



## **SPRAWOZDANIE**

z prowadzonych w 2010 roku badań podstawowych na rzecz rolnictwa ekologicznego w zakresie przetwórstwa produktów roślinnych i zwierzęcych metodami ekologicznymi

*p.t., Wpływ mikrobiologicznej jakości kiszonych pasz objętościowych na stan higieny mleka pochodzącego z gospodarstw ekologicznych”*

**realizowanych przez:**

**Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego,**

finansowanych zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi, z dnia 18 maja 2010, w sprawie stawek dotacji przedmiotowych dla różnych podmiotów wykonujących zadania na rzecz rolnictwa (Dz. U. Nr 91, p. 595),

na podstawie decyzji Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi,

z dnia 16.06.2010, nr RR-re-029-5-2779/10

Kierownik zadania: **prof. dr hab. Krystyna M. Stecka**

Główni wykonawcy: **dr inż. Krystyna Zielińska, prof. dr hab. Roman A. Grzybowski,**

**mgr inż. Agata Kapturowska, dr inż. Antoni Miecznikowski**

## 1. Cel realizacji zadania

Celem badań realizowanych w 2010 roku w gospodarstwach ekologicznych była ocena wpływu jakości mikrobiologicznej kiszonych pasz objętościowych na stan higieny czyli jakość mikrobiologiczną mleka.

Jakość mleka jest związana z jakością kiszonych pasz objętościowych. W celu poprawy stanu higieny kiszonek konieczna jest eliminacja skażenia ich bakteriami wywołującymi fermentację masłową i psucie się kiszonek oraz chorobotwórczymi bakteriami *Escherichia coli*, *Listeria spp.* oraz *Salmonella spp.*, pleśniami i syntetyzowanymi przez nie toksynami, które wpływają negatywnie na zdrowie i dobrostan zwierząt oraz jakość produktów pochodzenia zwierzęcego. Kiszonki, charakteryzujące się niską jakością, są często zakażone tymi bakteriami i podawane krowom mogą być przyczyną zanieczyszczenia mikrobiologicznego oraz wad technologicznych mleka.

Wyniki badań nad ograniczeniem zanieczyszczenia mikrobiologicznego pasz wskazują na możliwość hamowania rozwoju bakterii patogennych i grzybów przez stosowanie kultur starterowych bakterii fermentacji mlekowej w procesie kiszenia runi łąkowej, traw, kukurydzy i lucerny, co w istotny sposób poprawia stabilność i stan higieny kiszonek. Hamowanie rozwoju bakterii patogennych, drożdży i pleśni przez wyselekcjonowane szczepy bakterii fermentacji mlekowej jest wynikiem synergicznego działania ich metabolitów: bakteriocyn, kwasu mlekowego, octowego i propionowego, nadtlenku wodoru, peroksydazy mleczanowej, lizozymu, reuteryny i glikolu propylenowego.

Na podstawie dotychczasowych wyników badań Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, prowadzonych w dziedzinie ekologii, opracowano metodę kiszenia pasz dla gospodarstw ekologicznych. Metoda ta polega na stymulowaniu procesu fermentacji mlekowej, przy użyciu preparatu złożonego ze szczepów bakterii fermentacji mlekowej, wyselekcjonowanych z naturalnego środowiska roślinnego, które wykazują specyficzne zdolności do hamowania rozwoju bakterii chorobotwórczych, takich jak: *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* i *Salmonella enteritidis*.

Wdrożenie ekologicznej metody kiszenia runi łąkowej zapewniło uzyskiwanie kiszonek o wysokiej jakości, dodatkowo wzbogaconych w ważne dla zwierząt makro- i mikroelementy.

Żywienie krów mlecznych kiszonkami o wysokiej jakości, w tym mikrobiologicznej, jest dla rolników gwarancją pozyskiwania mleka o wysokim stanie higieny.

Cykl badań prowadzonych przez Instytut, nad poprawą jakości kiszonych pasz, należy podsumować przełożeniem ich jakości na jakość mikrobiologiczną mleka.

## 2. Omówienie przebiegu badań

Badania prowadzono w pięciu wybranych gospodarstwach ekologicznych. W jednym z nich nie stosowano do produkcji sianokiszonek preparatu stymulującego proces fermentacji mlekowej. W pozostałych gospodarstwach doświadczalnych preparat bakteryjno-mineralno-witaminowy stosowany jest od 2008 roku w ramach realizacji badań z dziedziny ekologii i przekazywany jest rolnikom przez Instytut bezpłatnie.

Kiszonki, a częściej sianokiszonki, sporządzano z pierwszego i drugiego pokosu runi łąkowej, w postaci sprasowanych balotów owiniętych folią lub pakowanych w specjalne worki kiszonkarskie. Masa pojedynczego balotu wynosiła od 500 do 1000 kg.

Zakiszoną run łąkową stosowano w żywieniu krów mlecznych w miesiącach od stycznia do kwietnia i od października do listopada. Od maja krowy żywione były zieloną na pastwiskach. Krowy mleczne w ilości od 6 do 11 sztuk, zależnie od gospodarstwa, żywione były następującymi paszami: kiszonki/sianokiszonki z runi łąkowej, siano, słoma i śruty zbożowe. W dziennych dawkach żywieniowych kiszonki stanowiły paszę podstawową (średnio 66 %).

W reprezentatywnych próbkach zielonek, siana i gotowych kiszonek oznaczano parametry fizyko-chemiczne i liczbę niepożądanych mikroorganizmów, czyli parametry niezbędne do oceny jakości, wartości paszowej i jakości mikrobiologicznej tych pasz.

Jakość mleka oceniano na podstawie wyników analiz wykonywanych przez laboratoria mleczarni, w których przy odbiorze mleka oznacza się: zawartość tłuszczu surowego, białka ogólnego, ogólną liczbę drobnoustrojów, liczbę komórek somatycznych, zgodnie z wymaganiami określonymi w normie PN-A-86002 „Mleko surowe do skupu”.

