



Effects of Chitosan and its Organic Acid Solutions on Corn Silage Quality

Selim Sırakaya^{1,a,*}

¹Aksaray Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Aksaray, Türkiye

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 03.10.2023 Accepted : 06.02.2024</p> <p>Keywords: Chitosan Lactic acid Acetic acid Silage quality Silage additive</p>	<p>Sometimes the use of additives is important to maintain silage group feeds at certain quality standards. Within the scope of this study, it was aimed to investigate the potential of using chitosan and its gelatinized solutions prepared with acetic and lactic acid, which have non-toxic, antimicrobial, antifungal and biodegradable properties, as additives in corn silage. Chitosan and its organic acid solutions were applied to corn silage in two different ways. Chitosan was mixed into the silaged samples at the rates of 0.5%, 1.0% and 2.0%. Additionally, gelatinized solutions prepared by adding 0.0%, 1.0% and 2.0% chitosan in 2% acetic and lactic acid solutions were sprayed on 10% corn silage. In chitosan groups, crude protein (CP), total digestible nutrients (TDN) and energy values (ME, NEL, NEM, NEG) were found to be higher than the other groups. CP values of NDF and ADF-insoluble residues (NDICP, ADICP) were found to be higher in the 2.0% chitosan group. Relative feed value (RFV) was found to be high in chitosan groups. Nutrients varied among all groups, but the correlation of variations between groups was not consistent. Ammonia nitrogen (NH₃-N) was highest in the 2.0% chitosan group. Butyric acid was detected only in groups with chitosan. The amount of lactic, acetic and propionic acid differed between the groups, but it was determined that these differences were not in proportion to the additive application rates. Mold was detected only in the control group and was not seen in the treatment groups. Enterobacteriaceae group microorganisms were not detected in the treatment groups. Yeast was mostly seen in groups containing chitosan. As a result, although chitosan and chitosan solutions caused positive changes in some parameters, they did not generally provide the desired level of improvement in terms of fermentative and microbiological quality.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 12(5): 739-746, 2024

Kitosan ve Organik Asitli Çözeltilerinin Mısır Silajı Kalitesine Etkileri

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 03.10.2023 Kabul : 06.02.2024</p> <p>Anahtar Kelimeler: Kitosan Laktik asit Asetik asit Silaj kalitesi Silaj katkısı</p>	<p>Silaj grubu yemlerin, belirli kalite standartlarında muhafaza edilmeleri noktasında, bazen katkı maddesi kullanımı önemlidir. Bu çalışma kapsamında, non-toksik, antimikrobiyal, antifungal ve biyobozunur özelliklere sahip kitosan ve kitosanın asetik ve laktik asitle hazırlanan jelatinize çözeltilerinin, mısır silajında katkı olarak kullanım potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır. Kitosan ve organik asitli çözeltileri, mısır silajına iki farklı biçimde uygulanmıştır. Mısır silajına, %0,5 - %1,0 ve %2,0 oranlarında kitosan karıştırılmış ayrıca %2'lik asetik ve laktik asit çözeltilerine, %0,0 - %1,0 ve %2,0 kitosan ilave edilerek hazırlanan jelatinize karışımlar, %10 oranında mısır silajına püskürtülmüştür. Kitosanlı gruplarda, ham protein (HP), toplam sindirilebilir besinler (TSB) ve enerji değerleri (ME, NEL, NEM, NEG), diğer gruplara oranla yüksek bulunmuştur. NDF ve ADF'de çözünmeyen kalıntıların HP değerleri (NDICP, ADICP), %2,0 kitosanlı grupta daha yüksek bulunmuştur. Nispi yem değeri (NYD), kitosanlı gruplarda yüksek bulunmuştur. Besin maddeleri tüm gruplar arasında değişkenlik göstermiş, fakat değişkenliklerin gruplar arasındaki kolerasyonu uyumlu bulunmamıştır. Amonyak azotu (NH₃-N) en fazla %2,0 kitosan grubunda görülmüştür. Bütirik asit sadece kitosanlı gruplarda tespit edilmiştir. Laktik, asetik ve propiyonik asit miktarları gruplar arasında farklılık göstermiş fakat bu farklılıklar katkı uygulama oranları nispetinde olmadığı belirlenmiştir. Küf sadece kontrol grubunda tespit edilmiş, uygulama gruplarında ise görülmemiştir. Laktik asit bakterileri (LAB) uygulama gruplarında, kontrol grubuna oranla daha az bulunmuş ve en az %2,0 kitosan grubunda görülmüştür. Enterobakteri grubu mikroorganizmalar uygulama gruplarında tespit edilmemiştir. Maya en fazla kitosanlı gruplarda görülmüştür. Sonuç olarak kitosan ve kitosanlı çözeltiler, bazı parametrelerde olumlu değişimlere sebep olsa da genel olarak fermantatif ve mikrobiyolojik kalite bakımından istenilen düzeyde iyileştirme sağlamamıştır.</p>

^a selimsirakaya@hotmail.com

^{id} <https://orcid.org/0000-0003-2733-1726>



Giriş

Mısır (*Zea mays L.*) silajı, mısır bitkisinin bütün halde hasat edilip, uygun partiküllere parçalanarak fermente edilmesiyle hazırlanan ve çiftlik hayvanlarının beslenmesinde önemli yere sahip kaba yemlerden biridir (Daniel ve ark., 2019; Garon ve ark., 2006; Kaplan ve ark., 2016). Yüksek verimliliği, düşük maliyeti, lezzeti, besleyiciliği ve sindirim oranının yüksekliği gibi özellikleri, mısır silajını vazgeçilmez kaba yemlerden biri yapmaktadır. Uygun koşullarda hazırlanıp depo edildiğinde, rasyonların önemli bir bileşeni olarak hayvan performansına, sağlığına, üretimine ve işletme karlılığına önemli ölçüde katkı sağlamaktadır. Mısır bitkisi yüksek silaj kalitesine sahip olmasına rağmen, silaj yapım sürecinde, sonrasında veya kullanım aşamasında farklı etmenlere bağlı olarak zaman zaman kalite özelliklerinde kayıplar olabilmektedir. İstenmeyen etkenlerin eliminasyonu ve hedeflenen kaliteyi sağlamak amacıyla, bazen katkı maddeleri kullanımı zorunlu olabilmektedir.

