

Deterjan Lif Sistemi

Musa Yavuz

Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 60240, Tokat

Özet: Bu makalede yemde lifin (hemiselüloz, selüloz ve lignin) tespitinin geviş getiren hayvanlar (ruminantlar) açısından önemi açıklanmıştır. Yemde ham selülozun tesbiti için kullanılan ve en eski metod olan Ham selüloz (HS) metodu uzun yıllardan beri kullanılmakta olan bir metod olmasına rağmen sadece ham selülozu tesbit ettiği için eksik bir metoddur. Daha sonraki laboratuvar çalışmalarında HS'nin yerini, Van Soest tarafından geliştirilen deterjan lif sistemi almıştır. Bu makalede, nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF) ve asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) özellikleri ve bu analizler yapılırken sonucun değişmemesi için dikkat edilmesi gerekli hususlar özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ham fiber, deterjan fiber sistemi, NDF, ADF

Detergent Fiber System

Abstract: In this paper, importance of feed fiber (hemicellulose, cellulose and lignin) determining for the ruminants were explained. Crude fiber (CF) was the oldest procedure to determine feed fiber, however there were a number of problems with this procedure. Detergent fiber system were developed by Van Soest and replaced the CF procedure for feed fiber analyses. In this system, neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) analyses were used to differentiate feed fiber components. Some preconditions should be taken to get better results for ADF and NDF procedures. These preconditions were summarized in this paper.

Key Words: Crude fiber, detergent fiber system, NDF, ADF

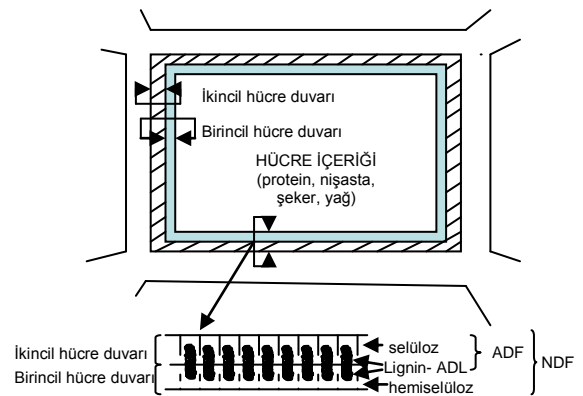
1. Giriş

Bitki hücrelerinde bulunan karbonhidratların yapısı çok çeşitlilik gösterir. Bu yapıda şeker, nişasta, pektin, hemiselüloz, selüloz, ve lignin bulunur (Sniffen et al. 1999). Bu karbonhidratların bitki içersindeki miktarları bitki çeşidine, bitki aksamına (kök, gövde, yaprak ve meyve), bitki olgunluğuna, hasat zamanı, kimyasal ve fiziksel muameleye göre farklılık arz eder. Hayvanlar tarafından kullanım özelliğine göre karbonhidrat parçalarını iki kısma ayırabiliriz. Tek mideli ve geviş getiren hayvanlar, hücre içeriğinde olan şeker ve nişastayı parçalayacak enzimleri üretebilmektedirler. Bununla beraber bitki hücre duvarında olan pektin, hemiselüloz, selüloz, ve lignini sindirebilecek enzim bu hayvanlar tarafından üretilemez (Şekil 1, Belyea ve Ricketts, 1980).

Hayvanlarda sadece geviş getirenlerde selülotik bakteriler ve bazı mantarlar tarafından üretilen enzimler bitki hücre duvarını sindirebilmektedirler. Rumendeki selülotik bakteriler, suda çözünen şeker, nişasta ve pektini hızlı bir şekilde fermente edebilirler. Bununla beraber hücre duvarı yapısında olup, suda çözünmeyen karbonhidrat parçaları (lif) olan hemiselüloz ve selüloz yavaş fermente olur fakat lignin fermente olmaz. Bu özelliğinden dolayı yemlerdeki lif fazlalığı rumende diğer

besinlerin fermentasyonunu yavaşlatır. Ruminantların, lifi sindirebilmesi için geviş getirerek hücre duvarını fiziksel olarak parçalaması gerekir. Yem lifi uzun süre rumende yer kapladığı için hayvanın yem alımına etki eder. Ruminantların rasyonunda kullanılan kaba yemlerde lif oranı %90 nı bulabilmektedir. Yeme bağlı olarak rasyon hazırlanırken lif oranının bilinmesi önemlidir.

