



ARAŞTIRMA MAKALESİ / RESEARCH ARTICLE

Farklı Düzeylerde Laktik Asit Bakterileri ile Enzim İlavesinin Yaş Bira Posası Silajlarında Fermantasyon, Aerobik Stabilite ve *in vitro* Sindirim Üzerine Etkileri

Berrin Okuyucu, Mehmet Levent Özdüven*, Fisun Koç

Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Tekirdağ/Türkiye

MAKALE HAKKINDA / ARTICLE INFO

Makale Öyküsü / Article History:

Geliş Tarihi / Received: 12.03.2018

Kabul Tarihi / Accepted: 19.07.2018

Anahtar kelimeler:

Yaş bira posası
LAB+enzim inokulantı
Fermantasyon
aerobik stabilite
in vitro sindirim

Keywords:

Wet brewers grain
LAB+enzyme inoculant
Fermentation
Aerobic stability
in vitro digestibility

ÖZ

Bu çalışma, laktik asit bakteri+enzim (LAB+E) karışımı inokulantın yaş bira posası silajlarının fermantasyon ve aerobik stabilite özellikleri ile *in vitro* organik madde sindirilebilirliği (IVOMS) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla düzenlenmiştir. İnokulant olarak, *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus faecium* bakterileri ile birlikte selüloz, pentozanaz ve amilaz enzimlerini içeren SILAID (Global Nutritech Biotechnology LLC, Richmond, VA) kullanılmıştır. İnokulant silajlara 5×10^5 , 1×10^6 ve 5×10^6 kob g^{-1} düzeylerinde ilave edilmiştir. Yaş bira posaları yalnızca gaz çıkışına izin veren 1 litrelik cam kavanozlara silolanmışlardır. Altmış günlük silolanma süresi sonrasında açılan silajlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmış ve silajlar 5 gün süreyle aerobik stabilite testine tabi tutulmuştur. Ayrıca, silajların enzimatik yöntem ile IVOMS saptanmıştır. Sonuç olarak, LAB+E inokulantı ilavesi silajların pH, amonyak azotu ve asetik asit içeriklerini düşürürken, laktik asit içeriklerini ve *lactobacilli* sayısını artırmıştır ($P < 0,05$). Ayrıca LAB+E ilavesi silajların nötr deterjanda çözünmeyen lif, asit deterjanda çözünmeyen lif ve selüloz içeriğini azaltmış ($P < 0,05$) olmasına rağmen IVOMS etkilememiştir ($P > 0,05$).

The Effects of Lactic Acid Bacterial with Enzymes Inoculants on the Fermentation, Aerobic Stability and *in vitro* Digestibility of Wet Brewers Grain Silages

ABSTRACT

This study was carried out to determine the effect of lactic acid bacteria+enzyme (LAB+E) mixture inoculants on the fermentation, aerobic stability, and *in vitro* organic matter digestibility (IVOMD) of wet brewers grain silages. SILAID (Global Nutritech Biotechnology LLC, Richmond, VA) containing water soluble *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* bacteria with cellulase, pentosanaz and amylase was used as bacterial inoculants. Inoculants were applied to silages at 5×10^5 , 1×10^6 and 5×10^6 cfu/g levels. Wet brewers grains were ensiled in 1.0 litter special jars equipped with a lid that enabled gas release only. Silages were sampled for chemical and microbiological analyses on day 60 after ensiling and subjected to aerobic stability test for 5 days. In addition, IVOMD of silage was determined with enzymatic technique. Lactic acid bacteria+enzyme mixture inoculants decreased the pH, ammonia nitrogen and acetic acid whereas increased the lactic acid and *lactobacilli* count of silages ($P < 0.05$). In addition, LAB+E mixture inoculants decreased neutral detergent fiber, acid detergent fiber and cellulose contents ($P < 0.05$) whereas were not effect IVOMD of silages ($P > 0.05$).

Lütfen aşağıdaki şekilde atıf yapınız / Please cite this paper as follows:

Okuyucu, B., Özdüven, M. L. ve Koç, F. (2018). Farklı Düzeylerde Laktik Asit Bakterileri İle Enzim İlavesinin Yaş Bira Posası Silajlarında Fermantasyon, Aerobik Stabilite ve *in vitro* Sindirim Üzerine Etkileri. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 33(2): 145-151. doi: 10.28955/alinterizbd.404535

* Sorumlu yazar / Corresponding author

E-posta adresi / E-mail address: lozduven@nku.edu.tr (M. L. Özdüven)

Giriş

Bira üretimi amacıyla arpanın çimlendirilip kurutulmasıyla elde edilen maltın içindeki suda çözülmüş maddelerin süzme işlemi ile yapıdan uzaklaştırılması sonucu elde edilen kalıntı yaş bira posası (YBP) olarak adlandırılmaktadır (Öğün ve Polat, 1995; Westendorf ve Wohlt, 2002). Ülkemizde biralık arpa ihtiyacı yıllık 250.000 tondur (Sirat ve Sezer 2014). Bira yapımı amacıyla kullanılan 100 kg arpadan 170 kg yaş bira posası elde edildiği (Kaur ve Saxena, 2004) düşünülürse bu üretim miktarı ülkemiz için küçümsenmeyecek boyuttadır.

