

Research Article
(Araştırma Makalesi)



J. Anim. Prod., 2019, 60 (2): 117-123

DOI: 10.29185/hayuretim.555562

Sibel SOYCAN ÖNENÇ  0000-0001-9452-4435
Firdevs KORKMAZ TURGUD  0000-0002-6218-0241
Aslı TURAN UÇMAN  0000-0001-5118-9155

Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni
Bölümü Yemler ve Hayvan Besleme Anabilim Dalı,
59030, Tekirdağ

Corresponding author: ssonenc@nku.edu.tr

*Bu makalenin bir bölümü, 01-04 Kasım 2018 tarihlerinde
2. Uluslararası Hayvan Besleme kongresinde sözlü
bildiri olarak sunulmuştur.

Kekik ve Kimyon Uçucu Yağlarının Yonca Silajlarının Fermantasyon Kalitesi, Aerobik Stabilitesi ile Yem Değeri Üzerine Etkileri*

Effects of Oregano and Cumin Essential Oils on Fermentation Quality, Aerobic Stability and *In Vitro* Metabolic Energy Contents of Alfalfa Silages

Alınış (Received): 18.04.2019

Kabul tarihi (Accepted): 02.09.2019

Anahtar Kelimeler:

Yonca, silaj, kekik, kimyon.

Keywords:

Alfalfa, silage, oregano, cumin.

ÖZ

Amaç: Bu araştırmanın amacı, yoncaya kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesinin fermantasyon kalitesi, aerobik stabilitesi ile *in vitro* metabolik enerji içerikleri üzerine etkilerini belirlemektir.

Materyal ve Metot: Yonca, çiçeklenme başlangıcında (5. biçim) hasad edilip, 8-10 saat soldurulmuştur. Araştırma, katkı maddesi ilave edilmeyen kontrol, 650 mg/kg düzeyinde kekik ve kimyon uçucu yağları ilave edilerek oluşturulan 3 grupta, 4 tekerrür olarak yürütülmüştür. Çalışma, çiftlik koşullarında bir depoda (8±2 °C) gerçekleştirilmiş, silolamanın 120. gününde açılan silajlara kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Ayrıca, 5 gün süre ile aerobik stabilite testi uygulanmıştır.

Bulgular: Kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesi pH, suda çözülebilir karbonhidrat ve amonyak azotu miktarlarını önemli düzeyde (P<0.01) düşürmüştür. Oysa kuru madde ve laktik asit içerikleri artmıştır (P<0.01). Enzimde çözünen organik madde miktarları ise başlangıç materyaline göre düşmüş, kontrole göre önemli düzeyde yükselmiştir (P<0.01). Araştırmada, toplam mezofilik aerobik bakteri, enterobakter, maya ve küf sayıları, kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesiyle düşmüş (P<0.01), laktik asit bakteri sayıları ise artmıştır (P<0.01).

Sonuç: Yoncaya kekik ve kimyon uçucu yağlarının 650 mg/kg düzeyinde katılması, silaj fermantasyonunu teşvik etmiş, aerobik stabiliteyi geliştirmiştir. Ancak, kekik uçucu yağı küf gelişimini kimyon ise maya gelişimini önlemede daha ön plana çıkmıştır.

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to determine the effects of the addition of oregano and cumin essential oil to alfalfa on the fermentation quality, aerobic stability and *in vitro* metabolic energy content.

Material and Methods: The alfalfa was harvested at the beginning of flowering (5th cutting), and was wilted for 8-10 hours. The study was carried out as 4 replicates in 3 groups formed by without essential oil control, the addition of oregano and cumin essential oils at 650 mg / kg.

The study was carried out under farmland conditions in a closed place (8±2 °C); chemical and microbiological analysis were conducted on the silages uncovered on the 120th day. Furthermore, aerobic stability test was carried out for 5 days.

Results: The addition of oregano and cumin essential oil decreased significantly (P<0.01) in the pH, water soluble carbohydrate and ammonia nitrogen amounts. However, dry matter and lactic acid contents was increased (P<0.01). In the study, the addition of oregano and cumin essential oils was decreased in total mesophilic aerobic bacteria, enterobacter, yeast and mould counts, while lactic acid bacteria numbers was increased (P<0.01).

Conclusion: The addition of oregano and cumin essential oils at 650 mg/kg, promoted silage fermentation. In the aerobic period, there was decreased in the pH, production of CO₂, total mesophilic aerobic bacteria, yeast and mould counts, and thus improved aerobic stability. Oregano essential oil is most effective in preventing mould growth, whereas cumin has become more prominent in preventing yeast growth.



GİRİŞ

Silolama, doğal olarak oluşan epifitik bakterilerin anaerobik şartlarda fermentasyonu ile oluşan yemlerin korunmasında, önemli ve çok yaygın kullanılan bir yöntemdir. Bu bakteriler, laktik asit (LA) üretmek için bitkilerin kolay fermente edilebilir karbonhidratlarını kullanırlar. Laktik asit, pH'yı düşürerek besin maddelerini korur ve bozulmadan sorumlu istenmeyen mikroorganizmaların büyümesini önler (McDonald ve ark. 1991).

