

KVALITETA SILAŽE POD UTJECAJEM ENZIMA I BAKTERIJA

N. Vranešić, Jasenka Mihaljev, Ranka Nožinić, J. Beljak, I. Katalinić

Izvorni znanstveni rad
Primitljeno: 19. 5. 1989.

SAŽETAK

U dva pokusa istražili smo kvalitetu silaže pod utjecajem enzima i mliječno-kiselinskih bakterija (starter-kultura).

U prvom pokusu, provedenom u laboratorijskim uvjetima, dodaci na bazi smjese enzima (celulaza + hemicelulaza, Liquizim 40T, Dialaza 90T), starter-kultura (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *S. faecium*), te komercijalni preparat Lactobac, na bazi starter-kultura, djelovali su na povećanje razine mliječne kiseline, sniženje pH i sniženje maslačne kiseline, te na uštedu u suhoj tvari, u poređenju prema kontrolnoj skupini.

U drugom pokusu, provedenom u proizvodnim uvjetima, skupina tretirana Lactobacom ostvarila je povećanje razine mliječne kiseline, te uštedu suhe tvari u poređenju s kontrolnom skupinom.

Uvod

U cilju očuvanja hranjive vrijednosti krmnog bilja tokom što dužeg vremenskog razdoblja koriste se postupci kao što je siliranje i sušenje biljne mase. Da bi se proizvela dobra i ukusna silaža, te da bi se krmiva mogla silirati postupkom spontanog vrenja, potrebno je da sadrže najmanje 9% šećera u suhoj tvari i da sadržaj proteina ne prelazi 15% od suhe tvari. Ako se žele silirati krmiva s manje od 9% šećera u suhoj tvari, a uz visok sadržaj proteina, valja računati na provenjavanje (povećanje sadržaja suhe tvari) ili na dodavanje aditiva.

S obzirom da se spremanje silaže u svakodnevnoj praksi vrši pod uvjetima koji često odstupaju od željenih, raznim se aditivima nastoji u što većoj mjeri upravljati procesima fermentacije.

U skupinu stimulatora ili aditiva čija je zadaća stvaranje povoljnih uvjeta za dobru fermentaciju, poticanjem razgradnje šećera do mliječne kiseline, uvrštavaju se različiti uzgredni proizvodi prehrambene, kemijske i farmaceutske industrije (melasa, otpadni lug L-sorboze, suha sirutka i dr.), a jednako tako bakterije mliječno-kiselog vrenja (starter-kulture), te komercijalni pripravci na osnovi enzima.

Za razliku od kemijskih aditiva i konzervansa, dodaci na osnovi starter-kultura i enzima jačaju prirodni biološki postupak za očuvanje kvalitete hrane, što povećava materijalnu bilancu (smanjuje gubitak suhe tvari, CO₂ i isparljivih masnih kiselina) i omogućava veći izbor sirovina za siliranje.

Opravdanost upotrebe enzima, odnosno pripravka na osnovi enzima radi siliranja potvrđuju brojna istraživanja (Avramenko i Vernič, 1978; Bates i Kunkle, 1987; Bertin i drugi, 1985; Bolsen, i drugi, 1981 b; Bolsen, i Ilg, 1981 a; Bolsen, i Ilg, 1982; Boyarskii i Konoplev, 1979; Filatov i Dementeva, 1979; Henderson i McDonald, 1979; Konoplev, 1969; Kozlowski i drugi, 1982; Leatherwood i drugi, 1963, Nehring i drugi, 1983, Olson i Voelker, 1961; Rais i Mudgal, 1983; Shultz i drugi, 1974; Tashpulatov i drugi, 1983; Katalinić i Vranešić, 1987). Poboljšanja se odnose prvenstveno na uštede u suhoj tvari, na snažnu hidrolizu celuloze, te na povećanje koncentracije mliječne kiseline, odnosno na nižu pH vrijednost. Na bolju probavljivost i na bolje iskorištavanje silaže uz dodatak enzima upozoravaju i hranidbeni pokusi.