Yaş bira posaları kullanılan tahıla, endüstriyel işlemlere (sıcaklık, fermantasyon) ve saklama yöntemine (açıkta veya silolama) bağlı olarak kompozisyonu ve besin değeri oldukça değişken bir yan üründür. Üretim koşullarına bağımlı olarak YBP'sı yaklaşık %75-80 oranında su içermektedir (Allen ve ark., 1975; Kılıç ve Yurtman, 1998; Özduven ve Öğün, 2006; Wang ve ark., 2014). Yaş bira posasının kuru madde (KM)'sinde %42-54,7 nötr deterjanda çözünmeyen lif (NDF) ve %20,1-27,0 asit deterjanda çözünmeyen lif (ADF) içeriği ile yüksek düzeyde yapısal karbonhidrat içermesine rağmen kolay sindirilebilir olması ve %7-10 arasında ham yağ (HY) içermesi nedeniyle ruminantlar için yüksek enerji (7.8 NEL MJ kg⁻¹ KM) düzeyine sahip bir yem maddesi olarak kabul edilmektedir (NRC, 2001; Thomas ve ark., 2010). Ayrıca YBP'sı KM'de %23-29 ham protein (HP) içeriğine sahip olduğu bildirilmektedir (Pereira ve ark., 1998; Dhiman ve ark., 2003). Yaş bira posalarının depolanmaları sırasında içermiş oldukları yüksek su ve HP içeriği nedeniyle yaz aylarında 2-5 gün, kış aylarında ise iki haftaya kadar açık havada bozulmadan saklanabilmektedir (Thomas ve ark., 2010). Yaş bira posasının uygun bir şekilde depolanmaması, KM ve besin maddelerinde kayıplarına yol açmakta ve aflatoksinler (Asurmendi ve ark., 2013), okratoksin A (Amézqueta ve ark., 2009), zearalenon (Zinedine ve ark., 2007), patulin (Atanda ve ark., 2012) ve gliotoksin (Keller ve ark., 2012) gibi mikotoksinlerin üremesine neden olmaktadır.

Özetlenmeye çalışılan güçlükler nedeniyle, YBP'nın uzun süreli koruma amacıyla silolanarak saklanması pratikte yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Schneider ve ark., 1995, Geron ve ark., 2008). Ancak YBP'nın silajda arzu edilen yönde fermantasyonun gelişiminin sağlanması bakımından önem taşıyan suda çözünebilir karbonhidrat (SÇK) miktarının ve *Lactobacilli* sayılarının düşük olması ile yüksek düzeydeki su ve HP içerikleri silolanma yeteneklerini düşürmektedir (Allen ve ark., 1975; Özduven ve Öğün 2006; Coskuntuna ve ark., 2010; Koc ve ark., 2010). Bu nedenle YBP silajının yapılmasında katkı maddesi gerekmektedir.

Silolanan materyalde LAB'nin hızla gelişip çoğalmalarını sağlayarak iyi fermente olmasını sağlamak, besin maddelerindeki değer kaybını en aza indirmek, yem değerini artırmak, aerobik stabilitesi yüksek ve hijyenik riskleri az olan bir silaj elde etmek amacıyla silaj katkı maddeleri kullanılmaktadır (Filya, 2005; Ayaşan ve Karakozak, 2012). Laktik asit bakterileri ile enzimlerin bir karışım şeklinde silaj katkı maddesi olarak kullanılabilir. Filya (2005), bakteriyel inokulantların içerisinde bulunan enzimler LAB'nin

çalışması için ilave SÇK açığa çıkararak laktik asit (LA) ürettiğini ve üretilen bu LA'nin silaj fermantasyonunu geliştirdiğini, kaliteli ve besleme değeri yüksek bir silaj elde edilmesinde başrolü oynadığını bildirmektedir.