Yonca gibi tampon kapasitesi yüksek, suda çözülebilir karbonhidrat (SÇK) içeriği yetersiz olan yem bitkilerinin silolanmasında ortamın pH'sının düşmesi için daha fazla asit oluşumuna gereksinim vardır. Ancak, %30-35 KM'ye kadar yapılan soldurma hücre suyundaki şeker oranını arttırıp tampon kapasitesini düşürdüğünden suca çok zengin, protein oranı yüksek genç bitkilerin başlangıçta soldurma işlemine tabii tutulmasında yarar vardır (Basmacıoğlu ve Ergül, 2002). Yonca silajlarının korunmasını arttırmak için kimyasal maddeler, ekzojen enzimler ve laktik asit bakterisi (LAB) içeren inokulantlar kullanılmaktadır (McAllister ve ark. 1998).

Suda çözünür karbonhidrat içeriği düşük ve tampon kapasitesi yüksek yoncada, klostridial aktiviteyi inhibe etmek için gereken düşük pH değerinin elde edilmesi zor olmaktadır. Silajlarda önemli olan clostridialardan birincisi proteolitik clostridialar; amino asitlerden deaminasyon ve dekarboksilasyonla amonyak üretmektedir. Diğeri ise sakkarolitik clostridialar LA'yı kötü kokulu bütirik asit, karbondioksit ve hidrojene parçalamaktadır (Davidson ve Stevenson, 1973). Protein, ruminant rasyonlarının pahalı bir bileşeni olduğundan dolayı silajlardaki protein kayıplarını azaltmak için asitler, sıcaklık veya protein kompleksleştirici bileşikler konu alan önemli araştırmalar yapılmıştır (Salawu, 1999).

Uçucu yağlar, pekçok bitkide bulunan genellikle buhar ya da su destilasyonu ile elde edilen uçucu aromatik bileşiklerdir. Kimyasal olarak uçucu yağlar, yaygın olarak terpenoidler ve fenilpropanoidlerden oluşan ikincil metabolitlerin karışımıdır (Calsamiglia ve ark. 2007). Bu karışımların çoğu, alifatik aldehytlar, ketonlar, alkoller, fenoller, eterler ve diğer hidrokarbonları içermektedir (Thompson, 1989). Anılan bileşiklerin antiviral, antibakterial, antifungal ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir (Janssen ve ark. 1987; Thompson, 1989; García et al. 2003; Matan et al. 2006; Sukutta et al. 2008; Reichling et al. 2009). Bunlar arasından, cinnamaldehit, anethole, carvacrol,

tymol ve eugenol güçlü fungitoksik aktiviteye sahip bileşenlere örnek verilmektedir (Thompson, 1989).

Uçucu yağların ve bileşenlerinin ruminantlarda, rumen fermentasyonunu iyi manipule ettiği ve besin madde kullanımını geliştirdiği bildirilmiştir (Cardoza ve ark. 2004; Buquet ve ark. 2006; Calsamiglia ve ark. 2007; Soycan Önenç ve Akkan, 2008). Uçucu yağ bitkileri arasında kekik ve kimyonun ülkemizde çok fazla yetişmesi konu üzerinde durulması gerektiğini, bunların alternatif kullanım alanlarıyla ilgili araştırmaların yoğunlaşması gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Bugüne kadar silaj fermentasyonunu kontrol etmek amacıyla pek çok silaj katkı maddesi geliştirilmiş ve başarıyla kullanılmıştır. Son yıllarda ise silaj katkı maddelerinin silaj fermentasyonunu kontrol etmenin ötesinde, silaj tüketimi sonrasında hayvanların rumen fermentasyonu başta olmak üzere, sindirim sistemini düzenleyip yemden yararlanmayı iyileştirecek özellikte olan 'yeni nesil silaj katkıları' olmaları istenmektedir.

