

Wpłynęło 18.02.2013 r.
Zrecenzowano 15.03.2013 r.
Zaakceptowano 19.03.2013 r.

A – koncepcja
B – zestawienie danych
C – analizy statystyczne
D – interpretacja wyników
E – przygotowanie maszynopisu
F – przegląd literatury

ROLA BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ W POPRAWIE JAKOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ KISZONEK Z RUNI ŁĄKOWEJ W GOSPODARSTWACH EKOLOGICZNYCH

**Krystyna ZIELIŃSKA^{1) AD}, Agata FABISZEWSKA^{1) BC},
Krystyna STECKA^{1) AF}, Barbara WRÓBEL^{2) EF}**

¹⁾ Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego w Warszawie, Zakład Technologii Fermentacji

²⁾ Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach, Zakład Użytków Zielonych

Streszczenie

Głównym celem rolnictwa ekologicznego jest produkcja żywności wysokiej jakości z zastosowaniem przyjaznych środowisku praktyk gospodarowania. Zgodnie z założeniami rolnictwa ekologicznego niedopuszczalne jest stosowanie stymulatorów wzrostu oraz dodatków syntetycznych w żywieniu zwierząt. Dlatego też jednym z najważniejszych czynników decydujących o efektywności produkcji zwierzęcej jest odpowiednia jakość bazy paszowej, przygotowanej z wykorzystaniem naturalnych procesów biologicznych.

Celem niniejszej pracy jest podsumowanie dotychczasowych wyników prac prowadzonych w gospodarstwach ekologicznych przez Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, dotyczących poprawy jakości mikrobiologicznej kiszonek z runi łąkowej. Opracowana ekologiczna metoda produkcji kiszonych pasz objętościowych z dodatkiem dwuskładnikowego preparatu, tj. kultury starterowej bakterii fermentacji mlekowej i mieszanki mineralno-witaminowej, umożliwia uzyskiwanie kiszonek wysokiej jakości, mających dużą stabilność tlenową, a także wysoką jakość mikrobiologiczną. Stosowanie preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego do produkcji kiszonek jest bardzo ważne w gospodarstwach ekologicznych, ponieważ nawożenie trwałych użytków zielonych nie do końca przefermentowaną gnojówką lub gnojowicą może być przyczyną skażenia materiału roślinnego bakteriami potencjalnie patogennymi. Wyniki z przeprowadzonych doświadczeń potwierdziły istotny wpływ preparatu na hamowanie w procesie kisenia runi łąkowej nie tylko rozwoju

Do cytowania For citation: Zielińska K., Fabiszewska A., Stecka K., Wróbel B. 2013. Rola bakterii fermentacji mlekowej w poprawie jakości mikrobiologicznej kiszonek z runi łąkowej w gospodarstwach ekologicznych. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 13. Z. 1(41) s. 171–182.

bakterii potencjalnie patogennych, ale również grzybów pleśniowych, a także obniżenie poziomu produkowanych przez nie mikotoksyn.

Słowa kluczowe: *jakość mikrobiologiczna, preparat bakteryjno-mineralno-witaminowy, rolnictwo ekologiczne, sianokiszonka z runi łąkowej*

WSTĘP

Użytki zielone zajmują w strukturze upraw ekologicznych ok. 40% powierzchni. Ruń łąkowa i prawidłowo sporządzane z niej kiszonki są dla zwierząt wartościową paszą objętościową, która może stanowić 60% dawki pokarmowej przeznaczonej do żywienia bydła mięsnego i mlecznego. Jakość mleka oraz mięsa produkowanego w gospodarstwach ekologicznych jest ściśle związana z jakością pasz objętościowych. W przypadku skażenia pleśniami, mikotoksynami lub bakteriami patogennymi pasz objętościowych ich wartość pokarmowa jest wątpliwa [FRANZ i in. 2005].

Prowadzenie produkcji ekologicznej jest związane z nawożeniem naturalnym gleb i pokryciem potrzeb pokarmowych roślin łąkowych. Nawożenie łąk nawozami naturalnymi powinno mieć charakter kompleksowy, z uwzględnieniem nie tylko produktywności łąk, ale również ich wpływu na środowisko naturalne, głównie wodne, glebowe i roślinne. Do nawozów naturalnych, często stosowanych na trwałe użytki zielone, należy obornik. Zastosowanie dobrze przefermentowanego obornika bydłowego późną jesienią przyczynia się do zwiększenia plonów runi łąkowej i zawartości białka ogólnego w porównaniu z plonami i jakością zielonki zebranej z łąk nienawożonych. Do płynnych nawozów naturalnych stosowanych w rolnictwie ekologicznym należą gnojowica i gnojówka bydłowa. W gnojowicy azot występuje w formach organicznych i mineralnych, zwłaszcza w formie amonowej, łatwo przyswajalnej dla roślin. Nawóz ten jest również źródłem mikroelementów [WESOŁOWSKI 2008].

