonuç olarak malik asit uygulanan gruplarda toplam uçucu yağ asit konsantrasyonundaki artışlar rasyondaki

enerji kullanımını üzerinde olumlu etkisi olacağı söylenebilir. Kung ve ark. (1982), yaptıkları bir çalışmada rumen kanüllü 6 adet Holştayn danasına her kg vücut ağırlığına 0, 100 ve 200 mg olacak şekilde vermişlerdir. Araştırmada 5 haftalık adaptasyon periyodundan sonra 12 gün deneme periyodu 3 kez sürdürüldü. Bu periyodun ise 6 günü dışı toplandı. Araştırma sonunda malik asit uygulanan gruplarda kuru madde sindirilebilirliğini artırması, *in vitro* olarak yapılan şimdiki çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermemektedir.

Yonca kuru otunun kontrol grubu ile %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde fumarik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik değerleri (%) sırasıyla $67.86 \pm 0.568a$, $67.18 \pm 0.872a$, $65.90 \pm 0.224a$ ve $62.37 \pm 0.311b$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile %0.1 ve %0.2 düzeyinde fumarik asit kullanılan gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken, yüksek düzeyde (%0.3) fumarik asit ilavesinin yapıldığı deneme grubu 3'te *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirliği üzerinde düşürücü bir etkisi olmuştur. Aynı sıra ile kuru maddede *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği ise $47.19 \pm 0.424a$, $46.18 \pm 1.147a$, $45.10 \pm 0.098a$ ve $39.01 \pm 0.688b$ olarak tespit edilmiştir. Fumarik asitin %0.3 düzeyinde kullanımının *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği üzerinde önemli derecede düşürücü bir etkisi olmuştur. Yonca kuru otunun *in vitro* gerçek sindirilebilirliği üzerine %0.1 ve 0.2 düzeylerinde ilave edilen fumarik asitin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında herhangi bir olumsuz ($P > 0.05$) etkisi gözlenmezken, %0.3 düzeyinde (deneme grubu 3) kullanılan fumarik asitin ise azaltıcı ($P < 0.05$) yönde bir etkisi olmuştur. Yonca kuru otunun *in vitro* gerçek sindirilebilirlik düzeyi üzerine malik asitin etkisine bakıldığından kontrol grubu ile deneme grubu 1 arasında istatistiksel bir farklılık ($P > 0.05$) bulunmazken, deneme grubu 2 ve 3'de istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. En düşük *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik düzeyi fumarik asit ve malik asitin %0.3 düzeyinde (deneme grubu 3) ilave edilen gruplarda tespit edilmiştir. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde fumarik asit ilavesi *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği bakımından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneme grubu 1 ve 2 arasında istatistiksel bir farklılık ($P > 0.05$) bulunmazken, deneme grubu 3 ile istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Aynı şekilde %0.2 ve %0.3 düzeyinde malik asit kullanımının *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliğini düşürmüştür. Li ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada fumarik asidin metanojenler üzerine etkisinin kaba yem oranı artsa dahi sadece bir metanojen türü

üzerine görüldüğünü diğer türler için kaba ve konsantre yem partikül büyüklüğü oranı değişse dahi bir etki göstermediğini bildirmişlerdir. Fumarik asit varlığında dahi fumaratı değerlendiren bakterilerin (*F. Succinogenes*, *S. Ruminantium*) sayısının önemli bir değişiklik göstermediğine ve bununla birlikte kuru madde sindirilebilirlik oranlarının uygulamadan etkilenmediğine işaret etmişlerdir. Organik asitlerin kuru madde sindirilebilirliği üzerine artırıcı etkileri H₂ transferinin artmasıyla birlikte selülitik bakteri popülasyonundaki artışa bağlı olarak gösterilmektedir (Lopez ve ark., 1999; Asanuma ve Hino, 2000). Bharathidhasan ve ark. (2016), malik asit ve fumarik asitin yüksek dozlarda kullanımında metan gazı üretiminin önemli düzeyde azaldığı ve iki asitin kombinasyonu ile sinerjik bir etkinin sağlandığını bildirmiştir. Kara (2015) mısır silajına farklı düzeylerde %0.5, %1 ve %1.5 maleik asit ilavesinin organik madde sindirilebilirliği üzerinde etkisinin olmaması şimdiki çalışmadaki kontrol ve %0.1 düzeyinde malik asit uygulanan gruplarla benzerlik göstermiştir. Bunun yanı sıra Montano ve ark. (1999) ısıtılmış arpa bazlı diyetlere malik asit ilavesinin organik madde sindirimini etkilemediğini bildirmiştir. Khampa ve ark. (2006) DL-malate kullanımının kuru madde, organik madde, ham protein ve NDF sindirimi üzerine etkisinin (P>0.05) olmadığını ADF sindiriminde ise rakamsal bir artışa neden olduğunu belirtmişlerdir.