Kitosan, kitinden elde edilen polikatyonik bir polisakarittir. Gıdalarda kullanıldığında antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, kontaminasyonu engellediği, gıdaların raf ömrünü uzattığı ve kalitesini geliştirdiği bildirilmektedir (Casquete ve ark., 2017; Martínez-Camacho ve ark., 2010). Kitosan dünyada bol miktarda bulunan biyopolimerlerden biridir ve kitinin deasetilasyonu sonucunda elde edilir. Biyobozunurluluk, antimikrobiyal ve nontoksitite gibi özellikleri, kitosanı kayda değer bir ürün yapmaktadır (Araújo ve ark., 2015; Muhtaba ve ark., 2023, 2019). Kitosanın zayıf asidik çözeltilerde çözünbilme özelliği (Goy ve ark., 2009) ve asidik ortamdaki jelatinizasyonu, farklı formlarda kullanım olanaklarını da ortaya çıkarmaktadır. Kitosanın bu özelliği, mısır silajının asidik ortamında göstereceği etkileşimi değerlendirmek bakımından önemli olabilir. Ayrıca jelatinize olma özelliği, kitosan çözeltilerinin püskürtülerek kullanımı noktasında farklı uygulama olanaklarını da ortaya çıkarmaktadır. Bu bakımdan mevcut araştırmada, gıdalarda koruyucu özeliğe sahip olduğu bilinen laktik ve asetik asit (Altuğ ve ark., 2009) ile kitosan karışımından elde edilen jelatinize çözeltiler, silaj katkısı olarak kullanılmıştır. Yaklaşık 100 milyon ton kitosan biyolojik olarak hem sentezleniyor hem de bozunuyor, bu döngünün ekosisteme zarar vermeden yürütülmesi sürdürülebilir çevre açısından oldukça önemlidir (Hirano, 1996). Doğada atık olarak bulunan ve materyalin katma değerli ürünlere çevrilmesi noktasında, hayvan besleme ve yem alanında çok fazla olmasa da çalışmalar bulunmaktadır. Bu kapsamda kitosanın yem (Araújo ve ark., 2015; Fadel El-Seed ve ark., 2003; Goiri ve ark., 2010; Gomes De Paiva ve ark., 2017; Henry ve ark., 2015) ve silaj katkısı (De Morais ve ark., 2021; Del Valle ve ark., 2018; Gandra ve ark., 2018; Sırakaya & Beyzi, 2022) olarak kullanıldığı çalışmalar literatürde yerini almıştır. Şeker kamışı silajına kitosan ilavesinin fermantasyonu ve kimyasal kompozisyonu olumlu etkilediği (Del Valle ve ark., 2018), soya bitkisi silajına kitosan ilavesinin in vitro degradasyonu iyileştirdiği, küf ve maya sayısını azalttığı (Gandra ve ark., 2018), başka bir çalışmada soya bitkisi silajına kitosan ilavesinin pozitif etki göstermediği (De Morais ve ark., 2021) bildirilmiştir. Yonca silajına kitosan ilave edilen bir çalışmada, fermantasyon profilinin ve silaj kalitesinin olumsuz etkilendiği sonucuna varılmıştır (Sırakaya & Beyzi, 2022).

Fermantasyon sürecinin etkinliği için silaj katkı maddelerinin kullanımı önemlidir. Silaj katkısı olarak granül kitosan ve türevleri ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Özellikle organik asitlerle jelatinize kitosan üzerine, herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Mevcut çalışmada literatürdeki çalışmalardan farklı olarak, asetik ve laktik asitte jelatinize edilen kitosanlı çözeltilerin, mısır silajına püskürtülerek uygulanması yanında granül kitosan ilavesinin etkileri de araştırılmıştır. Birçok alanda gıda katkısı olarak kullanılan laktik ve asetik asitin, kitosan ile birlikte hazırlanmış jelatinize çözeltilerinin kullanılması bakımından özgün bir çalışma olduğu düşünülmektedir.

Materyal ve Yöntem

Silaj Hazırlama

Araştırmada kullanılan silajlık mısır (*Zea mays L.*) Aksaray Yenikent Bölgesi'nden temin edilmiştir. Mısır bitkisi profesyonel mısır biçme makinesi ile hasat edildikten sonra, silaj yapımına hazırlanmış silaj çukurundan alınarak hızla laboratuvara getirilmiştir. Silaj numuneleri, yaş ağırlıklarının %0,5 - %1,0 ve %2,0 oranlarında granül kitosan (Adaga, Antalya) ile, ayrı ayrı plastik kaplarda homojen olacak şekilde el ile karıştırılmıştır. Bu karışımlar 30×35 cm ölçülerindeki polietilen vakum poşetlerine (Caso Professional Vacuum Rolls), her bir uygulama grubu 1 kg olacak şekilde aktarılmış ve her grup için 5 tekerrür yapılmıştır. Numunelerdeki oksijen, vakum paketleme makinesi (DZ-260/PD, Seles) ile tahliye edilmiş, ağız kısımları yine aynı makine ile kapatılarak fermantasyona bırakılmıştır. Kontrol numunesi için de aynı işlemler beş tekerrürlü olarak yapılmıştır. Vakumlanmış numune poşetleri, ortalama sıcaklığı 20-25°C olan laboratuvarında 90 gün boyunca muhafaza edilmiştir.

Organik asit+kitosan uygulaması için; %2,0'lik asetik ve %2,0'lik laktik asit çözeltileri ayrı ayrı hazırlanmış ve bu çözeltilere %0,0 - %1,0 ve %2,0 oranında granül kitosan ilave edilmiştir. 10 ve 20 g granül kitosan, verilen sıra ile 990 ve 980 mL %2,0'lik organik asit çözeltilerine (asetik ve laktik asit) ayrı ayrı ilave edilerek kitosan+organik asit çözeltileri (1000 mL) hazırlanmıştır. Bu çözeltiler, manyetik karıştırıcıda (24 saat) jelatinize hale getirilmiştir. Uygulama çözeltileri, silaj numunelerine yaş ağırlığının %10'u oranında püskürtülerek karıştırılmış ve homojen hale getirilmiştir. Vakum paketleme yöntemi ile numuneler fermantasyona bırakılmıştır. Kitosansız organik asitlerin etkisini değerlendirmek amacıyla, sadece %2,0 asetik ve %2,0 laktik asit içeren çözeltiler uygulanmış da çalışmaya dahil edilmiştir. Uygulama grupları ve tanımları Çizelge 1'de ifade edilmiştir.

Kimyasal Analizler

Fermantasyon sürecinden (90 gün) sonra, numune poşetleri laboratuvarında açılmıştır. Kimyasal analizler için kullanılacak numuneler sabit tartım ağırlığına gelene kadar 60±1°C'de etüvde tutularak (~24 saat) kuru madde oranları belirlenmiştir. Kurutulan numuneler laboratuvar değirmeninde (IKA MF.10), 1 mm gözenekli elekten geçecek şekilde öğütülmüştür. Öğütülen numuneler kilitli plastik poşetlere aktarılarak kimyasal analizler için

kullanılmıştır. Ham protein analizi için (VELP NDA 701) dumas methodu kullanılmıştır (AOAC, 2006). Ham yağ analizi (ANKOM XT 15) solvent ekstraksiyon metodu ile yapılmış, çözücü olarak petrol eteri kullanılmıştır (AOCS, 2004). Ham kül analizi (CARBOLITE) 550°C'de gerçekleştirilmiştir (AOAC, 2005). Ham selüloz, asit deterjan fiber (ADF), nötral deterjan fiber (NDF) ve lignin analizleri ANKOM²⁰⁰⁰ cihazı kullanılarak Van Soest'e göre gerçekleştirilmiştir (AOAC, 2022, 1997). Asit ve nötral deterjanda çözülmeyen protein analizleri (ADICP, NDICP), ADF ve NDF analizinde çözümlenmeden arta kalan numunelerden yapılmıştır.

Hesaplanan Parametreler

Kimyasal analiz sonuçları kullanılarak, fiber olmayan karbonhidrat (NFC), sindirilebilir kuru madde (DDM), vücut ağırlığına göre kuru madde tüketimi (DMI % vücut ağırlığı), nispi yem değeri (NYD), toplam sindirilebilir besinler (TSB), metabolik, net enerji ağırlık kazancı, net enerji yaşama payı, net enerji laktasyon (ME, NE_G, NE_M, NE_L) gibi sindirilebilirlik ve enerji değerleri belirlenmiştir. Bu parametreler, Nutrient Requirements of Dairy Cattle'da belirtilen formülasyonlara göre hesaplanmıştır (NRC, 2001).