Wartość nawozów naturalnych zależy od stopnia ich przefermentowania, a także gatunku, wieku, stanu zdrowia i sposobu użytkowania zwierząt. Nawożenie trwałych użytków zielonych nawozami naturalnymi niesie ze sobą zagrożenie pojawieniem się gatunków bakterii niepożądanych na surowcu roślinnym i w konsekwencji w paszach z nich sporządzanych. W gospodarstwach ekologicznych możliwe jest zanieczyszczenie zielonek bakteriami fekalnymi, pochodzącymi z gleby łąk nawożonych w niektórych przypadkach nie do końca przefermentowaną gnojowicą lub gnojówką, co stanowi znaczne zagrożenie. Tempo eliminacji bakterii fekalnych w glebie zależy od temperatury, pH, typu i wilgotności gleby, pory roku oraz obecności w niej mikroflory antagonistycznej w stosunku do patogenów. Istnieją doniesienia wskazujące na powolne tempo eliminacji tych drobnoustrojów z gleby, a czas przeżycia pałeczek *Salmonella* w glebie może wynosić do 33 tygodni [HOLLEY i in. 2006].

Za jedno z ważniejszych źródeł zakażeń zwierząt gospodarskich bakteriami *Salmonella sp.* uważa się pasze [KWIATEK 2008]. Rozporządzenie WE Parlamentu Europejskiego i Rady Europy nr 1774/2002 oraz uzupełniające Rozporządzenie MRiRW [2012] w sprawie ustawy o nawozach i nawożeniu (2004 rok) określają parametry jakościowe nawozów organicznych i organiczno-mineralnych, w których nie mogą być obecne bakterie z rodzaju *Salmonella sp.* (w próbkach 25 g lub 25 cm³), a liczba bakterii z rodziny *Enteriobacteriaceae* nie może przekraczać liczby jtk (jednostek tworzących kolonie bakterii) 1000·g⁻¹ lub 1000·cm⁻³. W celu poprawy stanu higieny kiszonej pasz objętościowych konieczna jest również eliminacja skażenia bakteriami *Clostridium perfringens* oraz chorobotwórczymi bakteriami *Escherichia coli*, bakteriami z grupy coli i grzybami pleśniowymi oraz syntetyzowanymi przez nie toksynami, które wpływają negatywnie na zdrowie i dobrostan zwierząt.

Produkcja kiszonej pasz bazuje na procesach metabolicznych bakterii fermentacji mlekowej. Ze względu na kluczowe znaczenie syntezy kwasu mlekowego dla całego cyklu produkcji kisonki powinna ona zachodzić w sprzyjających warunkach i w odpowiednim czasie. Ilość bakterii fermentacji mlekowej obecnych w surowcu roślinnym jest często niewystarczająca do zapoczątkowania fermentacji. Proces ten powinien być zatem właściwie ukierunkowany poprzez zastosowanie preparatu bakteryjnego, dostosowanego swoim działaniem do rodzaju surowca [WRÓBEL 2012].

W rolnictwie ekologicznym można stosować wyłącznie preparaty zawierające bakterie wyizolowane ze środowiska naturalnego. Organizmy modyfikowane genetycznie i wyprodukowane z nich lub z ich zastosowaniem produkty nie są zgodne z założeniami systemu rolnictwa ekologicznego, nie mogą być więc stosowane w gospodarstwach ekologicznych ani w trakcie przetwarzania produktów rolnictwa ekologicznego [Rozporządzenie Rady WE nr 834/2007].

Na podstawie wyników badań prowadzonych przez Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (IBPRS) w latach 2005–2010 opracowano metodę sporządzania wysokiej jakości kisonki z roślin pochodzących z użytków zielonych w gospodarstwach ekologicznych z zastosowaniem preparatu bakteryjnego i bakteryjno-mineralno-witaminowego [ZIELIŃSKA i in. 2005]. Ze względu na niedobory związków wapnia, fosforu i magnezu w glebach trwałych użytków zielonych istnieje konieczność uzupełnienia runi łąkowej, przeznaczonej do kiszenia, makro- i mikroelementami. Na podstawie analizy danych z literatury i wyników badań własnych opracowano skład mieszanki mineralno-witaminowej, przeznaczonej do stosowania w procesie kiszenia runi łąkowej, którą zastosowano jako drugi składnik preparatu.

Szczepy bakterii fermentacji mlekowej, wchodzące w skład kultury starterowej przeznaczonej do kiszenia zielonek, nie są genetycznie modyfikowane, zostały wyizolowane z materiału roślinnego ekosystemu Polski, następnie selekcyjonowane w celu uzyskania pożądanych cech użytkowych, z których najważniejsze to: synte-

za enzymów amylolitycznych i celulolitycznych, synteza metabolitów poprawiających zdrowie zwierząt, jak również poprawiających jakość pasz. Bakterie te mają zdolności do hamowania wzrostu grzybów pleśniowych i bakterii patogennych [ZIELIŃSKA i in. 2012] oraz zdolności do ograniczania występowania, a nawet eliminowania ze środowiska aflatoksyn [STECKA i in. 2007; ZIELIŃSKA i in. 2007]. Poprawa stanu higieny kiszonych pasz, eliminacja skażenia ich mikotoksynami i bakteriami patogennymi dzięki zastosowaniu wyselekcjonowanych szczepów bakterii fermentacji mlekowej o szczególnej aktywności: antybakteryjnej, antypleśniowej i antymikotoksynowej jest istotnym zagadnieniem badawczym, ponieważ skutki skarmiania kiszzonek, zawierających toksyny i mikroorganizmy chorobotwórcze, są bezpośrednio groźne dla zdrowia zwierząt, a w następstwie ludzi.