Yemlerin kuvvetli asitlerle muamelesi rumen ekosistemi üzerine olan etkilerine dair şüpheli yaklaşımlar mevcut olup rumendeki mikrobiyal dengenin organik asitle muameleden negatif yönde etkilenebileceği bildirilmektedir (Wood ve ark., 2009). Vyas ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada malik asitle muamele edilen karma rasyonu tüketen sığırlarda 3 saat içinde toplam kültürü yapılan bakteri popülasyonunun fumarik asit ve kontrol yemi tüketen gruplara göre önemli derecede (P<0.05) azaldığını bildirmişlerdir. Remling ve ark. (2017) besi sığırı rasyonlarına farklı düzeylerde fumarik asit ekleyerek yaptıkları uzun dönem beslemede rumen mikrobiyal kompozisyonunun arkeler de dâhil uygulamadan önemli derecede etkilenmediğini bildirmişlerdir. Carro ve ark. (2006) *in vivo* ve *in vitro* yapılan çalışmalarda sonuçlarla olan tutarsızlığın deneme koşullarındaki farklılıktan kaynaklandığı söylenebilir. Bu tutarsızlığa bir neden olarak da rumen ortamındaki pasaj sırasında sıvı akışı ve etkileşimi (McGinn ve ark., 2004) ve rumen ortamına direkt olarak verilen organik asitlerin daha kolay yararlanılabilir olması gösterilebilir (Vyas ve ark., 2015). Fumarik asit varlığında dahi fumaratı değerlendiren bakterilerin (*F. Succinogenes*, *S. Ruminantium*) sayısının önemli bir değişiklik

göstermediğine ve bununla birlikte kuru madde sindirilebilirlik oranlarının uygulamadan etkilenmediğini belirtmişlerdir.

Yonca kuru otunun taze rumen içeriği ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde fumarik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda UYA düzeyleri (mmol/L) sırasıyla $4.54 \pm 0.040ab$, $4.40 \pm 0.109b$, $4.54 \pm 0.155ab$, $4.77 \pm 0.115a$ ve $4.88 \pm 0.092a$ olarak tespit edilmiştir. Fumarik asit kullanılan gruplarda UYA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir. Yonca kuru otunun taze rumen içeriği ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde fumarik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda NH_3-N düzeyleri (mg/100ml) sırasıyla $4.90 \pm 0.046a$, $3.62 \pm 0.115c$, $4.21 \pm 0.034b$, $4.80 \pm 0.080a$ ve $4.73 \pm 0.017a$ olarak tespit edilmiştir. Fumarik asitin %0.2 ve %0.3 düzeyinde ilave edildiği gruplarda kontrol grubuna göre NH_3-N miktarında önemli ($P < 0.05$) bir artış olmuştur.

Yonca kuru otunun taze rumen içeriği ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde malik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda UYA düzeyleri (mmol/L) sırasıyla $8.06 \pm 0.277a$, $5.78 \pm 0.051c$, $6.36 \pm 0.155b$, $6.58 \pm 0.167b$ ve $7.15 \pm 0.502b$ olarak tespit edilmiştir. Malik asit kullanılan gruplarda UYA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir. Yonca kuru otunun taze rumen içeriği ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde malik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda NH_3-N düzeyleri (mg/100ml) sırasıyla $8.80 \pm 0.127a$, $7.70 \pm 0.063ab$, $7.50 \pm 0.652ab$, $7.38 \pm 0.340b$ ve $7.20 \pm 0.531b$ olarak tespit edilmiştir. *In vitro* olarak yapılan şimdiki araştırmada; amonyak azotu yönünden malik asit kullanılan gruplar ile kontrol grubu arasında istatistiksel bir farklılık olmamıştır ($P > 0.05$). Aynı şekilde amonyak azotu üzerine fumarik asitin %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek ($P < 0.05$) tespit edilmiştir. Rumen amonyak azotu konsantrasyonunun (15mg/100ml) maksimum mikrobiyal büyümeyi desteklemek için yeterli olduğunu ifade etmiştir (Kung ve ark., 1982).

