

STANISŁAW KRZYWIECKI, JERZY PREŚ, RAFAŁ BODARSKI

Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

ZNACZENIE MIKROBIOLOGICZNYCH I FIZYKOCHEMICZNYCH
PROCESÓW W PRAKTYCE KISZENIA PASZ W ŚWIETLE BADAŃ
NIEMIECKICH

The role of microbiological and physical-chemical processes on the feed ensiling practice
according to German researches

ABSTRAKT: W pracy przedstawiono najciekawsze fragmenty referatów wygłoszonych na międzynarodowej konferencji naukowej w Niemczech z 2004 roku. Przedstawiono podstawowe procesy mikrobiologiczne i rodzaje bakterii biorących w nich udział. Omówiono szerzej występowanie w kiszonkach grzybów toksynotwórczych i ich metabolitów oraz ich działanie na organizmy zwierząt. Omówiono zmiany fizyczno-chemiczne, jakie zachodzą przy podsuszaniu zielonek przed kiszeniem. Przedstawiono wyniki badań nad ciśnieniem osmotycznym roślin podsuszonych i graniczne poziomy osmotolerancji dla bakterii kiszonkowych. Zwrócono uwagę na czynniki hamujące rozwój clostridii (NaNO_2 , clostridiofagi). Omówiono podstawowe grupy dodatków mikrobiologicznych: od dawna obecnych na rynku i zupełnie nowatorskich, koncentrując się na sposobie ich działania. Przedstawiono problemy, jakie mają przy kiszeniu traw Holendrzy – potentaci w produkcji serów twardych. Na końcu krótko omówiono kilka wyników badań własnych z zakresu kiszenia i wartości pokarmowej kiszzonek z roślin motylkowatych i traw. Warto podkreślić, iż ogólnym założeniem w przedstawionych materiałach było stosowanie ekologicznych metod polepszania jakości kiszzonek i ich wartości pokarmowej.

słowa kluczowe – key words:

proces kiszenia – *ensiling process*, jakość – *quality*, dodatki biologiczne – *biological additives*

WSTĘP

W czasie kiszenia, wg Bauera (2), wyróżnia się 4 fazy:

1. faza aerobowa,
2. faza fermentacji,
3. faza stabilna,
4. faza wybierania kiszzonek.

Istotne dla prawidłowego przebiegu procesu fermentacji jest skrócenie pierwszej fazy obejmującej okres od napełnienia silosu do uzyskania warunków beztlenowych. W tym czasie uaktywniają się enzymy obecne w zakiszanej masie, które rozkładają zarówno cukry złożone (karbonyhydrolazy), jak i białko (proteazy), odpowiednio

do cukrów rozpuszczalnych w wodzie oraz do aminokwasów. Proces ten przebiega dynamicznie.

W drugiej fazie fermentacji istnieją możliwości do rozwoju enterobakterii, clostridii, bakterii kwasu mlekowego (BKM) i drożdży, które występują na roślinach przed kiszeniem. Przewagę powinny uzyskać szybko BKM. Do tej grupy wg Bauera (2) należą gatunki i szczepy: *Lactobacillus*, *Pedococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* i *Leuconostoc*. Mają one zdolność produkcji kwasu mlekowego z glukozy w procesie fermentacji. Ponadto wytwarzają substancje o antybakteryjnych właściwościach, np. H_2O_2 , CO_2 , reuterinę, bakteriocyny. Warto jednocześnie podkreślić, że bakterie homofermentatywne fermentują heksozy do kwasu mlekowego, natomiast heterofermentatywne obok kwasu mlekowego produkują etanol lub mannitol. Jednocześnie zredukowany dinukleotyd nikotynamidoadeninowy ($NADH_2$) utleniany jest do formy niezredukowanej (NAD). Interesujące jest to, że na mol mleczanu powstaje mol adenozyntrifosforanu (ATP), a więc straty energii są małe. Szeroko rozpowszechnione na roślinach uprawnych *Enterobacteriaceae* redukują azotany do azotynów oraz fermentują heksozy do kwasu octowego, mrówkowego i etanolu, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania rozwoju clostridii. Jednocześnie bakterie te z aminokwasów tworzą biogenne aminy (histaminę, tyraminę) i amoniak, które mają ujemny wpływ na pobieranie kiszzonek przez zwierzęta. Przy niskim pH bakterie te są całkowicie eliminowane. Powszechnie występują również clostridia, które należą do beztlenowców i tworzą spory – zarodniki. Namnażają się jednak dość wolno. Przy złym przebiegu procesu kiszenia produkują kwas masłowy i octowy, co pogarsza znacznie jakość kiszzonek. Pochodzące z kiszzonek o złej jakości *Clostridium tyrobutiricum* swobodnie namnaża się w przewodzie pokarmowym krowy i wydalane z kałem może zanieczyścić mleko, psując jakość serów dojrzewających. Prawidłowy zbiór roślin i właściwy przebieg zakiszania eliminują clostridia z kiszzonek.