W celach profilaktyki skażeń pasz i żywności mikotoksynami w wielu krajach Europy Zachodniej opracowano już szczegółowe programy badań oraz programy, których zadaniem jest edukacja producentów żywności, w tym szczególnie rolników, w zakresie biotechnologicznego obniżenia poziomu mikotoksyn. Spośród drobnoustrojów wykazujących zdolność do degradacji mikotoksyn na szczególną uwagę zasługują niektóre szczepy i gatunki bakterii fermentacji mlekowej [HASKARD i in. 2001].

METODY BADAŃ

Badania prowadzono w doświadczalnych gospodarstwach ekologicznych. Ruń łąkowa z pierwszego i drugiego pokosu, po skoszeniu i przewiędnięciu na łące do zawartości suchej masy ok. 50%, była przeznaczana do produkcji sianokiszzonek. Sianokiszzonki sporządzano w postaci balotów po 500 lub 900 kg, owiniętych folią kiszunkarską, bez dodatku i z dodatkiem preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego.

W skład preparatu bakteryjnego wchodzi następujące szczepy z rodzaju *Lactobacillus*: *L. plantarum* KKP 593 p, *L. plantarum* KKP 788 p, *L. buchneri* KKP 907 p, *L. brevis* KKP 839. Są to zarówno szczepy bakterii względnie heterofermentatywne (*L. plantarum*), jak i bezwzględnie heterofermentatywne (*L. buchnerii* i *L. brevis*), co pozytywnie wpływa na proces fermentacji mlekowej. Szczepy względnie heterofermentatywne fermentują heksozy do kwasu mlekowego, zaś szczepy bezwzględnie heterofermentatywne – do kwasu mlekowego, octowego, etanolu i dwutlenku węgla. Obie grupy szczepów fermentują pentozy do kwasu mlekowego i octowego [OBERMAN 1998].

W skład części mineralno-witaminowej preparatu wchodzi następujące związki pochodzące z naturalnych surowców: glukonian wapnia – 30%, węglan wapnia – 20%, fosforan wapniowo-magnezowy – 30%, węglan cynku – 5% i beta-karoten spożywczy, pochodzący z marchwi i owoców – 15%, dopuszczone do stosowania jako dodatki paszowe w rolnictwie ekologicznym, zgodnie z treścią Rozporządze-

nia Rady WE nr 834/2007. Stosunek wagowy części bakteryjnej do części mineralno-witaminowej wynosi 1:50 [ZIELIŃSKA i in. 2008].

Ruń łąkową przeznaczoną do sporządzenia kiszonek doświadczalnych, przed balotowaniem, spryskiwano roztworem wodnym części bakteryjnej preparatu i obsypywano komponentem mineralno-witaminowym. Dawka dwuskładnikowego preparatu wynosiła 5 g granulatu bakterii o mianie $1 \cdot 10^9$ jtk \cdot g⁻¹ i 200 g mieszanki mineralno-witaminowej na Mg kiszonych roślin. Czas kiszenia wynosił dwa miesiące.

W reprezentatywnych próbkach zielonki oraz sianokiszonek oznaczano parametry niezbędne do określenia ich jakości. Z każdego balotu pobierano po trzy próbki z różnych miejsc, a następnie po wymieszaniu pobierano jedną próbkę do analiz. Ocenę stabilności tlenowej kiszonek wykonano metodą pomiarów zmian temperatury w czasie przechowywania sianokiszonki w warunkach tlenowych w temperaturze pokojowej. Zawartość kwasów: mlekowego, octowego i masłowego w sianokiszonkach oznaczono metodami enzymatycznymi z użyciem testów Boehringer Mannheim. Liczbę grzybów pleśniowych w materiale roślinnym i w sianokiszonkach oznaczono metodą posiewów – płytkową wg normy PN-ISO 7954: 1999, liczbę bakterii *Salmonella* sp. według normy PN-EN ISO 6579: 2003 oraz normy PN-EN ISO 6785: 2009 z zastosowaniem specjalistycznego podłoża agarowego Rambach firmy Merck, liczbę bakterii *Escherichia coli* i z grupy coli z zastosowaniem podłoża Petrifilm coliform/*E. coli*, firmy 3M Health Care Company, liczbę bakterii *Clostridium perfringens* z zastosowaniem podłoża agarowego TSC z dodatkiem D-cykloseryny, zgodnie z normą PN-EN ISO 7937: 2005. Zawartość aflatoksyn oznaczano metodą immunoenzymatyczną z użyciem testów ELISA firmy Ridascreen.

