

**Dr Mara Prša**

Poljoprivredni fakultet, Zagreb

### **MIKROBIOLOŠKI PROCESI U TOKU SILIRANJA KRMIVA, TE PRIMJENA ČISTIH KULTURA BAKTERIJA MLJEĆNO—KISELOG VRENJA**

Kod spremanja silaže pojavljuje se niz najrazličitijih problema u toku samog tehnološkog procesa. Varijabilnost dobivenih rezultata ukazuje na nedostatak poznavanja u prvom redu osnovnih mikrobioloških odnosno biokemijskih pojava, koje se odvijaju u toku procesa siliranja, a utječe na kvalitet dobivene silaže.

Sposobnost mikroorganizama, da proizvode kiseline, naročito mlječnu, koristi se u tehnološkom procesu očuvanja biljnih krmiva. Silirana krma se može sačuvati od kvarenja jedino zahvaljujući određenoj količini kiseline koju sadrži. Mlječna kiselina, koja nastaje djelovanjem bakterija mlječno-kiselog vrenja, javlja se u silaži kao konzervans jer onemogućuje razvoj štetnih mikroorganizama. Ako se bilo kakvim utjecajem mlječna kiselina ukloni, krmivo će se sigurno pokvariti. Pri izmijenjenim uslovima ako se npr. pH diže, počnu se naglo odvijati procesi gnjiljenja koji izmijene sastav krmiva, tako da će ono sa gospodarskog stanovišta postati ne povoljno. Prema tome, osnovni zadatak kod siliranja bio bi — omogućiti najpovoljnije uslove kako za intenzivno stvaranje mlječne kiseline tako i za njeno održanje.

Siliranje po Zubrilinu je dinamičan proces, te se odvija u nekoliko faza.

U I fazi iz biljnih stanica počinje otjecati stanični sok kao posljedica smanjenja turgora, koagulacije koloida, oštećenja biljne membrane itd. zato silirana krma doživljava bitne promjene. U slučaju, ako je biljna masa dobro zbita, biljni sok ispunja šupljine među česticama izmiješane biljne mase, te uvjetuje uspostavljanje anaerobnih uslova. Znatan dio rastvorljivih hranjivih tvari iz krmiva prelazi u biljni sok, daje izvanredno povoljan supstrat za razvoj različitih grupa mikroorganizama koji su u silos unijeti na samim biljkama. Ako je temperatura u datom času povoljna, počinje burni i intenzivni razvoj mikroorganizama. U toj različitoj heterogenoj mikroflori mogu se naći znatne količine aerobnih nesporogenih bakterija gnjiljenja, predstavnici grupe coli-aerogenes, kvasci, bakterije mlječno-kiselog vrenja te ostali različiti mikroorganizmi. U ovoj početnoj fazi obično se sporogene bakterije slabo razvijaju, tako da bakterije maslačno-kiselog vrenja, te sporogene bakterije gnjiljenja ne dolaze do izražaja. Biljne stanice još uvijek nastavljaju disanjem, iskorištavajući kisik koji je preostao u biljnoj masi kao i onaj koji je nastao u njoj fermentativnim procesima.

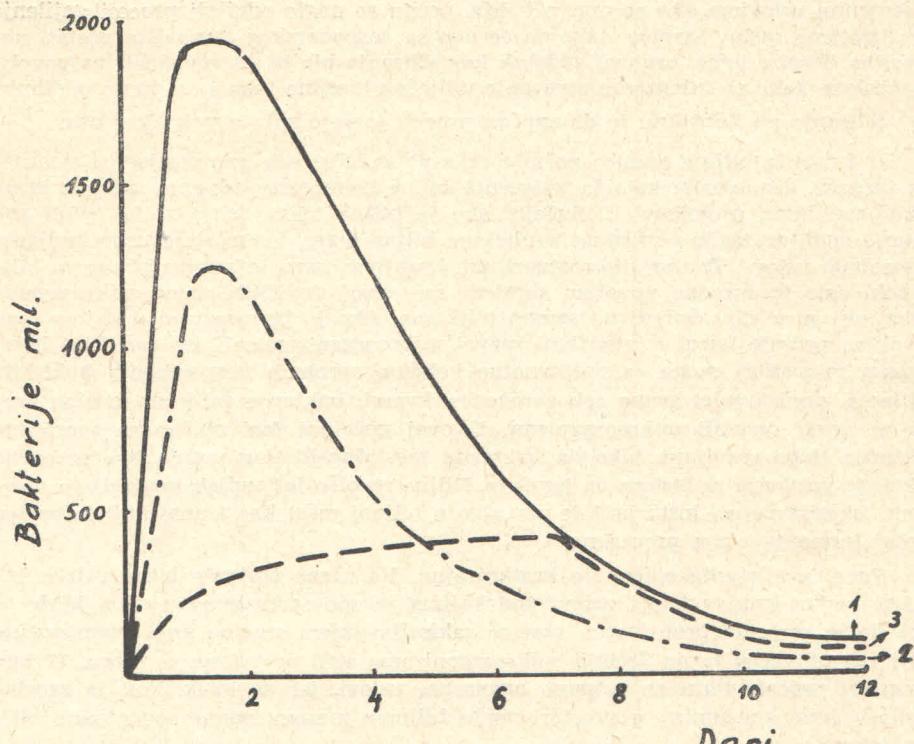
Prva faza vrenja obično je kratkotrajna. Na njeno trajanje bitno utječe kemijski sastav krmiva kao i uslovi pod kojima je ono spremljeno u silos. Može se reći, da je svršetak prve faze u vezi sa zakiseljavanjem sredine koja onemogućuje dalji razvoj većeg broja štetnih mikroorganizama koji se nalaze u silosu. U tom momentu uspostavljaju se potpuno anaerobni uslovi, jer se kisik, koji je zaostao u silosu, brzo konzumira, a prostori među biljnom masom ispune se potpuno biljnim sokom.