W celu wykonania pełnej oceny jakości mikrobiologicznej mleka wykonywano w Instytucie badania dotyczące określenia liczby potencjalnie patogennych mikroorganizmów w mleku. Próbkę pobierano w dwóch okresach żywienia krów kiszonkami. Analizy mikrobiologiczne obejmowały ogólną liczbę mikroorganizmów, obecność w mleku bakterii *Salmonella spp.*, *Listeria spp.*, bakterii z grupy coli, *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens*.

**Zakres badań obejmował:**

1. zebranie danych dotyczących jakości mleka oddawanego przez rolników do mleczarni, w latach poprzedzających realizację zadania oraz w czasie prowadzonych obserwacji i doświadczeń,
2. ocenę wartości pokarmowej runi łąkowej i kiszzonek w oparciu o wyniki oznaczeń: białka, tłuszczu, włókna, popiołu, suchej masy oraz zawartości cukrów rozpuszczalnych w wodzie,
3. ocenę jakości kiszzonek w oparciu o wyniki oznaczeń: wartości pH, zawartości suchej masy oraz zawartości kwasów: mlekowego, octowego i masłowego,
4. określenie stanu skażenia runi łąkowej i kiszzonek pleśniami, poprzez oznaczenie liczby j.t.k. pleśni w g materiału roślinnego,
5. określenie stopnia hamowania rozwoju bakterii i pleśni w kiszzonek pod wpływem działania preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego,
6. ocenę liczby bakterii fermentacji mlekowej i liczby bakterii potencjalnie patogennych z rodzajów: *Salmonella*, *Listeria* oraz bakterii *Clostridium perfringens* i *Escherichia coli*,
7. ocenę jakości chemicznej i mikrobiologicznej mleka pochodzącego od krów żywionych kiszzonekami o bardzo dobrej lub średniej jakości (sporządzonymi bez dodatku lub z dodatkiem preparatu),
8. oznaczanie zawartości aflatoksyny M<sub>1</sub> w losowo wybranych próbkach mleka.

**Stosowano następujące metody badań:**

- oznaczanie zawartości kwasów w kiszzonek: mlekowego, octowego i masłowego, metodami enzymatycznymi, przy użyciu testów Boehringer Mannheim,
- oznaczanie liczby j.t.k. pleśni w materiale roślinnym i w kiszzonek metodą posiewów - płytkową (PN-ISO 7954: 1999),
- oznaczanie zawartości białka ogólnego, włókna surowego, tłuszczu, popiołu i strawności masy organicznej w runi łąkowej i kiszzonek metodą NIRS, przy użyciu aparatu NIRFlex N-500, z zastosowaniem gotowych kalibracji dla traw, firmy INGOT,

- wykrywanie i identyfikacja drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* metodami mikrobiologii żywności (PN-A-04023: 2001),
- oznaczanie liczby bakterii *Salmonella spp.* według normy PN-EN ISO 6579: 2003 oraz normy PN-EN ISO 6785: 2009, z zastosowaniem specjalistycznego podłoża agarowego Rambach firmy Merck,
- oznaczanie liczby bakterii *Escherichia coli* i z grupy coli, z zastosowaniem podłoży Petrifilm selective E. coli oraz Petrifilm coliform/E. coli, firmy 3M Health Care Company,
- oznaczanie liczby bakterii *Clostridium perfringens* z zastosowaniem podłoża agarowego TSC z dodatkiem D-cykloseryny, zgodnie z normą PN-EN ISO 7937: 2005,
- oznaczanie liczby bakterii fermentacji mlekowej na podłożu agarowym MRS, zgodnie z normą PN-EN 15787: 2009,
- oznaczanie liczby bakterii *Listeria spp.* na wybiórczej pożywce agarowej Chromocult wg. Ottoviani i Agosti, firmy Merck, zgodnie ze specyfikacją normy ISO 11290 (2004),
- oznaczanie liczby pleśni na pożywce agarowej z dichloranem i 18 % dodatkiem glicerolu (DG 18) zgodnie z normą PN ISO 21527-2: 2009 część 2,
- oznaczanie ogólnej liczby bakterii na agarze odżywczym, zgodnie z normą PN-EN ISO 4833: 2004,
- oznaczanie zawartości aflatoksyny M<sub>1</sub> metodą immunoenzymatyczną ELISA, przy użyciu testów Ridascreen i fotometru STAT FAX,
- oznaczanie liczby komórek somatycznych wg normy PN-EN ISO 13366-1,
- oznaczanie zawartości pierwiastków - metodą spektrometrii absorpcji atomowej, przy zastosowaniu aparatu Perkin Elmer 1100.

Prowadzone w latach 2008 i 2009 obserwacje dotyczące jakości mleka pochodzącego od krów żywionych kiszonkami, sporządzonymi bez lub z dodatkiem preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego, były podstawą do podjęcia badań nad powiązaniem jakości mikrobiologicznej kiszonek z runi łąkowej ze stanem higieny i jakością mleka, wyrażoną: zawartością białka, tłuszczu, liczbą komórek somatycznych oraz liczbą mikroorganizmów, w tym potencjalnie chorobotwórczych.

Na podstawie zebranych informacji dotyczących jakości mleka w latach poprzedzających realizację zadania, stwierdzono, że mleko pochodzące od krów żywionych kiszonkami sporządzonymi z dodatkiem preparatu było lepszej jakości niż mleko uzyskiwane w wyniku skarmiania kiszonek sporządzanych bez preparatu. Mleko to charakteryzowało się obniżoną zawartością ogólnej liczby drobnoustrojów oraz liczby komórek somatycznych w stosunku do mleka pochodzącego od krów żywionych kiszonkami o jakości zadawalającej.

Do badań nad wpływem jakości pasz na stan higieny mleka, realizowanych w bieżącym roku, włączono kiszonki, którymi rolnicy żywili krowy w miesiącach od stycznia do kwietnia oraz kiszonki wyprodukowane w maju i czerwcu, którymi rolnicy żywili krowy w październiku i listopadzie.

W runi łąkowej i w kiszonkach, oznaczono zawartość suchej masy, białka ogólnego, włókna surowego, popiołu surowego, cukrów rozpuszczalnych w wodzie, czyli podstawowych składników, niezbędnych do określenia ich wartości paszowej i strawności substancji organicznej oraz zawartość makro- i mikroelementów.