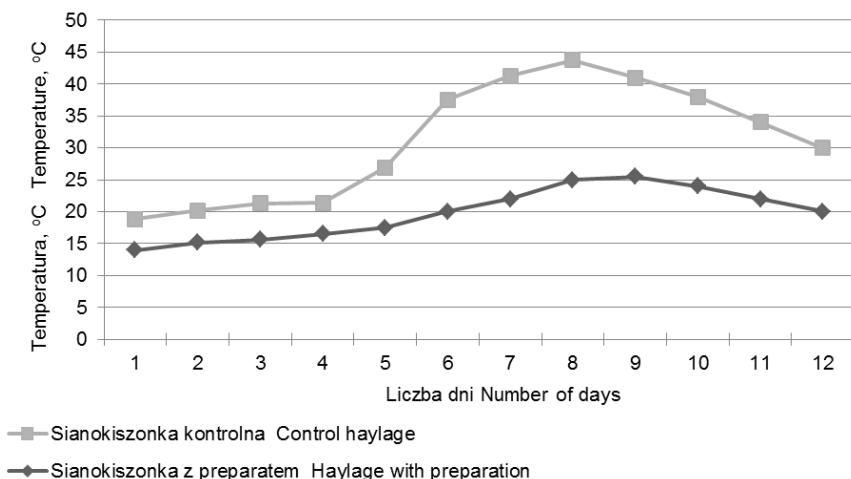
WYNIKI BADAŃ I Dyskusja Wyników

Wpływ kultury starterowej bakterii fermentacji mlekowej na stabilność tlenową kiszonek z runi łąkowej

Bakterie fermentacji mlekowej są stosowane w produkcji kiszonek ze względu na swoje zdolności do wykorzystywania cukrów zawartych w roślinach do syntezy kwasu mlekowego i octowego, a tym samym zmniejszenia wartości pH i zabezpieczania przed rozwojem szkodliwej mikroflory.

Zastosowanie preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego do stymulowania procesu kiszenia runi łąkowej w gospodarstwach ekologicznych przyczyniło się do poprawy jakości, wartości pokarmowej, a najbardziej stabilności tlenowej sianokiszonek [ZIELIŃSKA i in. 2005]. Stabilność tlenową kiszonek sporządzonych w gospodarstwach doświadczalnych z dodatkiem i bez dodatku preparatu bakteryjnego oceniono na podstawie badania zmian temperatury w czasie 12 dni ich przetrzy-

mywania w temperaturze pokojowej z dostępem tlenu (rys. 1). Sianokiszonki sporządzone z dodatkiem preparatu osiągnęły temperaturę nieprzekraczającą 25°C w 8. dniu doświadczenia i utrzymywała się ona do 10. dnia. Sianokiszonki sporządzone bez dodatku preparatu w wyniku rozwoju mikroorganizmów tlenowych już w 7. dniu doświadczenia osiągnęły temperaturę ponad 40°C, co świadczy o małej stabilności tlenowej tych pasz.



Rys. 1. Stabilność tlenowa sianokiszonki z wybranego gospodarstwa ekologicznego w temperaturze 20°C w warunkach dostępu tlenu atmosferycznego; źródło: wyniki własne

Fig. 1. Oxygen stability of silages from selected ecological farm at temperature of 20°C under oxygen availability; source: own study

POPRAWA JAKOŚCI MIKROBIOLOGICZNEJ KISZONEK Z RUNI ŁĄKOWEJ W WYNIKU DZIAŁANIA KULTURY STARTEROWEJ PREPARATU BAKTERYJNO-MINERALNO-WITAMINOWEGO

Mechanizm hamowania rozwoju bakterii patogennych, drożdży i grzybów pleśniowych przez szczepy bakterii fermentacji mlekowej nie jest jeszcze dokładnie poznany, choć prawdopodobnie stanowi wynik synergicznego działania wytwarzanych metabolitów: bakteriocyn, kwasu mlekowego i octowego, nadtlenu wodoru, peroksydazy mleczanowej, lizozymu, reuteryny i glikolu propylenowego, które hamują rozwój bakterii tlenowych. Dotychczasowe wyniki badań, dotyczących ograniczenia rozwoju bakterii patogennych przez szczepy bakterii wchodzące w skład kultury starterowej preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego, opracowanego przez IBPRS, wskazują na ich specyficzne właściwości hamujące rozwój następujących bakterii chorobotwórczych wyizolowanych z przewodu pokarmowego chorych zwierząt: *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Salmonella enteridis*, *Salmonella serotypy CO i DO* [STECKA i in. 2007].

Wyniki tych badań, dotyczące antybakteryjnych zdolności szczepów z rodzaju *Lactobacillus*, były inspiracją do podjęcia badań w celu potwierdzenia wpływu preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego na hamowanie rozwoju bakterii patogennych.