Organik Asit, pH ve NH₃-N Analizleri

Silaj paketleri açıldıktan sonra %20 numune + %80 distile su, blender ile karıştırılarak filtre kağıdından süzümüştür. Elde edilen süzüntülerde pH ölçümü yapılmıştır (SUNTEK, SP 701). Organik asit analizleri için 40 g numune + 360 mL distile su blender ile karıştırılmış ve filtre kağıdından süzümüştür. Filtre edilen bu süzüntüden 40 mL, distile su ile 400 mL'ye tamamlanarak karışım seyreltilmiştir. Bu karışım Whatman 54 filtre kağıdından geçirildikten sonra santrifüj edilerek, analiz zamanına kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Laktik asit analizi için spektrofotometrik metod kullanılmıştır (Canbolat, 2019). Asetik, propiyonik ve bütirik asit analizleri için gaz kromatografi cihazı (GC 2010+ Shimadzu Corporation) kullanılmıştır. NH₃-N analizleri için 40 g numune + 360 mL distile su karışımı kuvvetlice çalkalanmış ve filtre kağıdından süzümüştür. Elde edilen süzüntüden 100 ml alınarak, asit ile yakma işlemi uygulanmadan, Kjeldahl ham protein analiz metoduna göre destilasyon cihazında (Gerhardt VAP20) NH₃-N tespit edilmiştir (Canbolat, 2019).

Mikrobiyolojik Analizler

Numuneler açıldıktan hemen sonra mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Bu kapsamda laktik asit bakterileri (LAB), maya-küf ve enterobakteri sayımı yapılmıştır. Bu analizler için 10 g numune, 90 g peptonlu su ile kuvvetli bir şekilde çalkalanarak karıştırılmış ve bu karışım 10⁻¹ dilüsyonu için kullanılmıştır. Ayrıca bu dilüsyonundan, peptonlu su (Merc) ile 10⁻⁴e kadar seri dilüsyonlar hazırlanarak, besi yerlerine ekim yapılmıştır. Karışımların homojenizasyonunda vorteks (VELP ZX3) kullanılmıştır. Üretici talimatlarına göre hazırlanan besi yerleri petri kaplarına dökülmüştür. Laktik asit bakterileri (37 ± 1°C, 72 saat) MRS Agar (Merc, Darmstadt, Germany), maya-küf (25 ± 1°C, 5 gün) Potato Dextrose Agar (Merc, Darmstadt, Germany), enterobakteriler (37 ± 1°C, 24 saat) Violet Red Bile Agar W/Glucose (Condalab, Madrid, Spain) ile inkübasyona bırakılarak belirlenmiştir. İnkübasyon sonucunda petri kaplarında koloni oluşturan gruplar

“ImageJ 1.53k” programı kullanılarak sayılmıştır. Sonuçlar logaritmik (log₁₀ cfu/g) tabanda gösterilmiştir.

İstatistik Analizler

Çalışma verilerinin karşılaştırmasında tek yönlü ANOVA testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama ve standart sapma olarak ifade edilmiştir. Ortalamaların karşılaştırılması Tukey çoklu testi ile %95 güven aralığında gerçekleştirilmiştir. İstatistik değerlendirmeler için Minitab 16.1 (Minitab Ltd., Conventry, United Kingdom) yazılımı kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Kitosan ve organik asitli çözeltileri, kuru madde oranlarında önemli bir değişime sebep olmuştur (P<0.05). %0,5 - %1,0 ve %2,0 granül kitosanlı (%0,5 KTSN - %1,0 KTSN ve %2,0 KTSN) gruplarda kuru madde oranı artış göstermiştir. Organik asit ilaveli kitosan gruplarında kuru madde oranı azalmıştır (Çizelge 1). Şeker kamışı silajına %1,0 kitosanın ilave edildiği bir çalışmada kuru madde oranı artmış (Gandra ve ark., 2016), diğer çalışmalarda ise kitosan ilavesinin kuru madde oranını değiştirmedeği bildirilmiştir (De Morais ve ark., 2021; Del Valle ve ark., 2018; Gandra ve ark., 2018). Silajlama işlemi, polietilen vakum poşetlerde gerçekleştirildiği için, bu değişiklik sızıntı kaynaklı değildir. Literatürle farklılık göstermesi, silaj yapım tekniği ile ilişkilidir. Ayrıca katkı maddelerinin katı ya da sıvı formda kullanılması, kuru madde oranlarında değişkenlik meydana getirebilmektedir.

HP sonuçları (Çizelge 1) değerlendirildiğinde, gruplar arasında önemli farklar belirlenmiştir (P<0,05). Kontrol grubunda ham proteini %8,53 olarak tespit edilmiştir. Uygulama gruplarında ise HP artış eğilimi göstermiş, en belirgin artış ise granül kitosan (%0,5 KTSN - %1,0 KTSN ve %2,0 KTSN) gruplarında gerçekleşmiştir. Bu gruplarda sonuçlar yukarıda verilen sıra ile %8,82 - %9,25 ve %10,40 olarak bulunmuştur. Sonuçlardan da görüleceği üzere kitosan ilavesi arttıkça HP artmıştır. Araştırmada kullanılan kitosanın içeriğindeki %6,99 azot, protein değerinde artış meydana getirmiş olabilir. Literatür bir çalışmada, silaja kitosan ilavesi ile HP değeri artmış (De Morais ve ark., 2021; Del Valle ve ark., 2018), başka bir çalışmada protein değeri azalmış (Gandra ve ark., 2018), farklı bir çalışmada ise HP etkilenmemiştir (Sırakaya & Beyzi, 2022). Asidik çözeltilerde kitosan, yapısında bulunan glikozamin (-NH₂) gruplarını, çözünebilir protonlanmış formlara (-NH₃⁺) dönüştürmektedir (Goy ve ark., 2009). Bu değişim silaj içerisindeki amonyak ve azot konsantrasyonunun artmasına, dolayısıyla HP artışına sebep olmaktadır. Protein niteliğinde olmayan azot miktarının yüksek çıkması, ruminant hayvanların mikrobiyal protein sentezi için kısmen avantaj sağlayabilir fakat silajdaki amonyak miktarı artışı ise silaj kalitesini olumsuz yönde etkileyebileceği gözardı edilmemelidir.

Ham yağ (HY) granül kitosanlı gruplarda yüksek bulunmuş ve en fazla %1,0 KTSN grubunda %3,12 olarak görülmüştür (P<0,05) (Çizelge 1). Gruplar arası HY oranlarında oldukça fazla değişkenlik tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni olarak, kitosan ilavesinin anaerobik koşulları geciktirmesi, dolayısıyla yağ oksidasyonunun meydana gelme olasılığı olarak değerlendirilmektedir (Del Valle ve ark., 2018; Gandra ve ark., 2018).