U II fazi — fazi osnovnog vrenja — glavnu ulogu imaju bakterije mlječno-kiselog vrenja. Nastavljajući svoje djelovanje zakiseljavaju krmivo stvarajući mlječnu kiselinsku. Velika većina štetnih nesporogenih bakterija ugiba, a sporogeni oblici prelaze u latentno stanje. U prvom periodu ove faze vrenja, mikrofloru mlječno-kiselih

bakterija predstavljaju okrugli oblici — koki. Poznato je, da ti oblici ne podnose veće količine kiseline, te kada je sredina za njih postala nepovoljna, smjenjuju ih štapićasti oblici, koji su prilagođeni većoj količini kiseline. Kako je u momentu pojave štapićastih oblika u znatnoj mjeri potrošen osnovni supstrat za njihov razvoj — šećer, to je njihov broj općenito u silaži uvijek manji od broja okruglih oblika. Period dominiranja štapićastih oblika pojavljuje se u isto vrijeme kad nastupa zastoj razmnažanja, tako da mikroflora počinje opadati, a prema tome i silaža je u tom periodu siromašna mikroflorom.

U III konačnoj fazi vrenja znatno se smanjuje broj bakterija mlječno-kiselog vrenja. Stvorena količina mlječne kiseline postaje u izvjesnoj mjeri štetna i za štapićaste oblike mlječno-kiselih bakterija, koji sa još po nekom preostalom koloidnom formom masovno izumiru. U tom momentu siliranje dolazi do svoje završne faze. Mora se naglasiti, da se momenat mikrobiološke zrelosti silaže ne mora podudarati s momentom njegove gospodarske vrijednosti. Njena upotrebljiva vrijednost može biti već u momentu kad je pH 4,2 i niže, bez obzira što nije završen tok mikrobioloških procesa.

Shema (po Zubrilinu i Mišustinu) pokazuje dinamiku kretanja broja mikroorganizama u silaži kao i promjene u odnosu raznih morfoloških grupa bakterija mlječno-kiselog vrenja. Grafikon ima opći karakter bez obzira što pojedini slučajevi mogu biti i drugčiji.



#### Legenda:

- 1 — sveukupni broj bakterija
- 2 — bakterije mlječno-kiselog vrenja — koki
- 3 — bakterije mlječno-kiselog vrenja — štapići

Kako je poznato, sadržaj odnosno bogatstvo ugljikohidratima, te puferna sposobnost biljne mase, vrši odlučujući utjecaj na razmnažanje različitih grupa mikroorganizama koji se nalaze u silosu.

U istraživanjima, koje su sproveli sovjetski istraživači (7), pokazalo se da kukuruz i suncokret spadaju u sirovine koje se lako i dobro siliraju, dok smjesa grahorica — zob i soja nisu pogodan materijal za siliranje.

Faze vrenja kod kukuruza i suncokreta odgovarale bi uglavnom izloženoj shemi.

Kod smjesi grahorica-zob, međutim, obično su se razmnožavale bakterije iz grupe coli-aerogenes, a u toku prvog toka trajanja procesa povećao se i broj bakterija maslačno-kiselog vrenja. To se svakako odrazilo na kemijski sastav krmiva koje je sadržavalo veće količine octene, i nešto maslačne kiseline.

Kod soje, koja je siromašna ugljikohidratima, sveukupni broj mikroorganizama se vrlo polagano smanjivao, tako da su se u prvoj fazi dulje vremena razmnožale bakterije iz grupe coli-aerogenes, te bakterije maslačno-kiselog vrenja, što se odrazilo na kemijski sastav krmiva (znatna količina hlapivih kiselina).