Zielonki z runi łąkowej, a w dwóch gospodarstwach z runi łąkowej z domieszką roślin motylkowatych, zebrane z użytków zielonych w latach 2009 i 2010, z przeznaczeniem do produkcji kiszonek, charakteryzowały się podobnym składem chemicznym, określającym ich wartość paszową.

Wyniki analizy kiszonek przedstawiono w tabelach 1 i 2, natomiast w tabeli 3 podano średnie wartości składu chemicznego siana stosowanego w żywieniu krów.

Kiszonki skarmiane w okresie realizacji badań charakteryzowały się wyrównaną zawartością składników w suchej masie, zarówno w partiach kiszonek stosowanych w żywieniu krów w okresach: styczeń – kwiecień, jak i październik – listopad, z tym, że kiszonki wytworzone bez dodatku preparatu charakteryzowały się niższą o około 5 % strawnością masy organicznej i niższą o ponad 2 jednostki procentowe zawartością cukrów rozpuszczalnych w wodzie (tabele 1 i 2).

Siano stosowane w żywieniu krów w 2010 roku było porównywalnej jakości we wszystkich gospodarstwach, charakteryzowało się zawartością białka od 6,84 do 7,72 %, zawartością cukrów rozpuszczalnych od 6,32 do 6,97 % i strawnością masy organicznej na poziomie 46,70 – 48,76 % ( tabela 3).

Tabela 1

**Wyniki analizy kiszonek, wykonanych z dodatkiem i bez dodatku preparatu,  
stosowanych w żywieniu krów w okresie zimowo-wiosennym**

kiszonki sporządzone:	zawartość suchej masy, %	zawartość w suchej masie kiszonki, %				strawność masy organicznej, %
		białka ogólnego	włókna surowego	popiołu surowego	WSC	
z preparatem	46,76	10,72	28,59	7,06	10,69	56,02
z preparatem	48,59	10,26	28,78	8,29	9,86	54,93
z preparatem	52,85	9,32	27,65	6,78	8,32	54,95
z preparatem	52,87	10,12	26,32	6,67	10,97	53,78
<b>wyniki średnie</b>	<b>50,26</b>	<b>10,10</b>	<b>27,85</b>	<b>7,20</b>	<b>9,96</b>	<b>54,92</b>
<b>bez preparatu</b>	<b>51,89</b>	<b>9,94</b>	<b>29,26</b>	<b>8,79</b>	<b>7,73</b>	<b>49,92</b>

WSC - cukry rozpuszczalne w wodzie

Tabela 2

**Wyniki analizy kiszonek, wykonanych z dodatkiem i bez dodatku preparatu,  
stosowanych w żywieniu krów w okresie jesiennym**

kiszonki sporządzone:	zawartość suchej masy, %	zawartość składników w suchej masie kiszonek, %				strawność masy organicznej, %
		białka ogólnego	włókna surowego	popiołu surowego	WSC	
z preparatem	52,27	11,26	25,75	9,02	7,97	54,57
z preparatem	40,63	10,26	26,78	9,31	7,14	52,15
z preparatem	63,12	10,40	27,65	7,78	8,72	53,29
z preparatem	57,91	11,66	25,32	8,95	9,06	55,82
<b>wyniki średnie</b>	<b>53,48</b>	<b>10,90</b>	<b>26,38</b>	<b>8,77</b>	<b>8,22</b>	<b>53,96</b>
<b>bez preparatu</b>	<b>58,98</b>	<b>9,81</b>	<b>28,85</b>	<b>10,74</b>	<b>6,73</b>	<b>49,08</b>

WSC - cukry rozpuszczalne w wodzie

**Wyniki analizy siana stosowanego w żywieniu krów w 2010 roku**

gospodarstwa:	zawartość suchej masy, %	zawartość składników w suchej masie siana, %				strawność masy organicznej, %
		białka ogólnego	włókna surowego	popiołu surowego	WSC	
doświadczalne	86,76	7,72	27,85	7,86	6,69	48,76
doświadczalne	85,74	6,59	28,78	8,95	6,86	46,70
doświadczalne	85,85	6,84	29,24	7,52	6,32	46,78
doświadczalne	87,00	7,62	29,13	9,31	6,97	47,28
<b>kontrolne</b>	<b>86,82</b>	<b>7,15</b>	<b>29,16</b>	<b>9,19</b>	<b>6,73</b>	<b>46,98</b>

*WSC - cukry rozpuszczalne w wodzie*

Na podstawie wartości pH, zawartości suchej masy i kwasów organicznych: mlekowego, octowego i masłowego oceniono jakość kiszonek sporządzonych z dodatkiem i bez dodatku preparatu, zgodnie z punktową oceną jakości według skali Fliega –Zimmera oraz Gneista-Wieringa. Wyniki dotyczące jakości kiszonek skarmianych od stycznia do kwietnia przedstawiono w tabeli 4, a skarmianych w okresie jesiennym w tabeli 5.

Kiszonki doświadczalne z dodatkiem preparatu, którymi żywiono krowy w okresie zimowo-wiosennym, charakteryzowały się wartością pH 4,6 – 5,1, przy zawartości kwasu mlekowego 1,00- 1,35 % i jakością bardzo dobrą. Kiszonki skarmiane w okresie jesiennym charakteryzowały się wartością pH 4,5 - 5,2, przy zawartości kwasu mlekowego 1,00 - 2,50 % i jakością bardzo dobrą.

Kiszonki kontrolne, bez dodatku preparatu, skarmiane w obydwu okresach od stycznia do kwietnia jak również od października do listopada charakteryzowały się: pH 5,5 – 5,9, przy zawartości kwasu mlekowego 0,46 - 0,49 % i jakością dobrą lub zadawalającą.



