

**A. M. SUTERSKA, K. J. ZIELIŃSKA, R. A. GRZYBOWSKI,
K. M. STECKA, A. H. MIECZNIKOWSKI, M. P. KUPRYŚ**
Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Warszawa
e-mail: suterska@ibprs.pl; zielinska@ibprs.pl; grzybowski@ibprs.pl;
stecka@ibprs.pl; miecznikowski@ibprs.pl; kuprys@ibprs.pl

EFFECT OF THE SELECTED STRAINS FROM *LACTOBACILLUS* GENUS ON THE LIMITATION OF MOULD AND OCHRATOXIN A CONTAMINATION OF SILAGES FROM MEADOW SWARD

Summary

The aim of the studies, conducted in ecological and traditional farms, was to determine the effect of application of bacterial preparation, consisting of the selected bacterial strains from Lactobacillus genus on the improvement of nutritional value and quality of silages produced from meadow sward, on inhibition of mould development and on lowering of ochratoxin A content during ensiling process. Starter culture of the preparation included the selected lactic acid bacteria strains from the species: Lactobacillus plantarum K KKP 593/p, Lactobacillus plantarum C KKP 788/p and Lactobacillus buchneri KKP 907. The experimental silages from the meadow sward, as prepared in manufacturing conditions with the addition of the examined preparation, were characterized by a very good quality, evaluated according to Flieg-Zimmer, with lactic acid level higher by more than 50% and absence of butyric acid as well as by a high microbiological purity, expressed by thousand times lower CFU of moulds/ 1g of silage. As affected by synergic action of the selected strains of lactic acid bacteria, lowering of ochratoxin A level by ca. 62 – 72% was found, in relation to its content in the meadow sward.

WPŁYW WYBRANYCH SZCZEPÓW Z RODZAJU *LACTOBACILLUS* NA OGRANICZENIE SKAŻENIA PLEŚNIAMI I OCHRATOKSYNĄ A KISZONEK Z RUNI ŁĄKOWEJ

Streszczenie

Celem badań prowadzonych w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych był wpływ stosowania preparatu bakteryjnego, złożonego z wyselekcjonowanych szczepów bakterii z rodzaju Lactobacillus na poprawę wartości pokarmowej i jakości kiszonek wykonanych z runi łąkowej, na hamowanie rozwoju pleśni oraz obniżanie zawartości ochratoksyny A w procesie kiszenia. W skład kultury starterowej preparatu wchodziły wyselekcjonowane w tym kierunku szczepy bakterii fermentacji mlekowej z gatunków: Lactobacillus plantarum K KKP 593/p, Lactobacillus plantarum C KKP 788/p i Lactobacillus buchneri KKP 907. Kiszonki doświadczalne z runi łąkowej, wykonane w warunkach produkcyjnych z dodatkiem badanego preparatu, charakteryzowały się bardzo dobrą jakością ocenioną według Fliega-Zimmera, o wyższej o ponad 50 % zawartości kwasu mlekowego i brakiem kwasu masłowego, jak również poprawą czystości mikrobiologicznej wyrażoną niższą odstu- do tysiąckrotnie liczbą j.t.k pleśni/g kiszonki. Pod wpływem synergicznego działania wyselekcjonowanych szczepów bakterii fermentacji mlekowej, nastąpiło w kiszonkach obniżenie poziomu ochratoksyny A o 62-72 %, w stosunku do jej zawartości w runi łąkowej.

1. Wprowadzenie

Ruń łąkowa może być porażona pleśniami, a w następstwie syntetyzowanymi przez nie mikotoksynami. Metabolity pleśni – mikotoksyny obecne w kiszonkach najczęściej wprowadzone zostały z zakiszczonym surowcem lub są wytwarzane przez rozwijające się pleśnie w czasie nieprawidłowo prowadzonego kiszenia z dostępem tlenu. Kiszonki z traw i runi łąkowej mogą być skażone toksynami wytwarzanymi przez pleśnie z rodzaju *Penicillium* i *Aspergillus*. Ochratoksyna A jest produkowana przez *Penicillium verrucosum* oraz niektóre gatunki *Aspergillus*. Najbardziej znanymi gatunkami *Aspergillus*, które syntetyzują ochratoksynę A są: *Aspergillus alutaceus* (wcześniej nazywany *A. ochraceus*) oraz *A. sulphureus*, *A. sclerotium* i *A. mellus*, które rzadziej obecne są w paszach. [7].

