

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

RIGÓ ESZTER

**MOSONMAGYARÓVÁR
2012**

DOKTORI (PHD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR
MOSONMAGYARÓVÁR
ÁLLATTUDOMÁNYI INTÉZET**

**UJHELYI IMRE ÁLLATTUDOMÁNYI DOKTORI
ISKOLA**

**DOKTORI ISKOLA VEZETŐJE:
DR. BENEDEK PÁL
EGYETEMI TANÁR**

**TÉMAVEZETŐ:
DR. SCHMIDT JÁNOS
PROFESSZOR EMERITUS, AZ MTA RENDES TAGJA**

**JÓ HATÉKONYSÁGÚ BIOLÓGIAI TARTÓSÍTÓSZER
KIFEJLESZTÉSE A KÖZEPESEN ÉS NEHEZEN
ERJESZTHETŐ TAKARMÁNYOK TARTÓSÍTÁSÁRA**

RIGÓ ESZTER

**MOSONMAGYARÓVÁR
2012**

1. BEVEZETÉS

A szálastakarmányok a kérődző állatok legtermészszerűbb takarmányai. Hazánk éghajlati adottságaiból az következik, hogy gazdasági állataink számára szükséges éves takarmánymennyiséget az áprilistól novemberig terjedő időszakban kell megtermelni. A takarmányok nagyobb része azonban a betakarításkor nem légszáraz állapotú, ezért azokat a felhasználásig tartósítani szükséges. A tartósítandó takarmányok többsége szálastakarmány, amelyek mind takarmányozás-élettani, mind pedig ökonómiai szempontból fontos szerepet töltenek be a kérődzők takarmányozásában.

A tartósítás egyik módját a takarmányok erjesztés útján történő konzerválása képezi. A takarmányok természetes erjedőképességét azonban több takarmány esetében valamilyen adalékanyaggal (pl. biológiai tartósítószerrel) javítani szükséges. A természetes erjedőképesség javítására szolgáló adalékanyagok közül napjainkban a biológiai tartósítószerrel történő tárolás figyelemre méltó. A biológiai tartósítószerrel történő tárolás ma már a 3. generációja van forgalomban, amelyek a tejsavtermelő baktériumkultúra mellett valamilyen enzimeket is tartalmaznak. A 3. generációs biológiai tartósítószerrel szerzett tapasztalatok azonban meglehetősen ellentmondásosak. Ezen tartósítószerrel gyakran nem kielégítő a hatékonysága, ami az esetek többségében arra vezethető vissza, hogy a silóban, illetve a szilázsban uralkodó körülmények nem minden tekintetben felelnek meg a tartósítószerben található szénhidrátbontó enzimek optimális működési feltételeinek.

Ez a tény elsősorban a hőmérséklet tekintetében áll fenn, de a szilázs pH-ja sem mindig abban a tartományban van, amely a cellulózt és hemicellulózt bontó enzimek optimális működéséhez szükséges lenne. Ezt a tényt legegyszerűbben úgy lehetne orvosolni, hogy megnöveljük a tartósítószerben az enzimkoncentrációt, aminek viszont a gazdaságosság szab határt.

A biológiai tartósítószer fejlesztésének egyik útja lehet olyan enzimkomplexek keresése, amelyek működési feltételei közelebb vannak a silóban uralkodó hőmérsékleti és pH körülményekhez, mint a jelenleg használatos enzimkészítményeké. Erre a lehetőségre az ad reményt, hogy a különböző mikrogombák enzimeinek működési optimuma között jelentős különbségek állnak fenn.

A fejlesztés egy másik útja, olyan szénhidrátforrások felkutatása, előállítása lehet, amelyekkel a közepesen és a nehezen erjeszthető növények természetes erjedőképessége érdemben javítható lenne. Munkám során ez utóbbi lehetőséget választottam. A szemes kukoricában nagy mennyiségben előforduló, de a tejsavtermelő baktériumok által nem fermentálható keményítő enzim lebontásával kívántam olyan szénhidrát szubsztrátot előállítani, amely egy második generációs biológiai tartósítószer komponense lehet.