W badaniach nad wpływem stosowania ekologicznej metody sporządzania kiszonek na hamowanie rozwoju bakterii patogennych określono zawartość mikroorganizmów patogennych i grzybów pleśniowych w glebach pod trwałymi użytkami zielonymi nienawożonymi i nawożonymi płynnymi nawozami naturalnymi, w runi łąkowej i w kiszonkach sporządzonych bez i z dodatkiem ocenianego preparatu.

Terminy stosowania nawozów naturalnych i ich dawki przedstawiono na tabeli 1. Wpływ stosowanych sposobów nawożenia trwałych użytków zielonych na obecność i ilość bakterii *Escherichia coli* oraz *Salmonella* sp. w glebach, runi łąkowej i w sianokiszonkach sporządzanych metodą tradycyjną bez preparatu oraz ich wrażliwość na antybakteryjne działanie kultury bakterii fermentacji mlekowej wchodzącej w skład preparatu przedstawiono na rysunku 2. [ZIELIŃSKA i in. 2011].

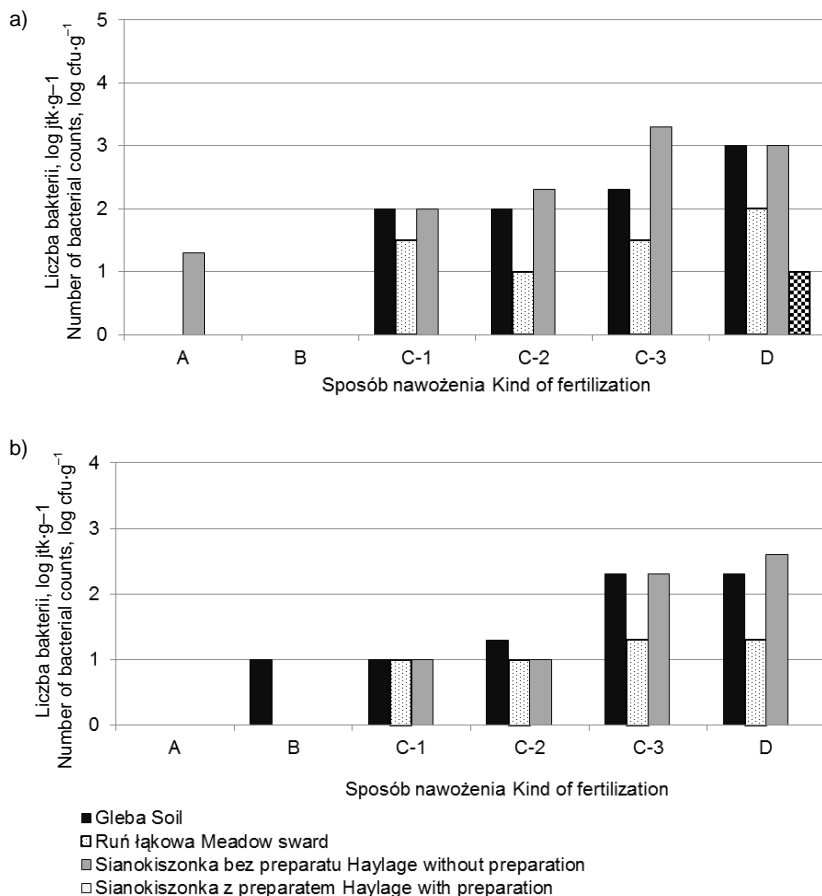
Tabela 1. Warianty nawożenia trwałych użytków zielonych

Table 1. Fertilization treatments

Oznaczenie Symbol	Opis Description
A	brak nawożenia no fertilization
B	nawożenie kompostem jesienią fertilization with compost in autumn
C1	nawożenie gnojówką wiosną (rozcieńczoną 1:2), w ilości 15 m ³ ·ha ⁻¹ fertilization with manure (diluted 1:2) on spring, in amount of 15 m ³ ·ha ⁻¹
C2	nawożenie gnojówką wiosną i po pierwszym pokosie runi łąkowej, w ilości 25 m ³ ·ha ⁻¹ fertilization with manure (diluted 1:2) on spring and after first swath, in amount of 25 m ³ ·ha ⁻¹
C3	nawożenie gnojówką po pierwszym i drugim pokosie runi łąkowej, w ilości 30 m ³ ·ha ⁻¹ fertilization with manure (diluted 1:2) on spring, after first swath and aftermath, in amount of 30 m ³ ·ha ⁻¹
D	nawożenie gnojowicą jesienią i po każdym pokosie runi łąkowej, w ilości 24 m ³ ·ha ⁻¹ fertilization with liquid manure after each swath and in autumn, in amount of 24 m ³ ·ha ⁻¹

Źródło: opracowanie własne. Source: own elaboration.