Pasze objętościowe pochodzące z użytków zielonych, stosowane w postaci zielonek, kiszonek lub siana, stanowią w gospodarstwach rolnych podstawę żywienia zwierząt przeżuwających i powinny charakteryzować się wysoką jakością, wartością żywieniową i czystością

mikrobiologiczną, a także muszą być wolne od mikotoksyn, które mogą przechodzić do tkanek zwierzęcych i mleka [1, 18, 19].

Zainteresowanie ochratoksyną A wzrosło od 1993 roku kiedy została zaklasyfikowana przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem jako związek prawdopodobnie rakotwórczy dla człowieka. Istnieją jednoznaczne dowody na rakotwórcze działanie ochratoksyny A na zwierzęta.

W warunkach laboratoryjnych wyizolowano szereg różnych pochodnych ochratoksyny, w warunkach naturalnych w zapleśniałych produktach rolnych występuje tylko ochratoksyna A i wyjątkowo rzadko ochratoksyna B. Ochratoksyna A może występować we wszystkich zbożach, w tym w kukurydzy, jęczmieniu, pszenicy, sorgo, życie, owsie i ryżu. Silnie zanieczyszczone są też pasze dla zwierząt w Kanadzie, Europie i Australii, czasami stężenia mogą przekraczać 500 µg/kg [11].

Od wielu lat prowadzone są badania nad możliwościami ograniczenia zanieczyszczenia żywności i pasz mikotoksynami, zarówno na drodze hamowania wzrostu grzybów i produkcji mikotoksyn, jak i poprzez eliminację toksyn na drodze chemicznej, fizycznej i mikrobiologicznej

[2]. Ostatnia z wymienionych metod wydaje się metodą najbardziej przydatną do praktycznego wykorzystania w procesie detoksykacji pasz lub żywności. Pomimo obserwacji biodegradacji mikotoksyn na drodze mikrobiologicznej od ponad 30 lat, zjawisko to nie jest wykorzystywane do detoksykacji produktów spożywczych. Spośród wielu drobnoustrojów wykazujących zdolność do degradacji mikotoksyn szczególne zainteresowanie budzą bakterie fermentacji mlekowej, między innymi ze względu na ich właściwości probiotyczne dla zwierząt i człowieka. Badania ostatnich lat wskazują na występowanie wśród typowych bakterii fermentacji mlekowej szczepów o zróżnicowanych uzdolnieniach biodegradacji mikotoksyn. Niektóre szczepy bakterii fermentacji mlekowej hamują równocześnie wzrost pleśni oraz tworzenie przez nie mikotoksyn [6, 15].

Wielu badaczy sugeruje, że bakterie fermentacji mlekowej hamują rozwój pleśni, bakterii patogennych, ponieważ syntetyzują kwas mlekowy i inne metabolity, które mogą również powodować degradację mikotoksyn. Do tych mikroorganizmów należą: *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus lactis* [14].

Batish i in. [3] przebadali 19 szczepów bakterii fermentacji mlekowej o aktywności antygrzybowej przeciwko *A. parasiticus*, *A. fumigatus* i *Rhizopus spp.* i stwierdzili, że szczepy *Lactococcus lactis* DRC1 i *Streptococcus thermophilus* 849 w największym stopniu wykazywały działanie ograniczające rozwój kultur grzybowych i degradację mikotoksyn. Wykryto, że związki o działaniu inhibitorów w stosunku do mikotoksyn należą do polipeptydów i mogą być unieczynniane pod wpływem działania enzymów: pronazy i tripsyny. Badacze wykazali, że optymalna temperatura inkubacji dla hamowania rozwoju pleśni przez bakterie fermentacji mlekowej wynosi 30° C, czas 48 h, natomiast optymalne pH wytwarzania metabolitów antygrzybowych wynosi 6,8 oraz 7,6 [9].

Wyniki badań monitoringowych prowadzonych w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego wskazują, że mikotoksyną, która najczęściej wytwarzana jest w warunkach klimatycznych Polski jest ochratoksyna A, wykazano, że spośród wielu badanych prób 12% zbóż i 2% pasz jest zanieczyszczonych tą toksyną [4, 5].