Şekil 1. Bitki hücre içeriği ve duvarı



Yaklaşık yüz yıldan fazla bir zamandır yem lifi miktarını ölçmek için ham selüloz (Crude fiber, CF) metodu kullanılmıştır. Bu metotta 30 dakika asit ortamda yem örneği

kaynatılır. Daha sonra 30 dakikada baz ortamda kaynatılıp geriye kalan miktar ham selüloz (lif) olarak nitelendirilir. Bu metotta asit ortamda hemiselüloz ve baz ortamda lignin sindirilir. Geriye sadece selüloz kalır. Ham selüloz metodu deterjan fiber sisteminin gelişmesiyle geçerliliğini kaybetmiştir. Ruminantların verimine direk etki eden bitkilerde lif miktarını ölçmeye ve lif parçalarını birbirinden ayırmamıza yarayan deterjan lif sistemi Van Soest tarafından 1960'da ortaya atılmıştır (Belyea ve Ricketts, 1980).

Bu sistemdeki analizler ve analiz sonucu ölçülen lif parçaları sıralarsak.

1. Nötr Deterjan Çözünmeyen Lif (hemiselüloz, selüloz ve lignin).
2. Asit Deterjan Çözünmeyen Lif (selüloz ve lignin).

2. Nötr Deterjanda Çözünmeyen Lif (NDF)

Nötr deterjanda çözünmeyen lif, kimyasal olarak hücre duvarı ve hücre içeriğini ayrıştıran bir metoddur (Şekil 1). Nötr deterjan (pH 7) solüsyonuna konulan sodium lauryl sulfat'le proteinleri, ethylenediaminetetraacetic asitle (EDTA) pektini, triethylene glycol'la lif olmayan diğer maddeleri ve amilaz'la nişastayı yani hücre içeriğinde olan maddeleri çözünür hale getirerek hücre duvarını oluşturan hemiselüloz, selüloz ve lignine bağlı maddeleri hücre içeriğinden ayrıştırır (NFTA, 2004). Bu ayrıştırma sonunda hücre duvarına bağlı olan protein, nitrojen ve mineral gibi moleküller hücre duvarı yapısı ile birlikte kalır. Bu işleme nötr deterjanda çözünmeyen lif ismi verilmiştir (Van Soest 1994). Nötr deterjanda çözünmeyen lif zaman içerisinde geliştirilerek önemli değişiklikler yapılmıştır. Nötr deterjanda çözünmeyen lifde, örneğin kimyasal yapısına bağlı olarak solüsyonda kullanılan sodium lauryl sulfat veya amilaz enzimi kullanımı değişebilmektedir.

NDF analizinde dikkat edilmesi gereken önemli bir husus solüsyonun asit düzeyinin ayarlanmasıdır. Solüsyon hazırlandıktan bir gün sonra asit düzeyi pH metre ile ölçülmelidir. Solüsyon içerisine konulan maddeler ölçülerek konulmuşsa pH 6.95 – 7.05 arasında olmalıdır. Asit veya baz olma durumuna göre baz veya asit ilave edilerek nötrlük sağlanmalıdır. Bir araştırmada yapılan deneylerde nötr olmayan solüsyonlarda, lignin baz ortamda çözülürken hemiselülozun ise asit ve baz ortamlarda farklı

düzeylede çözüldüğü görülmüştür (Van Soest, 1994). Selüloz ise normal asit veya baz düzeyinde çözülmez. Solüsyonun asit olmasında hemiselüloz, eğer baz olursa hem hemiselüloz hem lignin kaybı olur. Sadece nötr ortamda hücre duvarını oluşturan maddelerin çözülmesi gerçekleşmez.