Tabela 4

**Ocena jakości kiszonek stosowanych w żywieniu krów w okresie zimowo- wiosennym**

kiszonki sporządzone	sucha masa, %	pH	zawartość kwasów organicznych, %			liczba bakterii mlek., log j.t.k./g	ocena jakości kiszonki
			mlekowego	octowego	masłowego		
z preparatem	46,76	5,0	1,00	0,16	brak	6,00	b.dobra
z preparatem	48,59	4,6	1,35	0,17	brak	7,11	b.dobra
z preparatem	52,85	5,0	1,30	0,58	brak	6,37	b.dobra
z preparatem	52,87	5,1	1,19	0,13	brak	7,00	b.dobra
<b>bez preparatu</b>	<b>51,89</b>	<b>5,5</b>	<b>0,46</b>	<b>0,16</b>	<b>0,08</b>	<b>4,08</b>	<b>dobra</b>

Działanie preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego spowodowało w procesie kiszenia runi łąkowej obniżenie pH, wzrost liczby bakterii fermentacji mlekowej z około 4,00 do ponad 7,00 log j.t.k./g kiszonki, istotny wzrost zawartości kwasu mlekowego oraz zahamowanie fermentacji masłowej (tabela 4 i 5).

**Ocena jakości kiszonek stosowanych w żywieniu krów w okresie jesiennym**

kiszonki sporządzone	sucha masa, %	pH	zawartość kwasów organicznych, %			liczba bakterii mlek., log j.t.k./g	ocena jakości kiszonki
			mlekowego	octowego	Masłowego		
z preparatem	52,27	4,9	1,00	0,27	0,01	7,50	b.dobra
z preparatem	40,63	4,5	2,50	0,58	brak	7,29	b.dobra
z preparatem	63,12	5,2	1,05	0,23	brak	6,37	b.dobra
z preparatem	57,91	5,0	2,12	0,43	0,01	6,98	b.dobra
<b>bez preparatu</b>	<b>58,98</b>	<b>5,9</b>	<b>0,49</b>	<b>0,43</b>	<b>0,11</b>	<b>&lt;4,00</b>	<b>zadawal.</b>

W kolejnym etapie badań oceniono stan higieny kiszonek stosowanych w żywieniu krów mlecznych w okresach zimowo- wiosennym i jesiennym na podstawie oznaczeń liczby potencjalnie patogennych mikroorganizmów. Wyniki badań przedstawiono w tabelach 6 i 7.

W kiszonkach doświadczalnych z dodatkiem preparatu, podawanych krowom w okresie styczeń - kwiecień, nie stwierdzono obecności bakterii *Salmonella spp.* i *Escherichia coli*, natomiast wykryto w dwóch gospodarstwach obecność bakterii z grupy *coli*. Liczba pleśni wynosiła od 1,66 do 4,98 log j.t.k./g s.m. kiszonki.

W kiszonkach kontrolnych oprócz *Clostridium perfringens* wykryto pozostałe badane mikroorganizmy, przy liczbie pleśni 5,80 log j.t.k./g s.m. kiszonki (tabela 6).

Tabela 6

**Liczba mikroorganizmów potencjalnie patogennych i pleśni w kiszonkach,  
stosowanych w żywieniu krów w okresie zimowo-wiosennym**

kiszonki sporządzone:	liczba mikroorganizmów, log j.t.k./g s.m. kiszonki				
	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	bakterie z grupy <i>coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	pleśnie
z preparatem	brak	brak	1,00	brak	1,66
z preparatem	brak	brak	brak	brak	4,23
z preparatem	brak	brak	brak	brak	4,32
z preparatem	brak	brak	1,00	brak	4,98
<b>bez preparatu</b>	<b>2,30</b>	<b>2,30</b>	<b>3,30</b>	<b>brak</b>	<b>5,80</b>

*W kiszonkach nie badano obecności bakterii Listeria spp.*

Tabela 7

**Liczba mikroorganizmów potencjalnie patogennych i pleśni w kiszonkach,  
stosowanych w żywieniu krów w okresie jesiennym**

kiszonki sporządzone:	liczba mikroorganizmów, log j.t.k./g s.m. kiszonki				
	<i>Listeria spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	bakterie z grupy <i>coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	pleśnie
z preparatem	1,48	brak	0,70	brak	1,78
z preparatem	1,60	brak	brak	brak	2,70
z preparatem	1,28	brak	1,54	1,00	2,22
z preparatem	1,38	brak	0,82	brak	1,74
<b>bez preparatu</b>	<b>3,88</b>	<b>1,30</b>	<b>3,30</b>	<b>1,48</b>	<b>6,00</b>

*W kiszonkach nie stwierdzono obecności bakterii Salmonella spp.*

W kiszonkach doświadczalnych z dodatkiem preparatu, stosowanych w żywieniu krów w okresie jesiennym, nie stwierdzono obecności bakterii *Salmonella spp.* oraz *Escherichia coli*. Liczba bakterii z grupy *coli* wynosiła od 0,70 do 1,54 log j.t.k./g s.m.

kiszonki. Bakterie *Clostridium perfringens* wykryto tylko w kiszonkach sporządzonych w jednym z tych gospodarstw. Liczba pleśni wynosiła od 1,74 do 2,70 log j.t.k./g s.m. kiszonki.

Kiszonki kontrolne w gospodarstwie, w którym nie stosowano preparatu, były zakażone bakteriami *Escherichia coli* i z grupy coli odpowiednio 1,30 i 3,30 log j.t.k./g s.m. kiszonki oraz bakteriami *Clostridium perfringens* w liczbie 1,48 log j.t.k./g s.m. kiszonki. Oznaczona w tych kiszonkach liczba pleśni wynosiła 6,00 log j.t.k./g s.m.

Dodatkowo we wszystkich kiszonkach wykryto obecność bakterii z rodzaju *Listeria* z tym, że w kiszonkach doświadczalnych ich liczba była ponad dwukrotnie niższa w porównaniu z liczbą bakterii *Listeria spp.* w kiszonce kontrolnej bez dodatku preparatu - 3,88 log j.t.k./g s. m. (tabela 7).

Oceniono również jakość mikrobiologiczną siana, którym uzupełniano dawkę pokarmową dla krów w okresie doświadczeń. W sianie stosowanym w żywieniu krów nie wykryto obecności bakterii *Salmonella spp.*, a liczba pozostałych mikroorganizmów potencjalnie patogennych była zbliżona do oznaczonej w zielonkach. Wyniki przedstawiono w tabeli 8.