W Polsce badania nad degradacją ochratoksyny A występującej w mąkach pszennych w ilościach 3,9-11,6 µg/kg i mąkach żytnich w ilościach 3,3-16,3 µg/kg, przez bakterie fermentacji mlekowej i drożdże stosowane jako zakwasy piekarskie były prowadzone w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej. Testowane szczepy bakterii i drożdży powodowały zmniejszenie ilości ochratoksyny A w podłożu w zróżnicowanym stopniu. Po 10 godzinach hodowli szczepu *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sanfrancisco* i *Lactobacillus plantarum* stopień degradacji ochratoksyny A wynosił odpowiednio 34,4%, 29,1% i 40,5%. Po 24 godzinach hodowli bakterii obserwowano zwiększenie stopnia degradacji ochratoksyny A do około 50% początkowej zawartości tej toksyny w próbach. Fermentacja z udziałem populacji mieszanej okazała się najbardziej skuteczna, co świadczy o synergistycznym działaniu mikroorganizmów [13, 15].

Wyprodukowanie kiszonek o wysokiej jakości i trwałości tlenowej jest zależne od stosowanej technologii kiszenia, stopnia ugniecenia roślin, ich rodzaju i składu chemicznego oraz stosowania dodatków stymulujących proces fermentacji mlekowej. Stymulowanie procesu

kiszenia pasz objętościowych, w tym runi łąkowej, dodatkiem kultur starterowych bakterii fermentacji mlekowej, zawierających wyselekcjonowane szczepy homo- i heterofermentatywne z rodzaju *Lactobacillus*, przyczynia się do zwiększenia jakości i stabilności tlenowej kiszonek, poprzez hamowanie rozwoju mikroorganizmów tlenowych: bakterii, drożdży i pleśni [8, 10, 12]. Kwas mlekowy, wytwarzany przez bakterie w procesie kiszenia, powoduje obniżenie pH środowiska do wartości, w której zahamowane zostają procesy rozkładu białek, wywołane działaniem mikroorganizmów tlenowych i enzymów tkankowych roślin [16].

Obecnie na rynku jest znaczny asortyment biopreparatów do kiszenia pasz, jednak istnieje zapotrzebowanie na nowe preparaty poprawiające nie tylko jakość kiszonek pasz, ale również obniżające zawartość pleśni i mikotoksyn.

W IBPRS prowadzone są obecnie badania modelowe w celu wyselekcjonowania szczepów bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus* wyróżniających się zdolnościami do hamowania syntezy ochratoksyny A oraz obniżania jej zawartości w środowisku hodowlanym. Na podstawie uzyskanych wyników wybrano trzy szczepy *Lactobacillus plantarum* K KKP/593/p, *Lactobacillus buchneri* KKP 907 i *Lactobacillus plantarum* C KKP 788/p, które charakteryzowały się zdolnością do rozwoju w obecności ochratoksyny A w pożywkach hodowlanych oraz obniżaniem jej zawartości o ponad 50 %. Kulturę starterową składającą się z wybranych w warunkach modelowych szczepów, przeznaczono do badań produkcyjnych w gospodarstwach rolnych. [17, 18, 19].

2. Cel badań

Celem badań była ocena synergicznego działania wyselekcjonowanych szczepów bakterii z rodzaju *Lactobacillus* na hamowanie rozwoju pleśni i obniżanie zawartości ochratoksyny A w runi łąkowej w procesie jej kiszenia.

3. Założenia metodyczne

Badania prowadzono w sześciu gospodarstwach, w tym trzech ekologicznych i trzech konwencjonalnych. Ruń łąkową z pierwszego pokosu, po podsuszeniu na łące do zawartości suchej masy 45-50 % zwijano przy zastosowaniu maszyn firmy Sipma w baloty o ciężarze 500 kg, i owijano dwukrotnie folią. Kiszonki kontrolne wyprodukowano bez stosowania preparatu oraz kiszonki doświadczalne z dodatkiem preparatu bakteryjnego o składzie: *Lactobacillus plantarum* C KKP 788/p – 40 % *Lactobacillus plantarum* K KKP/593/p – 40 % i *Lactobacillus buchneri* KKP 907 – 20 %. Preparat bakteryjny stosowano w ilości 5 g na tonę zielonki, po rozpuszczeniu w wodzie, w postaci oprysku na zielonkę. Czas kiszenia wynosił około 2 miesięcy.