Bu araştırma, son biçim yoncaya soldurma sonrası antimikrobiyal katkı maddesi olarak kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesinin fermentasyon kalitesi, aerobik stabilite ve yem değeri üzerine etkilerini belirlemek amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Kırklareli İli Ertuğrul Köy'ünde yetiştirilen yonca, çiçeklenme başlangıcında (5. biçim, 11 Ekim) hasad edilip, 8-10 saat soldurulmuştur. Silaj makinasında yaklaşık 1.5-2.0 cm olacak şekilde parçalanmıştır. Kekik ve kimyon uçucu yağları 1x4 m alanda 8 kg taze materyale eşit oranda sprey edilerek karıştırılmıştır. Silaj materyali yaklaşık 2 kg plastik torbalara konularak sıkıştırılmış ve vakumla içindeki hava alındıktan sonra 10-12 kez streç filme, son olarak bir kat bantla kaplanmıştır. Araştırma, katkı maddesi ilave edilmeyen kontrol, 650 mg/kg düzeyinde kekik ve kimyon uçucu yağları ilave edilerek oluşturulan 3 grupta, 4 tekerrür olarak yürütülmüştür. Kekik (*Origanum onites* L.) ve kimyon (*Cuminum cyminum* L.) uçucu yağları, ihracat yapan bir firmadan (Ege Lokman Bitki Botanik Ltd. Kırkağaç, Manisa) temin edilmiştir. Uçucu yağ düzeyleri önceki çalışma (Soycan-Önenç ve ark. 2015,2017; Turan ve Soycan-Önenç, 2018; Akıncı, 2018) sonuçları dikkate alınarak belirlenmiştir. Bitkiden su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağların bileşimi, Çizelge 1'de verilmiştir. Silajlar, kapalı bir depoda (8±2 °C) 120 gün boyunca fermentasyona bırakılmıştır.



Çizelge 1. Kekik ve kimyon uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri, %
Table 1. The chemical composition of oregano and cumin essential oils, %

Kekik		Kimyon	
Bileşen adı	Miktar	Bileşen adı	Miktar
Carvacrol	59.03	Cuminaldehyde	44.47
Thymol	12.04	Carvacrol	12.12
Para Cymen	6.37	Para Cymen	8.82
Γ- Terpinen	3.86	Safranal	6.57
Diğerleri	18.32	Diğerleri	24.91
Tanımlanamayan	0.32	Tanımlanamayan	3.11
Toplam	100	Toplam	100

Weende analiz yöntemine göre silajların kuru madde (KM), ham kül (HK), ham protein (HP), ham yağ (HY) ve ham selüloz (HS) içerikleri (Bulgurlu ve Ergül, 1978) belirlenmiştir. Silajların pH değerleri, dijital bir pH metreyle, LA spektrofotometrik metot (Barker ve Summerson, 1941) ile amonyak azotu (NH₃-N) ve SÇK içerikleri ise Anonim (1986)'de belirtilen yöntemler doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Örneklerde LAB, maya ve küf sayıları Seale ve ark. (1990) tarafından geliştirilen yöntemle, toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayımı ise Anonim (2014)'e göre yapılmıştır.

Örneklerin enzimde çözünen organik madde (EÇOM) miktarları selüloz yöntemiyle (Naumann ve Bassler, 1993) bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre aşağıdaki eşitlikler kullanılarak *in vitro* metabolik enerji (ME) içerikleri hesaplanmıştır.

$$ME_{HBM}, ME, kcal/kg OM = 3260 + (0.455 \times HP^* + 3.517 \times HY^*) - 4.037 \times HS^* (TSE, 1991)$$

*Değerler g/kg OM'dir.

Çizelge 2. Soldurulmuş yonca ve silajlarının 120. gün kimyasal bileşimi, % KM

Table 2. Chemical composition of wilting alfalfa and silage ensiled at 120th days (DM %)

Grup	HP	HY	NÖM	HS	HK	ME _{HBM}	ME _{EÇOM}
SY	23.90	2.86	41.31	22.21	9.72	2255.8	1337
Kontrol	22.29 ^c	4.02 ^c	36.38 ^c	23.97 ^a	13.34 ^a	2100.2 ^c	1289.3 ^c
Kekik	25.92 ^a	5.57 ^b	37.72 ^b	20.59 ^b	10.19 ^c	2410.2 ^b	1532.4 ^b
Kimyon	22.82 ^b	6.18 ^a	40.32 ^a	20.57 ^b	10.10 ^b	2421.8 ^a	1747.6 ^a
SEM	0.57	0.32	0.58	0.57	0.05	52.69	66.34
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

SY: Soldurulmuş yonca, HP: Ham protein, HY: Ham yağ, HS: Ham selüloz, NÖM: N'siz öz madde, HK: Ham kül, ^{a,b,c}: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.01).

Çizelge 3. Yonca silajlarının 120.gün fermantasyon kalitesi

Table 3. Fermentation quality of alfalfa silage ensiled at 120th days

Grup	KM %	pH	SÇK g/kg KM	LA g/kg KM	NH ₃ -N g/kg TN	EÇOM % KM
SY	31.50	6.0	80	-	-	69.77
Kontrol	32.47 ^c	4.81 ^a	53.98 ^a	44.63 ^c	34.05 ^a	55.93 ^c
Kekik	32.91 ^b	4.11 ^b	31.03 ^c	53.76 ^a	15.14 ^c	63.72 ^a
Kimyon	33.33 ^a	4.23 ^b	45.86 ^b	49.03 ^b	28.32 ^b	59.67 ^b
SEM	0.13	0.11	3.36	1.32	2.80	1.12
P	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

SY: Soldurulmuş yonca, KM: Kuru madde, SÇK: Suda çözülebilir karbonhidrat, LA: Laktik asit, NH₃-N: Amonyak azotu, TN: Toplam nitrojen, EÇOM: Enzimde çözünen organik madde, ^{a,b,c}: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.01).

$$ME_{EÇOM} = 0.000706 \times HY + 0.00001262 \times EÇOM + 0.00003517 \times HP \text{ (Jeroch ve ark., 1999)}$$

HP, HY, HK, EÇOM değerleri g/kg KM içinde.