Tabela 8

**Liczba mikroorganizmów potencjalnie patogennych i pleśni w sianie  
stosowanym w żywieniu krów**

siano w gospodarstwie:	liczba mikroorganizmów, log j.t.k./g s.m. siana				
	<i>Listeria spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	bakterie z grupy coli	<i>Clostridium perfringens</i>	pleśnie
doświadczalnym	2,30	1,00	2,60	1,54	3,30
doświadczalnym	3,00	brak	1,00	2,30	4,00
doświadczalnym	3,30	1,48	4,00	1,00	4,30
doświadczalnym	2,60	brak	2,60	2,00	3,60
<b>kontrolnym</b>	<b>3,30</b>	<b>1,30</b>	<b>2,30</b>	<b>1,90</b>	<b>4,30</b>

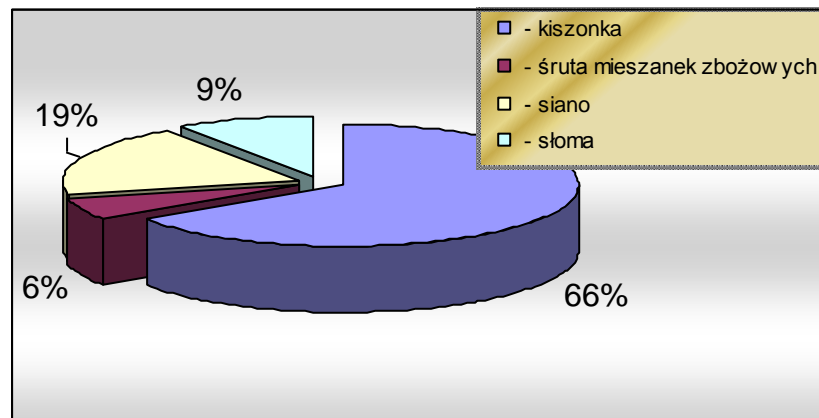
*W sianie nie stwierdzono obecności bakterii Salmonella spp.*

Skład dziennej dawki pokarmowej dla krów w gospodarstwach doświadczalnych i gospodarstwie kontrolnym, w okresie zimowo-wiosennym i jesiennym wynosił:

- sianokiszonka lub kiszonka – od 30 do 40 kg,
- siano od 10 do 12 kg,
- słoma do 5 kg,
- śruty zbożowe od 1 do 4 kg.

Średni procentowy skład dziennej dawki pokarmowej pokazano na rys.1.

W wybranych do badań gospodarstwach ekologicznych krowy produkowały rocznie od 3500 do 4500 l mleka w przeliczeniu na sztukę. Mleko kwalifikowane było zgodnie z normowanymi parametrami w klasie Extra.



Rys. 1. Średni skład dawki pokarmowej dla krów w okresie żywienia kiszonkami

Na podstawie analiz wykonywanych przez laboratoria mleczarni, do których rolnicy dostarczali mleko surowe, oceniano jego jakość w okresie prowadzonych badań. Zebrano dane dotyczące wartości parametrów jakości mleka surowego oznaczanych w mleczarniach normowanych. Dane zestawiono w tabeli 9.

Wymagania normy PN-A-86002 „Mleko surowe do skupu” dla klasy Extra wynoszą:

- liczba komórek somatycznych w 1 ml mniej niż 400 tys.
- ogólna liczba drobnoustrojów w 1 ml mniej niż 100 tys.

**Średnia wartość parametrów jakości mleka w czasie żywienia krów  
w okresach zimowo-wiosennym i jesiennym (łącznie 6 miesięcy)**

gospodarstwo:	liczba komórek somatycznych, tys./ml mleka	ogólna liczba drobnoustrojów, tys./ml mleka	Zawartość tłuszczu, %	Zawartość białka, %
<b>żywienie krów kiszonkami bez dodatku preparatu</b>				
kontrolne	168 -216	68 – 92	3,7 - 3,9	3,0 – 3,2
<b>żywienie krów kiszonkami z dodatkiem preparatu</b>				
doświadczalne	82 – 72	43 – 48	4,0 - 4,2	3,3 – 3,5
doświadczalne	75 – 114	40 – 52	3,9 - 4,3	3,3 – 3,4
doświadczalne	102 -145	40 – 58	3,8 – 4,0	3,0 – 3,1
doświadczalne	74 – 115	10 – 48	3,9 – 4,0	3,0 – 3,2

Oznaczenia wykonywane były w następujących mleczarniach:

- Spółdzielnia Mleczarska „Ostrołęka”
- PPHU „Mleks” Sp. z o.o Wyszaków
- „Mlekwita” w Wysokim Mazowieckim
- „Polmlek” Olsztyn Sp. z o.o
- „Mlekwita” Ostrów Mazowiecki.

Mleko dostarczane do mleczarni przez rolników z gospodarstw doświadczalnych zawierało średnio w okresie badań: ogólną liczbę drobnoustrojów od 10 do 58 tys./ml i liczbę komórek somatycznych od 72 do 145 tys./ml. Mleko pochodzące z gospodarstwa kontrolnego zawierało średnio: od 168 do 216 tys./ml komórek somatycznych, przy ogólnej liczbie bakterii 68-92 tys. /ml, czyli około dwukrotnie więcej w stosunku do ich zawartości w mleku pochodzącym od krów żywionych kiszonkami bardzo dobrej jakości. Zawartość białka ogólnego i tłuszczu surowego we wszystkich przypadkach była na podobnym poziomie.

W próbkach mleka pobieranego w okresach żywienia krów kiszonkami jako podstawową paszą oznaczano zawartość mikroorganizmów i oceniano jego jakość mikrobiologiczną. Wyniki średnie z analizy próbek mleka pobieranego w okresie żywienia krów od stycznia do kwietnia przedstawiono w tabeli 10, natomiast pochodzące z okresu żywienia jesiennego w tabeli 11.