W podsuszonej runi łąkowej oraz w otrzymanych z niej kiszonkach, wykonanych bez i z dodatkiem preparatu bakteryjnego, oznaczano zawartości suchej masy oraz białka ogólnego i włókna surowego metodą analizy w bliskiej podczerwieni, z zastosowaniem aparatu Infratec, wykalibrowanego odpowiednio do analizowanego surowca.

Jakość kiszonek oceniano na podstawie wyników analizy zawartości kwasów: mlekowego, octowego i

masłowego, z zastosowaniem testów enzymatycznych do ich oznaczania produkcji Boehringer Mannheim.

Poziom skażenia pleśniami runi łąkowej i kiszonek oceniano liczbą jednostek tworzących kolonie pleśni (j.t.k./g) Oznaczenia liczby pleśni wykonywano metodą płytkową, zgodnie z normą PN-ISO 7954:1999.

Oznaczanie zawartości ochratoksyny A w runi łąkowej i kiszonkach wykonywano – metodą immunoenzymatyczną, przy użyciu testu ELISA firmy r-biopharm. Współczynnik zmienności tej metody: stosunek odchylenia standardowego do średniej arytmetycznej x 100% wynosi 8%.

4. Wyniki

Charakterystykę składu chemicznego runi łąkowej z pierwszego pokosu oraz wytworzonych z niej kiszonek bez i z dodatkiem badanego preparatu bakteryjnego zestawiono w tab. 1.

Ruń łąkowa pochodząca z gospodarstw ekologicznych charakteryzowała się średnią zawartością suchej masy 45,2%, a w suchej masie średnią zawartością białka ogólnego 14,8% i włókna surowego 29,2% Kiszonki wytworzone bez dodatku preparatu o średniej zawartości suchej masy 44,0% zawierały mniej białka ogólnego 12,8% i zbliżoną do zawartości w surowcu włókna surowego 29,2%.

Pod wpływem działania preparatu bakteryjnego w procesie kiszenia nie zmieniła się zawartość białka, natomiast obniżyła się zawartość włókna surowego o 3 jednostki procentowe w stosunku do runi łąkowej.

Skład chemiczny runi łąkowej zebranej z użytków zielonych w gospodarstwach konwencjonalnych był zbliżony do składu chemicznego runi łąkowej w gospodarstwach ekologicznych. Kiszonki wykonane w gospodarstwach konwencjonalnych bez dodatku preparatu charakteryzowały się średnią zawartością suchej masy

45,2%, w suchej masie średnią zawartością białka 14,0%, natomiast zawartością włókna 28,2%.

Kiszonki z dodatkiem kultur starterowych bakterii odznaczały się obniżoną zawartością włókna surowego o 1,8 jednostki procentowej, w stosunku do surowca.

We wszystkich doświadczeniach działanie kultury starterowej preparatu bakteryjnego spowodowało w procesie kiszenia runi łąkowej obniżenie pH do wartości 4,2-4,3, wzrost zawartości kwasu mlekowego z wartości około 1,0% w kiszonkach kontrolnych do wartości 1,7% i zahamowanie fermentacji masłowej. Kiszonki doświadczalne we wszystkich gospodarstwach uzyskały oceny jakości bardzo dobre, podczas gdy wytworzone bez dodatku badanych szczepów bakterii uzyskały oceny zadawalające lub dobre. Wyniki dotyczące jakości kiszonek przedstawiono w tab. 2.

W wyniku badań dotyczących stopnia skażenia pleśniami i ochratoksyną A runi łąkowej i kiszonek stwierdzono, że liczba pleśni w podsuszanej na polu zielonce w gospodarstwach ekologicznych wynosiła średnio 2×10^5 j.t.k./g a w gospodarstwach konwencjonalnych, gdzie nie stosowano gnojowicy do nawożenia użytków zielonych zakażenie pleśniami było mniejsze i wynosiło 6×10^4 j.t.k./g zielonki.