2. SAJÁT VIZSGÁLATOK

2.1. A kísérletek célkitűzése

A NYME Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának Takarmányozástani Tanszékén az utóbbi években erjedésdinamikai kísérletek folytak, a hazai üzemeinkben a lucerna és a fű silózásához felhasznált harmadik generációs biológiai tartósítószerrel. Az elvégzett vizsgálatok során megállapítást nyert, hogy a ma forgalomban lévő biológiai tartósítószer hatékonyasága és hatásbiztonsága távolról sem kielégítő. A bennük található enzim mennyiség nem elegendő ahhoz, hogy annyi erjeszhető szénhidrátot állítson elő a takarmány nyersrostjából és keményítőjéből, amennyi a szilázs kielégítő stabilitását biztosító tejsav előállításához szükséges. Abban az esetben, amikor a Magyarországon forgalmazott biológiai tartósítószernek a gyártó által garantált enzimkoncentrációját megnövelték, a szilázs pH-ja – ami a szilázs minőségének fontos indikátora – jelentősen csökkent. A tartósítószer enzimkoncentrációjának érdemi növelése viszont jelentősen drágítaná az amúgy sem olcsó biológiai tartósítószereket. Ezért úgy is fogalmazhatunk, hogy a harmadik generációs biológiai tartósítószer a jelenlegi enzimkoncentrációval nem elég hatékonyak, a megnövelt enzimkoncentrációval viszont nem biztos, hogy gazdaságosak.

Felhasználva a Takarmányozástani Tanszéken több évtizede folyó erjedésdinamikai kísérletek tapasztalatait, kutató-fejlesztő munkánk elé egy olyan hatékony szénhidrát alapú biológiai tartósítószer kifejlesztését tűztük ki célul, amely adalékanyaggal mind a közepesen, mind pedig a nehezen

erjeszhető zöldtakarmányokból nagy biztonsággal, kevés veszteséggel lehet jó minőségű, kedvező tejsav-ecetsav arányú, stabil szilázst előállítani.

Témaválasztásomat az is indokolta, hogy a tanszéken a silózási kísérletekhez, ezen belül az erjedésdinamikai vizsgálatokhoz szükséges laboratóriumi és egyéb (pl. klímakamra) feltételek, továbbá az állatkísérleti háttér teljes egészében adottak.

Mínthogy hazánkban erjeszhető szénhidrátban gazdag takarmányok nem állnak kielégítő mennyiségben rendelkezésre, a szükséges szénhidrátot a kukorica keményítőjének enzimikus lebontásával terveztük biztosítani. A keményítő lebontását azonban nem in situ úton, nem a silóban, hanem a silózást megelőzően, szabályozott körülmények (hőmérséklet, pH) között kívántuk elvégezni és a már enzimikus úton lebontott, majd megszáritott kukoricát terveztünk a silózendő lucernához, illetve fűhöz adagolni.

A fent írottak értelmében kísérleteink során a következőket kívántuk megállapítani:

- Milyen mértékben bontható le redukáló cukorra a kukorica keményítője α -amiláz és amiloglükózidáz enzimekkel?
 - Befolyásolja-e a kukorica keményítőjének lebonthatóságát a hidrolízis közegének szárazanyag-tartalma?
 - Milyen hatással van a hidrolízis idő hossza, illetve az enzimdózis a keményítő lebomlás hatásfokára?
- Milyen értékű erjeszhető szénhidrátforrás a tejsavbaktériumok számára a hidrolizált kukorica?
- A silózendő zöldtakarmány szárazanyag-tartalmától függően mennyi hidrolizált kukoricára van szükség stabil szilázs előállításához?

- Fokozható-e a kifejlesztett tartósítószer hatékonysága a tartósítószer redukáló cukortartalmának egy tejipari melléktermékkel (ricotta savó) történő növelésével?

2.2. Anyag és módszer

2.2.1. Kukorica hidrolízis kísérletek

A kifejlesztendő tartósítószer szénhidrát komponenseként azért választottuk a kukoricát, mert hazánkban ilyen célra a kukorica a legnagyobb mennyiségben rendelkezésre álló szénhidrátforrás, továbbá a gabonamagvak közül a kukoricának a legnagyobb a keményítőtartalma. A kukorica keményítőjét enzimes technológiával kívántuk lebontani. Ehhez a gabonaalapú alkohol előállítás technológiájából kiindulva α -amiláz (BAN 480) és amiloglikozidáz (SPIRIZYME) – mindkettő NOVO termék (NOVO Nordisk A/S, Denmark) – enzimeket használtunk. A hidrolízis paraméterei a következők voltak:

	BAN 480	SPIRIZYME
Enzim dózis	1 g/kg keményítő	1 g/kg keményítő
pH	5,6-6,0	4,5
Hőmérséklet	80°C	60°C
Hidrolízis idő	20 perc	20 óra

A kísérlethez finomra darált, átlagosan 0,5 mm szemcseméretű kukoricadarát használtunk. Tekintettel arra, hogy a két enzim működési optimuma mind a hőmérséklet, mind pedig a pH tekintetében jelentősen különbözik egymástól, ezért a hidrolízist két egymást követő fázisban

végeztük. A hidrolízis első fázisát α -amilázzal végeztük. A hidrolízis időt attól az időponttól számítottuk, amikor a kukorica-víz keverék hőmérséklete a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ot elérte. A hidrolízis idő leteltével a hidrolizálandó anyag hőmérsékletét $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra hűtöttük, majd pH-ját 6 mólos sósavval 4,5-re állítottuk be. Ezt követően hozzáadtuk a szükséges amiloglükozidáz mennyiséget. A kukorica-víz keveréket a hidrolízis mindkét szakaszában folyamatosan kevertettük.