**Liczba mikroorganizmów, w tym potencjalnie patogennych, w mleku surowym  
z zimowo-wiosennego okresu żywienia krów**

mleko surowe od krów żywionych kiszonkami o jakości:	liczba mikroorganizmów log j.t.k./ml				
	<i>Listeria spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	bakterie z grupy <i>coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	Ogólna
bardzo dobrej	brak	0,48	0,70	brak	3,50
bardzo dobrej	brak	brak	0,36	brak	4,36
bardzo dobrej	1,00	brak	0,56	brak	4,30
bardzo dobrej	brak	brak	0,70	brak	4,00
<b>dobrej</b>	<b>1,30</b>	<b>0,70</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>	<b>5,00</b>

*W mleku nie stwierdzono obecności bakterii Salmonella spp.*

W gospodarstwie, w których krowy żywiono kiszonkami co najwyżej dobrej jakości, zakażonymi bakteriami z grupy coli i *Clostridium perfringens*, mleko zakażone było bakteriami *Escherichia coli*, z grupy coli, *Listeria spp.*, *Clostridium perfringens.*, przy ogólnej liczbie mikroorganizmów 5,00 log j.t.k./ml (100 tys./ml).

W mleku pochodzącym z gospodarstw, w których krowy żywiono kiszonkami doświadczalnymi o wyższej jakości, także w odniesieniu do jakości mikrobiologicznej, nie wykrywano lub wykrywano zdecydowanie mniej zakażeń mikrobiologicznych. Obecność bakterii *Listeria spp.* wykryto w próbkach mleka pochodzącego z jednego gospodarstwa, podobnie jak bakterii *Escherichia coli*. Bakterie z grupy coli były obecne we wszystkich próbkach mleka, natomiast nie stwierdzono w tych próbkach obecności *Clostridium perfringens*. Średnio ogólna liczba mikroorganizmów wynosiła - 4,00 log j.t.k./ml czyli 10 tys./ml, to znaczy dziesięciokrotnie mniej, w stosunku do ich zawartości w mleku pochodzącym od krów żywionych kiszonką gorszej jakości (tabela 10).

**Liczba mikroorganizmów, w tym potencjalnie patogennych w mleku surowym z okresu żywienia krów jesiennego**

mleko surowe od krów żywionych kiszonkami o jakości:	liczba mikroorganizmów log j.t.k./ml				
	<i>Listeria spp.</i>	<i>Escherichia coli</i>	bakterie z grupy <i>coli</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	Ogólna
Bardzo dobrej	1,30	0,48	0,70	Brak	4,16
Bardzo dobrej	1,46	0,30	0,48	Brak	4,00
Bardzo dobrej	1,00	Brak	0,56	Brak	4,30
Bardzo dobrej	Brak	Brak	0,70	Brak	3,54
<b>zadawalającej</b>	<b>2,27</b>	<b>1,00</b>	<b>2,30</b>	<b>1,26</b>	<b>5,07</b>

*W mleku nie stwierdzono obecności bakterii Salmonella spp.*

Mleko pochodzące od krów żywionych w okresie jesiennym kiszonką o jakości zadawalającej charakteryzowało się ogólną liczbą bakterii 5,07 log j.t.k./ml czyli 116 tys./ml oraz obecnością wszystkich niepożądanych mikroorganizmów: *Listeria spp.*, z grupy *coli*, *Escherichia coli* i *Clostridium perfringens*.

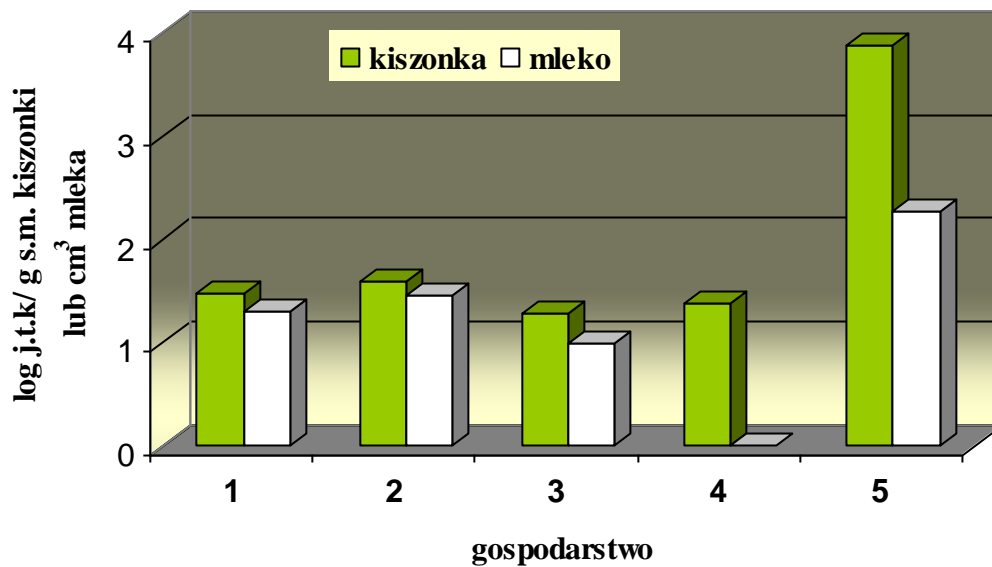
Mleko pochodzące od krów żywionych w okresie jesiennym bardzo dobrymi kiszonkami charakteryzowało się wyższą jakością mikrobiologiczną. Obecność bakterii *Listeria spp.* wykryto w próbkach mleka pochodzącego z trzech gospodarstw, bakterie *Escherichia coli* w mleku pochodzącym z dwóch gospodarstw. Bakterie z grupy *coli* były obecne we wszystkich próbkach mleka, natomiast nie wykryto w nich obecności *Clostridium perfringens*, a ogólna liczba mikroorganizmów wynosiła 4,00 log j.t.k./ml czyli 10 tys. w 1 ml mleka. Liczba mikroorganizmów wykrytych w tych próbkach mleka była wielokrotnie niższa od oznaczonej w mleku krów żywionych kiszonkami charakteryzującymi się jakością zadawalającą i zakażonych niepożądanymi, potencjalnie patogennymi mikroorganizmami (tabela 11).