Proces kiszenia bez dodatku preparatu spowodował obniżenie liczby pleśni w kiszonkach do poziomu $2-4 \times 10^4$ j.t.k./g kiszonki w obu typach gospodarstw. W efekcie wprowadzenia do przeznaczonej do kiszenia runi łąkowej preparatu bakteryjnego w kiszonkach doświadczalnych liczba pleśni obniżyła się do poziomu $3,0 \times 10^2$ j.t.k./g kiszonki w gospodarstwach ekologicznych i $8,0 \times 10^1$ j.t.k./g kiszonki w gospodarstwach konwencjonalnych. Średnie wyniki dotyczące skażenia runi łąkowej i kiszonek pleśniami w obu typach gospodarstw przedstawiono w tab. 3 i na rys. 1.

Tab. 1. Skład chemiczny zielonki oraz kiszonek sporządzonych bez i z dodatkiem preparatu bakteryjnego
Table 1. Chemical composition of green fodder and silages made without and with additives of bacterial

Pasze	Gospodarstwa	Średnia zawartość suchej masy, %	Średnia zawartość w suchej masie	
			białka ogólnego, %	włókna surowego, %
R	A	45,2 (44,3 - 45,8)	14,8 (13,3 - 15,2)	29,2 (27,8 - 30,6)
	B	47,4 (46,0 - 48,0)	14,5 (13,0 - 15,0)	27,8 (26,9 - 28,6)
K	A	44,0 (43,1 - 45,4)	12,8 (11,8 - 14,0)	29,0 (27,8 - 30,6)
	B	45,2 (44,2 - 46,3)	14,0 (13,7 - 15,0)	28,8 (27,3 - 29,5)
Kp	A	44,0 (42,3 - 45,0)	14,7 (13,8 - 15,2)	26,2 (25,2 - 27,3)
	B	46,6 (45,4 - 47,6)	14,9 (13,4 - 15,8)	26,0 (25,4 - 27,4)

R - Podsuszona ruń łąkowa, K - Kiszonki bez dodatku preparatu, Kp - Kiszonki z dodatkiem preparatu bakteryjnego, A - gospodarstwa ekologiczne, B - gospodarstwa konwencjonalne.

Tab. 2. Ocena jakości kiszonek z runi łąkowej wyprodukowanych bez i z dodatkiem preparatu bakteryjnego
Table 2. Quality evaluation of meadow cover silages made without and with additives of bacterial

Kiszonki	pH	Zawartość kwasów organicznych, %			Ocena jakości kiszonki, wg skali Fliega-Zimmera
		mlekowego	Octowego	Masłowego	
Gospodarstwa ekologiczne					
K	5,2 (5,0 - 5,4)	0,95 (0,90 - 1,00)	0,42 (0,38 - 0,46)	0,14 (0,12 - 0,18)	zadawalająca - dobra

Kp	4,3 (4,1 - 4,4)	1,68 (1,60 - 1,80)	0,48 (0,45 - 0,50)	0,02 (0,01 - 0,03)	bardzo dobra
Gospodarstwa konwencjonalne					
K	5,0 (4,8 - 5,2)	1,06 (0,97 - 1,12)	0,40 (0,37 - 0,42)	0,10 (0,09 - 0,012)	zadawalajaca –dobra
Kp	4,2 (4,0 - 4,3)	1,72 (1,64 - 1,82)	0,39 (0,37 - 0,44)	Brak	bardzo dobra

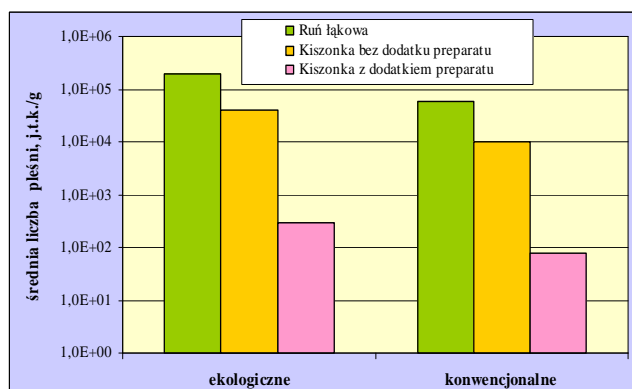
K - Kiszunki bez dodatku preparatu, Kp- Kiszunki z dodatkiem preparatu bakteryjnego.