Faza stabilna trwa do momentu otwarcia zbiornika. W tym czasie ilość i aktywność większości mikroorganizmów, w tym bakterii kwasu mlekowego wyraźnie się zmniejsza, choć niektóre gatunki (np. *Lactobacillus buchnerii*) potrafią przy niskim pH nadal prowadzić fermentację.

W fazie wybierania kiszzonek dopływ tlenu atmosferycznego może uaktywnić drożdże, grzyby pleśniowe i bakterie kwasu octowego. W takich warunkach wzrastają wartości pH i temperatury, a w konsekwencji zwiększają się straty. Te mikrobiologiczne procesy tlenowe związane z drożdżami i grzybami pleśniowymi prowadzą do wtórnego psucia się kiszzonek (2). Duża aktywność drożdży zwiększa straty substancji pokarmowych, natomiast metabolity pleśni są szkodliwe dla zdrowia zwierząt. Według Schneweisa (12) wśród grzybów pleśniowych dominują *Penicillium roqueforti*, *Monascus ruber* i *Aspergillus fumigatus*. *Penicillium roqueforti* wytwarza szereg pośrednich metabolitów, z których dwa: roquefortyna C i kwas mykofenolowy zostały stosunkowo dobrze poznane. Roquefortyna C jest alkaloidem indolowym i występuje dość powszechnie w kiszzonek z kukurydzy (tab. 1).

Tabela 1

Występowanie roquefortyny C w kiszonkach (1)
The occurrence of roquefortin C in silages (1)

Rodzaj kiszonki Type of silage	Liczba prób Number of samples (n)	Pozytywnych Positive		Roquefortyna C ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Roquefortin C	
		N	%	średnia mean	zakres range
Kiszonka z kukurydzy Maize silage	60	18	30	5470	48–28150
Kiszonka z traw Grass silage	20	3	15	278	99–584
Kiszonka z kolb (CCM) Corn Cob Mix	27	2	7	1106	86–2127
Kiszonka w balotach Baled silage	4	1	25	481	-
Łącznie Together	111	24	22	4250	48–28150

W doświadczeniach przeprowadzonych na myszach i owcach zwierzętom podawano dość duże dawki tego metabolitu i nie stwierdzono żadnych zmian patologicznych (13, 15). Kwas mykofenolowy, który jest metabolitem grzybów powszechnie namnażających się w kiszonkach z traw i kukurydzy (tab. 2), według Sieversa i in. (14) nie wykazuje działania neuro-, hepato- i nefrotoksycznego. Natomiast znana jest selektywna właściwość immunosupresyjna tego kwasu, polegająca na hamowaniu przemiany puryn. W doświadczeniu, w którym podawano owcom duże dawki kwasu mykofenolowego ($300 \text{ mg}\cdot\text{dz}^{-1}$), nie stwierdzono jego ujemnego wpływu na stan zdrowia zwierząt (5). Zaobserwowano jednak pewne symptomy obniżenia

Tabela 2

Występowanie kwasu mykofenolowego w kiszonkach (12)
The occurrence of mycophenolic acid in silages (12)

Rodzaj kiszonki Type of silage	Liczba prób Number of samples (n)	Pozytywnych Positive		Kwas mykofenolowy Mycophenolic acid ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
		N	%	średnia; mean	zakres; range
Kiszonka z kukurydzy Maize silage	135	38	28	690	20–23000
Kiszonka z traw Grass silage	98	36	37	2200	21–35000
Łącznie Together	233	74	32	1400	20–35000

odporności organizmu, które wskazują na potrzebę dokładnej obserwacji zwierząt pobierających duże ilości tego kwasu w kiszonkach.

Innym grzybem pleśniowym, często namnażającym się w kiszonkach, jest *Monascus ruber*. Cechą charakterystyczną tego grzyba jest zabarwienie na czerwono podłoża, na którym rośnie. *Monascus ruber* wytwarza dwa metabolity cytryninę i monacolinę K. Cytrynina występuje w bardzo małych ilościach (maks. 0,064 mg·kg⁻¹) i nie wywołuje żadnych szkodliwych następstw. Monacolinę K, w postaci kwasu albo laktonu, stwierdzono w kiszonkach z traw i kukurydzy (20% kiszonek gorszej jakości) w ilości dochodzącej do 645 mg·kg⁻¹. Monacolina K hamuje syntezę steroli i ergosteryny w grzybach, a także rozwój grzybów żwaczowych, rozkładających włókno. Może to obniżyć wartość energetyczną pasz włóknistych (2).