Fumarik asit rumendeki bakteriler tarafından çoğunlukla propiyonik asite metabolize edilir. Diğer uçucu yağ asitlerinde ise hafif bir artışa neden olur. Fumarat rumendeki bakteriler tarafından kullanılırken protozoalar tarafından kullanılmamaktadır (Asanuma, 1998). Fermentörlerde 48 saat inkübasyon periyodunun sonunda kontrol ile farklı düzeylerde kullanılan fumarik asit karşılaştırıldığında protozoa sayısında artışa neden olmuştur. Aynı şekilde malik asit uygulanan grupların protozoa sayıları kontrol grubuna göre daha yüksek değerler elde edilmiştir. Lopez ve ark. (1999), yaptıkları

çalışmada sodyum fumarat uygulamasının toplam bakteri sayısını 48 saatlik inkubasyonda etkilemediğini ancak selülitik bakteri sayısını 3 katına çıkardığını ($P<0.01$) bildirmiştir. Bunun aksine Ok ve ark. (2012), rumen sıvısına fumarik ve malik asit eklenmesiyle bakteri popülasyonu önemli ($P<0,05$) derece artırmış, protozoa popülasyonunu önemli seviyede ($P<0,05$) azaltmıştır, şimdiki çalışmada ise protozoa sayısında artışa neden olmuştur. Kluge ve ark. (2004), organik asit kullanımının ruminal protozoa sayısını azalttığını bildirilmiştir. Ok ve ark. (2012), malik asit kullanımının ruminal protozoalar üzerine baskılayıcı rol oynadığını ifade etmesi şimdiki çalışmanın sonuçları ile örtüşmemektedir.



7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Organik asitler rumen fermentasyonu üzerine olan etkileri nedeniyle rumen mikrobiyal yaşamını düzenlemek için kullanılmaktadır. Fumarik ve malik asit hücre metabolizmasında doğal olarak oluşan bileşikler olduğundan rumen mikrobiyal ekolojisini etkileyerek hayvan sağlığı ve verimliliğini artırarak alternatif yem katkı maddeleri olarak kullanılabilir. Ancak *in vitro* ortamda malik asit ve fumarik asitin rumen ekosistemini iyileştirdiği yönünde tartışmalı bildirimler de mevcuttur. Ancak şimdiki araştırma ile hem fumarik asit hem de malik asit %0.1 düzeyinin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmamıştır.

Yonca kuru otuna malik asit uygulaması için mezbahadan alınan taze rumen sıvısının pH değeri 6.49 olarak ölçülmüştür. *In vitro* malik asit uygulaması için rumen sıvısının ideal bir *pH* aralığında olması araştırma için önemlidir. İnkübasyon periyodu sonunda her bir fermentörde kontrol, deneme grubu 1, 2 ve 3'te sırasıyla *pH* değerleri 6.44, 6.35, 6.40 ve 6.33 olarak tespit edildi. Aynı şekilde fumarik asit içinde alınan taze rumen sıvısının pH değeri 6.54 olarak belirlendi. Fumarik asit uygulanan her bir fermentörde kontrol, deneme grubu 1, 2 ve 3'te sırasıyla pH değerleri 6.55, 6.51, 6.36 ve 6.30 olarak tespit edildi. Malik asit ve fumarik asit için fermentörün her birinde rumen mikrobiyotası için ideal *pH* aralığı olduğu saptanmıştır.