Tab. 3. Poziom skażenia pleśniami i ochratoksyną A runi łąkowej oraz sporządzonej z niej kiszzonek kontrolnych i doświadczalnych w gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych

Table 3. The level of contamination of meadow cover with moulds and ochratoxin A, and of the control and experimental silages, produced in ecological and traditional farms

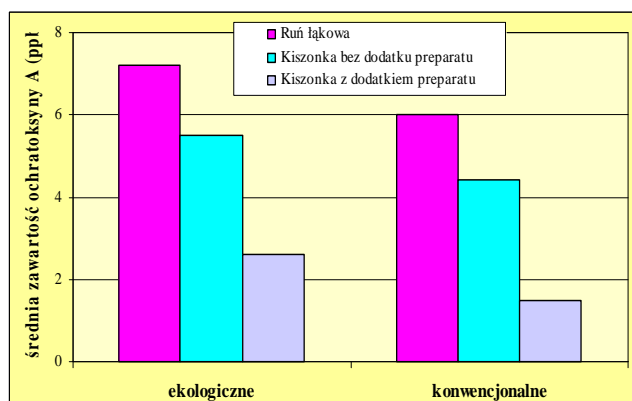
Pasze	Gospodarstwa	Zawartość suchej masy, %	Liczba j.t.k. pleśni/g runi łąkowej lub kiszzonek	Zawartość ochratoksyny A w suchej masie, ppb
R	A	44,3 - 45,8	$1 - 4 \times 10^5$	6,8 - 7,5
	B	46,0 - 48,0	$4 - 8 \times 10^4$	5,8 - 6,2
K	A	43,1 - 45,4	$2 - 6 \times 10^4$	4,2 - 4,6
	B	44,2 - 46,3	$2 - 5 \times 10^2$	4,1 - 4,6
Kp	A	42,3 - 45,0	$1 - 3 \times 10^4$	2,4 - 2,8
	B	45,4 - 47,6	$1 - 4 \times 10^2$	1,2 - 1,8

R - Podszuszona ruń łąkowa, K - Kiszunki bez dodatku preparatu, Kp - Kiszunki z dodatkiem preparatu bakteryjnego, A - gospodarstwa ekologiczne, B - gospodarstwa konwencjonalne.



Rys. 1. Wpływ preparatu bakteryjnego na obniżenie liczby pleśni w procesie kiszenia runi łąkowej (wyniki średnie z gospodarstw ekologicznych i konwencjonalnych)

Fig. 1. Effect of bacterial preparation on lowering of mould count during the meadow cover ensiling process (mean results from ecological and traditional farms)



Rys. 2. Wpływ preparatu bakteryjnego na obniżenie zawartości ochratoksyny A w procesie kiszenia runi łąkowej (wyniki średnie z gospodarstw ekologicznych i konwencjonalnych)

Fig. 2. Effect of bacterial preparation on lowering of ochratoxin A content during the meadow cover ensiling process (mean results from ecological and traditional farms)

Zawartość ochratoksyny A w badanych paszach była związana z poziomem ich skażenia pleśniami. Najwyższe zawartości ochratoksyny A występowały w runi łąkowej pochodzącej z gospodarstw ekologicznych, średnio w suchej masie 7,2 ppb. W gospodarstwach konwencjonalnych średnia zawartość ochratoksyny A była nieco niższa i wynosiła 6,0 ppb.

W procesie kiszenia bez dodatku preparatu poziom ochratoksyny A obniżał się odpowiednio do jej zawartości w runi od 27,0 do 37,5%. Pod wpływem działania wyselekcjonowanych w tym kierunku szczepów bakterii fermentacji mlekowej zawartość ochratoksyny A obniżyła się do poziomu 2,6 ppb czyli o 62,0% w gospodarstwach ekologicznych i do poziomu 1,5 ppb czyli o 72,0% w gospodarstwach konwencjonalnych, w stosunku do jej pierwotnej zawartości w runi łąkowej. Wyniki przedstawiono w tab. 3 i na rys. 2.