**Kcal'e çevrilmiştir.

Uçucu yağların kimyasal bileşenleri ise gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi (GC/MS, HP 6890 GC/5973 MSD) ile E. Ü. İlaç Geliştirme & Farmakokinetik Araştırma-Uygulama Merkezi (ARGEFAR) laboratuvarında belirlenmiştir.

Araştırma sonunda elde edilen veriler SPSS v.18 istatistik paket programının (SPSS 2009) GLM prosedüründe değerlendirilmiştir. Grup ortalamaları arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır (Efe ve ark. 2000).

BULGULAR

Yonca silajlarının ham besin madde içerikleri Çizelge 2'de verilmiştir. Kekik ve kimyon gruplarında, HP, HY ve N'siz öz madde (NÖM) miktarları kontrole göre yüksek (P<0.01), HS ve HK ise düşük bulunmuştur (P<0.01). ME_{HBM} ve ME_{EÇOM} içerikleri ise kontrol grubuna göre önemli düzeyde (P<0.01) yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 3'den de görüldüğü gibi, kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesi yonca silajlarının pH, SÇK ve NH₃-N miktarlarını önemli düzeyde (P<0.01) düşürmüştür. Oysa, KM ve LA içerikleri artmıştır (P<0.01). Enzimde çözünen organik madde miktarları ise başlangıç materyaline göre düşmüş, kontrole göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (P<0.01).



Çizelge 4.Yonca silajlarının mikrobiyolojik analiz sonuçları, log₁₀ cfu/g

Table 4. Microbiological analysis results of alfalfa silages, log₁₀ cfu/g

Grup	TMAB	LAB	Enterobacter	Maya	Küf
Kontrol	6.9 ^a	3.38 ^c	1.01 ^a	1.83 ^a	1.78 ^a
Kekik	6.7 ^b	5.5 ^a	0.34 ^b	0.8 ^b	0.85 ^b
Kimyon	6.1 ^c	5.3 ^b	0.06 ^c	0.3 ^c	0.70 ^c
SEM	0.03	0.01	0.08	0.02	0.02
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri, LAB: Laktik asit bakterileri, SEM: Ortalamanın standart hatası, a,b,c: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.01),

Çizelge 5.Yonca silajlarının aerobik stabilite test sonuçları

Table 5. Aerobic stability test results of alfalfa silages

Grup	KM %	pH	CO ₂ g/kg KM	TMAB log ₁₀ kob/g	Maya log ₁₀ kob/g	Küf log ₁₀ kob/g
3.gün						
Kontrol	32.58 ^c	5.57 ^a	13.69 ^a	7.31 ^a	4.74 ^a	2.26 ^a
Kekik	33.25 ^b	4.35 ^c	11.05 ^b	7.1 ^b	4.46 ^b	1.34 ^b
Kimyon	33.66 ^a	4.55 ^b	8.99 ^c	6.45 ^c	3.86 ^c	1.18 ^c
SEM	0.16	0.19	0.69	0.03	0.04	0.03
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
5.gün						
Kontrol	32.25 ^c	6.07 ^a	17.38 ^a	7.9 ^a	5.39 ^a	4.26 ^a
Kekik	32.82 ^b	5.11 ^c	13.80 ^b	7.56 ^b	4.74 ^b	2.93 ^c
Kimyon	33.11 ^a	5.38 ^b	10.84 ^c	7.11 ^c	4.21 ^c	3.33 ^b
SEM	0.13	0.14	0.96	0.03	0.01	0.02
P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri, SEM: Ortalamanın standart hatası, a,b,c: Aynı sütunda bulunan farklı harfler önemlidir (P<0.01).

Yonca silajlarının TMAB, enterobakter, maya ve küf sayıları (Çizelge 4), kekik ve kimyon uçucu yağ ilavesiyle düşmüş (P<0.01), LAB sayıları ise artmıştır (P<0.01).

Yapılan çalışmada, aerobik dönemin 3. ve 5. gününde belirlenen KM, pH, CO₂ üretimi değerlendirildiğinde, kekik ve kimyon uçucu yağ ilavesi aerobik bozulmayı yavaşlatmış (P<0.01), buna paralel olarak da TMAB, maya ve küf sayılarının gelişiminde (P<0.01) azalma görülmüştür.