W runi łąkowej zebranej z użytków zielonych nawożonych gnojówką i gnojowicą stwierdzono obecność pałeczek *Salmonella* sp., od 1,00 do 1,30 log jtk·g⁻¹. Niezależnie od sposobu nawożenia łąk nie stwierdzono w zielonce obecności *Escherichia coli*, a jednocześnie stwierdzono dużo bakterii z grupy coli. Stwierdzono również obecność *Clostridium perfringens* – 2,3–3,9 log jtk·g⁻¹ oraz duże zanieczyszczenie grzybami pleśniowymi – 4,0–5,0 log jtk·g⁻¹ zielonki. Sianokiszonki doświadczałe z dodatkiem preparatu charakteryzowały się bardzo dużą czystością mikrobiologiczną, nie stwierdzono w nich obecności bakterii z rodzaju



Rys. 2. Wpływ nawożenia naturalnego na obecność bakterii w glebie, runi łąkowej i sianokiszonkach: a) *Escherichia coli*, b) z rodzaju *Salmonella*; brak słupka oznacza, że nie wykryto badanej grupy bakterii w próbkach, źródło: wyniki własne

Fig. 2. Impact of natural fertilization on bacteria presence in soil, meadow sward and haylages: a) *Escherichia coli*, b) of genus *Salmonella*; no column means that the examined group of bacteria was not detected, source: own source

Salmonella sp., natomiast liczba bakterii z grupy coli i *Escherichia coli* była ponad 100-krotnie mniejsza niż w sianokiszonkach kontrolnych. Ruń łąkowa, po przewidnięciu, przed formowaniem bel charakteryzowała się średnią liczbą grzybów pleśniowych, wynoszącą $4,48 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. W procesie naturalnego kiszenia liczba tych grzybów wynosiła średnio $4,30 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$, natomiast w warunkach działania szczepów bakterii zawartych w preparacie średnio $2,02 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ kiszonki. Tym samym potwierdzono wykazane we wcześniejszych badaniach autorów antybakteryjne i antypleśniowe zdolności bakterii wchodzących w skład preparatu bakterierynego.

**WPLYW KULTURY STARTEROWEJ
PREPARATU BAKTERYJNO-MINERALNO-WITAMINOWEGO
NA ZMNIENIE LICZBY GRZYBÓW PLEŚNIOWYCH
I ZAWARTOŚCI AFLATOKSYN W PROCESIE KISZENIA RUNI ŁĄKOWEJ**

Ruń łąkowa, podobnie jak płody rolne, może być skażona grzybami pleśniowymi w okresie wegetacji, w czasie koszenia, transportu oraz w czasie przechowywania [BARANOWSKI, RICHTER 2002]. Wśród grzybów pleśniowych znajdują się gatunki wytwarzające drugorzędowe toksyczne metabolity, zwane mikotoksynami. Skarmianie kiszonek porażonych grzybami pleśniowymi wytwarzającymi mikotoksyny z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichothecium*, *Trichoderma* i *Alternaria* może powodować choroby zwierząt i ludzi w wyniku przechodzenia aflatoksyn do mleka (aflatoksyna M₁). Istnieją dwie możliwe drogi kumulacji mikotoksyn w łańcuchu pokarmowym – bezpośrednio spożywanie zanie-

Tabela 2. Ocena stopnia skażenia grzybami pleśniowymi i aflatoksynami sianokiszonek kontrolnych oraz kiszonek przygotowanych z dodatkiem preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego

Table 2. Evaluation of mould and aflatoxin contamination in control haylages and haylages prepared with the additive of bacterial-mineral-vitamin preparation

Gospodarstwo ekologiczne Ecological farm	Sianokiszonka z runi łąkowej Haylages made of meadow sward	Liczba grzybów pleśniowych, jtk·g ⁻¹ Number of molds, cfu·g ⁻¹	Zawartość aflatoksyn, ppb Content of aflatoxin, ppb	
			B ₁	suma sum of B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂
1	bez dodatku preparatu without preparation	2 · 10 ⁵	2,55	16,39
	z dodatkiem preparatu with preparation	4 · 10 ²	<1	3,61
2	bez dodatku preparatu without preparation	5 · 10 ⁴	3,70	17,33
	z dodatkiem preparatu with preparation	6 · 10 ¹	<1	3,63
3	bez dodatku preparatu without preparation	2 · 10 ⁵	3,43	17,32
	z dodatkiem preparatu with preparation	3 · 10 ²	<1	5,27
4	bez dodatku preparatu without preparation	2 · 10 ⁵	2,42	18,40
	z dodatkiem preparatu with preparation	2 · 10 ²	<1	5,23
5	bez dodatku preparatu without preparation	6 · 10 ⁵	2,50	17,30
	z dodatkiem preparatu with preparation	2 · 10 ³	1,19	8,72

Źródło: opracowanie własne. Source: own elaboration.

czyszczonych mikotoksynami produktów żywnościowych pochodzenia roślinnego oraz spożywanie produktów, pochodzących od zwierząt karmionych skażoną paszą [CHELKOWSKI 1985].

W wyniku badań prowadzonych w gospodarstwach ekologicznych stwierdzono, że sianokiszonki produkowane bez dodatku preparatów bakteryjnych są w różnym stopniu skażone szkodliwą toksynotwórczą mikroflorą grzybową. W celu określenia, czy rozwijające się w tych kiszoncek grzyby pleśniowe wytwarzają aflatoksyny, po ich wyizolowaniu, oczyszczeniu i zidentyfikowaniu jako *Aspergillus flavus*, określono zdolność do syntezy aflatoksyn w warunkach modelowych. Okazało się, że wszystkie wyizolowane z kiszonek z runi łąkowej próbki grzybów pleśniowych syntetyzowały aflatoksyny [ZIELIŃSKA i in. 2006].