Çizelge 1. Besin değerleri
Table 1. Nutritional values

Parametreler	Kontrol	% 2'lik asetik asitte jelatinize edilen kitosan				SEM	P
		%0 KTSN-A	%1 KTSN-A	%2 KTSN-A			
Kuru Madde	25,68 ±0,51 ^c	24,76 ±0,21 ^d	24,73 ±0,31 ^d	24,95 ±0,13 ^d	0,314	<0,05	
Ham Protein	8,53 ±0,28 ^d	8,34 ±0,08 ^d	9,16 ±0,11 ^b	8,31 ±0,05 ^d	0,117	<0,05	
Ham Yağ	1,13 ±0,13 ^{cd}	0,91 ±0,06 ^d	1,00 ±0,17 ^{cd}	1,90 ±0,04 ^{bc}	0,444	<0,05	
Ham Kül	8,06 ±0,13 ^d	8,51 ±0,07 ^a	8,25 ±0,06 ^b	8,19 ±0,03 ^{bcd}	0,065	<0,05	
ADF	27,15 ±0,35 ^e	30,87 ±0,63 ^b	31,74 ±0,52 ^a	28,94 ±0,39 ^d	0,402	<0,05	
NDF	44,44 ±0,28 ^{de}	44,16 ±0,09 ^e	46,86 ±0,08 ^a	45,25 ±0,27 ^{cd}	0,413	<0,05	
ADICP	0,47 ±0,02 ^d	0,44 ±0,01 ^{de}	0,54 ±0,02 ^{bc}	0,56 ±0,02 ^{bc}	0,020	<0,05	
NDICP	0,64 ±0,03 ^{cd}	0,66 ±0,02 ^{bcd}	0,71 ±0,02 ^{bc}	0,71 ±0,03 ^{bc}	0,038	<0,05	
Ham Selüloz	22,7 ±0,30 ^{ef}	24,56 ±0,13 ^d	26,41 ±0,62 ^{ab}	23,43 ±0,15 ^{de}	0,610	<0,05	
Lignin	4,01 ±0,35 ^{ef}	4,61 ±0,17 ^{bcd}	5,50 ±0,08 ^a	5,54 ±0,07 ^{cd}	0,191	<0,05	
NFC	37,84 ±0,52 ^{bc}	38,03 ±0,26 ^{bc}	34,73 ±0,13 ^f	36,34 ±0,34 ^{de}	0,620	<0,05	
DDM	67,75 ±0,27 ^c	64,85 ±0,49 ^f	64,18 ±0,41 ^g	66,35 ±0,30 ^d	0,313	<0,05	
DMI	2,70 ^{cd} ±0,02 ^{cd}	2,72 ^c ±0,01 ^c	2,56 ^f ±0,00 ^f	2,65 ^{de} ±0,02 ^{de}	0,029	<0,05	
NYD (skor)	142 ±0,86 ^b	137 ±1,02 ^c	127 ±1,01 ^e	136 ±0,36 ^c	1,620	<0,05	
TSB	62,80 ±0,61 ^b	61,46 ±0,37 ^b	59,52 ±0,19 ^c	62,46 ±0,17 ^b	0,698	<0,05	
ME (mkal/kg)	2,31 ±0,03 ^b	2,26 ±0,01 ^b	2,19 ±0,01 ^c	2,30 ±0,01 ^b	0,031	<0,05	
NE _L (mkal/kg)	1,44 ±0,02 ^b	1,40 ±0,01 ^b	1,35 ±0,01 ^c	1,43 ±0,01 ^b	0,023	<0,05	
NE _M (mkal/kg)	1,45 ±0,03 ^b	1,39 ±0,01 ^b	1,33 ±0,01 ^c	1,43 ±0,01 ^b	0,027	<0,05	
NE _G (mkal/kg)	0,86 ±0,02 ^b	0,81 ±0,01 ^b	0,75 ±0,01 ^c	0,85 ±0,01 ^b	0,024	<0,05	
Parametreler	Kontrol	% 2'lik laktik asitte jelatinize edilen kitosan			SEM	P	
		%0 KTSN-L	%1 KTSN-L	%2 KTSN-L			
Kuru Madde	25,68 ±0,51 ^c	24,56 ±0,34 ^d	24,64 ±0,25 ^d	24,97 ±0,25 ^d	0,314	<0,05	
Ham Protein	8,53 ±0,28 ^d	8,29 ±0,07 ^d	8,38 ±0,03 ^d	8,39 ±0,05 ^d	0,117	<0,05	
Ham Yağ	1,13 ±0,13 ^{cd}	1,90 ±0,20 ^{bc}	2,17 ±0,13 ^b	1,89 ±0,03 ^{bc}	0,444	<0,05	
Ham Kül	8,06 ±0,13 ^d	8,45 ±0,12 ^a	8,31 ±0,03 ^b	8,53 ±0,02 ^a	0,065	<0,05	
ADF	27,15 ±0,35 ^e	30,29 ±0,61 ^{bc}	29,91 ±0,15 ^c	28,9 ±0,06 ^d	0,402	<0,05	
NDF	44,44 ±0,28 ^{de}	45,79 ±0,07 ^{bc}	46,01 ±0,39 ^{abc}	46,19 ±0,08 ^{ab}	0,413	<0,05	
ADICP	0,47 ±0,02 ^d	0,53 ±0,02 ^c	0,54 ±0,01 ^{bc}	0,58 ±0,02 ^b	0,020	<0,05	
NDICP	0,64 ±0,03 ^{cd}	0,69 ±0,03 ^{bc}	0,67 ±0,02 ^{bcd}	0,72 ±0,03 ^b	0,038	<0,05	
Ham Selüloz	22,7 ±0,30 ^{ef}	25,2 ±0,16 ^{bc}	24,48 ±0,29 ^{cd}	27,33 ±1,43 ^a	0,610	<0,05	
Lignin	4,01 ±0,35 ^{ef}	4,94 ±0,29 ^{bc}	4,95 ±0,13 ^b	4,46 ±0,13 ^d	0,191	<0,05	
NFC	37,84 ±0,52 ^{bc}	35,58 ±0,29 ^{ef}	35,13 ±0,3 ^{ef}	35,00 ±0,11 ^f	0,620	<0,05	
DDM	67,75 ±0,27 ^c	65,30 ±0,47 ^{ef}	65,60 ±0,12 ^e	66,39 ±0,05 ^d	0,313	<0,05	
DMI	2,70 ^{cd} ±0,02 ^{cd}	2,62 ^{ef} ±0,00 ^{ef}	2,61 ^{ef} ±0,02 ^{ef}	2,60 ^{ef} ±0,00 ^{ef}	0,029	<0,05	
NYD (skor)	142 ±0,86 ^b	133 ±0,81 ^d	133 ±0,89 ^d	134 ±0,24 ^{cd}	1,620	<0,05	
TSB	62,80 ±0,61 ^b	61,46 ±0,72 ^b	61,85 ±0,07 ^b	61,96 ±0,17 ^b	0,698	<0,05	
ME (mkal/kg)	2,31 ±0,03 ^b	2,26 ±0,03 ^b	2,28 ±0,00 ^b	2,28 ±0,01 ^b	0,031	<0,05	
NE _L (mkal/kg)	1,44 ±0,02 ^b	1,40 ±0,02 ^b	1,41 ±0,00 ^b	1,41 ±0,01 ^b	0,023	<0,05	
NE _M (mkal/kg)	1,45 ±0,03 ^b	1,39 ±0,03 ^b	1,41 ±0,00 ^b	1,41 ±0,01 ^b	0,027	<0,05	
NE _G (mkal/kg)	0,86 ±0,02 ^b	0,81 ±0,02 ^b	0,82 ±0,00 ^b	0,83 ±0,01 ^b	0,024	<0,05	
Parametreler	Kontrol	Granül kitosan			SEM	P	
		%0,5 KTSN	%1,0 KTSN	%2,0 KTSN			
Kuru Madde	25,68 ±0,51 ^c	26,77 ±0,17 ^b	27,92 ±0,50 ^a	27,82 ±0,23 ^a	0,314	<0,05	
Ham Protein	8,53 ±0,28 ^d	8,82 ±0,02 ^c	9,25 ±0,15 ^b	10,40 ±0,07 ^a	0,117	<0,05	
Ham Yağ	1,13 ±0,13 ^{cd}	2,44 ±0,07 ^{ab}	3,12 ±1,36 ^a	2,37 ±0,09 ^{ab}	0,444	<0,05	
Ham Kül	8,06 ±0,13 ^d	8,11 ±0,02 ^{cd}	8,21 ±0,02	8,07 ±0,02 ^{cd}	0,065	<0,05	
ADF	27,15 ±0,35 ^e	26,73 ±0,07 ^{ef}	26,28 ±0,52 ^f	24,92 ±0,10 ^g	0,402	<0,05	
NDF	44,44 ±0,28 ^{de}	40,57 ±1,10 ^g	40,82 ±0,07 ^g	42,02 ±0,40 ^f	0,413	<0,05	
ADICP	0,47 ±0,02 ^d	0,43 ±0,02 ^e	0,46 ±0,01 ^{de}	1,32 ±0,04 ^a	0,020	<0,05	
NDICP	0,64 ±0,03 ^{cd}	0,59 ±0,03 ^d	0,60 ±0,01 ^d	2,43 ±0,10 ^a	0,038	<0,05	
Ham Selüloz	22,7 ±0,30 ^{ef}	24,04 ±0,91 ^{cd}	21,75 ±0,43 ^f	21,42 ±0,22 ^f	0,610	<0,05	
Lignin	4,01 ±0,35 ^{ef}	4,33 ±0,09 ^{de}	4,35 ±0,25 ^{de}	3,65 ±0,07 ^f	0,191	<0,05	
NFC	37,84 ±0,52 ^{bc}	40,05 ±1,03 ^a	38,62 ±1,43 ^b	37,14 ±0,26 ^{cd}	0,620	<0,05	
DDM	67,75 ±0,27 ^c	68,08 ±0,06 ^{bc}	68,43 ±0,41 ^b	69,49 ±0,08 ^a	0,313	<0,05	
DMI	2,70 ^{cd} ±0,02 ^{cd}	2,96 ^a ±0,08 ^a	2,94 ^a ±0,01 ^a	2,86 ^b ±0,03 ^b	0,029	<0,05	
NYD (skor)	142 ±0,86 ^b	156 ±4,33 ^a	156 ±0,75 ^a	154 ±1,62 ^a	1,620	<0,05	
TSB	62,80 ±0,61 ^b	65,07 ±0,57 ^a	65,70 ±1,82 ^a	65,25 ±0,35 ^a	0,698	<0,05	
ME (mkal/kg)	2,31 ±0,03 ^b	2,42 ±0,02 ^a	2,46 ±0,08 ^a	2,44 ±0,02 ^a	0,031	<0,05	
NE _L (mkal/kg)	1,44 ±0,02 ^b	1,51 ±0,02 ^a	1,54 ±0,06 ^a	1,52 ±0,01 ^a	0,023	<0,05	
NE _M (mkal/kg)	1,45 ±0,03 ^b	1,54 ±0,02 ^a	1,57 ±0,07 ^a	1,55 ±0,01 ^a	0,027	<0,05	
NE _G (mkal/kg)	0,86 ±0,02 ^b	0,94 ±0,02 ^a	0,97 ±0,06 ^a	0,95 ±0,01 ^a	0,024	<0,05	