TARTIŞMA

Yeşil yemlere iyi hava koşullarında yapılan soldurmanın, protein hidrolizini önleyerek silajların protein kalitesini arttırdığı bildirilmektedir. Baklagillerin silolanması, yüksek kaliteli yemlerin korunmasını sağlarken silolama sırasında önemli düzeylerde protein parçalanması ortaya çıkmaktadır (Cavalların ve ark. 2005). Bu çalışmada, kekik ve kimyon HP parçalanmasını önlemiş, özellikle kekik ilave edilen grupta HP miktarı %25.92 olarak bulunmuştur. Kekik grubunda amonyak azotu düzeyinin de en düşük olması bu durumu desteklemektedir. Yapılan çalışmalarda, farklı oranlarda kimyon ve kekik uçucu yağ ilavesinin bu çalışmayla benzer şekilde, HP'nin parçalanmasını önlemede etkili olduğu bildirilmektedir (Soycan

Önenç ve ark. 2015; Turan ve Soycan Önenç, 2018; Akıncı, 2018).

Deneme gruplarında HY miktarı, kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum çalışmada kullanılan her iki uçucu yağ oranının yüksek olması ve HY analizinde eterle hem yoncanın hem de katkılardaki uçucu yağın ekstrakte edilmiş olmasıyla açıklanabilir. Yeşil yemlerin silolandığında kuru otuna göre HY içeriğinin yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada, yoncanın kurutulduğunda %1.6 HY içerdiği, oysa aynı materyalin silajının yapıldığında ise %1.72 HY içerdiği bulunmuştur (Kamalak, 2005).

Silolama sırasında yoncaya kekik ve kimyon ilavesi silajların HS içeriğinde düşmeye neden olmuştur. Akıncı (2018), fiğ-yulaf silajlarına kimyon uçucu yağ ilavesinin HS miktarını bizim çalışmamızla benzer şekilde düşürdüğünü bildirmiştir. Oysa Turan ve Soycan Önenç (2018) yoncaya 300 mg kimyon uçucu yağ ilavesiyle HS miktarının düştüğünü, 500 mg da ise artış gösterdiğini belirlemiştir.

Silajların HK düzeylerindeki farklılıkların nedeni, silajlık materyallerin farklı düzeylerde inorganik madde (toprak vb.) içermelerinden kaynaklanmaktadır (Kurtoğlu, 2011). Bu çalışmada, kontrol grubunda HK içeriğinin yüksek bulunmuş olması, bu grubun en son hazırlanmış olmasından dolayı, alt kısımlarda taş ve toprak içermesiyle açıklanabilir.



Silaj katkı maddelerinin kuru madde içeriği, fermantasyon özellikleri ve silajlardaki proteolizi etkilediği bilinmektedir (Cavallarin ve ark. 2005). Bu araştırmada kekik ve kimyon ilave edilen gruplarda KM'nin yüksek olduğu görülmektedir. Yem bezelyesine kekik ve tarçın uçucu yağı ilavesinin, 60 günlük fermantasyonda KM içeriğini etkilemediği (Soycan Önenç ve ark., 2015), 120. günde arttırdığı bildirilmiştir (Soycan Önenç ve ark., 2017).

Uçucu yağ ilavesiyle silajların pH ve SÇK içerikleri düşerken, LA artmıştır. Bu durum 650 mg/kg düzeyinde kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesinin LAB sayılarını arttırarak (Çizelge 3), SÇK'nın LA'ya dönüşümünü arttırmış olmasından dolayı, artan LA'nın pH'yı düşürmesiyle açıklanabilir. Ayrıca, silaj fermantasyonunda LAB en önemli mikroorganizmalardır. Çünkü silo yemi LAB'ın ürettiği LA tarafından korunmaktadır (Woolford, 1984; McDonald ve ark., 1991). Silaj kalitesini iyileştirmenin temel noktasını, LAB sayılarındaki artma oluşturmaktadır. Dolayısıyla bu araştırmada muamele gruplarında LAB'ın artışı, kekik ve kimyonun silaj kalitesini iyileştirmede etkili olduğunun göstergesidir.

Yonca silajlarında katkı kullanımının, özellikle proteinin amonyağa parçalanmasını önemli düzeyde azalttığı, bunun sonucu olarak da yonca proteininden daha fazla yararlanıldığı bildirilmektedir (Kurtoğlu, 2011). Özellikle kullanılan kimyasal katkıların protein olmayan azotlu (NPN) bileşiklerin oluşumunu azalttığı, bununla birlikte peptid büyüklüklerini de etkilediği belirtilmektedir (Ding ve ark., 2013). Yapılan araştırmada, kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesinin silo yemlerinde protein parçalanmasının göstergesi kabul edilen $\text{NH}_3\text{-N}$ düzeyleri üzerine düşürücü etkisi olduğu bulunmuştur. Akıncı (2018)'de, $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarının özellikle kimyon uçucu yağının ilave edilen düzeyindeki artışa paralel düştüğünü, Turan ve Soycan Önenç (2018) ise uçucu yağ miktarındaki artışın $\text{NH}_3\text{-N}$ oluşumunu olumsuz etkilediğini bildirmiştir.