W żadnej z próbek mleka pochodzącego od krów z gospodarstw ekologicznych nie stwierdzono obecności bakterii *Salmonella spp.*



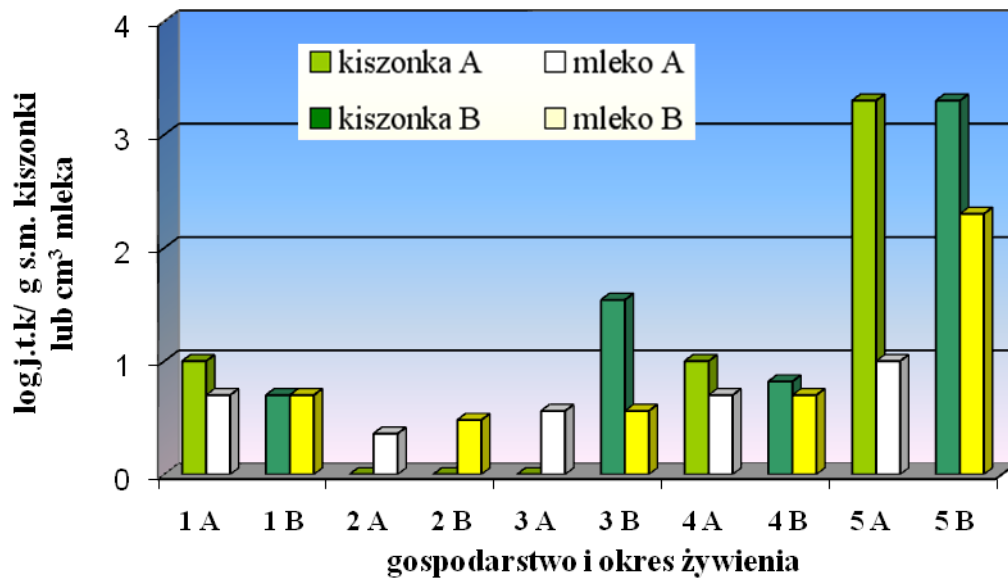
Wyniki badań dotyczące zależności między jakością mikrobiologiczną kiszonek, które stanowiły podstawową paszę dla krów, a jakością mikrobiologiczną mleka przedstawiono na rysunkach 2, 3 i 4.

W gospodarstwach doświadczalnych w okresie żywienia jesiennego liczba mikroorganizmów z rodzaju *Listeria* wynosiła w próbkach mleka w 3/4 gospodarstwa od 1,00 do 1,43 log j.t.k./ml., w stosunku do 2,27 log j.t.k./ml w próbkach mleka pochodzącego z gospodarstwa kontrolnego (rys.2).

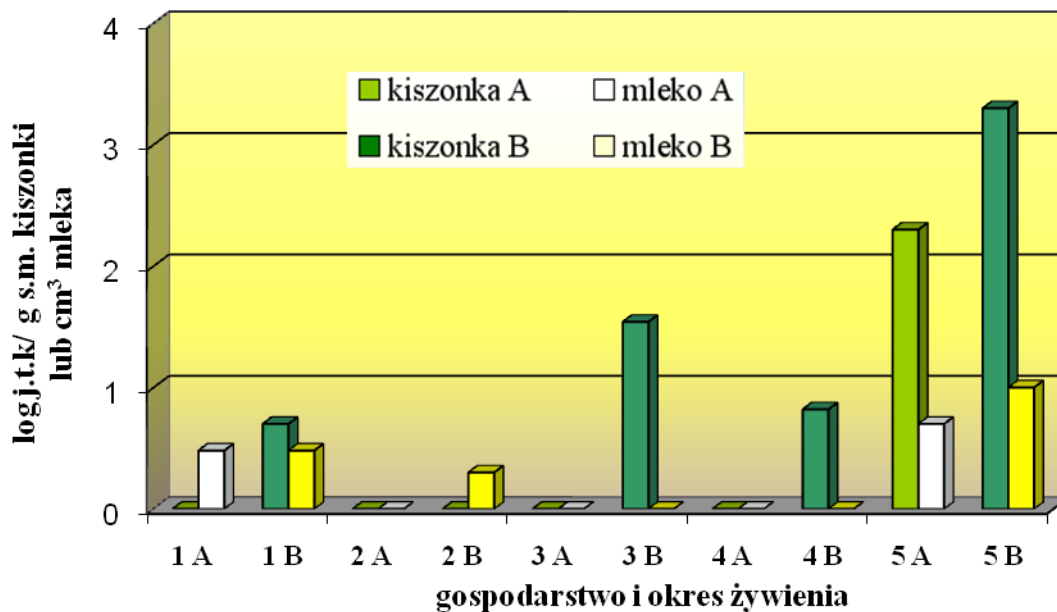


Rys. 2. Liczba bakterii z rodzaju *Listeria* w kiszonkach stosowanych w żywieniu krów oraz w mleku surowym w okresie żywienia jesiennego. Gospodarstwa doświadczalne oznaczono cyframi 1-4, zaś gospodarstwo kontrolne oznaczono cyfrą 5.

W wszystkich gospodarstwach w obu okresach żywienia krów kiszonkami wysokiej jakości liczba mikroorganizmów z grupy *coli* w mleku wynosiła od 0,36 do 0,70 log j.t.k./ml, natomiast w gospodarstwie, w którym żywiono krowy kiszonkami o obniżonej jakości, liczba bakterii z grupy *coli* w mleku wynosiła od 1,00 do 2,30 log j.t.k./ml (rys.3).



Rys. 3. Liczba bakterii z grupy coli w kiszonkach stosowanych w żywieniu krów oraz w mleku surowym z dwóch okresów żywienia: zimowo-wiosennego (A) oraz jesiennego (B). Gospodarstwa doświadczalne oznaczono cyframi 1-4, zaś gospodarstwo kontrolne oznaczono cyfrą 5.



Rys. 4. Liczba bakterii z gatunku *Escherichia coli* w kiszonkach stosowanych w żywieniu krów oraz w mleku surowym z dwóch okresów żywienia: zimowo-wiosennego (A) oraz jesiennego (B). Gospodarstwa doświadczalne oznaczono cyframi 1-4, zaś gospodarstwo kontrolne oznaczono cyfrą 5.