In vitro gerçek sindirilebilirliğin belirlenmesi önemli olan taze rumen içeriğindeki protozoa sayısı 570 10³/ml olarak belirlenmiştir. Araştırma inkübasyon periyodu sonunda (48 saatlik inkübasyon) kontrol, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeyinde malik asit kullanılan gruplarda protozoa sayısı sırasıyla 156, 202, 172 ve 192 10³/ml olarak belirlenmiştir. Taze rumen içeriği ile inkübasyon periyodunun sonunda kontrol grubu ve malik asit kullanılan gruplarla karşılaştırıldığında ruminal protozoa sayısında önemli bir azalma meydana gelmiştir. Ancak malik asit kullanılan gruplarda kontrol grubuna göre protozoa sayısında bir artışa neden olmuştur. Fumarik asit uygulanan gruplarda uygun koşullarda laboratuvar ortamına ulaştırılan rumen sıvısındaki protozoa sayısı 350 10³/ml olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde inkübasyon periyodunun sonunda kontrol, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeyinde fumarik asit kullanılan gruplarda protozoa sayısı sırasıyla 114, 126, 118 ve 116 10³/ml protozoa olarak belirlenmiştir. Taze rumen içeriğinin protozoa sayısı araştırma sonunda hem kontrol hem de fumarik asit kullanılan gruplarda azalmıştır.

Yonca kuru otunun kontrol grubu ile %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde fumarik asit ilavesinin yapıldığı deneme gruplarında *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik değerleri (%) sırasıyla $67.86 \pm 0.568a$, $67.18 \pm 0.872a$, $65.90 \pm 0.224a$ ve $62.37 \pm 0.311b$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile %0.1 ve %0.2 düzeyinde fumarik asit kullanılan gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken, yüksek düzeyde (%0.3) fumarik asit ilavesinin yapıldığı deneme grubu 3'te *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirliği üzerinde düşürücü bir etkisi olmuştur. Aynı sıra ile kuru madde *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirlik değerleri (%) ise $47.19 \pm 0.424a$, $46.18 \pm 1.147a$, $45.10 \pm 0.098a$ ve $39.01 \pm 0.688b$ olarak tespit edilmiştir. Fumarik asitin %0.3 düzeyinde kullanılan deneme grubu 3'teki *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği kontrol ve diğer deneme gruplarına göre istatistiki olarak önemliydi ($P < 0.05$).

Yonca kuru otunun kontrol grubu ile %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde malik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda ise *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik değerleri (%) sırasıyla $68.76 \pm 0.133a$, $67.08 \pm 0.660ab$, $65.77 \pm 0.263b$ ve $62.81 \pm 0.700c$ olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu ile %0.1 düzeyinde malik asit kullanılan grup arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken, %0.2 ve %0.3 düzeyinde malik asit kullanımının *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirliğini düşürmüştür. Aynı sıra ile kuru maddedeki *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği ise $45.76 \pm 0.427a$, $45.95 \pm 0.041a$, $40.48 \pm 0.293b$ ve $38.68 \pm 0.966b$ olarak tespit edilmiştir. Malik asitin %0.2 ve %0.3 düzeylerinde kullanımını *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği üzerinde düşürücü bir etkisi ($P < 0.05$) olmuştur.

Yonca kuru otunun taze rumen içeriğinin UYA düzeyleri (mmol/L) ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde fumarik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda sırasıyla $4.54 \pm 0.040ab$, $4.40 \pm 0.109b$, $4.54 \pm 0.155ab$, $4.77 \pm 0.115a$ ve $4.88 \pm 0.092a$ olarak tespit edilmiştir. Fumarik asitin %0.2 ve 0.3 düzeyinde kullanılan gruplarda UYA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir. Yonca kuru otunun taze rumen içeriği ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde fumarik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda NH_3-N düzeyleri (mg/100ml) sırasıyla $4.90 \pm 0.0461a$, $3.62 \pm 0.115c$, $4.21 \pm 0.034b$, $4.80 \pm 0.080a$ ve $4.73 \pm 0.017a$ olarak tespit edilmiştir. Fumarik asit, NH_3-N düzeyini kontrol grubuna göre önemli ($P < 0.05$) bir şekilde artırmıştır.

Yonca kuru otunun taze rumen içeriği ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde malik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda UYA düzeyleri (mmol/L) sırasıyla $8.06 \pm 0.277a$, $5.78 \pm 0.051c$, $6.36 \pm 0.155b$, $6.58 \pm 0.167b$ ve $7.15 \pm 0.502b$ olarak belirlendi. Malik asit kullanılan gruplarda UYA düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir. Yonca kuru otunun taze rumen içeriği ile kontrol grubu, %0.1, %0.2 ve %0.3 düzeylerinde malik asit ilavesinin yapıldığı gruplarda NH_3-N düzeyleri (mg/100ml) sırasıyla $8.80 \pm 0.127a$, $7.70 \pm 0.063ab$, $7.50 \pm 0.652ab$, $7.38 \pm 0.340b$ ve $7.20 \pm 0.531b$ olarak tespit edilmiştir. Malik asitin %0.2 ve %0.3 düzeyinde ilave edilen gruplarda NH_3-N düzeyini taze rumen içeriğinde önemli ($P < 0.05$) bir düzeyde düşürmüştür.