KTSN-A: asetik asitte jelatinize kitosan. KTSN-L: laktik asitte jelatinize kitosan. KTSN: granül kitosan. Aksi belirtilmedikçe sonuçlar kuru madde üzerinden % olarak belirtilmiştir. ADF: asit deterjan fiber. NDF: nötral deterjan fiber. ADICP: asit deterjanda çözülmemeyen protein. NDICP: nötral deterjanda çözülmemeyen protein. NFC: fiber olmayan karbohidratlar. DDM: sindirilebilir kuru madde. DMI: kuru madde tüketimi. NYP: nispi yem değeri. TSB: toplam sindirilebilir besinler. ME: metabolik enjini. NE_L: net enerji laktasyon. NE_M: net enerji yaşama payı. NE_G: net enerji canlı ağırlık kazanımı. Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak gruplar arasındaki farkı ifade etmektedir.

Tablo 2. pH, NH₃-N ve organik asit değerleriTable 2. pH, NH₃-N and organic acid values

Parametreler	Kontrol	% 2'lik asetik asitte jelatinize edilen kitosan			SEM	P
		%0 KTSN-A	%1 KTSN-A	%2 KTSN-A		
pH	3,97 ±0,01 ^d	3,93 ±0,01 ^e	4,27 ±0,01 ^a	3,91 ±0,01 ^f	0,006	<0,05
NH ₃ - N %	0,94 ±0,05 ^g	0,92 ±0,06 ^g	2,32 ±0,06 ^a	1,38 ±0,06 ^f	0,059	<0,05
Laktik asit g/kg	104,21 ±0,39 ^f	113,80 ±0,41 ^e	102,36 ±0,47 ^g	87,68 ±0,39 ⁱ	0,527	<0,05
Asetik asit g/kg	4,13 ±0,06 ^e	7,89 ±0,06 ^b	0,25 ±0,04 ⁱ	7,52 ±0,11 ^c	0,091	<0,05
Propiyonik asit g/kg	8,92 ±0,06 ^d	26,30 ±0,25 ^a	10,48 ±0,12 ^b	5,73 ±0,04 ^f	0,109	<0,05
Bütirik asit g/kg	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,005	<0,05
Parametreler	Kontrol	% 2'lik laktik asitte jelatinize edilen kitosan			SEM	P
		%0 KTSN-L	%1 KTSN-L	%2 KTSN-L		
pH	3,97 ±0,01 ^d	3,87 ±0,01 ^g	4,02 ±0,01 ^c	3,92 ±0,01 ^f	0,006	<0,05
NH ₃ - N %	0,94 ±0,05 ^g	1,76 ±0,06 ^e	1,95 ±0,08 ^{cd}	1,32 ±0,05 ^f	0,059	<0,05
Laktik asit g/kg	104,21 ±0,39 ^f	150,53 ±0,81 ^a	103,05 ±0,40 ^g	122,90 ±0,78 ^d	0,527	<0,05
Asetik asit g/kg	4,13 ±0,06 ^e	3,77 ±0,09 ^f	13,80 ±0,21 ^a	4,69 ±0,05 ^d	0,091	<0,05
Propiyonik asit g/kg	8,92 ±0,06 ^d	8,60 ±0,08 ^e	10,04 ±0,14 ^c	10,17 ±0,07 ^c	0,109	<0,05
Bütirik asit g/kg	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,00 ±0,00	0,005	<0,05
Parametreler	Kontrol	Granül kitosan			SEM	P
		%0,5 KTSN	%1,0 KTSN	%2,0 KTSN		
pH	3,97 ±0,01 ^d	3,91 ±0,01 ^f	3,98 ±0,01 ^d	4,18 ±0,01 ^b	0,006	<0,05
NH ₃ - N %	0,94 ±0,05 ^g	1,84 ±0,06 ^{de}	2,05 ±0,05 ^c	2,64 ±0,07 ^a	0,059	<0,05
Laktik asit g/kg	104,21 ±0,39 ^f	141,92 ±0,37 ^c	145,17 ±0,36 ^b	96,91 ±0,62 ^h	0,527	<0,05
Asetik asit g/kg	4,13 ±0,06 ^e	2,28 ±0,04 ^{gh}	2,43 ±0,06 ^g	2,19 ±0,04 ^h	0,091	<0,05
Propiyonik asit g/kg	8,92 ±0,06 ^d	4,78 ±0,05 ^g	3,53 ±0,04 ^h	1,99 ±0,04 ⁱ	0,109	<0,05
Bütirik asit g/kg	0,00 ±0,00	0,30 ±0,01 ^a	0,14 ±0,01 ^b	0,03 ±0,00 ^c	0,005	<0,05

KTSN-A: asetik asitte jelatinize kitosan. KTSN-L: laktik asitte jelatinize kitosan. KTSN: granül kitosan. Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel olarak gruplar arasındaki farkı ifade etmektedir.