5. Dyskusja wyników

Na podstawie przedstawionych wyników badań, stwierdzono, że kiszunki z runi łąkowej, sporządzane z dodatkiem preparatu bakteryjnego odznaczały się wyższą wartością pokarmową, jakością i czystością

mikrobiologiczną, natomiast niższą zawartością ochratoxyny A, w stosunku do kiszonek bez dodatku preparatu.

Uzyskane wyniki dotyczące wpływu kultur starterowych bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, a zwłaszcza z gatunków: *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus buchneri* na poprawę jakości kiszonych pasz, a szczególnie na hamowanie rozwoju pleśni, są zbieżne z wcześniejszymi wynikami badań autorów oraz wynikami badań cytowanych w literaturze. Metabolity, wytwarzane przez szczepy bakterii fermentacji mlekowej z wymienionych gatunków, takie jak: kwas mlekowy, octowy i propionowy, bakteriocyny, nadtlenuk wodoru, glikol propylenowy, hamują rozwój mikroorganizmów tlenowych, bakterii patogennych, drożdży i pleśni [8, 12].

Badania dotyczące tego zagadnienia prowadzone są od lat w wielu ośrodkach badawczych w kraju i na świecie [6, 13].

Na podstawie wyników badań modelowych, wyselekcjonowane przez autorów pracy, szczepy bakterii *Lactobacillus plantarum* i *Lactobacillus buchneri*, odznaczają się w zdolnością do usuwania ze środowiska około 50% obecnej tam ochratoxyny A [17, 19].

Problem dotyczący obecności i metod obniżania zawartości ochratoxyny A w paszach objętościowych nie jest jeszcze dotychczas rozwiązany. Dlatego też przedstawione wyniki należy traktować jako wstępne i badania w tym zakresie będą dalej kontynuowane.

Synergiczne działanie trzech wybranych szczepów z badanych gatunków bakterii, sprawdzono w warunkach produkcyjnych w procesie kiszenia runi łąkowej w wybranych gospodarstwach ekologicznych i konwencjonalnych.

Runi łąkowa z gospodarstw ekologicznych charakteryzowała się wyższym skażeniem zarówno pleśniami jak i ochratoxiną A, niż pochodząca z gospodarstw konwencjonalnych, być może spowodowane to było różnym sposobem nawożenia, to znaczy w gospodarstwach konwencjonalnych stosowano wyłącznie nawozy mineralne, a w badanych gospodarstwach ekologicznych stosowano gnojowicę do nawożenia użytków zielonych. Ponadto podsuszenie zielonki na łące przed kiszeniem, przy wysokich temperaturach i wilgotności powietrza mogło przyczynić się do intensywnego rozwoju pleśni.

W wyniku tych badań, stwierdzono, że preparat złożony z powyższych szczepów powoduje w procesie 2 miesięcznego kiszenia około tysiąckrotne obniżenie liczby pleśni oraz zawartości ochratoxyny A o 62-72%, w stosunku do ich zawartości w runi łąkowej, czyli może być z powodzeniem wykorzystany do poprawy czystości i bezpieczeństwa zdrowotnego pasz objętościowych.

6. Wnioski

1. Pod wpływem działania preparatu bakterijskiego w procesie kiszenia runi łąkowej, wzrasta jakość wyrażona ponad 50 % wzrostem zawartości kwasu mlekowego i zahamowaniem fermentacji masłowej oraz poprawia się czystość mikrobiologiczna kiszonej paszy, wyrażona znacznym obniżeniem liczby pleśni w kiszoncek, w stosunku do ich obecności w runi łąkowej.
2. Synergiczne działanie kultury starterowej złożonej z wyselekcjonowanych szczepów *Lactobacillus plantarum*

K KKP/593/p *Lactobacillus plantarum* C KKP 788/p i *Lactobacillus buchneri* KKP 907 zdolnych do usuwania ze środowiska ochratoxyny A, spowodowało obniżenie jej pierwotnej zawartości w runi łąkowej o około 62-72 %, podczas kiszenia w warunkach produkcyjnych.