Türkiye'nin mevcut ekonomik koşulları göz önünde bulundurulduğunda, yüksek düzeylerde inokulant kullanımı oldukça pahalı bir yöntemdir. Bu çalışma yaş bira posasına farklı düzeylerde laktik asit bakteri+enzim (LAB+E) karışımı inokulant ilavesinin laboratuvar koşullarında yapılan silajların fermantasyon, aerobik stabilite ve *in vitro* organik madde sindirilebilirlikleri (IVOMS) üzerine olan etkilerinin saptanması amacıyla düzenlenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Yaş bira posası Trakya Bölgesinde faaliyet gösteren Anadolu Efes Biracılık ve Malt Sanayi A.Ş.'nin üretim işletmesinden temin edilmiştir. Inokulant olarak *Lactobacillus plantarum* ve *Enterococcus faecium* bakterileri ile birlikte selüloz, pentozanaz ve amilaz içeren SILAID (Global Nutritech Biotechnology LLC, Richmond, VA) kullanılmıştır. Inokulant silajlara 5x10⁵ (1 g/ton), 1x10⁶ (2 g/ton) ve 5x10⁶ (10 g/ton) cfu/g LAB içerecek şekilde 20 ml steril suda ayrı ayrı çözdürüldükten sonra taze YBP'sına homojen bir şekilde püskürtülerek karıştırılmıştır. Ayrıca katkı maddesi içermeyen kontrol grubuna da aynı miktar su ilave edilmiştir. Daha sonra YBP'sı yalnızca gaz çıkışına izin veren 1,0 litrelik laboratuvar tipi anaerobik kavanozlara (Weck, Wher-Oftlingen, Germany) 6 tekerrürlü olarak silolanmıştır. Kavanozlar, laboratuvar ortamında 25±2 °C sıcaklıkta tutulmuşlardır. Silolanmadan sonraki 60. günde açılan silajlarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Taze materyal ve silajlardan 25 g örnek bir behere alınıp 100 ml distile su katılarak blenderde 5 dakika süre ile parçalandıktan sonra elde edilen süzüğün pH değerini ölçmek için dijital pH metre (WTW İmolab) kullanılmıştır (Akyıldız 1986). Silajlarda NH₃-N tayini Anonim (1986)'in bildirdiği mikro distilasyon metoduna göre yapılmıştır. Taze materyal ve silaj örneklerinde SÇK içeriği Anonim (1986) tarafından bildirilen antron-tioüre yöntemi ile spektrofotometre (Shimadzu UV-1201, Kyoto, Japan) cihazında saptanmıştır. Laktik asit ve asetik asit (AA) analizlerinde Koç ve Coşkuntuna (2003) tarafından bildirilen spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Silajların *Lactobacilli* sayıları MRS agar, maya ve küf sayıları da malt ekstrat agar kullanılarak 30 °C sıcaklıkta 3 günlük inkübasyon dönemi sonucunda saptanmıştır (Seale ve ark., 1990). Nötr deterjanda çözünmeyen lif, ADF ve asit deterjanda çözünmeyen lignin (ADL) analizleri Goering ve Van Soest (1983) tarafından bildirilen yöntemlere göre yapılmıştır. Hemiselüloz (Hsel=NDF-ADF) ve selüloz (Sel=ADF-ADL) hesaplama yolu ile bulunmuştur. Silolanmanın 60. gününde açılan silajlara 5 gün süreyle Ashbell ve ark. (1991) tarafından geliştirilen aerobik stabilite testi uygulanmıştır. Aerobik stabilitenin 5. günündeki silaj örneklerinin pH'ları ölçülmüş ve karbondioksit (CO₂) üretimleri saptanmıştır. Ayrıca silajların içerdiği maya ve küf sayımları yapılmıştır. Silajların IVOMS Naumann ve Bassler (1993) tarafından bildirilen enzim

metoduna göre belirlenmiştir. Bu amaçla pepsin enzimi (Merck, 0,7 FIP-U/g, Germany) ve *Trichoderma viride* mikroorganizmalarından elde edilmiş selüloz enzimi (Merck, Onozuka R10; Germany) kullanılmıştır.

Araştırmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmış, önemli olan farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır (Soysal, 1998). İstatistiksel analizler MINITAB for Windows (2000) paket programıyla gerçekleştirilmiştir.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Taze ve silolanmış YBP'larına ait kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları Çizelge 1 ve 2' de verilmiştir. Araştırmada YBP'larına farklı düzeylerde katılan LAB+E inokulantları silajların pH, NH₃-N ve AA içeriklerini önemli düzeyde düşürmüştür (P<0,05). Ayrıca LA içeriklerini artırmış (P<0,05), KM, HP ve SÇK içeriklerini ise etkilememiştir (P>0,05, Çizelge

1). Diğer yandan, silajların *Lactobacilli* sayılarını kontrol silajına göre önemli düzeyde artırırken (P<0,05), maya ve küf sayılarını etkilememiştir (P>0,05, Çizelge 2).

Silolanmanın 60. gününde açılan silajlara ait 5 günlük aerobik stabilite testi sonuçları Çizelge 3' de verilmiştir. Her üç düzeyde katılan LAB+E inokulantı hava ile temas ettikleri bu 5 günlük süre içerisinde, silajların pH değerlerini, CO₂ üretimini, maya ve küf içeriklerini etkilememiştir (P>0,05, Çizelge 3).