U vezi s primjenom starter-kultura iznosi se mišljenje da je inokuliranje voluminozne krme korisno zbog uspostavljanja brze i dominantne mliječno-kisele fermentacije, koja se očituje poboljšanjem kvalitete silaže (Pahlow, 1984; Hellings i drugi, 1987; Fisher i drugi, 1984; Woolford i Sawczyk, 1985; Seale, 1986; Pos-Floyd i drugi, 1986; Dellaglio i Torriani, 1987; Ataky i drugi, 1985; Rusti drugi, 1987; O'Neili drugi, 1987; Wohlt, 1987; Kennedy i drugi, 1987).

Mr. Nenad Vranešić, dipl. inž. Ranka Nožinić, dipl. inž. Juraj Beljak i dipl. inž. Jasenka Mihaljev – PLIVA, Istraživanje i razvoj, Zagreb; dr. Ivan Katalinić – Poljoprivredni centar Hrvatske, Zagreb.

Materijal i metode rada

Utjecaj enzima i starter-kultura na kvalitetu silaže istražili smo kroz dva pokusa tokom 1988. godine.

Pokus I

Ovaj pokus proveden je u laboratorijskim uvjetima, tokom kojeg smo upotrijebili tri enzima proizvedena u PLIVI, i to:

1. celulaza + hemicelulaza (eksperimentalni proizvod, Nožinić, Dražinić, 1982);
2. komercijalni proizvod Liquizim 40T
3. komercijalni proizvod Dialaza 90T

te također u PLIVI priredene starter-kulture (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* i *S. faecium* u jednakim omjerima).

Uz vlastite proizvode istraživana je utjecaj *Lactobaca* (Belgija), komercijalnog preparata na bazi starter-kulture. Pokus je proveden prema slijedećoj shemi:

skupine dodatak	K —	P ₁ Lactobac	P ₂ smjesa enzima	P ₃ starter- kultura
razina	—	0,12 ml bakterija 0,2 ml podloge	0,5%	0,5 g/kg

Svaka istraživana skupina brojala je po 10 silosa, zapremnine 5 l, punjenih isjeckanom travom prirodnih travnjaka (1,8 kg trave svaki), slijedećeg prosječnog kemijskog sastava:

sirovi protein 2, 56%
sirova vlakna 6,66%

sirova mast 0,42%
suha tvar 21,87%

Pokus II

Pokus je proveden u proizvodnim uvjetima sa željom da se istraži djelovanje *Lactobaca* na kvalitetu silaže. Silos zapremnine 120 m³ punjen je zelenom masom koja se sastojala iz livadnih trava, djeteline i manjim dijelom lucerne. Silos je punjen samoutovarom prikolicom, a dužina sječke iznosila je 8-10 cm. Gaženje silaže vršeno je traktorom i gusjeničarom. Tokom punjenja silosa svaki je sloj prskan *Lactobacom* (pakovanje 8/15 m³), i to samo u jednoj polovici silosa, tako da je neprskana polovica služila kao kontrola. Po završetku punjenja silos je prekriven plastičnom folijom na koju su natisnute automobilske gume.

Uzorci silažne mase, uzimani prije gaženja svakog sloja, imali su slijedeći prosječni kemijski sastav:

sirovi protein 58% sirova vlakna 14,60%
sirova mast 1,07% suha tvar 50,23%

Za kontrolu kvalitete silaže oba pokusa korištene su objektivne analitičke metode, koje se sastoje u kemijskom određivanju koncentracije mliječne, octene i maslačne kiseline, te određivanju pH i suhe tvari. Isparljive masne kiseline određivane su metodom po Fliegeu (Balzer, 1969), a pH elektrometrijski. Gubitak suhe tvari izračunat je po formuli:

gubitak ST = 2,965 + 2,343 × ukupne kiseline (%) u suhoj tvari

Istraživane vrijednosti (pokus I) Tested values (Trial I)

Tabela 1 – Table 1

skupina / Group dodatak / Additive	K / Control —	P ₁ / Trial ₁ Lactobac	P ₂ / Trial ₂ smjesa enzima Mixture of enzymes	P ₃ / Trial ₃ starter-kultura Starter culture
pH	5,47	4,99 ^x	5,25 ^x	4,79 ^x
mliječna kiselina / Lactic acid, %	1,649	1,672	1,740	1,805 ^x
octena kiselina / Acetic acid, %	0,503	0,633 ^y	0,603	0,498
maslačna kiselina / Butyric acid, %	0,040	0,012 ^y	0,004 ^x	0,004 ^x
gubitak suhe tvari u odnosu prema sadržaju ukupnih kiselina, % Dry matter loss as related to the total level of acids, %	32,04	31,08	31,39	31,43
indeks / Index, %	100,00	97,00	97,97	98,10
bodovi po Fliegeu Points acc. to Fliege	87,8	90,7	93,0	95,0