Proteinlerin hidrolizi esas olarak bitki peptidaz aktivitelerine bağlıdır. Peptidaz aktivitesi pH 5-7 arasında optimum, 4'ün altında ise çok düşük oranda devam eder (Henderson, 1993). Yapılan araştırmada silajların pH'larının 4'e yaklaştıkça (kekik, 4.11) peptidaz aktivitesinin düşerek $\text{NH}_3\text{-N}$ oluşumunun azaldığı, optimum pH sınırı olan 5'e yaklaştıkça ise arttığı belirlenmiştir. Proteolizis genellikle endopeptidazlar tarafından başlatılır, endopeptidazlar polipeptid zincirinin iç kısmındaki peptid bağlarının ayrılmasını sağlar, böylece serbest amino ve karboksil gruplarının sayısı artar. Bununla birlikte, polipeptidlerin terminal bağlarına ekzopeptidazların

bağlanmasına olanak verir (Rooke ve Hatfield, 2003). Bu nedenle oligopeptidlerin oluşumu temel olarak endopeptidazlara atfedilir. Silolama sırasında uçucu yağ ilavesi pH'yı düşürebilmektedir, bu ortam yonca silajındaki peptidazlar için optimum olmadığından dolayı peptidaz aktivitesi düşer. Kekik ve kimyon uçucu yağları içeren silajlarda, $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarının düşük olması, proteolizisi başlatan ve gerçekleşmesini sağlayan peptidazların aktivitesinin düşmesiyle de ilişkilendirilebilir.

Bu araştırmada Chaves ve ark. (2012) ile benzer şekilde TMAB sayıları kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesiyle düşmüştür. Ayrıca, TMAB sayıları içerisinde LAB'ında dahil olduğu düşünüldüğünde, söz konusu grupların LAB sayılarının da yüksek olması diğer bakteri sayılarının oldukça düşük olduğunu düşündürmektedir. Başka bir ifadeyle uçucu yağlar seçici antibakteriyal aktivite göstermiş, TMAB sayıları düşük bulunmuştur. Bu etki aerobik dönemde de devam etmiştir. Benzer sonuçlar, antibiyotiklerin aerobik stabilize üzerine etkilerine yönelik çalışmalarda da bildirilmiştir (Woolford ve Cook, 1978). Araştırmacılar, aerobik bozulmada maya ve küfler gibi bakterilerin de etkili olduğunu, bakterilerin laktik ve asetik asidi kullanarak aerobik bozulmaya katkıda bulunduğunu ayrıca belirtmişlerdir.

Uçucu yağ ilavesi enterobakter, maya ve küf gelişimini düşürmüş ancak Akıncı (2018)'le benzer şekilde engelleyememiştir. Enterobakterler, düşük pH'ya (4.5) duyarlıdır. Bu nedenle silajlarda enterobakter sayısındaki düşme silaj kalitesi için iyi bir gösterge olarak kabul edilmektedir (Kurtoğlu, 2011). Kekik ve kimyon gruplarında pH'nın 4.5'in altında bulunmuş olması enterobakter sayılarındaki düşmeyi açıklamaktadır. Ayrıca, silolama sırasında enterobakterlerin de büyük miktarlarda amonyak üretme yeteneklerinin olduğu bildirilmektedir (McDonald ve ark., 1991). Bu çalışmada, $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarındaki düşme enterobakter sayısındaki azalmayla da ilişkilendirilebilir.

Turan ve Soycan Önenç (2018) kimyon uçucu yağının, Soycan-Önenç ve ark., (2015) ise kekik, tarçın ve kekik+tarçın uçucu yağları ilavesinin küf gelişimini engellediğini bildirmiştir. Araştırmada kullanılan kekik (%59.03 karvakrol ve %12.04 timol) ve kimyon (% 44.47 cuminaldehide, % 12.12 carvacrol ve % 8.82 paracymen) uçucu yağlarının temel bileşenleri Soycan-Önenç ve ark. (2015) ile Turan ve Soycan Önenç (2018)'in kullandıklarıyla aynı olmasına karşın farklı sonuçların elde edilmesi doz artışına bağlanabilir. Ayrıca, soldurma ile maya gelişimi stimüle edilmektedir. Çok düşük oksijen düzeylerinde



bile canlı kalabilen mayaların yüksek LA konsantrasyonlarına ve düşük pH düzeyine de dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Kurtoğlu, 2011).