Taze ve silolanmış YBP'nın hücre duvarı bileşenleri ve IVOMS'ne ilişkin analiz sonuçları Çizelge 4' de verilmiştir. Yaş bira posasına farklı düzeylerde LAB+E inokulantı ilave edilmesi silajlarının hücre duvarı bileşenleri üzerindeki etkileri önemli düzeyde bulunmuştur. İnokulant kullanılan silajların NDF, ADF ve selüloz içerikleri kontrol silajına göre önemli düzeyde azalırken (P<0,05), ADL ve hemisellüloz içerikleri de sayısal anlamda azalmış, ancak bu azalma önemsiz düzeyde olmuştur (P>0,05). Ayrıca LAB+E inokulantı kullanılan silajlarda IVOMS kontrol silajına göre önemsiz de olsa bir miktar artmıştır (P>0,05).

Çizelge 1. Yaş bira posası silajlarına ait kimyasal analiz sonuçları

Parametreler	Uygulamalar				
	Taze	K	I 1	I 2	I 3
pH	4,74	4,52±0,04 ^a	4,28±0,04 ^b	4,16±0,03 ^b	4,16±0,03 ^b
KM, %	23,61	22,98±0,28	23,11±0,20	23,16±0,27	23,29±0,47
HP, % KM	26,86	26,22±0,31	26,58±0,23	26,43±0,29	26,63±0,34
NH ₃ -N, g kg ⁻¹ TN	-	69,09±1,42 ^a	58,87±1,73 ^b	58,36±1,85 ^b	54,84±1,56 ^b
SÇK, kg ⁻¹ KM	21,19	10,76±0,58	10,36±0,65	10,83±0,78	10,08±0,63
LA, % KM	0,42	3,50±0,11 ^c	4,57±0,13 ^b	4,41±0,12 ^b	4,74±0,11 ^a
AA, % KM	0,21	2,53±0,08 ^a	2,12±0,09 ^b	1,70±0,08 ^a	1,70±0,11 ^a

K: kontrol, I 1: 5x10⁵ LAB+E, I 2: 1x 10⁶ LAB+E, I 3: 5x10⁶ LAB+E, ^{a, b, c}Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0,05, KM: kuru madde, SÇK: suda çözünebilir karbonhidratlar, HP: ham protein, NH₃-N: amonyak azotu, TN: toplam nitrojen, LA: laktik asit, AA: asetik asit

Çizelge 2. Yaş bira posası silajlarına ait mikrobiyolojik analiz sonuçları, log kob g⁻¹ KM

Parametreler	Uygulamalar				
	Taze	K	I 1	I 2	I 3
<i>Lactobacilli</i>	2,30	4,49±0,13 ^b	5,21±0,14 ^a	5,53±0,09 ^a	5,67±0,13 ^a
Maya	3,08	2,96 ±0,23	2,75±0,19	2,33±0,14	2,32±0,12
Küf	3,49	2,83±0,26	2,29±0,13	2,49±0,14	2,32±0,10

K: kontrol, I 1: 5x10⁵ LAB+E, I 2: 1x 10⁶ LAB+E, I 3: 5x10⁶ LAB+E, kob: logaritma koloniform ünite,

^{a, b}Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0,05

Çizelge 3. Yaş bira posası silajlarının aerobik stabilite test sonuçları

Parametreler	Uygulamalar			
	K	I 1	I 2	I 3
pH	4,78±0,03	4,87±0,04	4,82±0,05	4,81±0,05
CO ₂ , g kg ⁻¹ KM	14,58±0,70	16,34±0,99	17,62±0,84	17,16±0,99
Maya, log kob g ⁻¹ KM	4,31±0,03	4,36±0,06	4,32±0,04	4,49±0,11
Küf, log kob g ⁻¹ KM	3,96±0,09	3,84±0,03	4,03±0,09	3,96±0,10

K: kontrol, I 1: 5x10⁵ LAB+E, I 2: 1x 10⁶ LAB+E, I 3: 5x10⁶ LAB+E, CO₂: karbondioksit, kob: logaritma koloniform ünite

Çizelge 4. Yaş bira posası silajlarının hücre duvarı bileşenleri ve OMS analiz sonuçları, % KM

Parametreler	Taze	Uygulamalar			
		K	I 1	I 2	I 3
NDF	56,87	56,25±0,22 ^a	54,08±0,27 ^b	54,82±0,19 ^b	54,54±0,37 ^b
ADF	27,24	27,03±0,42 ^a	25,81±0,29 ^b	25,89±0,07 ^b	25,71±0,14 ^b
ADL	5,05	5,11±0,10	4,73±0,09	4,83±0,09	4,95±0,11
Hemiselüloz	29,63	29,21±0,30	28,27±0,51	28,93±0,22	28,83±0,35
Selüloz	22,19	22,08±0,15 ^a	21,08±0,32 ^b	21,06±0,13 ^b	20,60±0,15 ^b
IVOMS	46,84	47,30±0,81	48,45±0,44	48,46±0,41	49,44±0,65