U usporedbi s kontrolom: x (P < 0,01)
y (P < 0,05)

As compared to control: x (P < 0,01)
y (P < 0,05)

Razmatranje rezultata i diskusija

Prikaz istraženih vrijednosti u tabeli 1 odnosi se na rezultate ostvarene u pokusu provedenom u laboratorijskim uvjetima (pokus I).

U poređenju s kontrolnom, sve pokusne skupine polučile su niži pH (P < 0,01). Razina mliječne kiseline bila je viša u svim pokusnim skupinama, s tim da je P₃ skupina (starter-kulture) ostvarila značajno povećanje (P < 0,01) u odnosu prema kontroli. Rezultati vlastitih istraživanja

(Vranešić i drugi, 1984, 1988) potvrđuju učinak enzima u povećavanju razine mliječne kiseline, te niži pH u silaži trava, a istraživanja Woodforda i Sattera (1987), te McCormicka i drugih (1987) govore o pozitivnom učinku starter-kultura na razinu mliječne kiseline i pH.

Zbog više razine mliječne kiseline, te nižeg pH sve pokusne skupine imale su značajnije nižu razinu maslačne kiseline ($P < 0,01$) u poređenju s kontrolom.

Skupina P₁ (Lactobac) imala je višu razinu octene kiseline ($P < 0,05$) od kontrole, dok ostale skupine nisu bitnije odstupale prema kontroli.

Istraživane vrijednosti (pokus II) Tested values (Trial II)

Tabela 2 – Table 2

skupine / Group dodatak / Additive	K / Control	P / Trial Lactobac
pH	4,61	4,76 ^y
mliječna kiselina / Lactic acid, %	2,954	3,437 ^y
octena kiselina / Acetic acid, %	0,859	0,746 ^y
maslačna kiselina / Butyric acid, %	0,680	0,529 ^y
gubitak suhe tvari u odnosu prema sadržaju ukupnih kiselina, % Dry matter loss as related to the total level of acids, %	33,838	31,028 ^y
indeks / Index, %	100,00	91,70
bodovi po Fliegeu Points acc. to Fliege	68	70

U usporedbi s kontrolom: y ($P > 0,05$)

As compared to control: y ($P > 0,05$)