W wypadku mleka, pochodzącego z dwóch okresów żywienia krów kiszonkami, obecność bakterii *Escherichia coli* wykryto w próbkach pobranych w dwóch gospodarstwach doświadczalnych w okresie zimowo-wiosennym i w jednym gospodarstwie w okresie jesiennym; ich liczba wynosiła od 0,30 do 0,48 log j.t.k./ml, podczas gdy w gospodarstwie kontrolnym liczba bakterii *Escherichia coli* w mleku wynosiła odpowiednio do okresu żywienia 0,70 i 1,00 log j.t.k./ml (rys. 4).

W próbkach mleka pobranych ze wszystkich gospodarstw w okresie jesiennego żywienia krów oznaczono zawartość aflatoksyny M<sub>1</sub>. Obecność tej toksyny na poziomie 8,45-8,60 ppt wykryto w dwóch na cztery badane próbki mleka, pochodzącego z gospodarstwa kontrolnego i w dwóch na dwanaście badanych próbek mleka na poziomie poniżej 5,00 ppt, pochodzących z jednego z gospodarstw doświadczalnych.

Zgodnie z rozporządzeniem Komisji Europejskiej nr 466/2001 maksymalne poziomy aflatoksyny M<sub>1</sub> w mleku surowym wynoszą: do 50 ppt, natomiast w przeznaczonym dla niemowląt do 25 ppt. W żadnej z badanych próbek mleka nie stwierdzono przekroczenia zawartości aflatoksyny M<sub>1</sub>, jednak żywienie krów kiszonkami o wyższej jakości daje rolnikom pewność produkcji mleka o wysokim stanie higieny.

### 3. Streszczenie wyników.

Z wyników badań cytowanych w literaturze wiadomo, że jakość mikrobiologiczna kiszonych pasz objętościowych stosowanych w żywieniu krów ma znaczenie dla jakości mikrobiologicznej mleka.

W celu wykonania bardzo dobrej kiszonki, niezależnie od rodzaju kiszzonego materiału roślinnego, należy zapewnić warunki niezbędne dla prawidłowego przebiegu procesu fermentacji mlekowej, a zatem dla rozwoju bakterii wytwarzających kwas mlekowy, przy jednoczesnym hamowaniu rozwoju niepożądanego mikroflory epifitycznej roślin.

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że kiszonki wytworzone z dodatkiem preparatu bakteryjno-mineralno-witaminowego charakteryzowały się bardzo dobrą jakością, natomiast kiszonki wytworzone bez jego dodatku jakością dobrą lub zadawalającą oraz niższą o około 5 % strawnością masy organicznej.

Istotne różnice w jakości tych kiszonek dotyczyły zawartości kwasu mlekowego i jakości mikrobiologicznej. W kiszonkach z dodatkiem preparatu liczba bakterii fermentacji mlekowej była wysoka i wynosiła od 6,00 do 7,50 log j.t.k./g, przy średniej zawartości kwasu

mlekowego - 1,43 %, natomiast kiszonki w gospodarstwie kontrolnym, w którym nie stosowano preparatu, charakteryzowały się liczbą bakterii fermentacji mlekowej około 4,00 log j.t.k./g kiszonki i średnią zawartością kwasu mlekowego - 0,48 %.

Dynamicznie rozwijająca się populacja bakterii fermentacji mlekowej, wprowadzona z preparatem, ograniczała rozwój niepożądaną mikroflory w kiszonkach, nie wykryto w nich obecności bakterii *Salmonella spp.* i *Escherichia coli*, natomiast w niektórych kiszonkach stwierdzono obecność bakterii z grupy coli, a w jednym przypadku obecność bakterii z gatunku *Clostridium perfringens*.

W kiszonkach bez dodatku preparatu wykryto wszystkie badane rodzaje i gatunki niepożądanych mikroorganizmów.

Wszystkie badane kiszonki w okresie jesiennego żywienia krów zakażone były bakteriami z rodzaju *Listeria*, z tym, że w kiszonkach z dodatkiem preparatu ich liczba była ponad dwukrotnie niższa w stosunku do jej wartości w kiszonkach kontrolnych - 3,88 log j.t.k./g s.m. kiszonki.

Na podstawie zebranych wyników analizy mleka, które wykonywane były w laboratoriach mleczarni, stwierdzono, że mleko pochodzące od krów żywionych kiszonkami bardzo dobrej jakości zawierało niższą ogólną liczbę drobnoustrojów i niższą liczbę komórek somatycznych w stosunku do mleka pochodzącego z gospodarstw, które nie stosowały dodatku bakteryjnego do produkcji kiszonek.

Szczepy bakterii z gatunku *Lactobacillus buchneri*, które są obecne w nowej generacji preparatów bakteryjnych, jak również w preparacie stosowanym w badaniach, ograniczają rozwój pleśni w kiszonce dzięki działaniu ich metabolitów jak: kwas octowy, kwas propionowy i 1,2- propandiol (glikol propylenowy).

W gospodarstwach, w których krowy żywiono kiszonkami o wysokiej jakości, w tym mikrobiologicznej, w mleku nie wykrywano lub wykrywano zdecydowanie mniej niepożądanych mikroorganizmów. Średnio ogólna liczba mikroorganizmów wynosiła w tych próbkach mleka 4,00 log j.t.k./ml to znaczy dziesięciokrotnie mniej w stosunku do ich zawartości w mleku pochodzącym od krów żywionych kiszonką gorszej jakości.

W mleku pochodzącym od krów żywionych kiszonkami zawierającymi bakterie z grupy coli, *Listeria spp.*, *Clostridium perfringens.*, *Escherichia coli*, wykryto te same bakterie przy ogólnej liczbie mikroorganizmów 5,00 log j.t.k./ml czyli 100 tys./ml.

W żadnej z próbek mleka pochodzącego od krów z gospodarstw ekologicznych nie stwierdzono obecności bakterii *Salmonella spp.*

Na podstawie wykonanych badań i omówionych wyników można stwierdzić, że istnieje związek między mikrobiologiczną jakością kiszzonek, stosowanych jako pasza podstawowa w żywieniu krów mlecznych, a jakością i stanem higieny mleka.