Nowym i niewątpliwie interesującym zagadnieniem dotyczącym oceny surowców kiszonkarskich jest określenie wielkości ciśnienia osmotycznego fazy płynnej (soku komórkowego) zakiszanych roślin. Prace z tego zakresu w ostatnich latach prowadzono intensywnie na Uniwersytecie w Rostocku. Z dotychczasowych badań (18) wynika, że ciśnienie to w istotny sposób wpływa na rozwój bakterii uczestniczących w procesie kiszenia. Wykazano, że bakterie kwasu mlekowego charakteryzują się wyższą siłą sorpcyjną niż bakterie fermentacji masłowej. Można więc zaryzykować twierdzenie, że przy niższej aktywności wody (wysokie ciśnienie osmotyczne) bakterie kwasu mlekowego rozwijają się bardziej dynamicznie niż inne bakterie. Stąd istotne jest określenie wielkości ciśnienia osmotycznego, a zwłaszcza dynamiki zmian tego wskaźnika w poszczególnych fazach kiszenia. Ciśnienie osmotyczne soku roślin jest zależne od koncentracji substancji działających osmotycznie. W tym zakresie działają nieorganiczne jony i cząsteczki, cukry, wolne aminokwasy i kwasy organiczne. Pomiar osmolarności, dokonywane osmometrem, bazują na założeniach prawa Ravaulta, według którego istnieje relacja między ciśnieniem pary roztworu a jego molarnością. Ten sposób pomiaru aktywności soku w teorii kiszenia użyty jest do opisanego ciśnienia osmotycznego. Bardzo ważna jest zależność wzrostu ciśnienia osmotycznego soku roślin przy zwiększaniu zawartości suchej masy w zakiszonym surowcu. Przy podsuszaniu zielonki następuje wzrost ciśnienia osmotycznego, co hamuje rozwój bakterii kwasu masłowego (clostridii). Podsuszanie zielonek stanowi więc praktyczną możliwość poprawy warunków fermentacji dla bakterii kwasu mlekowego, poprzez zmniejszenie aktywności wody. Warto jednak pamiętać, że nadmierne podsuszenie zakiszane materiału (powyżej 50% s.m.) jest zjawiskiem niekorzystnym – wywołuje bardzo wysoki wzrost osmolarności i ogranicza aktywność wszystkich gatunków bakterii. W tym przypadku uzyskane kiszonki charakteryzuje wysokie pH i słaba stabilność tlenowa. W tabeli 3 podano graniczne poziomy osmolarności fazy płynnej zakiszane materiału dla rozwoju wybranych gatunków bakterii kiszonkowych, z których wynika, że clostridia charakteryzują się małą osmotolerancją. Natomiast wśród bakterii kwasu mlekowego w tym zakresie istnieją duże różnice.

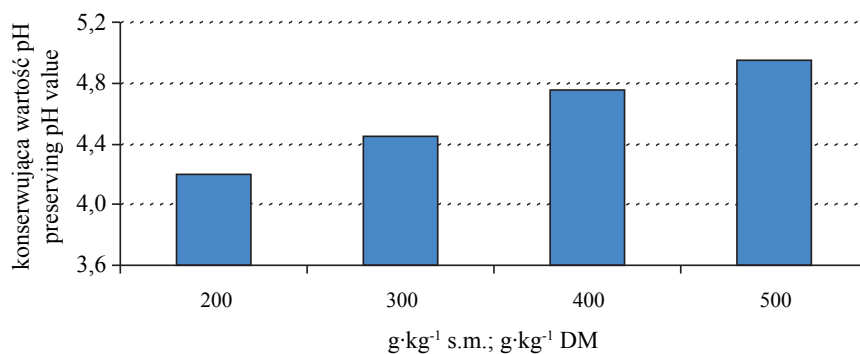
Tabela 3

Graniczne poziomy osmolarności ($\text{Osm}\cdot\text{l}^{-1}$) dla rozwoju bakterii kiszonkowych (na podstawie 18)
 Border values of osmolarity ($\text{Osm}\cdot\text{l}^{-1}$) for silage bacteria growth (18)

Clostridia	
<i>Clostridium perfringens</i> 0,3*	
<i>Clostridium botulinum</i> 0,85	
<i>Clostridium tyrobutyricum</i> 0,3–1,7	
Bakterie kwasu mlekowego; Lactic acid bacteria	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> 0,6	<i>Lactobacillus lactis</i> 2,1
<i>S. thermophilus</i> 0,9	<i>Lactobacillus brevis</i> 2,3
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> 1,1	<i>Pediococcus cerevisiae</i> 2,3–3,5
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1,6–3,8	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 2,8
<i>Lactobacillus casei</i> 1,9–3,8	<i>Pediococcus acidilactici</i> 3,5
<i>Streptococcus lactis</i> 2,1	<i>Pediococcus pentosaceus</i> 3,5

* wartości, przy których dochodzi do zahamowania rozwoju bakterii; values which inhibit bacteria development

W praktyce kiszenia często stawiane jest pytanie: w jaki sposób można skutecznie ograniczyć czy też wyeliminować z kiszonek kwas masłowy i polepszyć ich stabilność beztlenową? Czy w tym celu lepiej stosować inokulanty, czy też podsuszać zielonkę przed kiszeniem? Według Weissbacha i Honiga (16) krytyczne wartości pH, które gwarantują stabilność anaerobową w czasie stabilnej fazy zakiszania, zależą od zawartości suchej masy zakiszanych zielonek (rys. 1). A więc na skutek podsuszania zielonek (wzrost ciśnienia osmotycznego soku komórkowego zakiszanych roślin) zmniejszają się wymagania odnośnie wartości pH. W wielu przypad-