Sonuç olarak; *in vitro* olarak gerçekleştirilen şimdiki araştırmada *pH* değerinde herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Malik asit kullanımı toplam UYA miktarında önemli ($P < 0.05$) bir artışa neden olmuştur. Malik asit uygulanan gruplarda toplam uçucu yağ asit konsantrasyonundaki artışların rasyondaki enerji kullanımını üzerinde olumlu etkisi olabilir. Her iki organik asit, ruminal protozoalar üzerine baskılayıcı rol oynamamıştır. Yonca kuru otuna %0.3 düzeyinde fumarik asit ve malik asit ilavesinin *in vitro* gerçek sindirilebilirliği ve *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliğini azalttığını göstermiştir. Fumarik asit ve malik asitin %0.1 düzeyinin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik ve *in vitro* gerçek NDF sindirilebilirliği üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi olmamıştır. Organik asitlerin kuru madde sindirilebilirliği üzerine artırıcı etkileri H_2 transferinin artmasıyla birlikte selüloolitik bakteri popülasyonundaki artışa bağlıdır. Bu nedenle araştırmalarda gerçek sindirilebilirliğin, protozoa ve ruminal bakteri sayımı da göz önüne alınarak yapılması önerilebilir. Malik asit ve fumarik asitin farklı kombinasyonları arasında sinerjik bir etkinin olup olmadığı ile ilgili araştırmalar yapılmalıdır. Ayrıca hem malik asit hem de fumarik asitin *in vivo* çalışmalar ile yem tüketimi, performans ve rumen fermantasyonu üzerine etkileri üzerine araştırmalar yapılabilir.

8. KAYNAKLAR

- Anonim. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on Additives For Use In Animal Nutrition. <http://eurlex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32003R1831>, 2011a. Erişim tarihi: 28/01/2018.
- Anonim. Resmi Gazete. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2006/01/20060121-8.htm>, 2011b. Erişim tarihi: 28/01/2018.
- Arıpınar D, Sulu N. Ruminantlarda probiyotiklerin kullanımı ve rumene etkileri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2005;11(1): 93-98.
- Aydın G, Koçak D. Bazı Antibiyotiklerin Kanatlı Yemlerinde Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanımlarındaki Sakıncalar ve Avrupa Birliği 'nin Bu Konuda Aldığı Kararlar, VI. Poultry Yutav Uluslararası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı, İstanbul, Bildiriler Kitabı, 1999;316-320.
- Alhidary IA, Abdelrahman MM, Alyemni AH, Khan RU, Al-Saiady MY, Amran RA, Alshamiry FA. Effect of alfalfa hay on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing lambs with *ad libitum* access to total mixed rations R Bras Zootec 2016; 45(6):302-308.
- Asanuma N, Iwamoto M, and Hino T. Formate metabolism by ruminal microorganisms in relation to methanogenesis. Anim Sci Technol 1998; 69:576-584.
- Asanuma N, Hino T. Activity and properties of fumarate reductase in ruminal bacteria. J Gen Appl Microbiol 2000;46(3):119-125.
- AOAC. Official Methods of Analysis, 18th edn. Association of Official Analytical Chemists, Inc, Arlington, VA, 2006.
- Bender RW, Lopes F, Cook DE, Combs DK. Effects of partial replacement of corn and alfalfa silage with tall fescue hay on total-tract digestibility and lactation performance in dairy cows. J Dairy Sci 2016;99:5436-5444
- Bharathidhasan A, Karunakaran A, Pugazhenti TR, Ezhilvalavan S. The effect of supplemental organic acid on methane reduction to decrease the global warming from dairy cattle. IJACSA 2016;3(4):60-64.
- Canbolat Ö, Kalkan H, Filya İ. Yonca Silajlarında Katkı Maddesi Olarak Gladiçya Meyvelerinin (Gleditsia Triacanthos) Kullanılma Olanakları. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2013;19(2):291-297.
- Canbolat Ö, Kalkan H, Karaman Ş, Filya İ. Üzüm Posasının Yonca Silajlarında Karbonhidrat Kaynağı Olarak Kullanılma Olanakları. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2010;16(2):269-276.