Kekik ve kimyon uçucu yağı ilavesi aerobik dönemde KM, pH, CO₂ üretimini etkilemiş, kontrole göre muamele gruplarında KM'nin yüksek, pH ve CO₂ üretiminin düşük olması, silajların bozulmasının yavaşladığının göstergesidir. Mayalar, LA'yı kullanabilmesi ve asiditeye direnç göstermesinden dolayı aerobik bozulmanın temel sorumlusu gösterilir (Kurtoğlu, 2011; Wilkinson ve Davies, 2013). Silajlarda maya sayılarının, 5 log cfu/g (doğal halde) düzeyini aşmış olmaları silajın bozulmuş olduğunun göstergesidir. Başka bir ifadeyle 5 log cfu/g (doğal halde) maya sayısı kritik değer olarak tanımlanır ve bunun üzerindeki silajlar bozulmuş olarak kabul edilir (Wilkinson ve Davies, 2013). Maya sayılarının muamele gruplarında hem anaerobik hem de aerobik dönemin 5. gününde kritik değer altında olması, kekik ve kimyonun silajın bozulmasını engellemiştir. Ayrıca, Soycan-Önenç ve ark. (2015) ile Turan ve Soycan Önenç (2018)'in bulgularıyla aerobik stabilite bulgularının uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Silolanacak materyale yeterli düzeyde uygulanan bir soldurma işlemi, katkı maddeleri uygulamasından daha iyi sonuçların alınmasını sağlayabilir (Kurtoğlu

2011). Araştırmada, soldurma ile başlangıç materyalinin KM içeriği % 31.5'ye çıkarılmış, kekik ve kimyon uçucu yağları ilavesiyle de EÇOM, ME_{HBM} ve ME_{EÇOM} içerikleri artmıştır. Ruminant rasyonlarında yonca önemli bir kaba yem kaynağıdır, soldurma ve silolama sırasında ortaya çıkan proteolizis özellikle yoncada azotun değerini düşürür. Bu durum, ruminantlar tarafından silaj kullanımını etkilemektedir (Tremblay ve ark., 2001). Oysa, yapılan çalışmada muamele gruplarında EÇOM içeriğinin yüksek bulunması, yonca silajlarının metabolik enerji değerlerinde de artışa neden olmuş, kekik ve kimyon uçucu yağları ilavesiyle yonca silajlarının yem değeri artmıştır.

SONUÇ

Yapılan araştırmaya göre; ekim ayında hasad edilen ve kısa süreli soldurulan yoncaya, kekik ve kimyon uçucu yağlarının 650 mg/kg düzeyinde katılması, silaj fermantasyonunu teşvik edici etki göstermiştir. Aerobik dönemde, pH, CO₂ üretimi, TMAB, maya ve küf sayılarında azalmaya neden olmuş aerobik stabiliteyi geliştirmiştir. Ancak, kekik uçucu yağı küf gelişimini kimyon ise maya gelişimini önlemede daha ön plana çıkmıştır. Ayrıca, kekik ve kimyon ilavesi EÇOM içeriğini arttırmış, bu da silajların metabolik enerji içeriklerinde artmaya neden olmuştur.

KAYNAKLAR

- Akinci Y. 2018. Kimyon uçucu yağının fiğ-yulaf silajının fermantasyon kalitesi, aerobik stabilitesi ve *in vitro* sindirilebilirlik üzerine etkisi. NKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü YL tezi.
- Anonim, 1986. The analysis of agricultural material. Reference book:427- 428. London.
- Anonim, 2014. Mikrobiyoloji - Gıda ve hayvan yemleri - Mikroorganizmaların sayımı için yatay yöntem. Yayma plak tekniğiyle 30°C'ta koloni sayımı, TS EN ISO 4833.
- Basmacıoğlu H, Ergül M. 2002. Silaj mikrobiyolojisi. Hayvansal Üretim 43(1):12-24.
- Barker SB, Summerson WH. 1941. The colorimetric determination of lactic acid in biological material. J. Biol. Chem. 138:535-554.
- Bulgurlu Ş, Ergül M. 1978. Yemlerin fiziksel kimyasal ve biyolojik analiz metotları. E.Ü. Baskı no: 127, İzmir.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C.2006. Plant Extracts Affect *In Vitro* Rumen Microbial Fermentation. Journal of Dairy Science. 89:761-771.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A. 2007. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of Dairy Science. 90: 2580-2595.
- Cardozo PW, S Calsamiglia, A Ferret, C Camel. 2004. Effect of natural plant extracts on ruminal protein degradation and profiles in fermentation continuous culture. Journal of Animal Science. 82:3230-3236.
- Cavallarin L, S Antoniazzi S, Borreani G, Tabacco E. 2005. Effects of wilting and mechanical conditioning on proteolysis in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop) wilted herbage and silage. Journal of Science Food Agriculture. 85:831-838.
- Chaves AV, Baah J, Wang Y, McAllister TA, Benchaar C. 2012. Effects of cinnamon leaf, oregano and sweet orange essential oils on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of Science Food Agriculture 92:906-915.
- Davidson T R, Stevenson KR. 1973. Influence of formic acid and formalin on quality of direct-cut alfalfa silage. Canadian Journal of Plant Science 3:75-79.
- Ding W, Guo X, Ataku K.2013.Characterization of peptides in ensiled alfalfa treated with different chemical additives. Animal Science Journal. 84:774-781.
- Efe E, Bek Y, Şahin M. 2000. SPSS'te çözümleri ile istatistik yöntemler II. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Yayın No:73, Ders Kitabı Yayın No:9.
- García CC, Talarico L, Almeida N, Colombres S, Duschatzky C, Damonte EB.2003. Virucidal activity of essential oils from aromatic plants of San Luis, Argentina. Phytotherapy Research.17:1073-1075.
- Henderson N. 1993. Silage additives. Animal Feed Science and Technology. 45:35-56.
- Janssen A M, Scheffer J J C, Baerheim Svendsen A. 1987. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. Planta Medica. 53:395-398.
- Jeroch H, Drochner W, Simon O. 1999. Nutrition on farm livestock. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart. 525 p.
- Kamalak A. 2005. Bazı kaba yemlerin gaz üretim parametreleri ve metabolik enerji içerikleri bakımından karşılaştırılması. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi. 8(2):116-120.
- Kurtoğlu V. 2011. Silaj ve silaj katkıları. Aybil Yayınevi, Konya.