Rys. 1. Zależność między zawartością suchej masy i właściwą dla kiszonki wartością pH (16)
 The relationship between dry matter concentration and adequate for silage pH value (16)

kach stwierdzono, iż mimo podsuszania i uzyskania właściwego pH, w kiszonkach z traw i kukurydzy występowały jednak pewne ilości kwasu masłowego. Szczególnie często dotyczyło to zielonek nienawożonych azotem, pochodzących z uprawy ekstensywnej (17). Przyczyną była za mała ilość azotanów w tego rodzaju materiale (poniżej $0,5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ s.m.). Azotany i azotyny bardzo wyraźnie hamują rozwój clostridii i wytwarzanie kwasu masłowego. Związki te stanowią grupę tzw. soli obojętnych i są dodawane w małych ilościach do niektórych preparatów do kiszenia pasz. W innych badaniach (9) trawę z trzeciego pokosu nawożoną wysokimi dawkami N (nawozy mineralne + gnojowica) zakiszano z dodatkiem zawierającym bakterie kwasu mlekowego, enzymy i bakteriofagi przeciw clostridiom. Dodatek ten nie miał wpływu na skład chemiczny, wartość pH oraz ilości kwasu mlekowego i octowego, ani też na strawność substancji organicznej i ilość energii metabolicznej. Natomiast zredukował ilość kwasu masłowego do zera i zwiększył przyrosty dzienne młodych opasów o 80 g oraz dobowe pobranie kiszonki o 290 g s.m./szt. Po zastosowaniu tego dodatku zmniejszyła się również ilość wyciekającego soku i zawartość amoniaku (miara rozkładu białka w czasie konserwacji).

Poważnym problemem przy zakiszaniu całych roślin zbożowych (GPS) jest obecność w kiszonkach kwasu masłowego. Stąd do zakiszania takiego materiału stosuje się różne dodatki. Wyniki badań Ernsta (6), w których wykorzystywano dodatki bakterii kwasu mlekowego (BKM) i azotynu sodu przy konserwacji całych roślin pszenżyta zbieranego w końcu dojrzałości mlekowej (ok. 50% żdźbeł), przedstawiono w tabeli 4. Stosowanie obu dodatków całkowicie wyeliminowało z kiszonek kwas masłowy. Ponadto dodatek BKM obniżył wyraźnie pH kiszonki i spowodował znaczny wzrost ilości kwasu mlekowego. Biorąc pod uwagę wyniki różnych doświadczeń, warto postawić pytanie: dlaczego przy dużym podsuszeniu zielonki

Tabela 4

Wpływ dodatku azotynu oraz bakterii kwasu mlekowego przy kiszeniu całych roślin pszenżyta (6)
The influence of nitrite and lactic acid bacteria addition at whole crop triticale ensiling (6)

Wskaźnik Indicator	Bez dodatku Without addition	+BKM +LAB	+0,10% NaNO ₂
Sucha masa (%) Dry matter (%)	44,5	43,5	45,6
pH	4,7	3,9	4,9
Kwas mlekowy (% s.m.) Lactic acid (% DM)	1,9	5,5	1,9
Kwas octowy (% s.m.) Acetic acid (% DM)	1,2	1,3	1,7
Kwas masłowy (% s.m.) Butyric acid (% DM)	1,0	0,0	0,0
Etanol (% s.m.) Ethanol (% DM)	1,6	0,5	0,7

(40–50% s.m.) i jednocześnie wysokim ciśnieniu osmotycznym w niektórych kiszoncek występują nadal pewne ilości kwasu masłowego. Dotyczy to zwłaszcza kiszzonek z całych roślin zbożowych i kukurydzy, u których w miarę rozwoju zmniejsza się w suchej masie ilość cukrów prostych rozpuszczalnych w wodzie, na skutek wzrostu ich polimeryzacji (skrobia ziarna). Proces ten powoduje zmniejszanie ciśnienia osmotycznego. Do tej grupy roślin należą także trawy uprawiane ekstensywnie (mało NO_3) i trawy klimatu subtropikalnego, które charakteryzują się niską zawartością cukrów prostych i związków mineralnych (wysoka aktywność wody). Działanie dodatku NO_3 i NO_2 jest skuteczne przy odpowiedniej zawartości cukrów. Istnieje przekonanie, że azotany i azotyny hamują głównie fermentację masłową clostridiów, które w takich warunkach przestawiają się na produkcję kwasu octowego, ale nadal pozostają w kiszonce. Warto jednocześnie podkreślić, że na skutek stosowania tych soli następuje znaczny spadek ilości kwasu masłowego.