A hidrolízis eredményét - a lebomló keményítő mennyiségét - a hidrolízis közegének szárazanyag-tartalma jelentősen meghatározza, ezért azt is vizsgáltuk, hogy milyen szárazanyag-tartalom esetén érhető el a legnagyobb redukáló cukorhozam. Ennek a kérdésnek a vizsgálata azért is fontos volt, mert a hidrolizált kukoricát szárítani szükséges, mely szárítás költsége nagymértékben befolyásolja az új tartósítószer előállításának gazdaságosságát. A kísérletek során 10 és 30 % közötti szárazanyag-tartományban vizsgáltuk a hidrolízis közegének szárazanyag-tartalma és a nyerhető redukáló cukor mennyisége közötti összefüggést.

2.2.2. A hidrolizált kukorica redukáló cukortartalmának növelése tejipari ricotta savó felhasználásával

A kukorica enzimes hidrolízisének energia igényét jelentősen befolyásolja a hidrolízishez szükséges szárazanyag-tartalom beállításához felhasznált víz $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra történő felmelegítéséhez felhasznált energia mennyisége. Ennek az energiának a nagy része megtakarítható, ha a hidrolízishez a kukorica szükséges szárazanyag-tartalmát nem vízzel, hanem a ricotta sajt gyártásakor keletkező $80\text{-}85\text{ }^{\circ}\text{C}$ hőmérsékletű tejsavóval állítjuk

be. A jelentős energiamegtakarításon túlmenően ez azzal az előnnyel is jár, hogy növelhető a hidrolizált kukorica erjeszhető szénhidrát-tartalma is.

A keverék savóhányadának meghatározásakor abból indultunk ki, hogy a ricotta savó laktóz tartalma érdemben növelje a tartósítószer redukáló cukortartalmát, de a keverék szárazanyag-tartalma ne haladja meg a 30 %-ot. A kedvező aránynak az 1 kg kukorica + 2,5 kg savó bizonyult.

2.2.3. Mikrobiológiai vizsgálatok

2.2.3.1. A jó minőségű szilázs előállításához szükséges baktériumkultúra faji összetételének meghatározása

A kifejlesztett tartósítószerben a szénhidrát komponensek (hidrolizált kukorica és ricotta savó) mellett a másik lényeges alkotórész egy liofilezett starter baktériumkultúra, amelynek feladata az epifita mikrobaflóra faji összetételének megváltoztatásával a silóban lejátszódó erjedési folyamatok irányítása.

A starterkultúra összeállításakor négy baktériumfajt vettünk figyelembe. Közülük az egyik a *Lactobacillus plantarum*, amely számos kedvező tulajdonsággal rendelkezik (homofermentatív, jó a savtűrőképessége, kicsi a proteolitikus aktivitása, kevésbé érzékeny a vízaktivitási viszonyok változására), következésképpen minden forgalomban levő biológiai tartósítószer baktériumkultúrájában megtalálható. Egyetlen vele szemben felhozható kifogás, hogy szaporodóképessége 5 pH felett kisebb. Ezt a hátrányt azzal korrigáltuk, hogy a baktériumkultúrában helyet kapott az *Enterococcus faecium*, amely 5-6 pH között is jól szaporodik és már az erjesztés kezdetén is sok tejsavat termel, megteremtve ezzel a kedvező

feltételeket (főleg a pH gyorsabb csökkenését) a *Lactobacillus plantarum* számára. Az említett két tejsavtermelő baktériumfaj használata a starterkultúrában azért is előnyös, mert mindkettőt előállítják (fermentálják) idehaza is (*Medipharm Kft*), ami egyszerűbbé és olcsóbbá teszi a baktériumkultúra beszerzését.

A baktériumkultúrában még két további baktériumfaj is szerepelt, ezek a *Lactobacillus buchneri*, valamint a *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* voltak. Mindkettő szerepeltetésének célja a szilázs aerob stabilitásának javítása volt. A mikrobiológiai vizsgálatokat karunk Élelmiszertudományi Intézetének Mikrobiológiai Tanszéke végezte.