Literatura

- Ataku, K., Nakamura, H., Narasaki, N., Kikuchi, M.: Control of silage fermentation by inoculant with *L. casei*. Proceeding of the XV International Grassland Congress, August 24–31, 1985, Kyoto, Japan.
- Avramenko, P., Verbič, O. (1978): Dodaci fermentiranih preparata pri siliranju sirovog krumpira. Bilten dokumentacije 29, 5.
- Balzer, I.: Konzerviranje zelenih krmnih masa siliranjem. Zagreb, 1968.
- Bates, D. B., Kunkle, W. E. (1987): Effect of silage additives and time of wilt on characteristic of bermuda-grass round bale silage. Anim. Sci. 65, 1, 337.
- Bertin, G., Hellings, P., Vanbellen, M.: The effect of cellulolytic enzyme preparations as in vitro improvement for forage digestibility. Proceeding of the XV International Grassland Congress, August 24–31, 1985, Kyoto, Japan.
- Bolsen, K., Ilg, H.: Ensila Plus and Cold-flo additives for corn silage. Cattleman's Day, Report of Progress 394, 59–64, 1981 a.
- Bolsen, K., Ilg, H., Hind, M.: Effects of Sila-bac and Sila Guard on alfalfa silage quality and corn supplementation on steer performance. Cattleman's Day, Report of Progress 394, 71–78, 1981 b.
- Bolsen, K., Ilg, H.: Silo-best and Sila-ferm additives for corn silage and drought-stressed corn silage for yearling steers. Cattleman's Day, Report of Progress 413, 6–10, 1982.
- Boyarskii, L. G., Konoplev, E. G. (1979): Preparation and use of silage with enzyme preparations. Životnovodstvo 11, 35.
- Burghardi, S. R., Goodrich, R. D., Meiske, J. C. (1980): Evaluation of corn silage treated with microbial additives. J. Anim. Sci. 50, (4), 729–736.
- Dellaglio, F., Torriani, S. (1987): Microbiological variations in silage of lucerne and Italian rye-grass with added lactic acid bacteria or formic acid. Nutr. Abst. Rev. 57, (2), 68.
- Filatov, I. I., Dementeva, T. A. (1979): Effect of various enzyme additives on silage quality. Nauhnye Trudy Novosibirskog Sel'skokozyaistvennogo Instituta 123, 52.
- Fisher, L. J., Pennells G. C., Shelford, J. A. (1984): The effect of the additive »Silogen« on the intake and digestibility of grass silage. Canadian J. of Anim. Sci. 64, (3), 709–715.
- Hellings, P., Bertin, G., Vanbelle, M. (1987): Effect of lactic bacteria on silage fermentation. Nutr. Abst. Rev. 57, (10), 586.
- Henderson, A. R., McDonald, P. (1977): The effect of cellulose preparation chemical changes during the ensilage of grass in laboratory silos. J. of Food and Agriculture 28, 6, 486.
- Kennedy, R. L., Richardson, C. R., Miller, M. D. (1987): Effects of a lactobacillus silage inoculant on utilization and fermentation of corn silage. J. Anim. Sci. 65, (1), 324.
- Konoplev, E. G. (1969): Enzyme preparations for ensiling green fodders. Vestn. Sel'skolhoz Nauki 8, 42.
- Kozłowski, M., Rusiecka, I., Rydzik, W. (1982): Ensiling forage with Derasyl. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczo-Tehniczne w Olsztynie, Zootechnika 23, 221–226.

Pokusne skupine ostvarile su manji gubitak suhe tvari, no u poređenju prema kontroli on nije značajan ($P > 0,05$) i niži je u rasponu od 1.9 do 3%.

Izvršeno ocjenjivanje prema Fliegeu dalo je više bodova pokusnim skupinama, koje su tretirane Lactobacom, smjesom enzima i starter-kulturama, pa na temelju dobivenih rezultata provedenog pokusa možemo zaključiti da su sva tri dodatka imala pozitivan utjecaj na kvalitetu silaže trava.

U tabeli 2 prikazane vrijednosti se odnose na pokus proveden u proizvodnim uvjetima.

Iako je pH niži u kontrolnoj skupini, značajnih odstupanja u odnosu na pokusnu skupinu nije bilo ($P > 0,05$). Prisutnost isparljivih masnih kiselina bila je povoljnija u pokusnoj skupini. Posebno se to odnosi na višu razinu mliječne kiseline ($P > 0,05$) i nižu razinu maslačne kiseline ($P > 0,05$), iako bodovno izraženo obje skupine spadaju u grupu dobrih silaža (od 61–80 bodova).

Najpovoljniji rezultat polučila je pokusna skupina na uštedi suhe tvari, jer je u poređenju s kontrolom njen gubitak smanjen za 8,3% ($P > 0,05$), što smatramo vrlo dobrim rezultatom. Inokuliranjem silaže s *L. plantarum* Rust i drugi (1987) ostvarili su uštedu u suhoj tvari, dok Poos-Floyd i drugi (1986) nisu s dodatkom starter-kulture u travnoj silaži uspjeli postići uštedu u suhoj tvari.

Prema ostvarenim rezultatima u oba pokusa možemo opravdano zaključiti da su starter-kulture, smjesa enzima, te Lactobac imali pozitivan učinak na poboljšanje kvalitete silaže trava, što potvrđuju rezultati već ranije provedenih vlastitih istraživanja.