Bununla beraber nişasta, hayvansal keratin ve toprak minerallerinin bir kısmı olan silika, demir, alüminyumlu bileşikler gibi maddeler çözünmeyenler arasındadır. NDF den sonra kül tayini ile mineral bileşenleri tesbit edilebilir ve NDF de kül miktarı çıkartılarak düzeltme yapılabilir. Özellikle nişastalı ürünlerde sıcağa dayanıklı olan amilaz enzimi kullanılarak, nişastanın parçalanması ve solüsyon içerisinde çözülmesi sağlanır. Aksi takdirde solüsyondaki örnek süzdürülürken filtre gözeneklerinin tıkanmasına ve analiz sonucunu değişmesine sebep olmaktadır (Van Soest et al., 1991). Amilaz enzimiyle karışık diğer enzimler hücre duvarını parçalayabilirler. Bu yüzden sıcakta aktif olan amilaz enzimi kullanılarak diğer enzimlerin etkisi minimuma indirilir (Van Soest, 1994).

Hayvanlar tarafından sindirilmiş yemlerde, rumende ve dışkıdaki örneklerde hayvansal protein içeren saç (keratin), sindirim sistemindeki dokulardan kopan hücre ve rumenden gelen bakteriyel hücreler bulunabilir (Van Soest, 1994). Yem bitkisi örneğine ait olmayan bu protein veya nitrojen içeren parçalar nötr deterjanda çözünmeyen lifdeki protein yüzdesini arttırmaktadır. Bu tür örneklerde sodyum sülfid kullanımı ile disülfid bağları peptidler arasından koparılır. Buda solüsyon içerisindeki örnekte bu tür proteinlerin çözülmesini sağlar. Disülfid bağları normal yemlerde de bulunabilir ve bu bağların biyolojik olarak normal yemden koparılması mümkün değildir (Licitra et al.,1996). Bu yüzden normal örnekler için hazırlanacak NDF solüsyonlarında sodyum sülfid kullanılırken dikkat edilmelidir.

Normal laboratuvar sıcaklığında NDF solüsyonu çözünürlüğünü muhafaza eder fakat özellikle kış aylarında sıcaklığın 20°C altına düşmesiyle beraber solüsyondaki maddeler ayrışır ve beyaz bir tortu halinde solüsyonun altına doğru birikir. Bu durumun analiz sonucuna zarar vermemesi için kullanılmadan önce solüsyon ısıtılarak ve karıştırılarak çözülme yeniden sağlanmalıdır.

Laburatuarda örneklerin analizleri çift olarak yapılmalı ve buna bağlı olarak muhakkak standart sapmalar hesaplanmalıdır. NDF oranına bağlı olarak kabul edilebilir standart sapmaları şöyledir

Örnekte NDF	Standart Sapma
%0 - 40	± 0.35 – 0.60
%40 -70	± 0.70 – 1.20

Kontrol için kullanılan ve NDF düzeyi bilinen örneklerde, analizler sırasında standart sapma ± 1.05 – 1.80 arasında kabul edilebilir (NFTA, 2004).

3. Asit Deterjanda Çözünmeyen Lif (ADF)

Asit deterjanda çözünmeyen lif solüsyonu, sülfirik asit ve cetyl trimethylammonium bromide (CTAB) deterjanı ile birlikte kullanıldığında hücre içeriğinde bulunan maddeleri ve hücre duvarı yapısında bulunan hemiselülozu ve proteinleri çözülür hale getirir. Geriye sadece selüloz, lignin, kutin, sindirilmeyen azot, ve silika çözülmeyen maddeler olarak kalır. Bu metod uzun süre kullanılan ham selüloz analizinin yerini almıştır. ADF'den sonra örneklerde yapılacak kül tayini ile ADF içindeki mineral maddeler düzeltilebilir.

ADF solüsyonu hazırlanırken dikkat edilmesi gereken bazı hususları söyle sıralıyabiliriz. ADF solüsyonu hazırlanırken sülfirik asitin normalitesi 0.995 – 1.005 arasında olmalıdır.

ADF solüsyonuyla örnek kaynamaya başladıktan sonra kaynatma süresi 60 ± 5 dakikayı geçmemelidir.

Genellikle kaynatma sonunda asit, sıcak su ile iyi yıkanmazsa kurutma esnasında örnek asitten dolayı yanar ve kahverengi bir renk alır. Bu durumda analizin yeniden tekrarlanması gerekir.

Yıkamak için kullanılan saf suyun sıcaklığı 95 °C nin altına düşerse pectin ve bazı proteinler örnekten kolayca yıkanmaz ve bu durum sonucu etkileyebilir (NFTA, 2004).