Ham kül (HK) oranlarındaki değişkenlikler istatistiksel olarak önemli görülmektedir (Çizelge 1). Kitosanın; bir çalışmada HK değerini azalttığı (Gandra ve ark., 2016), bazı çalışmalarda artırdığı (Del Valle ve ark., 2018; Gandra ve ark., 2018; Sırakaya & Beyzi, 2022), bazı çalışmalarda ise etkilemediği görülmektedir (De Morais ve ark., 2021). Kullanılan kitosanın üretim saflığı, kül içeriği ve katkı ilavesiyle numunelerde meydana gelen oransal değişkenliklerin bu duruma sebep olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada kullanılan kitosanın HK miktarı ise %10,5 olarak tespit edilmiştir.

Yapısal karbonhidratlar (ADF, NDF, ham selüloz, lignin) değerlendirildiğinde, her bir parametre için gruplar arasında değişkenlikler görülmüştür (P<0,05) (Çizelge 1). Bu değişkenlikler, gruplar arasında, uygulama oranlarına göre aşamalı ve anlamlı bir değişim göstermemiştir. Mevcut araştırmada diğer çalışmalardan farklı olarak kitosanın organik asitli sıvı çözeltilerinin kullanılması, numunelerde meydana getirdiği oransal değişikliğin, kimyasal analiz değerlerinde farklılıklar meydana getirebileceği düşünülmüştür. %2,0 KTSN grubunda NDICP ve ADICP daha yüksek bulunmuştur. Özellikle NDICP, fermantasyon sürecinde oksijensiz ortam oluşumunun gecikmesine bağlı olarak iç ısınmadan kaynaklı artış gösterebilmektedir. Bu çalışmada %2,0 KTSN grubunda anaerobik ortam oluşumunun gecikmesine bağlı olarak meydana gelen iç ısınma, NDICP değerini artırmış olabilir. Bir çalışmada depolama öncesi ve sonrasında NDICP değerinde meydana gelen artış (Coblentz ve ark., 2010), mevcut çalışmada meydana gelen değişimi desteklemektedir.

Enerji ve sindirilebilirlik, kimyasal analiz verilerin hesaplanması yoluyla belirlenmesinden dolayı, bu parametrelerde değişim meydana gelmesi beklenen bir durumdur. Bu kısım detaylı bir şekilde tartışılmamıştır. Enerji ve sindirilebilirlik ile ilgili sonuçlar ve değişimler Çizelge 1'de ifade edilmiştir.

Fermantasyon profili için pH, NH₃-N ve organik asit (laktik, asetik, propiyonik ve bütirik) miktarları tespit edilmiştir (Çizelge 2). Gruplar arasında pH önemli değişkenlikler göstermiştir (P<0,05). %0 KTSN-A (%2,0'lik asetik asit, kitosansız) ve %0 KTSN-L (%2,0'lik laktik asit, kitosansız) gruplarında pH 3,93 ve 3,87 olarak kontrol grubu pH'sına (3,97) göre, daha düşük belirlenmiştir (P<0,05), fakat granül kitosan ve kitosanlı organik asit çözeltili gruplarında pH artış göstermiştir. Genel olarak, kitosan muamelesi asitlik gelişimini azaltmış ve silaj kalitesini olumsuz yönde etkilemiştir. Benzer bir çalışmada soya bitkisi silajına ilave edilen 6 g/kg kitosan pH değerini etkilememiştir (De Morais ve ark., 2021). Kitosanın silaj katkısı olarak, pH değerini azaltma yeteneği olduğu bildiren çalışmalar olmasına rağmen (Harahap ve ark., 2023) mevcut çalışmada, pH artma eğilimi göstermiştir. Uygulama gruplarında NH₃-N değeri artış göstermiştir (P<0,05) (Çizelge 2). En yüksek değerler %1,0 KTSN ve %2,0 KTSN gruplarında verilen sıra ile %2,05 ve %2,64 olarak tespit edilmiştir. Bazı literatür çalışmalarda ise NH₃-N değerinin değişmediği bildirilmiştir (De Morais ve ark., 2021; Del Valle ve ark., 2018). Bu konu ile ilgili bir derlemede de, NH₃-N değerinin etkilenmediği sonucuna varılmıştır (Harahap ve ark., 2023). Bu durum çalışmada kullanılan silaj materyallerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Kitosanın yapısında bulunan -NH₂ gruplarının aktifliği, NH₃-N değerinin uygulama gruplarında daha yüksek tespit edilme olasılığını ortaya çıkarmaktadır. Silajda oluşan organik asit miktarları bakımından, laktik asit miktarı en fazla 150,53 g/kg olarak %0 KTSN-L grubunda belirlenmiştir. Granül kitosanlı %0,5 KTSN ve %1,0 KTSN gruplarında, laktik asit seviyeleri verilen sıra ile 141,92 ve 145,17 g/kg olarak, kontrol ve diğer gruplara oranla daha yüksek bulunmuştur (P<0,05). Literatür çalışmalarında, kitosanın laktik asit miktarını azalttığı (De Morais ve ark., 2021; Sırakaya & Beyzi, 2022) ve artırdığı (Gandra ve ark., 2016) bildirilmiştir.

Çizelge 3. Mikrobiyolojik değerler

Table 3. Microbiological values

Parametreler (log ₁₀ cfu/g)	Kontrol	% 2'lik asetik asitte jelatinize edilen kitosan		
		%0 KTSN-A	%1 KTSN-A	%2 KTSN-A
Laktik asit bakterileri	5,61	5,43	5,54	5,59
Maya	2,00	3,00	2,00	2,70
Küf	2,00	0,00	0,00	0,00
Enterobakteri grubu	0,00	0,00	0,00	0,00
Parametreler (log ₁₀ cfu/g)	Kontrol	% 2'lik laktik asitte jelatinize edilen kitosan		
		%0 KTSN-L	%1 KTSN-L	%2 KTSN-L
Laktik asit bakterileri	5,61	5,46	5,78	5,46
Maya	2,00	2,60	5,12	4,77
Küf	2,00	0,00	0,00	0,00
Enterobakteri grubu	0,00	0,00	0,00	0,00
Parametreler (log ₁₀ cfu/g)	Kontrol	Granül kitosan		
		%0,5 KTSN	%1,0 KTSN	%2,0 KTSN
Laktik asit bakterileri	5,61	5,41	5,08	4,55
Maya	2,00	5,10	5,08	4,60
Küf	2,00	0,00	2,00	0,00
Enterobakteri grubu	0,00	0,00	0,00	0,00

KTSN-A: asetik asitte jelatinize kitosan. KTSN-L: laktik asitte jelatinize kitosan. KTSN: granül kitosan