Powszechnie zalecanym zabiegiem ułatwiającym zakiszanie traw, roślin motylkowatych i mieszanek tych roślin jest ich podsuszanie. W trakcie tego procesu zwiększa się w zielonkach koncentracja cukrów rozpuszczalnych i zmniejsza się pojemność buforowa zielonek. Dla środowiska przyrodniczego bardzo ważne jest zmniejszenie ilości wypływającego soku kiszoncekowego, a dla zwierząt wyższa wartość pokarmowa takich kiszzonek. Interesującym i zalecanym sposobem kiszenia surowców, zwłaszcza trudno zakiszających się, jest stosowanie przy tej konserwacji różnych dodatków. Pozwalają one obniżyć ryzyko niewłaściwego ukierunkowania procesów fermentacji i znacznie poprawić jakość i wartość pokarmową kiszzonek. Stosuje się je zarówno do zielonek świeżych, jak też przewędniętych. Wykorzystuje się w tym celu inhibitory fermentacji oraz stymulatory fermentacji. Inhibitory fermentacji (kwasy mineralne, a także niskocząsteczkowe kwasy organiczne i ich sole) obniżają pH do poziomu, przy którym giną szkodliwe dla fermentacji mlekowej drobnoustroje (clostridia). Natomiast stymulatory fermentacji, typu bakteryjnego i bakteryjno-enzymatycznego, hamują aktywność enzymów roślinnych wywołujących proteolizę białka, a jednocześnie ograniczają bądź też eliminują rozwój groźnych dla fermentacji bakterii masłowych, gnilnych, a także grzybów (w tym pleśni). Szacuje się, że stosowanie dodatków przy kiszeniu kukurydzy, traw i roślin motylkowatych obniża straty suchej masy o 3–6%. Przy poprawnym procesie zakiszania i stosowaniu dodatków można już obecnie uzyskać w kiszoncekach z traw 7 MJ NEL·kg⁻¹ s.m. (10). Przewiduje się, że do 2010 roku wartość kiszzonek z traw, w przeliczeniu na suchą masę, dorówna wartości pasz treściwych. Na pewno bardzo ułatwi to metoda NIRS, która pozwala szybko i rzetelnie ocenić wartość energetyczną bardzo dużej ilości prób (niezmiernie ważne narzędzie dla służb doradczych). Prognozuje się też, że bardzo dobre pasze objętościowe umożliwią produkcję mleka na poziomie 7–8 tys. l od sztuki rocznie, choć według autorów niniejszego opracowania będzie to trudne do uzyskania. Aktualny stan stosowania dodatków w odniesieniu do najczęściej zakiszanych roślin podano w tabeli 5. Najwięcej dodatków stosuje się przy kiszeniu roślin motylkowatych, natomiast najmniej przy kiszeniu

Tabela 5

Udział kiszonek sporządzanych z dodatkami dla poszczególnych rodzajów roślin (10)
The share of silages made with additives for several kinds of plants (10)

Rodzaj paszy Kind of forage	% kiszonek z dodatkami % of silages with additives		
	chemicznymi chemical	biologicznymi biological	łącznie together
Kukurydza Maize	3	10	13
Trawy Grasses	5	20	25
Motylkowate Leguminous	25	25	50

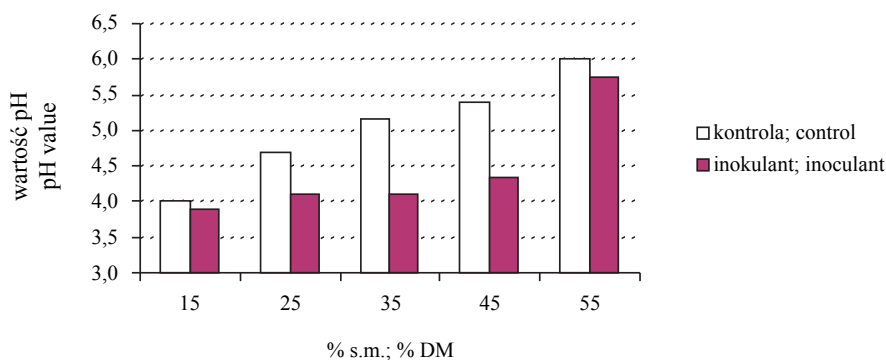
kukurydzy. W grupie dodatków biologicznych wg Pahlowa (10) można wyróżnić 2 podgrupy:

- a) bakterie kwasu mlekowego (BKM), które stanowią 90% stosowanych dodatków biologicznych,
- b) inne mikroorganizmy (bakterie propionowe, *Bacillus*, *Serratia*, fagi, drożdże z wirusem).

W stosunku do BKM stawia się następujące wymagania:

- homofermentacyjny typ fermentacji,
- szeroki zakres substratu węglowodanowego,
- duża tolerancja na pH>4 i na temperaturę (5–50°C),
- szybkie namnażanie,
- rozwój nawet przy małej aktywności wody – osmotolerancja,
- mały rozkład białka,
- produkcja kwasu mlekowego już w warunkach tlenowych,
- hamowanie rozwoju drożdży i szkodliwych bakterii,
- dobra trwałość produktu w postaci liofilizowanej.