Laburatuvarında örneklerin analizleri çift olarak yapılmalı ve buna bağlı olarak muhakkak standart sapmalar hesaplanmalıdır. ADF oranına bağlı olarak kabul edilebilir standart sapmaları şöyledir:

Örnekte ADF	Standart Sapma
%20	± 0.20 – 0.35
%40	± 0.40 – 0.70

Kontrol için kullanılan ve ADF düzeyi bilinen örneklerde, analizler sırasında standart sapma ± 0.60 - 1.05 arasında kabul edilebilir (NFTA, 2004).

Animal Feed Science and Technology dergisi, yayınlacağı yazılarda, ADF ve NDF metodlarını tanımlamak için aşağıda gösterilen kısaltmaların kullanılmasını önermiştir. Bu kısaltmalar, metodlar içerisindeki farklılıklarının kesin tanımlanması için gereklidir (Uden et al., 2005). Bu kısaltmaları ve özelliklerini özetlersek;

aNDFom –NDF'de amilaz kullanılarak ve NDF'deki kül düzeltilerek

NDFom –NDF'de amilaz kullanılmadan ve NDF'deki kül düzeltilerek

aNDF –NDF'de amilaz kullanılarak ve NDF'deki kül düzeltilmeden

NDF –NDF'de amilaz kullanılmadan ve NDF'deki kül düzeltilmeden

ADFom –ADF'deki kül düzeltilerek

ADF –ADF'deki kül düzeltilmeden

Yonca bitkisinde kesim zamanı, yaş veya kuru olmasına bağlı olarak HS, ADF ve NDF oranları görülmektedir (Çizelge 1, NRC 1984). Günümüzde HS yerine ADF ve NDF değerleri daha yaygın bir şekilde ruminant beslemede kullanılmaktadır. Genellikle ADF metodunun sonuçları, yemin sindiriminde biyolojik bir değer taşımaz. Fakat istatistiki olarak sindirimle ilişkisi bulunduğu formüllerde kullanılmaktadır (Van Soest, 1994). ADF'nin en önemli kullanım alanlarından birisi, sıcaktan etkilenerek yapısı değişen ve dolayısıyla sindirilemeyen protein miktarının ölçümüdür.

Çizelge 1. Yonca bitkisinde kesim zamanı ve yaş kuru olmasına bağlı olarak HS, ADF, NDF oranları

Yonca kesim dönemi	Yöntemin adı		
	%HS	%ADF	%NDF
Erken çiçeklenmede, yaş	25	31	40
Orta çiçeklenme, yaş	28	35	46
Tam çiçeklenme, yaş	31	37	52
Erken çiçeklenme, kuru	23	31	42
Orta çiçeklenme, kuru	26	35	46
Tam çiçeklenme, kuru	32	39	52

HS = ham selüloz (selüloz), ADF = Asit deterjanda çözünmeyen lif (selüloz ve lignin) ve NDF = Nötr deterjanda çözünmeyen lif (hemiselüloz, selüloz ve lignin)

Kaynaklar

- Belyea R. L. and R. E. Ricketts. 1980. New method of determining energy content and evaluating heat damage in forages for dairy cattle. University of Missouri. Extension: EC931.
- NFTA, National forage testing association. 2004. <http://www.foragetesting.org/>
- NRC, National Research Councils. 1984. Nutrition requirements of beef cattle. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Licitra, G., T. M.Hernandez, and P. J.Van Soest. 1996. Standardization of procedures for N fractionation of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. and Technol. 57:347
- Sniffen C. J., J. D. O'Conner, P. J. Van Soest, D. G. Fox and J. B. Russell. 1994. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim Sci. 70:3562 – 3577.
- Uden P., P.H. Robinson and J. Wiseman 2005. Use of detergent system terminology and criteria for submission of manuscripts on new, or revised, analytical methods as well as descriptive information on feed analysis and/or variability. Anim. Feed Sci. and Technol. 118: 181–186.
- Van Soest, P. J. 1994. Fiber and physicochemical properties of feeds in: Nutritional ecology of the ruminant. Second edition. Cornell University press. 140-155.
- Van Soest, P. J., J. B. Robertson and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74:3583-3597.