Bu konu ile ilgili bir meta analizde, kitosanın laktik asit konsantrasyonunu artırdığından bahsedilmiştir (Harahap ve ark., 2023). Asetik asit konsantrasyonu, granül kitosan uygulaması yapılan gruplarda kontrol grubuna (4,13 g/kg) oranla, %0,5 KTSN - %1,0 KTSN ve %2,0 KTSN gruplarında verilen sıra ile 2,28 – 2,43 ve 2,19 g/kg olarak belirgin şekilde azalma göstermiştir (P<0,05). Laktik asit, asetik asitten daha kuvvetli bir asittir, silaj kalitesi ve uzun süreli muhafaza için, laktik asit içeriğinin yüksek olması arzu edilir (Muck, 2010). Mevcut çalışmada granül kitosan uygulamasının, laktik ve asetik asit konsantrasyonunu istenilen yönde geliştirdiği ifade edilebilir. Bir çalışmada %1,0 kitosan uygulaması laktik ve asetik asit miktarını artırmış (Gandra ve ark., 2016), başka bir çalışmada %0,6 kitosan uygulaması laktik asit miktarını azaltmış, asetik asit miktarını artırmıştır (Del Valle ve ark., 2018). Propiyonik asit miktarı, kontrol grubuna (8,92 g/kg) oranla, granül kitosanlı grupta yukarıda verilen sıra ile 4,78 – 3,53 ve 1,99 g/kg olarak azalma göstermiştir (P<0,05). Yapılan bir çalışmada kitosan, propiyonik asit miktarını artırmış ve mevcut çalışma ile benzerlik göstermemiştir (Sırakaya & Beyzi, 2022). Diğer güncel bir çalışma ve meta analizinde ise propiyonik asit miktarının kitosan ilavesinden etkilenmediği bildirilmiştir (De Morais ve ark., 2021; Harahap ve ark., 2023). Mevcut çalışmada bütirik asit miktarı, kontrol ve organik asitli kitosan gruplarında tespit edilmemiştir fakat granül kitosanlı gruplarda (%0,5 KTSN - %1,0 KTSN ve %2,0 KTSN) verilen sıra ile 0,30 – 0,14 ve 0,03 g/kg olarak bulunmuştur. Diğer bir çalışmada kitosan ilavesiyle bütirik asit miktarı azalma eğilimi göstermiş (Sırakaya & Beyzi, 2022), başka çalışmalarda ise etkilenmediği ifade edilmiştir (De Morais ve ark., 2021; Harahap ve ark., 2023). Silajlarda bütirik asit varlığı clostridial fermentasyon varlığının göstergesidir (Bryan, 2019) ve iyi fermente olmuş silajlarda bütirik asit miktarı tespit edilebilir düzeylerde olmamalıdır (Kung ve ark., 2018). Silajlarda önerilen bütirik asit seviyeleri, silaj yapılan bitki türüne göre değişmekle birlikte, %30-40 kuru madde oranına sahip mısır silajı için önerilen miktar %0 olarak belirtilmiştir (Kung ve ark., 2018). Mevcut çalışmada, granül kitosanın clostridial fermentasyonu tetikleme olasılığı bulunabilir. Literatürdeki ve mevcut

çalışmadaki verilerin uyumsuzluğu, bu konuda daha fazla çalışma gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır.

Mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiğinde (Çizelge 3), kontrol grubunda laktik asit bakterilerinin sayısı (LAB) 5,61 log₁₀ cfu/g olarak belirlenmiştir. LAB %0 KTSN-L grubunda 5,46 log₁₀ cfu/g olarak tespit edilmiştir, diğer tüm gruplarda ise LAB sayısı daha az bulunmuştur. Kontrol grubu dışında, grupların genelinde LAB sayısı azalma eğilimi göstermesine rağmen tüm gruplarda LAB üremesi gerçekleşmiştir. Soya bitkisi silajına 6 g/kg kitosan uygulanan bir çalışmada LAB sayısının değişmediği (De Morais ve ark., 2021), başka bir çalışmada ise LAB azaldığı tespit edilmiştir (Gandra ve ark., 2016). Derleme bir çalışmada ise kitosanın LAB sayısını artırdığı yönünde görüş bildirilmiştir (Harahap ve ark., 2023). Maya üretimi bakımından, kontrol grubunda maya sayısı 2,00 log₁₀ cfu/g olarak belirlenmiştir. Diğer gruplarda maya sayısı artış göstermiş ve en belirgin artış granül kitosanlı (%0,5 KTSN - %1,0 KTSN ve %2,0 KTSN) gruplarda görülmüştür. Maya sayıları, verilen sıra ile 5,10 – 5,08 ve 4,60 log₁₀ cfu/g olarak bulunmuştur. Hem aerobik hem de anaerobik koşullarda maya gelişimi silaj kalitesi için arzu edilmeyen bir durumdur (Kızıllı ve ark., 2016). Bu bakımdan maya sayısındaki artış silaj kalitesini olumsuz etkilemiştir. Küf gelişimi bakımından sadece kontrol grubunda üreme meydana gelmiş (2,00 log₁₀ cfu/g), diğer tüm uygulama gruplarında küf görülmemiştir. Kitosanlı gruplarda küf görülmemesi silaj kalitesi bakımından olumlu bir sonuç olarak karşımıza çıkmıştır. Önceki çalışmalarda, şeker kamışı ve soya bitkisine ilave edilen kitosanın, mevcut çalışmanın aksine maya sayısını azalttığı ve mevcut çalışmaya benzer şekilde küf gelişimini engellediği bildirilmiştir (Gandra ve ark., 2018, 2016). Enterobakteri grubu mikroorganizmalar, kontrol ve uygulama gruplarının hiçbirinde tespit edilmemiştir. Enterobakteri gelişiminin olmaması olumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir. Enterobakteri grubu mikroorganizmaların belirlendiği başka bir çalışma olmadığından, literatür ile kıyaslama yapılamamıştır.

Biyobozunur, non-toksik, gıda koruyuculuğu gibi bilinen özellikleri ve biyolojik bir materyal olması, kitosanın silaj katkısı olarak kullanılması noktasında umut

vaad etmektedir fakat bu konu ile ilgili olarak az sayıda çalışma yapılmıştır. Silaj katkısı olarak kitosanın değerlendirildiği bir derlemede, silaj kalitesini olumlu etkilediği bildirilmiştir (Harahap ve ark., 2023) fakat bu konu ile ilgili araştırmalardan elde edilen veriler incelendiğinde, silaj kalitesi kısmen olumlu, kısmen de olumsuz etkilenmiştir.

Sonuç

Kitosan ve organik asitli çözeltileri, mısır silajında katkı maddesi olarak kullanıldığında besinsel, mikrobiyolojik ve fermantatif anlamda değişimler meydana gelmiş ancak bu değişimler hem olumlu, hem de olumsuz yönde gerçekleşmiştir. Bu ikilemin diğer çalışmalarda da var olduğu görülmektedir. Mevcut çalışmadan elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde, kitosanın yapısındaki $-NH_2$ gruplarının aktifliği asitlik gelişimini engellediği, dolayısıyla istenilen fermantasyon kriterlerinin meydana gelmesinin güçleştiği anlaşılmaktadır. Bu çalışma koşulları altında kitosan ve organik asitli çözeltilerinin silaj katkı maddesi olarak uygun materyaller olmadığı kanaatine varılmıştır.

Bilgi

Bu çalışmanın bir kısmı, 25 Ekim 2022 tarihinde düzenlenen "2. International Anatolian Scientific Research Congress" isimli kongrede özet bildiri olarak sunulmuştur.

Teşekkür

Kayseri Yem Sanayi Ticaret A.Ş. Genel Müdürü Erhan Şükrü Başyazıcıoğlu'na araştırmaya verdiği destek için teşekkür ederim.

Kaynaklar

Altuğ, T., Ova, G., Demirağ, K., Elmacı, Y., Zorba, M., Bahar, B., Gür, E., & Uysal, V. (2009). *Gıda Katkı Maddeleri*. Sidas, İzmir.

AOAC. (2022). Amylase-treated neutral detergent fiber in feeds 2002-4. *AOAC Off. Method*, 48–55.

AOAC. (2006). Protein (crude) in animal feed, combustion method 990.03. *AOAC Off. Method*, 30–31.

AOAC. (2005). Ash of animal feed, in official methods of analysis of AOAC international 942.05. *AOAC Off. Method* 8.

AOAC. (1997). Fiber (Acid Detergent) and lignin in animal feed 973.18. *AOAC Off. Method*, 28–29.