Warto podkreślić, że osmotolerancja jest ważna przy kiszeniu przewiedniętych traw i roślin motylkowatych (s.m. >35%). We frakcji płynnej takich zielonek znacznie wzrasta koncentracja cukrów, aminokwasów i związków mineralnych, natomiast mało jest tzw. wody wolnej – niezwiązanej, która jest dostępna dla BKM (10). Na skutek silnego podsuszenia (>45% s.m.) uzyskuje się materiał o wysokim pH >5 (rys. 2). Jest to niepożądane z punktu widzenia higieny pasz, bowiem w kiszonkach uzyskanych z tak podsuszonych zielonek obecne są clostridia, listerie, salmonelle itp. Stąd tak ważny dodatek BKM, które powodują obniżenie pH<5. Heterofermentacyjne bakterie kwasu mlekowego wytwarzają przy fermentacji cukrów obok kwasu mlekowego również CO₂ i pewną ilość kwasu octowego (z pentoz). Warto pamiętać, że niezdysoncjowany kwas octowy w ilości >0,8% w świeżej masie hamuje rozwój grzybów i drożdży, co zmniejsza proces wtórnej fermentacji. Bardzo



Rys. 2. Wartość pH kiszonek w trzecim dniu zakiszania w zależności od zawartości suchej masy (10)
The pH value at 3rd day of ensiling depending on dry matter concentration (10)

istotnym spostrzeżeniem jest fakt, iż heterofermentatywne bakterie *Lactobacillus buchneri* produkują 1,2-propandiol (glikolu propylenu), a także z kwasu mlekowego kwas octowy i etanol (3). W innych badaniach wykazano, że w kiszonce z kukurydzy w czasie przechowywania pod wpływem bakterii *Lactobacillus diolivorans* 1,2-propandiol przekształcany jest w 1-propanol i kwas propionowy (8). Można więc stwierdzić, że dodatek tych dwóch rodzajów bakterii stwarza możliwość ograniczenia rozwoju drożdży i grzybów, a tym samym stabilizacji tlenowej kiszonek. Jednocześnie obecność w kiszonce 1,2-propandioli (glikolu propylenu) można postrzegać w kontekście nowej możliwości zapobiegania ketozie (jest to tzw. związek glukoplastyczny). Wykazano też, że straty przy heterofermentacji cukrów rosną o 3 do 5%, natomiast dzienne straty przy wtórnej fermentacji tlenowej wahają się od 1 do 3,5%. Tak więc zasadność stosowania heterofermentatywnych BKM wydaje się bezdyskusyjna (10).

Jako dodatki kiszonkarskie są również stosowane inne grupy mikroorganizmów (10).

- Bakterie kwasu propionowego obok kwasu mlekowego produkują kwas propionowy, który silnie hamuje rozwój drożdży. Ich wadą jest mała tolerancja na pH – przy niskim szybko giną.
- *Bacillus subtilis* – produkuje lipopeptydy z grupy iturin i ogranicza rozwój grzybów.
- Fagi (clostridiofagi) są to wirusy bakterii. Znane są takie, które wnikają i rozrywają komórki bakterii kwasu masłowego. Atakują tylko rosące komórki i nie są szkodliwe dla zarodników. Działają tylko przy pH wyższym od 5. W Unii Europejskiej dopuszczono do stosowania preparat brytyjskiej firmy zawierający obok BKM clostridiofagi.
- „Zabójcy drożdży” – szczepy drożdży piekarniczych (*Saccharomyces cerevisiae*) zainfekowane wirusem, które produkują antybiotyczną toksynę. Substancja ta niszczy komórki drożdży poprzez hamowanie w nich syntezy DNA.

- Mieszanki BKM i substancji chemicznych (sorbinianów, benzoianów, propionianów) – nowy produkt hamujący rozwój grzybów. Składniki te są oddzielnie pakowane i stosowane po wymieszaniu w postaci płynnej (po rozpuszczeniu w wodzie). Jest to najbardziej powszechny sposób dozowania preparatów zawierających BKM, bowiem istnieje możliwość przechowywania ich w lodówce w formie bakterii liofilizowanych.

Do drobnoustrojów niepożądanych z uwagi na higienę pasz należą *Clostridia*, drożdże oraz bakterie kwasu octowego, które psują jakość kiszonek i uruchamiają proces wtórnej fermentacji tlenowej. Do tej grupy zalicza się także listerie i toksynogenne grzyby, które bezpośrednio wpływają niekorzystnie na zdrowie zwierząt (10). W większości przypadków intensywna produkcja kwasu mlekowego i optymalna flora fermentacyjna chronią przed szkodliwymi grupami bakterii, grzybów, w tym drożdży. Dodatkową ochronę przed listeriami, *Clostridiami* i streptokokami mogą stanowić szczepy *Lactococcus lactis*, które produkują nizinę – antybakteryjną substancję, działającą w koncentracji 250 ppm (10). Podobne związki wytwarzają *L. rhamnosus* i *L. reuteri* (reuterina). Szczepy te są już stosowane w preparatach do kiszenia pasz. *Lactobacillus plantarum* produkuje silne substancje antygrzybowe (np. hydroksy-kwasy tłuszczowe), które zwalczają powszechnie występujący w kiszonkach grzyb *Penicillium roqueforti*. Ilość dodawanych inokulantów mieści się najczęściej w granicach od 100 000 do 1 000 000 JTK·g⁻¹. Namnażanie się zawartych w nich mikroorganizmów zależy od wielu czynników, trudno więc rozstrzygnąć, jaka dawka jest najlepsza.