Kod krmiva, koja su bogata ugljikohidratima, već treći dan nastupa poželjan pH. Razumljivo je, da zbog toga, kod brzog zakiseljavanja sve faze vrenja silaže traju kraće, a ukupan broj mikroorganizama u biljnoj masi smanjuje se također ranije.

Među bakterijama mliječno-kiselog vrenja u siliranoj krmi nalaze se kako homo tako i heterofermentativni oblici. Ovi posljednji često puta prevladavaju, zbog čega se u krmi pojavljuju uvijek veće ili manje količine hlapivih kiselina.

Iz istraživanja je vidljivo (1, 6), da su gubici vrijednih sastojaka krmiva, naročito bjelančevina u procesu siliranja vrlo veliki, pa je opravdano postaviti pitanje kako će se smanjiti ti gubici.

Veće promjene u sastavu krme nastupaju već u fazi prije početka samih fermentativnih procesa kako pod utjecajem djelovanja nepoželjne mikroflore, tako i samim fermentativnim promjenama koje nastaju u biljnoj masi. Ta dva faktora moguće je spriječiti bržim zakiseljavanjem sredine. Sirovina bogata ugljikohidratima, kod koje je osim toga primijenjena pravilna tehnika spremanja u silose, vrlo se brzo zakiseljava, jer se mikrobiološki procesi u kojima se stvara mliječna kiselina, odigravaju intenzivno. Naprotiv, sirovine bogate proteinima zakiseljavaju se veoma sporo i slabo, te dugi period u kojem se odvijaju nepoželjni mikrobiološki procesi. Posljedica toga je primjetno smanjenje bjelančevina, neracionalno korištenje ugljikohidrata, a drugo kvari se sastav kiselina u silaži. Ustanovljeno je, da kod siliranja djatelina gubitak bjelančevina iznosi 30% (6), kod lucerke gubitak na suhoj tvari iznos je 17%, a na bjelančevini 72% (6).

U praksi se primjenjuju zahvati (izolacija od zraka zbijanjem krme) koji dovode do ubrzanja procesa mliječno-kiselog vrenja tj. tim zahvatima se skraćuje faza razvoja nepoželjne mikroflore (truležni mikroorganizmi, bakterije maslačno-kiselog vrenja, coli-aerogenes). Međutim, ti zahvati nisu dovoljni da izmjene sastav same krme, odnosno da poprave kvalitet sirovine. Stoga se danas primjenjuje niz tehničkih mjera, s kojima se nastoji popraviti kvalitet sirovine, odnosno da ih se osposobi za brzo zakiseljavanje dodavanjem šećera ili čistih kultura bakterija mliječno-kiselog vrenja.

Dodavanjem čistih kultura pravilno se regulira mikrobiološka djelatnost bakterija mliječno-kiselog vrenja, koje ubrzavaju poželjne procese (stvorena mliječna kiselina već u prvoj fazi vrenja). Mliječno-kisele bakterije ulaze u silos sa biljkama, ali njihov broj, na žalost, nije velik. Potrebno je izvjesno vrijeme da se razmnože u tolikoj mjeri, da dođe do izražaja njihovo povoljno djelovanje. To se vrijeme može

skratiti dodavanjem gotovih kultura mlječno-kiselih bakterija siliranoj masi. Bakterije, unijete u silos, stvaraju odmah mlječnu kiselinu i time skraćuju period razmnažanja nepoželjnih mikroorganizama.

Kako je vidljivo iz istraživanja (6), dodavanje kultura siliranoj masi u svakom slučaju popravlja kvalitet krmiva, a naročito, ako se striktno provode osnovni principi siliranja. Ipak se mora naglasiti, da samo pomoću kultura nije moguće pretvoriti sirovini u kvalitetnu, ako nije prikladna za siliranje.

Kulture bakterija mlječno-kiselog vrenja počele su se primjenjivati početkom ovog stoljeća. Naročito se preporučava upotreba kultura, kod siliranja krmiva koja su bogata bjelančevinama. Kod kultura bogatih ugljikohidratima iskorištavanje kultura nije tako efikasno, iako se njihovom upotrebom može popraviti sastav kiselina.

Iz istraživanja proizlazi (7), da primjena čistih kultura bakterija mlječno-kiselog vrenja daje naročito dobre rezultate te kod siliranja krme u hladnom godišnjem periodu. Iz prakse se pokazalo, da jesenje siliranje uslovjuje velike gubitke hranjivih tvari, vjerovatno zbog toga što niska temperatura u tom godišnjem dobu zaustavlja razmnažanje bakterija mlječno-kiselog vrenja. Unošenjem čistih kultura može se izbjegći nepovoljni ekološki faktor — niska temperatura. Isto tako potrebno je unositi čistu kulturu u sirovini koja se u toku procesa siliranja zagrijava, jer povisena temperatura, kao što je poznato, ometa razvoj bakterija mlječno-kiselog vrenja.