- Carro MD, Ranilla MJ. Effect of the addition of malate on *in vitro* rumen fermentation of cereal grains. *Br J Nutr* 2003;89:181–188.
- Carro M, Ranilla MJ, Giráldez FJ, Mantecón A. Effects of malate on diet digestibility, microbial protein synthesis, plasma metabolites, and performance of growing lambs fed a high-concentrate diet. *J Anim Sci* 2006;84:405–410.
- Castillo C, Benedito JL, Mendez J, Pereira V, Lopez Alonso M, Miranda M, Hernandez J. Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle. *Anim Feed Sci Technol* 2004;115:101-116.
- Czerkawski JW, Breckenridge G. Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *Br J Nutr* 1977;38:371-384.
- Dibner JJ, Buttin P. Use of organic acids as a model to study the impact of gut microflora on nutrition and metabolism. *J Appl Poult Res* 2002;11:453-463.
- Durrani FR, Sultan A, Ahmed S, Chand N, Khattak F.M, Durrani Z. Efficacy of Aniseed Extract As Immune Stimulant And Growth Promoter In Broiler Chicks. *Pakistan J Biol Sci* 2007;10(20):3718-3721.
- Güngör T, Başalan M, Aydoğan İ. Kırıkkale yöresinde üretilen bazı kaba yemlerde besin madde miktarları ve metabolize olabilir enerji düzeylerinin belirlenmesi. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2008;55:111-115.
- Harmayer J. Zur Methodik experimenteller Untersuchungen an Pansenprotozoen. *Zentralbl Veterinarmed* 1965;12(9):841-880.
- Kara K. *In vitro* methane production and quality of corn silage treated with maleic acid. *Ital J Anim Sci* 2015;14:718-722.
- Kaya S, Çetin E, Arıkan S, Tetik T, Kesbiç H, Yaşar S. Tavuklardan izole edilen *E. coli*, *klebsiella* ve *enterokoklarda* antibiotik duyarlılık durumları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak Derg* 2007;14(2):24-27.
- Kirchgessner M, Roth FX. Ergotrope Effekte durch organische Säuren in der Ferkelaufzucht und Schweinemast. *Übers Tierernähr* 1988;10:93-108
- Kirchgessner M, Roth FX. Ergotrope Effekte durch nutritiven Einsatz von organischen Säuren. *Zbl Hyg* 1991;191:265-276
- Khampa S, Wanapat M, Wachirapakorn C, Nontaso N, Wattiaux MA, Rowlison P. Effect of levels of sodium DL-malate supplementation on ruminal fermentation efficiency of concentrates containing high levels of cassava chip in dairy steers. *Asian Austral J Anim* 2006;19(3):368-375.