Ciekawe informacje dotyczące nowoczesnych trendów w zakresie produkcji kiszonek uzyskać można na podstawie analizy sytuacji w Holandii, która jest krajem o bogatej tradycji produkcji mleka. Produkcja zielonek z traw w Holandii wynosi 10 mln ton, natomiast wydajność przy nawożeniu 250 kg N·ha⁻¹ szacowana jest na poziomie 10–12 ton s.m. z ha, w tym zbiór z pierwszego pokosu 2–3 tony z ha. Na kiszonkę zbiera się w tym kraju blisko połowę zielonek – 4,5 mln ton, a na siano zaledwie 0,2–0,3 mln ton. Złej jakości kiszonki z traw, wg Driehuisa i TeGiffela (4), można podzielić na dwa typy: niestabilne beztlenowo i niestabilne w warunkach tlenowych. W grupie niestabilnych beztlenowo mieszczą się kiszonki o zbyt małym zakwaszeniu. Główny problem w tych kiszonkach stanowi *Clostridium tyrobutyricum*, które rozkłada kwas mlekowy. Typowe „kiszonki *Clostridiowe*” mają: wysokie pH, dużo kwasu masłowego, NH₃ i amin biogennych. *Clostridia* z takich kiszonek poprzez kał i wymię kontaminują mleko. Endospory są odporne na pasteryzację. Rozwijające się w mleku *Clostridia* zmieniają jego smak i produkują gazy, które niszczą sery półtwarde, np. Gouda. Mleko w Holandii jest ciągle badane na obecność bakterii kwasu masłowego (BAB), które rozkładają kwas mlekowy i tworzą gazy. Po 20 latach badań w Holandii ilość BAB w mleku zmalała. W latach 2002–2003 produkowane w tym kraju kiszonki z traw zakwalifikowano do następujących 4 grup:

1. kiszonki dobre – < 1000 zarodników BAB·g⁻¹ – 45–50% całości
2. kiszonki zadawalające – 1000–10000 zarodników BAB·g⁻¹ – 35% całości
3. kiszonki średniej jakości – 10000–100000 zarodników BAB·g⁻¹ – 15–20% całości
4. kiszonki złe – >100000 zarodników BAB·g⁻¹ – 35% całości.

W badaniach stwierdzono, że kiszonki z kukurydzy zawierają więcej zarodników BAB niż kiszonki z traw. Oceniając kiszonki na przekroju silosu, wykazano dwukrotnie większe ilości zarodników w warstwie wierzchniej niż w warstwie wewnętrznej. W przypadku kiszonek z traw największą koncentrację zarodników BAB stwierdzono wtedy, gdy zawartość suchej masy w tych paszach przekraczała 350 g·kg⁻¹.

W badaniach własnych stwierdzono istotny wpływ stosowanych dodatków przy kiszeniu na poziom frakcji azotowych w kiszonkach z koniczyny łąkowej i lucerny (11). Kwas mrówkowy skuteczniej ograniczał proteolizę białka niż inokulanty. Natomiast kiszonki z preparatem mikrobiologiczno-enzymatycznym zawierały białko o lepszym składzie aminokwasowym i wyższej wartości biologicznej. Wykazano, że istnieje silny związek między degradacją w żwaczu masy organicznej i białka a rodzajem zakiszanej zielonki – w zakiszanej koniczynie rozkładane były wolniej aniżeli w lucernie. Spośród aminokwasów najwolniej w żwaczu rozkładana była histydyna i metionina. Zastosowanie dodatków mikrobiologicznych przy kiszeniu przewiedniętego porostu łąkowego poprawiło jakość oraz strawność składników pokarmowych i wartość odżywczą kiszonek, a także przyspieszyło rozkład w żwaczu masy organicznej i białka tych kiszonek (7).

W podsumowaniu warto zwrócić uwagę na fakt, że w całym referacie główny akcent położono na aspekt ekologiczny konserwacji pasz, dlatego najobszerniej omówiono procesy mikrobiologiczne i mechanizmy działania różnych dodatków biologicznych. Odpowiada to aktualnemu trendowi obecnemu w nauce i w praktyce rolniczej Unii Europejskiej, w której preferowane są wszelkie działania i zabiegi „ekologizujące” produkcję żywności.