K: kontrol, I 1: 5x10⁵ LAB+E, I 2: 1x 10⁶ LAB+E, I 3: 5x10⁶ LAB+E, NDF: nötr deterjanda çözünmeyen lif, ADF: asit deterjanda çözünmeyen lif, ADL: asit deterjanda çözünmeyen lignin, IVOMS: *in vitro* organik madde sindirilebilirliği, ^{a, b}Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir, P<0,05

Sonuç ve Öneriler

Araştırmada silolama öncesi YBP'nin pH'sı 4,74 olarak belirlenmiştir. Saptanan pH değerinin Erman ve Yurtman (1998) ile Özdüven ve Ögün (2006)'ün YBP için bildirdikleri değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Kuru madde içeriği %23,61 olarak saptanan taze materyalin KM'sinde saptanan HP (%26,86), NDF (56,87), ADF (27,24) değerleri Thomas ve ark. (2010) ve Wang ve ark. (2014)'nin bildirdikleri değerler ile benzerlik göstermektedir. Silajda arzu edilen yönde fermantasyon gelişiminin sağlanması bakımından önem taşıyan SÇK miktarı YBP'nda 21,19 g kg⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan YBP'nin SÇK miktarının düşük olması, üretim aşamalarında uygulanan işlemlerin yapısal olmayan karbonhidratları ortamdaki tamamen uzaklaştırıldığı bir göstergesidir. Araştırmada saptanan YBP'nin SÇK içerikleri Wang ve ark. (2014)'nin bildirdiği 21,10 g kg⁻¹ KM değeri ile benzer, Koç ve ark. (1999)'nin 10,42 g kg⁻¹ KM olarak bildirdiği değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Üretim koşullarının YBP'da neden olduğu önemli değişimlerden birisi mikrobiyal kompozisyonudur. Silolama öncesi YBP'nda *lactobacilli*, maya ve küf sayıları sırasıyla 2,30; 3,08 ve 3,49 log kob g⁻¹ KM olarak belirlenmiştir. Bira üretimi aşamalarında materyale uygulanan sıcaklık 75 °C'ye kadar yükselebilmektedir. Bu nedende *lactobacilli* ve maya sayılarının minimuma inebildiği, buna karşın spor oluşturma yeteneğine sahip *clostridia* türlerinin varlığını sürdürdüğü bildirilmektedir (Schneider ve ark., 1995; Özdüven ve Ögün, 2006). Nitekim bu çalışmada YBP'nda *lactobacilli* sayısının düşük olmasını üretim aşamalarında uygulanan yüksek sıcaklık ile açıklayabiliriz. Taze YBP'nin

mikrobiyolojik kompozisyonu ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar, benzer konularda yapılan araştırma sonuçları ile uyumludur (Erman ve Yurtman, 1998; Koç ve ark., 2010)

Silajların pH değerleri, amonyak azotu ve organik asitlerin (laktik, asetik ve bütirik asit) miktar ve kompozisyonları fermantasyonun kalitesini belirlemektedir (Filya, 2005). Bu çalışmada, LAB+E inokulantı kullanılan grupların tümünde saptanan pH değerleri (pH 4,16-4,28) kontrol grubuna (pH 4,52) göre önemli düzeyde düşük bulunmuştur. Kaliteli silajlarda pH 3,8-4,2 arasında değiştiği bildirilmektedir (Kung ve Shaver, 2001). LAB+E kullanılan silajlarda saptanan pH değerlerinin kaliteli bir silajda olması gereken değerler (pH 3,7-4,2) ile uyum içerisinde olduğunu göstermektedir. Laktik asit bakterileri+E inokulantı ilave edilen silajlar ile kontrol silajı arasında NH₃-N içerikleri bakımından farklılıklar önemli olup, LAB+E kullanım dozuna bağlı olarak düşüş göstermiştir (P<0,05). Bunda, bu silajlarda gerçekleşen homolaktik fermantasyon ve daha az düzeydeki protein parçalanmasının etkili olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte tüm silajlarda saptanan NH₃-N düzeyleri McDonald ve ark. (2002) tarafından kaliteli bir silaj için bildirilen toplam nitrojen (TN)'de 100 g kg⁻¹ düzeyinin altında bulunmuştur. Yaş bira posası silajlarının SÇK içerikleri %10,08-10,83 g kg⁻¹ KM arasında değişmiş olup, farklı düzeylerde LAB+E karışımı inokulant kullanılması silajların SÇK içeriklerini etkilememiştir (P>0,05). Çalışmada LAB+E ilavesi YBP silajlarında LA içeriklerini kontrol silajına göre arttırırken, AA içeriğini ise azalttığı görülmüştür. Bu bulgular üzerinde özellikle YBP'nin silaj fermantasyonu açısından SÇK içeriği yetersiz olmasına rağmen, LAB+E karışımı inokulantın içerdiği