- Kluge H, Broz J, Eder K. Studies on the influence of benzoic acid as a feed additive on growth performance, digestibility of nutrients, nitrogen balance, microflora and parameters of the microbial metabolism in the gastrointestinal tract of weaned piglets. Tagung für Schweine und Geflügelernährung Halle (Saale) Germany, 2004;8:42-45.
- Kung L Jr, Huber JT, Krummrey JD, Allison L, Cook RM. Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility, and nitrogen utilization. J Dairy Sci 1982; 65:1170-1174.
- Küçükersan, K. Yemlerde organik asit kullanımı ve organik asitlerin etki mekanizması. İnterkim Kimya 2000;3(8):4-5
- Li Z, Liu N, Cao Y, Jin C, Li F, Cai C, Yao J. Effects of fumaric acid supplementation on methane production and rumen fermentation in goats fed diets varying in forage and concentrate particle size. J Anim Sci Biotechno 2018;9(21):2-9.
- Lopez S, Valdes C, Newbold CJ, Wallace RJ. Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation *in vitro*. Br J Nutr 1999;81:59-64.
- Lückstädt C. Acidifiers in Animal Nutrition. First Published. Nottingham: Nottingham University Press, 2007;1-104.
- Lückstädt, C. Principles for the use of organic acids in animal nutrition - Preface. In: Standards for acidifiers (Ed. C. Lückstädt). Nottingham University Press, UK, 2011;83-87.
- Markham R. A steam distillation apparatus suitable for micro-kjeldahl analysis. Biochem J 1942; 36:790-791.
- Martin SA. Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: a review. J Anim Sci 1998;76:3123-3132.
- Martin SA, Streeter MN, Nisbet DJ, Hill GM, Williams SE. Effects of Dl-malate on ruminal metabolism and performance of cattle fed high-concentrate diet. J Anim Sci 1999;77:1008-1015.
- McGinn SM, Beauchemin KA, Coates T, Colombatto D. Methane emissions from beef cattle: Effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. J Anim Sci 2004;82:3346-3356.
- Montano MF, Chai W, Zinn-Ware TE, Zinn RA. Influence of malic acid supplementation on ruminal pH, lactic acid utilization, and digestive function in steers fed high-concentrate finishing diets. J Anim Sci 1999;77:780-784.
- Nisbet DJ, Martin SA. Effects of fumarate, L-malate, and an *Aspergillus oryzae* fermentation extract on D-lactate utilization by the ruminal bacterium *Selenomonas ruminantium*. Current Microbiology 1993;26:133-136.

- Ok JU, Ha DU, Lee SJ, Kim ET, Lee SS, Oh YK, Kim KH, Lee SS. Effects of organic acids on *in vitro* ruminal fermentation characteristics and methane emission. *J Anim Sci* 2012;22:1324-1329.
- Opsi F, Tasson S, Fortin R, Andrés S, López S. Discrimination of different categories of forages harvested from North -western Italy according to near infrared reflectance spectroscopy, chemical composition and *in vitro* digestibility. *Options Méditerranéennes* 2011;99:133-139.
- Ørskov ER, Hovell FDB, Mould F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feed stuffs. *Trop Anim Health Prod* 1980;5:195-213.
- Philipsen P. Animals benefit from adding acids to the drinking water. *Feed Tech* 2005;9:24-26.
- Remling N, Riede S, Meyer U, Beineke A, Breves G, Flachowsky G, Danicke S. Influence of fumaric acid on ruminal parameters and organ weights of growing bulls fed with grass or maize silage. *Anim* 2017;11(10):1754-1761.
- Sniffen CF, Ballard CS, Carter MP, Cotanch KW, Dann HM, Gran, RJ, Mandebvu P, Suekawa M., Martin SA. Effects of malic acid on microbial efficiency and metabolism in continuous culture of rumen contents and on performance of mid-lactation dairy cows. *Anim Feed Sci Tech* 2006;127:13-31.
- Ünalp E. Farklı gelişme dönemleri ve biçim sıralarında yonca (*Medicago sativa* L.) kuru otunun ham protein, selüloz ve bazı mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Yüksek Lisans Tezi, 2014; 39.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci* 1991;74:3583.
- Vyas D, Beauchemin KA. Using organic acids to control subacute ruminal acidosis and fermentation in feedlot cattle fed a high-grain diet. *J Anim Sci* 2015; 93:3950-3958.
- Yıldırım A. Karma Yemlere Probiyotik, Prebiyotik Ve Organik Asit İlavesinin Etlik Piliçlerin Performans, İnce Barsak Ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkileri. Doktora Tezi. Zootekni Anabilim Dalı, Samsun, 2002
- Yıldırım A, Duru A.. Organik Asit ve Tuzları, Trouw nutrition katkı servis bülteni. 2006;14(4):99-105
- Wenk C. Growth promoter alternatives after the ban of antibiotics. *Pig News Info* 2002;24:11-16.

Wood TA, Wallace RJ, Rowe A, Price J, Yanez-Ruiz DR, Murray P, Newbold CJ.
Encapsulated fumaric acid as a feed ingredient to decrease ruminal methane
emissions. *Anim Feed Sci Tech* 2009;152:62-71.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Muhammed Ali AKYÜREK

Doğum Yeri : Fatsa

Doğum Tarihi : 14.01.1985

Medeni Hali : Evli

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi
2007-2012

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : Ordu İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü
2012-2014
Altınordu İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü 2014-

İletişim Bilgileri : muhammedaliakyurek@hotmail.com