- Matan N, Rimkeeree H, Mawson AJ, Chompreeda P, Haruthaithansan V, Parker M. 2006. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *International Journal of Food Microbiology*.107:180-185.
- McAllister, T.A., Feniuk,R., Mir, Z., Mir, P., Selinger, L.B., Cheng, K.-J. 1998. Inoculants for alfalfa silage: Effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Livestock Prod. Sci.* 53:171-18.
- McDonald P, Henderson N, Heron S. 1991. *The biochemistry of silage*. 2nd ed. Chalcombe publications, Marlow, Bucks, UK. 340 pp..
- Naumann C, Bassler R. 1993. *Methoden Buch, B. III. Die chemische untersuchung von futtermitteln*. VDLUFA- Verlag, Darmstadt.
- Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. 2009. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties-An Overview. *Forschende Komplementärmedizin*. 16:79-90.
- Rooke JA, Hatfield RD. 2003. *Biochemistry of ensiling*. In: Buxton DR , Muck RE , Harrison JH (eds), *Silage Science and Technology*, p. 133. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI.
- Salawu M B, Acamovic T, Stewart C S, Hvelplund T, Weisbjerg M R. 1999. The use of tannins as silage additives: effects on silage composition and mobile bag disappearance of dry matter and protein. *Anim. Feed Sci. Technol.* 82: 243–259.
- Seale DR, Pahlow G, Spoelstra SF, Lindgren S, Dellaglio F, Lowe JF. 1990. *Methods for the microbiological analysis of silage*. Proceeding of the Eurobac Conference.147. Uppsala.
- Soycan-Önenç S, Akkan S .2008. Bazı aromatik bitkilerin rumen uçucu yağ asitleri üzerine etkileri. V. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 30 Eylül-03 Ekim, Çorlu/Tekirdağ.
- Soycan-Önenç S, Koç F, Coşkuntuna L, Özdüven ML, Gümüş T. 2015. The effect of oregano and cinnamon essential oils on fermentation quality and aerobic stability of field pea silages. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 28(9):1281-1287.
- Soycan-Önenç S, Coşkuntuna L, Koç F, Özdüven ML, Gümüş T. 2017. Effects of essential oils of oregano and cinnamon on fermentation quality and *in vitro* metabolic energy of field pea silages. *Hayvansal Üretim*. 58(2):39-44.
- Sukutta U, Haruthaithansan V, Chantarapanont W, Dilokkunanant U, Suppakul P. 2008. Antifungal activity of clove and cinnamon oil and their synergistic against postharvest decay fungi of grape *in vitro*. *Kasetsart Journal-Natural Science*. 42:169-174.
- SPSS. 2009. *PASW Statistics for Windows, Version 18.0*. Chicago, SPSS Inc.
- TSE, 1991. *Hayvan yemleri- metabolik (çevrilebilir) enerji tayini (kimyasal metod)*. TS 9610, Aralık 1991, Ankara.
- Thompson D P. 1989. Fungitoxic activity of essential oil components on food storage fungi. *Mycologia*. 81(1):151-153.
- Tremblay G F, Bélanger G, McRae K B, Michaud R. 2001. Proteolysis in alfalfa silages made from different cultivars. *Canadian Journal of Plant Science* 81(4): 685-692.
- Turan A, Soycan Önenç S. 2018. Effect of cumin essential oil usage on fermentation quality, aerobic stability and *in vitro* digestibility of alfalfa silage. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 31(8):1252-1258.
- Wilkinson J M, Davies D R. 2013. The aerobic stability of silage:Key findings and recent developments. *Grass and Forage Science*.68:1-19.
- Woolford M K, Cook J E. 1978. A note on the effects on the aerobic deterioration of maize silage of the manipulation of the microflora by means of antibiotics. *Animal Feed Science and Technology* 3:89-94.