enzimlerin hücre duvarını ve nişastayı parçalaması sonucunda açığa çıkan ilave ŞÇK'nın *lactobacilli* tarafından fermente edilmesi sonucu bu silajlarda kontrol silajına göre daha yüksek düzeyde LA üretimini sağlamış olabilir. Silajlarda AA içeriği ile KM tüketimi arasındaki negatif korelasyon nedeni ile önem taşıdığı, yüksek oranda AA içeren silajlarda amino asitlerin deaminasyonu sonucunda NH₃-N miktarının da yükseldiği bildirilmektedir (McDonald ve ark., 1991). Bu çalışmada da LAB+E inokulantı kullanılan silajlarda AA içeriklerinin kontrol silajına göre daha düşük olması ile aynı gruplara ilişkin NH₃-N değerleri paralellik göstermektedir.

Araştırmada farklı düzeylerde kullanılan inokulantlar, silajların *lactobacilli* sayılarını önemli düzeyde artırmışlardır (P<0.05, Çizelge 2). Bu silajlarda LAB'nin dominant mikroflora olması ve LAB faaliyeti için enzimlerin hücre duvarını ve nişastayı parçalayarak ilave ŞÇK açığa çıkarması nedeniyle bunun beklenen bir gelişme olduğu söylenebilir. Allen ve Stevenson (1975), başlangıç materyalinde yeterli *lactobacilli* olması halinde bakteriyal inokulant kullanımının önemli avantajlar getirmeyeceğini bildirmişlerdir. Bu görüş araştırmadan elde edilen bulguları destekler niteliktedir. Silajlardaki maya sayıları farklı düzeylerde ilave edilen LAB+E karışımı inokulantından etkilenmemiştir. Silajlara fermantasyon sırasında herhangi bir şekilde hava girişi mümkün olmadığı için, silajlarda görülen düşük düzeydeki maya sayısının taze materyalinde bulunan mayalar olabileceği düşünülmektedir. Silajların mikrobiyolojik özellikleriyle ilgili olarak elde edilen bulgular, benzer konularda yapılan araştırma sonuçları ile uyumludur (Sucu ve Aydoğan Çiftçi, 2016; Ozduven ve ark., 2017).

Çizelge 3'den de görüldüğü gibi, farklı düzeylerde LAB+E inokulantı kullanılan YBP silajlarının aerobik stabilitesi üzerindeki etkileri önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Beş gün boyunca doğrudan hava ile temas eden tüm silajların pH değerlerinde bir miktar yükselme görülmekle birlikte gruplar arasındaki farklılıklar önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Ayrıca tüm silajlarda CO₂ üretimi görülmüştür. Aerobik stabilite döneminde görülen CO₂ üretimine mayaların neden olduğu bildirilmektedir (Seale, 1986). Nitekim bu dönemde tüm silajlarda maya sayılarında artış olmuştur. Silaj ortamında bulunan mayaların aerobik dönemde LA ve ŞÇK'ı tüketerek CO₂ üretimine yol açtığını söyleyebiliriz.

Yaş bira posasına farklı düzeylerde LAB+E karışımı inokulantı ilavesi, silajların hücre duvarı bileşenleri üzerine önemli düzeyde etkili olmuştur. Araştırmada kullanılan LAB+E inokulantında bulunan hücre duvarını ve nişastayı parçalayan enzimler YBP silajlarının NDF, ADF ve selüloz içeriğini düşürmüştür. Bunun sonucunda silajların IVOMS kontrol silajına göre önemsiz de olsa bir miktar artmıştır (P<0.05, Çizelge 4). Elde edilen bulgular silajlara katkı maddesi olarak LAB+E karışımı inokulantların ilavesinin NDF, ADF ve selüloz oranlarını azalttığını belirleyen araştırma sonuçları ile uyumludur (Filya, 2002; Polat ve ark., 2005; Özduven ve ark., 2009; Sucu ve Aydoğan Çiftçi, 2017).