7. Literatura

- [1] Baranowski A., Richter W.: Występowanie mikotoksyn w kiszoncek. Przegląd Hodowlany, 4, 21-22, 2002.
- [2] Bata A., Lasztity R.: Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. Trends in Food Science & Technology, 10, (6/7), 223-228, 42, 1999.
- [3] Batish V.K.L., Ram L, Grover S.: Studies on environmental and nutritional factors on production of antifungal substances by *Lactobacillus acidophilus*. R. Food Microbiol., 7, 199-206, 1990.
- [4] Czerwiecki L.: Ochratoxin A other mycotoxins in Polish cereals and foods. Mycotoxin Res., vol. 17 A, 2, 125-128, 2001.
- [5] Czerwiecki L., Czajkowska D., Witkowska-Gwiazdo-wska A.: On Ochratoxin A and fungal flora in Polish cereals from conventional and ecological farms. Part 2: Occurrence of ochratoxin A and fungi in cereals in 1998. Food Addit. Contam. Vol. 19, 11, 1051-1057, 2002.
- [6] Fuchs S., Sontag G., Stidl R., Ehrlich V., Kundi M., Knasmüller S.: detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. Elsevier, Food and Chemical Toxicology, 46, 1398-1407, 2008.
- [7] Karunaratne A. Wezenberg E., Bullerman L.B. : Inhibition of mold growth and aflatoxin production by *Lactobacillus* spp. J. Food Prot. 53, 230-236, 1990.
- [8] Kung, L., Jr., C. C. Taylor, M. P. Lynch, and J. M. Neylon.: The effect of treating alfalfa with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 86:336-343, 2003.
- [9] Luchesse R.H., Haerigan W.F.): Growth of and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus* when in the presence of either *Lactococcus lactis* or lactic acid and at different initial pH values. J. Appl. Bacteriol. 69, 512-519, 1990.
- [10] Maki M.: The isolation and characterisation of a heterofermentative inoculant and its effect on silage quality and aerobic stability. Finnish Journal of Dairy Science, 53, 173, 1996.
- [11] Miklaszewska B., Kuźmińska K., Grajewski J.: VII Międzynarodowa Konferencja Naukowa "Mycotoxins in the environment of people and animal". Bydgoszcz, 221-228, 2004.
- [12] Oude Elferink S.J.W.H., Driehuis F., Kroomean J., Gottschal J.C., Spoestra S.F.: *Lactobacillus buchneri* can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway: the aerobic degradation of lactic acid to acetic and acid to 1,2 propanediol, Conference Proceedings The XII th International Silage Conference, 5-7 July, Uppsala Sweden, p. 266-267, 1999.
- [13] Piotrowska M., Żakowska Z. (2000): Removal of ochratoxin A from liquid media by lactic acid bacteria. V Międzynarodowa Konferencja Naukowa "Mycotoxins and dioxins and the environment". Bydgoszcz, 221-225.
- [14] Piotrowska M., Żakowska Z. Kuberski S. (2002): The dynamic of ochratoxin A changes in lactic acid bacteria culture. VI Międzynarodowa Konferencja Naukowa "Mycotoxins in the environment of people and animal". Bydgoszcz, 189-193.
- [15] Piotrowska M., Żakowska Z.: The elimination of ochratoxin A by lactic acid bacteria strains. Polish J. of Microbil. 54,4,279-286, 2005.
- [16] Potkański A., Zielińska K.: Wpływ synergicznego działania LAB i enzymów na przemiany węglowodanów w czasie kiszenia pasz. I Międzynarodowa Konferencja Naukowa „Wykorzystanie

bakterii mlekowych do otrzymywania produktów żywnościowych wysokiej jakości i o podwyższonej wartości odżywczej”, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Warszawa 2005.

- [17] Suterska A., Zielińska K., Stecka K., Piasecka-Józwiak K., Chabowska B., Kupryś M.: Ocena zdolności wybranych szczepów bakterii do degradacji mikotoksyn. IBPRS, 2008, (praca niepublikowana).
- [18] Zielińska K.J., Stecka K.M., Suterska, A.M. Miecznikowski A.H.: Ekologiczna metoda kiszenia pasz objętościowych.;

Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 51, 219, 2006.

- [19] Zielińska K. J., Grzybowski R.A., Stecka K.M., Suterska A.M., Miecznikowski A.H.: Wpływ preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego w procesie kiszenia runi łąkowej na hamowanie rozwoju pleśni toksynotwórczych. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 52, 114, 2007.

Praca została wykonana w ramach badań prowadzonych na rzecz rolnictwa ekologicznego, dotowanych przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.