LITERATURA

1. Armbruster G.: Füttermittelhygienische Untersuchungen von Silagen: Nachweis und Vorkommen des Mykotoxins Roquefortin. Diss. Med. Vet. Ludwig Maximilians Universität München, 1994.
2. Bauer J.: Mikrobiologie der Silierung. Hülsenberger Gespräche, 2004, **20**: 65-72.
3. Driehuis F., Oude Elferink S.J.W.H., Spoelstra S.: Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole maize inoculated with *Lactobacillus buchneri* inhibits yeast growth and improves aerobic stability. J. Appl. Microbiol., 1999, **87**: 583-594.
4. Driehuis F., Te Giffel M., C.: Developments in silage making and silage research in The Netherlands. Hülsenberger Gespräche, 2004, **20**: 76-80.
5. Dzidic A., Mohr A., Meyer K., Bauer J., Meyer H.D.H., Pfaffl M.W.: Effects of mycophenolic acid (MPA) treatment on expression of Fc receptor (FcRn) and polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) mRNA in adult sheep tissues. Croatian Med. J., **45**: 130-135.
6. Ernst A.: Futterwert und Siliereignung von Triticaleganzpflanzen, Diplomarbeit, Universität Rostock, 1992.
7. Knotek S., Žilakova J., Krzywiecki S., Bodarski R., Szyszkowska A.: Evaluation of nutrient value of silage made from microbiologically supplemented meadow grass by in vivo and in vitro methods. Proceed. 8th Internat. Conf. „Current problems of breeding, health, growth and production of cattle”, Czeskie Budziejowice, 2000, 151-154.

8. Krooneman J.: *Lactobacillus diolivorans* sp. nov., a 1, 2-propanedioldegrading bacterium isolated from aerobically stable maize silage. *International J. Systematic and Evolutionary Microbiol.*, 2002, **52**: 639-646.
9. Laird R., Gill A., McAuslan J., Thomas C., Wright I.D.: The effect of a biological silage additive and type of supplement on the performance of beef cattle. *J. Anim. Prod.*, 1990, **50**: 595-596.
10. Pahlow G.: *Erfahrungen mit Mikroorganismen in der Silierung*. Hülsenberger Gespräche, 2004, **20**: 85-93.
11. Pasternak A.: *Frakcje azotowe i profile aminokwasowe białka koniczyny czerwonej i lucerny zakiszanych z różnymi dodatkami*. Praca doktorska. Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 2007
12. Schneweis I.: *Füttermittelhygienische Untersuchungen von Silagen: Nachweis und Vorkommen von Monacolinen, Citrinin und Mykophenolsäure*. Diss. Agr., Technische Universität München, 2000.
13. Scott P.M., Merrien M.A., Polonsky J.: Roquefortine and isofumiclavine A, metabolites from *Penicillium roqueforti*. *Experientia*, 1976, **32**: 140-142.
14. Sievers T.M., Rossi S.J., Ghobrial R.M., Arriola E., Nishimura P., Kawano M.K., Holt C.D.: Mycophenolate Mofetil. *Pharmacotherapy*, 1997, **17**: 1178-1197.
15. Tüller G., Armbruster G., Wiedenmann S., Hänichen T., Schams D., Bauer J.: Occurrence of roquefortine in silage – toxicological relevance to sheep. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.*, 1998, **80**: 246-249.
16. Weissbach F., Honig H.: *Grünfütter und Feuchtgetreidekonservierung*. Arbeitsgemeinschaft der norddeutschen Landwirtschaftskammern, Oldenburg, Germany, 1997.
17. Weissbach F., Honig H., Keiser E.: The effect of nitrate on the silage fermentation. *Proceedings of the 10th International Conference on silage research*, Dublin, 1993, 122-123.
18. Zierenberg B., Friedel K., Gabel M.: *Der osmotische Druck im Siliergut: ein wichtiger Parameter zur Erzeugung von Qualitätssilagen. Eine Revolution in der Silagetheorie? Tagungsbericht, 6 Symposium zur Fragen der Fütterung von Kühen mit hohen Leistungen, 01.02.2002 Neuruppin, 2002, 95-106.*

THE ROLE OF MICROBIOLOGICAL AND PHYSICAL-CHEMICAL PROCESSES ON THE FEED ENSILING PRACTICE ACCORDING TO GERMAN RESEARCHES

Summary

In the study, the most interesting fragments from papers submitted to an international conference in Germany from 2004 were presented. The basic microbiological processes, as well as the types of bacteria taking part in them, are characterised. The occurrence of toxin producing moulds and their metabolites, as well as their influence on the animal organism are discussed. The physical-chemical changes during the drying process of green forages before ensiling were described. The results of dried plants osmotic pressure investigations and values of osmotolerance limited of silage bacteria growth were presented. Attention was focused on factors that inhibit the clostridia growth (NaNO_2 , clostridiophages). Two basic groups of microbiological additives were discussed plus their mode of action: established for a long time on the market and innovative groups. The problems of Dutch farmers (the leaders' in hard cheese production) with grass silage production were presented. At the end of paper, some results of one's own researches apply for ensiling and nutritional value of leguminous and grass silage was described. It is worth underlining that the general intention of the presented paper was the use of ecological methods in order to improve the quality and nutritional value of silages.

Praca wpłynęła do Redakcji 16 VII 2007 r.