Sonuç olarak, YBP'na farklı düzeylerde ilave edilen LAB+E karışımı inokulantlar, silajların fermantasyon özelliklerini

olumlu yönde etkilemişlerdir. Diğer yandan araştırmada kullanılan her üç doz inokulant da silajların aerobik stabiliteelerini etkilememiştir. İnokulantlar silajların NDF, ADF ve selüloz içeriklerini azalmış ancak IVOMS'ni etkilememiştir. Nitekim silajın fermantasyon özelliklerini ve yem değerini iyileştirmek amacıyla LAB+E inokulantının kullanılabilmesi, etkili dozun 5x10⁶ kob/g olmakla birlikte 5x10⁵ kob/g ve üzerindeki dozların da uygulanabileceği söylenebilir.

Kaynaklar

- Akyıldız, A.R., 1984. Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları: 895, Ders Kitabı: 213, s. 236, Ankara.
- Allen, W.R., and Stevenson, K.R., 1975. Influence of additives on the ensiling process of wet brewers grains. *Canadian Journal of Animal Science*, 53: 391-402.
- Allen, W.R., Stevenson, K.R., and Buchanan-Smith, J.G., 1975. Influence of additives on short-term preservation of wet brewers grains stored in uncovered piles. *Canadian Journal of Animal Science*, 55:609-618.
- Amézqueta, S., González-Peñas, E., Murillo-Arbizu, M., and López de Cerain, A., 2009. Ochratoxin A decontamination: A review. *Food Control*, 20: 326-333.
- Anonim, 1986. The Analysis of Agricultural Material, Reference Book: pp. 427-428, London.
- Ashbell, G., Weinberg, Z.G., Azrielia, A., Hen, Y., and Horev, B., 1991. A simple system to determine the aerobic determination of silages. *Canadian Agricultural Engineering*, 33: 391-395.
- Asurmendi, P., Barberis, C., Dalcero, A., Pascual, L., and Barberis, L., 2013. Survey of *Aspergillus* section Flavi and aflatoxin B1 in brewer's grain used as pig feedstuff in Cordoba, Argentina. *Mycotoxin Research*, 29 (1): 3-7.
- Atanda, S.A., Aina, J.A., Agoda, S.A., Usanga, O.E., and Pessu, P.O., 2012. Mycotoxin management in agriculture: A review. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2(Suppl. 3.1): 250-260.
- Ayaşan, T. ve E. Karakozak. 2012. İnokulant kullanımının değişik yem bitkilerinden oluşan silajlarda ham besin maddeleri ile kalite üzerine etkisi. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*. Cilt 26. Sayı 2. S. 093-098.
- Coskuntuna, L., Koc, F., Ozduven, M.L., and Coskuntuna, A., 2010. Effects of organic acid on silage fermentation and aerobic stability of wet brewer's grain at different temperatures. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16 (5): 651-658.
- Dhiman, T.R., Bingham, H.R., and Radloff, H.D., 2003.