19. **Leatherwood, J. M., Mochrie, R. D., Stone, E. J., Thomas, W. E.** (1963): Cellulose degradation by enzymes to ensiled forages. *J. Dairy Sci.* 46, 124.
20. **McCormic, K., Brown, T. F., Nelson, B. D., Verma, L. R.** (1987): Effect of wilting interval and Silall inoculant on fermentation characteristics and lamb nutrient utilization of ensiling ryegrass. *J. Anim. Sci.* 65, (1), 323.
21. **Nehring, K., Heinz, D., Friedel, K.** (1983): Effect of cellulose on the ensiling of high-protein feeds. *Archiv für Tierernährung* 33, (2/3), 251–258.
22. **Nožinić, Ranka, Dražić Mensura** (1982): Fermentable sugar for agricultural wastes. *Biotechnol. Letters* 4, 109.
23. **Olson, M., Voelker, H. H.** (1961): Effectiveness of enzyme and culture addition on the preservation and feeding value of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* 44, 1204.
24. **O'Neil, Rust, S. R., Tomas, J. W., Fish, S. L.** (1987): Influence of microbial inoculant, Na bentonite and glucose addition on fermentation of direct-cut alfalfa forage ensiled in laboratory silos. *J. Anim. Sci.* 65, (1), 322.
25. **Pahlow, G.** (1984): Improvement of the aerobic stability of silage by inoculants. *Nutr. Abstr. Rev.* 54, (2–3).
26. **Poos-Floyd, M., Johnson, D. W., Coylec, A.** (1986): Effect of a microbial silage inoculant on fermentation characteristics and quality of mixed grass-legume silage stored in plastic silo bags. *J. Anim. Sci.* 63, 285–286.
27. **Rais, N., Mudgal, V. D.** (1983): Use of cellulose enzyme to improve the utilization of paddy straw by rumen microorganisms. *J. Of Nuclear Agriculture and Biology* 12, (1).
28. **Rust, S. R., Yokoyama, M. T., Main, D. G.** (1987): Effect of a dry and liquid microbial inoculant on nutritive value and fermentation characteristics of high moisture corn. *J. Anim. Sci.* 65, (1), 116.
29. **Seale, D. R.** (1986): Bacterial inoculant as silage additives. *J. of Applied Bacteriology* 61, 9S–26S.
30. **Shultz, T. A., Raiston, A. T., Shultz, Elena** (1974): Effect of various additives on nutritive value of regrass straw silage. Laboratory silos and in vitro dry matter digestion observation. *J. Anim. Sci.* 39, 920.
31. **Tashpulatov, Z. H., Baibaev, B., Khudaiberganov, R.** (1983): On the ensilage of cereal straw with the celullitic enzymes of *Trichoderma lignorum* – 19. *Uzbekskii Biologichskii Zhurnal* 3, 16–18.
32. **Katalinić, I., Vranešić, N.** (1987): Nova saznanja u spremanju i korištenju krmnog bilja za proizvodnju mlijeka i mesa. *Poljoprivredne aktualnosti* 12, 491–505.
33. **Vranešić, N., Nožinić, Ranka, Beljak, J., Dražić, Mensura, Knežević, M., Katalinić, I., Benčić, I.** (1988): Siliranje krmnog bilja uz upotrebu enzima. *Agronomski glasnik* 1, 147–159.
34. **Vranešić, N., Beljak, J., Knežević, M., Dražić, Mensura, Nožinić, Ranka, Horvat, T.** (1984): Mogućnost korištenja enzima u proizvodnji kvalitetne silaže. *Krmiva* 26, 10, 209–213.
35. **Wohlit, J. E.** (1987): Use of silage inoculant to improve bunk life stability and intake of a corn silage. *J. Anim. Sci.* 65, (1), 323.
36. **Woodford, J. A., Satter, L. D.** (1987): Influence of a microbial inoculant on fermentation on alfalfa silage and utilization by growing dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 61, (1), 145.
37. **Woolford, M. K., Sawczyk, M. K.** (1985): An investigation into the effect of cultures of lactic acid bacteria on fermentation in silage. 1. Strain selection. *Nutr. Abstr. Rev.* 55, (12), 692.

SILAGE QUALITY INFLUENCED BY ENZYMES AND BACTERIA

SUMMARY

During two trials we have tested the silage quality influenced by enzymes and lactic-acidic bacteria (starter culture).

During the first trial, conducted under lab conditions, additives based on mixture of enzymes (cellulase + chemicellulase, Liquizim 40T, Dialaza 90T), starter cultures (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *S. faecium*), and the commercial preparation of Lactobac, based on starter cultures, influenced the increase of lactic acid level, the pH decrease as well as a dry matter saving as compared to the control group.

During the second trial, conducted under production conditions, the trial group treated with Lactobac showed an increase of lactic acid level and a dry matter saving as compared to the control group.