AOCS. (2004). Rapid determination of oil / fat utilizing high temperature solvent extraction. *American Oil Chemists' Society*, 1–3.

Araújo, A. P. C., Venturelli, B. C., Santos, M. C. B., Gardinal, R., Cônsolo, N. R. B., Calomeni, G. D., Freitas, J. E., Barletta, R. V., Gandra, J., Paiva, P.G., & Rennó, F. P. (2015). Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. *Animal Feed Science and Technology*, 206, 114–118. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.05.016>

Bryan, K. A. (2019). Clean alfalfa haylage. *Progressive Forage*, March, 2019. <https://www.agproud.com/articles/31936-clean-alfalfa-haylage>

Canbolat, Ö. (2019). *Yem Analiz Yöntemleri ve Yem Değerlendirme*. Medyay, Bursa.

Casquete, R., Castro, S. M., & Teixeira, P. (2017). Evaluation of the Combined Effect of Chitosan and Lactic Acid Bacteria in Alheira (Fermented Meat Sausage) Paste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12866>

Coblentz, W.K., Hoffman, P.C., & Martin, N. P. (2010). Effects of spontaneous heating on forage protein fractions and in situ disappearance kinetics of crude protein for alfalfa-orchardgrass hays packaged in large round bales. *Journal of Dairy Science*, 93, 1148–1169. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2701>

Daniel, J. L. P., Bernardes, T. F., Jobim, C. C., Schmidt, P., & Nussio, L. G. (2019). Production and utilization of silages in tropical areas with focus on Brazil. *Grass and Forage Science*, 74, 188–200. <https://doi.org/10.1111/gfs.12417>

De Moraes, J. P. G., Cantoia Júnior, R., Garcia, T. M., Capucho, E., Campana, M., Gandra, J.R., Ghizzi, L. G., & Del Valle, T. A. (2021). Chitosan and microbial inoculants in whole-plant soybean silage. *The Journal of Agriculture Science*, 159, 227–235. <https://doi.org/10.1017/S0021859621000447>

Del Valle, T. A., Zenatti, T. F., Antonio, G., Campana, M., Gandra, J. R., Zilio, E. M. C., de Mattos, L. F. A., & de Moraes, J. G. P. (2018). Effect of chitosan on the preservation quality of sugarcane silage. *Grass and Forage Science*, 73, 630–638. <https://doi.org/10.1111/gfs.12356>

Fadel El-Seed, A. N. M. A., Kamel, H. E. M., Sekine, J., Hishinuma, M., & Hamana, K. (2003). Chitin and chitosan as possible novel nitrogen sources for ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 83, 161–163. <https://doi.org/10.4141/A02-063>

Gandra, J. R., Oliveira, E. R., Takiya, C. S., Goes, R. H. T. B., Paiva, P. G., Oliveira, K. M. P., Gandra, E. R. S., Orbach, N. D., & Haraki, H. M. C. (2016). Chitosan improves the chemical composition, microbiological quality, and aerobic stability of sugarcane silage. *Animal Feed Science and Technology*, 214, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.020>

Gandra, J. R., Takiya, C. S., Del Valle, T.A., Oliveira, E. R., de Goes, R. H. T. B., Gandra, E. R. S., Batista, J. D. O., & Araki, H. M. C. (2018). Soybean whole-plant ensiled with chitosan and lactic acid bacteria: Microorganism counts, fermentative profile, and total losses. *Journal of Dairy Science*, 101, 7871–7880. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14268>

Garon, D., Richard, E., Sage, L., Bouchart, V., Pottier, D., & Lebailly, P. (2006). Mycoflora and multimycotoxin detection in corn silage: Experimental study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 3479–3484. <https://doi.org/10.1021/jf060179i>

Goiri, I., Oregui, L. M., & Garcia-Rodriguez, A. (2010). Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. *Journal of Animal Science*, 88, 749–755. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2377>

Gomes De Paiva, P., Ferreira De Jesus, E., Del Valle, T. A., Ferreira De Almeida, G., Costa, A. G. B. V. B., Consentini, C. E. C., Zanferari, F., Takiya, C. S., Bueno, I. C. D. S., & Rennó, F. P. (2017). Effects of chitosan on ruminal fermentation, nutrient digestibility, and milk yield and composition of dairy cows. *Animal Production Science*, 57, 301–307. <https://doi.org/10.1071/AN15329>

Goy, R. C., De Britto, D., & Assis, O. B. G. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros*, 19, 241–247. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000300013>

Harahap, R. P., Rohayeti, Y., Setiawan, D., Heraini, D., Sadarman, Nahrowi, Suharti, S., Jayanegara, A., & Adli, D. N. 2023. Effect of chitosan as an alternative additive on preservation quality of silage: A meta-analysis. *Developing Modern Livestock Production in Tropical Countries*, 29–33. <https://doi.org/10.1201/9781003370048-8>

- Henry, D. D., Ciriaco, F. M., & Kohmann, M. (2015). Effects of chitosan on nutrient digestibility, CH₄ emissions, and in vitro. *Journal of Animal Science*, 93, 3539–3550. <https://doi.org/10.2527/jas2014-8844>
- Hirano, S. (1996). Chitin Biotechnology Applications. *Biotechnology Annual Review*, 2, 237–258. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(08\)70012-7](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(08)70012-7)
- Kaplan, M., Baran, O., Unlukara, A., Kale, H., Arslan, M., Kara, K., Beyzi, S. B., Konca, Y., & Ulas, A. (2016). The effects of different nitrogen doses and irrigation levels on yield, Nutritive value, Fermentation and gas production of corn silage. *Turkish Journal of Field Crops*, 21, 101–109. <https://doi.org/10.17557/tjfc.82794>
- Kızıışimşek, M., Erol, A., Dönmez, R., & Katrancı, B. (2016). Silaj Mikro Florasının Birbirleri İle İlişkileri, Silaj Fermentasyonu ve Kalitesi Üzerine Etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 19, 136. <https://doi.org/10.18016/ksujns.35488>
- Kung, L., Shaver, R. D., Grant, R. J., & Schmidt, R. J. (2018). Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101, 4020–4033. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13909>
- Martínez-Camacho, A. P., Cortez-Rocha, M. O., Ezquerra-Brauer, J. M., Graciano-Verdugo, A. Z., Rodríguez-Félix, F., Castillo-Ortega, M. M., Yépiz-Gómez, M. S., & Plascencia-Jatomea, M. (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 82, 305–315. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.04.069>
- Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 183–191. <https://doi.org/10.1590/s1516-35982010001300021>
- Mujtaba, M., Ali, Q., Yilmaz, B. A., Seckin Kurubas, M., Ustun, H., Erkan, M., Kaya, M., Cicek, M., & Oner, E. T. (2023). Understanding the effects of chitosan, chia mucilage, levan based composite coatings on the shelf life of sweet cherry. *Food Chemistry*, 416, 135816. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135816>
- Mujtaba, M., Morsi, R. E., Kerch, G., Elsabee, M. Z., Kaya, M., Labidi, J., & Khawar, K. M. (2019). Current advancements in chitosan-based film production for food technology; A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 889–904. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.109>
- NRC. (2001). *Nutrient Requirements of Dairy Cattle, Seventh Re. ed.* National Academy Press, Washington, DC.
- Sırakaya, S., & Beyzi, S. B. (2022). Treatment of alfalfa silage with chitosan at different levels to determine chemical, nutritional, fermentation, and microbial parameters. *Journal of Animal and Feed Science*, 31, 73–80. <https://doi.org/10.22358/jafs/147014/2022>