- Production response of lactating cows fed dried versus wet brewers' grain in diets with similar dry matter content. *Journal of Dairy Science*, 86: 2914-2921.
- Erman, M.S., ve Yurtman, İ.Y., 1998. Bira posası silajlarında katkı maddesi olarak laktik asit bakteri kullanımının kalite üzerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 4 (2): 55-57.
- Filya, İ., 2002. Laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı silaj inokulantlarının mısır silajı üzerine etkileri. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26: 679-687.
- Filya, İ., 2005. Silaj Yapımı, Teknolojisi ve Kullanımı. Süt Hayvancılığı Eğitim Merkezi Yayınları, s 60, Bursa.
- Geron, L.J., Zeoula, L.M., Erkel, J.A., do Prado, I.N., Jonker, R.C., and Guimaraes, K.C., 2008. Digestibility coefficient and ruminal characteristics of cattle fed ration containing brewer grain. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(9): 1685-1695
- Goering, H.K., and Van Soest, P.J., 1983. Forage Fiber Analyses. *Agricultural Handbook*, No 379, Washington.
- Kaur, V.I., and Saxena, P.K., 2004. Incorporation of brewery waste in supplementary feed and its impact on growth in some carps. *Bioresour Technology*, 91: 101-104.
- Keller, L.A.M., Keller, K.M., Monge, M.P., Pereyra, C.M., Alonso, V.A., Cavaglieri, L.R., Chiacchiera, S.M., and Rosa, C.A.R., 2012. Gliotoxin contamination in and pre- and postfermented corn, sorghum and wet brewer's grains silage in Sao Paulo and Rio de Janeiro State, Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, 112: 865-873.
- Kılıç Y. ve Yurtman, İ.Y., 1998. Süt sığırı rasyonlarında kullanılan sanayi yan ürünlerinde karbonhidrat sınıflarının tespiti üzerine bir araştırma. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 4:52-54.
- Koc, F., and Coskuntuna, L., 2003. The comparison of the two different methods on the determination of organic acids in silage fodders. *Journal of Animal Production*, 44: 37-47.
- Koc, F., Ozduven, M.L., Coskuntuna, L., and Polat, C., 2009. The effects of inoculant lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of sunflower silage. *Poljoprivreda / Agriculture*, 15(2): 47-52.
- Koç, F., Özduven, M.L., ve Yurtman, İ.Y., 1999. Yaş bira posası - mısır karışımı silajlarda kalite özellikleri ve aerobik dayanıklılık üzerinde çalışmalar. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 5 (2): 69- 76.
- Kung, L.J.R., and Shaver, R., 2001. How good is your silage making? *Hoard's Dairyman*. 146: 597.
- McDonald, P., Henderson, A.R., and Heron, S.J.E., 1991. *The Biochemistry of Silage*. Second Edition. 340 p. Chalcombe Publication.
- McDonald, P., Edwards, R.A., and Greenhalgh, J.F.D., 2002. *Animal Nutrition*. 6th. Edition. Longman Scientific and Technical Publucation. pp. 515-535.
- MINITAB, 2000. Minitab Incoporation. Minitab for Windows, Release 13 for Windows. User's Guide 2-Data Analysis and Quality Tools, Minitab Inc, USA.
- Naumann, C., and Bassler, R., 1993. *Die Chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Methodenbuch, Band III. 3. Erg., Verlag Naumann, Melsungen.*
- NRC, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Revised Edition, Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture and Natural Resources, National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C.
- Ozduven, M.L., ve Ögün, S., 2006. Yaş bira posası-ayçiçeği hasılı karışım silajlarında fermantasyon özellikleri ve toklularda ham besin maddelerinin sindirilebilirliği üzerine etkileri. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 3(3): 245-252.
- Ozduven, M.L., Koç, F., and Akay, V., 2017. Effects of bacterial inoculants and enzymes on the fermentation, aerobic stability and in vitro organic matter digestibility characteristics of sunflower silages. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16(1):22-27.
- Ozduven, M.L., Koc, F., Polat, C., and Coskuntuna, L., 2009. The effects of lactic acid bacteria and enzyme mixture inoculants on fermentation and nutrient digestibility of sunflower silage. *The Journal of the Faculty of Veterinary Medicine University of Kafkas*, 15 (2): 195-199.
- Polat, C., Koç, F., ve Özduven, M.L., 2005. Mısır silajında laktik asit bakteri ve laktik asit bakteri+enzim karışımı inokulantların fermantasyon ve toklularda ham besin maddelerinin sindirilme dereceleri üzerine etkileri. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 2(1): 13-22.
- Ögün, S., ve Polat, C., 1995. *Hayvan Beslemeye Giriş*. Trakya Üniversitesi, Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Yayın No: 234, Ders Kitabı No: 28, sayfa 163, Tekirdağ
- Pereira, J.C., Carro, M.D., Gonzalez, J., Alvir, M.R., and Rodriguez, C.A., 1998. Rumen degradability and intestinal digestibility of brewers' grains as affected by origin and heat treatment and of barley rootlets. *Animal Feed Science and Technology*, 74: 107-121.
- Schneider, R.M., Harrison, J.H., and Loney, K.A., 1995. The effects of bacterial inoculants, beet pulp, and propionic acid on ensiled wet brewers grains. *Journal of Dairy Science*, 78: 1096-1105.
- Seale, D.R., Pahlow, G., Spoelstra, S.F., Lindgren, S., Dellaglio, F., and Lowe, J.F., 1990. Methods for the microbiological analysis of silage. *Proceeding of The Eurobac Conference*, 147, Uppsala.

- Seale, D.R., 1986. Bacterial inoculants as silage additives. *Journal of Applied Bacteriology*, 61 (Suppl.): 9-26.
- Sirat, A., ve Sezer, İ., 2014. Samsun ilinde arpa üretim potansiyeli. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4 (2): 183-192.
- Soysal, Mİ, 1998. Biyometrinin Prensipleri (İstatistik I ve II Ders Notları), Yayın No:95, Ders Kitabı No: 64, T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi, s.331, Tekirdağ.
- Sucu, E., and Aydoğan Cifci, E. 2016. Effects of lines and inoculants on nutritive value and production costs of triticale silages. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 45(7): 355-364.
- Thomas, M., Hersom, M., Thrift, T., and Yelich, J., 2010. Wet brewers' grains for beef cattle. Univ. Florida, IFAS Extension, AN241.
- Wang, B., Luo, Y., Myung, K.H., and Liu, J.X., 2014. Effects of storage duration and temperature on the chemical composition, microorganism density, and in vitro rumen fermentation of wet brewers grains. *Asian Australas Journal of Animal Science*, 27(6): 832-840.
- Westendorf, M.L., and Wohlt, J.E., 2002. Brewing by-products: their use as animal feeds. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 18 (2): 233-252.
- Zinedine, A., Soriano, J.M., Moltó, J.C., and Mañes, J., 2007. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, 45: 1-18.