Kod pripremanja kultura za silos uzimaju se specifične vrste bakterija koje učestvuju u homofermentativnom tipu procesa. Kulture bakterija u svrhu siliranja pripremaju se ili u obliku tekućih ili suhih preparata. Sushi su preparati svakako pogodniji, jer se lakše čuvaju i prenose.

Za pripremanje npr. silaže, koje imaju dijetetsko značenje, upotrebljavaju se kulture *Bact. acidophilum*. Ovaj se organizam dobro prilagođava u probavnom traktu i u pozitivnom smislu utječe na njegovu mikrofloru. Makarova (7) je predložila, da se čista kultura sastoji od smjese *Streptobacterium plantarum* i kvasca *Monillia murmonica*. Zna se, da kvasci učestvuju u alkoholnom vrenju vršeći proces u anaerobnim uslovima, ali mogu živjeti i u aerobnim uslovima u kojima tada iskorištavaju šećer stvarajući konačne mineralne produkte. Prema tome, kvasci su fakultativno anaerobni mikroorganizmi. Makarova pretpostavlja, da ako se dodaju krmni, energično će trošiti kisik u silosu, i to u prvoj fazi vrenja i time stvarati anaerobne uslove. Osim toga, kvasci mogu obogatiti krmu vitaminima što pozitivno djeliće na bakterije mlječno-kiselog vrenja koje se brže razmnažaju, a tim se svakako povisuje i ukupna vrijednost silaže. O tom problemu, upotrebi kvasaca kao čistih kultura trebalo bi nastaviti daljnja istraživanja, jer opet iz mnogih podataka (7) — proizlazi, da obogaćena krmna masa kvascima dovodi do neracionalnog trošenja šećera, a kao posljedica toga svakako je smanjen kvalitet silaže.

Ruski istraživač Šamiz (7) predlaže, da se u pomanjkanju gotovih kultura bakterija mlječno-kiselog vrenja može dodavati u masu za siliranje nešto gotove kvalitetne silaže iz drugog silosa, koji sadrži dovoljnu količinu bakterija mlječno-kiselog vrenja, (silos koji služi kao kultura priprema se 3—4 tjedna prije nego počne masovno siliranje).

Utjecaj gotovih kultura na mikrobiološke procese i sastav kiselina u silosu pro- učavalo je čitav niz istraživača, Ustanovljeno je, da dodana kultura, kojom je povećan broj bakterija mlječno-kiselog vrenja u silosu, brzim stvaranjem mlječne kiseline potiskuje, odnosno onemogućuje daljnje djelovanje nepoželjne mikroflore (*coli-aerogenes*, bakterije maslačno-kiselog vrenja te bakterije koje uzrokuju proces glijenja). Uspostavljanje pravilnog toka mikrobioloških procesa dodavanjem kulture, odražava se na kemijskom sastavu silirane mase. Stvorena mlječna kiselina snižava

vrijednost pH siraže, smanjila je sadržaj hlapivih kiselina, amonijaka, a konzervirala je bjelančevine. Siraža proizvedena dodavanjem kultura svijetle je boje, ugodnog mirisa te mnogo brže sazrijeva.

Iz svega opisanog moglo bi se zaključiti, da dodavanje kultura mlijeko-kiselog vrenja u siražu nikad ne daje negativan rezultat, te se može dodavati kako sirovini koja se teško silira (potrebno dodavanje) tako i materijalu podesnom za siliranje. Potrebno je ipak naglasiti, da dodavanje kultura komplicira tehnološki postupak, investiranja će biti veća, a proizvedena siraža svakako skuplja. Zato kulturu treba dodavati samo onda kad se sa sigurnošću može očekivati koristan efekat. (sirovine koje se teško siliraju). Kad se tehnika pripremanja kultura pojednostavni bit će svakako i mogućnost njihove primjene veća.

#### LITERATURA

1. Balzer i Pajalić: Siliranje hladnim načinom hraniva bogatih na bjelančevini (Polj. smotra 16/2 II)
2. Balzer i Zlatić: Siliranje hraniva bogatih na proteinima sa solnom kiselinom (Polj. smotra 16/2 II)
3. Cunningham and Smith: Centrbl. II Abt. für Bakter. 1. Band 100, 1939
4. Von Van Beynum und Pette: Zentr. Zweite Abt. Band 94, 1936
5. Von Van Beynum und Pette: Zentr. Zweite Abt. Band 99, 1939
6. Varaksina: Utjecaj kemijskih preparata na mikrobiološke procese i kvalitet silosa (Mikrobiologija 1961, T XXX)
7. Zubrilin i Mišustin: Siliranje krmiva (Akademija nauka SSSR 1958)