Rozwijające się bakterie fermentacji mlekowej w czasie procesu kiszenia, naturalnie bytujące na roślinach, w pewnym stopniu ograniczały zarówno rozwój grzybów pleśniowych, jak i syntezę aflatoksyn. Pod wpływem działania szczepów bakterii zawartych w preparacie liczba jtk grzybów pleśniowych była mniejsza o 2–3 rzędy wielkości – w sianokiszoncek bez dodatku preparatu $2,5 \cdot 10^5 \cdot \text{g}^{-1}$, w sianokiszoncek z dodatkiem preparatu $5,9 \cdot 10^2 \cdot \text{g}^{-1}$ (tab. 2). Sianokiszonki doświadczalne we wszystkich gospodarstwach, zawierały mniej jtk grzybów pleśniowych i znacznie mniej aflatoksyny B₁ i sumy aflatoksyn w $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (ppb), odpowiednio do oznaczonych aflatoksyn o 65% (aflatoksyna B₁) i 70% (suma aflatoksyn) [ZIELIŃSKA i in. 2007].

WNIOSKI

1. Stosowanie preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego do produkcji kiszonek z runi łąkowej jest bardzo ważne w gospodarstwach ekologicznych, ponieważ nawożenie, nie zawsze do końca przefermentowaną gnojówką lub gnojowicą, trwałych użytków zielonych może być przyczyną skażenia materiału roślinnego bakteriami potencjalnie patogennymi, co wykazano, porównując jakość mikrobiologiczną runi łąkowej pochodzącej z trwałych użytków zielonych w warunkach stosowania różnych sposobów i ilości płynnych nawozów naturalnych oraz terminów nawożenia.

2. Wyniki badań potwierdziły wpływ preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego na hamowanie rozwoju bakterii patogennych i grzybów pleśniowych w procesie kiszenia runi łąkowej, a także niższy poziom skażenia sianokiszonek aflatoksynami.

3. Stosowanie ekologicznej metody produkcji kiszonek z runi łąkowej z dodatkiem dwuskładnikowego preparatu, tj. kultury starterowej bakterii fermentacji mlekowej i mieszanki mineralno-witaminowej, umożliwiło produkcję sianokiszonek wysokiej jakości mikrobiologicznej i stabilności tlenowej wzbogaconych w deficytowe makro- i mikroelementy.

LITERATURA

- BARANOWSKI A., RICHTER W. 2002. Występowanie mikotoksyn w kiszoncek. Przegląd Hodowlany. Nr 4 s. 21–22.
- CHEŁKOWSKI J. 1985. Mikotoksyny, wytwarzające je grzyby i mikotoksykozy. Warszawa. Wydaw. SGGW-AR. ISBN 83-00-01961-8 ss. 96.
- FRANZ E., DIEPENINGEN VAN A.D., VOS DE O.J., BRUGGEN VAN A.H.C. 2005. Effect of cattle feeding regimen and soil management type on the fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar typhimurium in manure, manure-amended soil, and lettuce. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 71. Iss. 10 s. 6165–6174.
- HASKARD A., EL-NEZAMI H.S., KANKAANPÄÄ P.E., SALMINEN S., AHOKAS T. 2001. Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 67. Iss. 7 s. 3086–3091.
- HOLLEY R.A., ARRUS K.M., OMIŃSKI K.H., TENUTA M., BLANK G. 2006. Salmonella survival in manure-treated soils during simulated seasonal temperature exposure. Journal of Environmental Quality. Vol. 35. Iss. 4 s. 1170–1180.
- KWIATEK K. 2008. Wybrane zagadnienia dotyczące eliminacji pałeczek Salmonella z pasz stosowanych w żywieniu drobiu. Polskie Drobiarstwo. Nr 4 s. 60–63.
- OBERMAN H. 1998. Klasyfikacja bakterii mlekowych. W: Bakterie fermentacji mlekowej: klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Pr. zbior. Red. Z. Libudzisz, P. Walczak, J. Bardowski. Łódź. Wydaw. PŁ s. 7–25.
- Rozporządzenie Ministra i Rozwoju Wsi z dnia 25 czerwca 2012 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie szczegółowego sposobu stosowania nawozów oraz prowadzenia szkoleń z zakresu ich stosowania. Dz.U. 2012 poz. 745.
- Rozporządzenie (WE) Parlamentu Europejskiego i Rady Europy nr 1774/2002 ustanawiające przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi. Dz. Urz. L 273.
- Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 2092/91. Dz. Urz. L 189.
- STECKA K.M., GRZYBOWSKI R.A., CHABŁOWSKA B., SZKUDZIŃSKA-RZESZOWIAK E. 2007. Aktywność antagonistyczna wybranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej. W: Żywność a jakość życia: uwarunkowania technologiczne, higieniczne, żywieniowe i kulturowe. XXXVIII Sesja Naukowa Komitetu Nauk o Żywności PAN z seminarium szkoleniowym dla asystentów i doktorantów. 20–21 września 2007. Olsztyn: UWM. Streszczenia wykładów i komunikatów.
- WESOŁOWSKI P. 2008. Nawożenie łąk nawozami naturalnymi w świetle doświadczeń Zachodniopomorskiego Ośrodka Badawczego IMUZ w Szczecinie. Wydaw. IMUZ. Falenty – Szczecin. ISBN 978-83-88763-74-8 ss. 56.
- WRÓBEL B. 2012. Jakość kiszonek z runi łąkowej z dodatkiem biologicznych stymulatorów fermentacji. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 12. Z. 3 (39) s. 211–225.
- ZIELIŃSKA K.J., GRZYBOWSKI R.A., STECKA K.M., SUTERSKA A.M., MIECZNIKOWSKI A.H. 2005. Optymalizacja ekologicznych metod produkcji kiszonek wzbogaconych w deficytowe makro- i mikroelementy oraz wdrożenie w gospodarstwach ekologicznych, sprawozdanie merytoryczne z badań z zakresu rolnictwa ekologicznego. Warszawa. IBPRS ss. 20.
- ZIELIŃSKA K.J., GRZYBOWSKI R.A., STECKA K.M., SUTERSKA A.M., MIECZNIKOWSKI A.H. 2006. Wpływ stosowania ekologicznej metody kiszenia pasz objętościowych na hamowanie rozwoju pleśni wytwarzających mikotoksyny. Sprawozdanie merytoryczne z badań z zakresu rolnictwa ekologicznego. Warszawa. IBPRS ss. 24.

- ZIELIŃSKA K.J., STECKA K.M., SUTERSKA A.M., MIECZNIKOWSKI A.H. 2007. Wpływ ekologicznej technologii kiszenia runi łąkowej na hamowanie rozwoju pleśni wytwarzających mikotoksyny. *Problemy Inżynierii Rolniczej*. Nr 1 (55) s. 61–70.
- ZIELIŃSKA K., MIECZNIKOWSKI A., SUTERSKA A., CZARNIECKA H., KARAS J. 2008. Bakteryjny preparat do kiszenia zielonek oraz sposób wytwarzania bakteryjnego preparatu do kiszenia zielonek. Warszawa. Polska. Opis patentowy. PL 208392 B1. Zgłosz. P. 380358 z 02.08.2006. Opubl. 04.02.2008 BUP 03/08.
- ZIELIŃSKA K., STECKA K., KUPRYŚ M., KAPTUROWSKA A., MIECZNIKOWSKI A. 2011. Ocena stopnia skażenia bakteriami patogennymi runi łąkowej i gleb nawożonych płynnymi nawozami organicznymi. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. No. 56 (4) s. 212–215.
- ZIELIŃSKA K., STECKA K., SUTERSKA A., MIECZNIKOWSKI A., GRZYBOWSKI R. 2009. Bakteryjno-mineralno-witaminowy preparat do kiszenia zielonek. Warszawa. Polska. Opis patentowy PL 210287 B3. Zgłosz. P. 382878 z 09.07.2007. Opubl. 19.01.2009 BUP 02/09.

Krystyna ZIELIŃSKA, Agata FABISZEWSKA, Krystyna STECKA, Barbara WRÓBEL

ROLE OF LACTIC ACID BACTERIA IN RAISING THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SILAGES MADE OF MEADOW SWARD IN ECOLOGICAL FARMS

Key words: *bacterial-mineral-vitamin preparation, fertilization, lactic acid bacteria, organic farming*

S u m m a r y

The main goal of organic agriculture is to produce high quality food that combines environmentally friendly farming practices. Unacceptable in organic farming is the use of feed containing synthetic ingredients, growth promoters and synthetic amino acids in animal husbandry. Thus, one of the most important factors determining the efficiency of livestock production is high quality of forage, prepared with the use of natural biological processes.

The aim of this study was to summarize the results of the work carried out on organic farms by the Institute of Agricultural and Food Biotechnology to improve the microbiological quality of silages. The developed method for the production of roughages with a two-component product: starter culture of lactic acid bacteria and mineral-vitamin mixture, allows to obtain high-quality silage characterized by high aerobic stability and microbial quality. The use of bacterial-mineral-vitamin preparation for the production of silage is very important on organic farms, because fertilization with not fully fermented liquid manure or slurry, can cause contamination of the plant material with potentially pathogenic bacteria. The results of the experiments have confirmed a significant effect of preparation on the inhibition of potentially pathogenic bacteria growth as well as moulds and effect on lowering levels of mycotoxins in silages.

Adres do korespondencji: dr inż. K. Zielińska, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waława Dąbrowskiego w Warszawie, Zakład Technologii Fermentacji, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa; tel. 22 606-36-88, e-mail: Krystyna.Zielinska@ibprs.pl