A baktériumkultúrában található 4 baktériumfaj részarányának meghatározása céljából 3 különböző hőmérsékleten és 3 eltérő pH értéken megállapítottuk a 4 mikrobafaj maximális fajlagos szaporodási sebességét (μ_{max}) és generációs idejét (t_g).

A kísérletek második szakaszában a hidrolizált kukorica mellett ricotta savó is szerepelt szénhidrátforrásként a készítményben, ezért egy kísérlet keretében azt is vizsgáltuk, hogy a savó szénhidrát komponensét, a laktózt, milyen hatékonysággal értékesítik az oltókultúra mikrobafajai. Ezt a felsorolt baktériumfajok laktózon elért szaporodási sebességének mérésével állapítottuk meg. A laktóz mellett kontrollként glükóz is szerepelt még a vizsgálatban.

A két vizsgált szubsztrátból azonos redukáló cukormennyiséget (4,7 g/100 cm³) tartalmazó tápoldatokat állítottunk elő, melyeket élesztő kivonattal és peptonnal egészítettünk ki. A szaporítást mindkét vizsgált szubsztrát esetében 25 órán át folytattuk, amelynek során 3 óránként mértük a közeg pH-

ját, továbbá mintát vettünk a tápoldatokból és lemezöntéses, telepszámlálásos módszerrel meghatároztuk a cm^3 -kénti mikrobaszámot. A kapott eredmények alapján a kísérletben szereplő négy baktériumfaj maximális fajlagos szaporodási sebessége (μ), valamint a generációs idő (t_g) a vizsgált szubsztrátokra vonatkozóan kiszámítható.

2.2.3.2. A kifejlesztett tartósítószer mikrobiológiai stabilitásának megállapítása

A kísérleti munka során azt is meg kívántuk állapítani, hogy melyik az a kiserelési forma, amelyik a készítmény raktározása során biztosítja a tartósítószer mikrobiológiai stabilitását. Ezért egy kísérletben azt vizsgáltuk, hogy kész tartósítószer (szénhidrát adalék+baktériumkultúra) a gyártástól (a két komponens összekeverésétől) kezdődően milyen hosszú időn át biztosítja azt az előtelepszámot, amelyre a jó minőségű, stabil szilázs előállításához szükség van. Vizsgálataink arra is kiterjedtek, hogy a raktározás hőmérséklete milyen hatással van a tartósítószer mikrobiológiai stabilitására.

A kísérletben 93 % szárazanyag-tartalmú hidrolizált kukoricához annyi liofilezett $1,5 \times 10^8/\text{cm}^3$ CFU *Lactobacillus plantarum* és $3,6 \times 10^9/\text{cm}^3$ CFU *Lactobacillus buchneri* kultúrát adagoltunk, hogy az silózás esetén 10^5 CFU/1g zöldtakarmány koncentrációjú oltásnak feleljen meg. Mindkét baktériumkultúrát homogéneen hozzákevertük a hidrolizált kukoricához, majd az így előkészített mintákat zárható, steril üveglombikba helyeztük. A lombikok felét 4°C -os hűtőben, másik felét szobahőmérsékleten tároltuk, miközben 0., 1., 2., 4., 6. és 8. héten meghatároztuk a mintákban a savtermelő, a nem savtermelő mikroorganizmusok, az élesztők, valamint a penészek számát.

2.2.4. Silózási kísérletek

2.2.4.1. Modell silózási kísérletek

Az erjedésdinamikai kísérleteket különböző mértékben fonnyasztott zöldlucernával, illetve füvel végeztük. Ezekben a kísérletekben azt vizsgáltuk, hogy a hidrolizált kukorica kiegészítéssel, valamint a hidrolizált kukorica és Ricotta savó keverékével végzett kiegészítéssel kombinált baktériumos oltás milyen hatást gyakorol az erjedés paramétereire, valamint az erjedés időbeli lefolyására. Valamennyi kísérletben pozitív kontrollként egy a kereskedelmi forgalomban kapható harmadik generációs biológiai tartósítószernek az erjedésre gyakorolt hatását is vizsgáltuk. Az erjedésdinamikai kísérletek keretében kerestük a választ arra is, hogy a silózendó zöldtakarmány szárazanyag-tartalma milyen hatást gyakorol a stabil szilázs előállításához szükséges hidrolizált kukorica, valamint hidrolizált kukorica és ricotta savó keveréke mennyiségére.

1. táblázat: Lucernával végzett erjedésdinamikai modellvizsgálatok során alkalmazott kezelések és bontási napok

Szárazanyag tartalom	31,7 %
Kezelések	1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 1% hydr. kukorica + oltás
Bontási napok	3., 7., 15., 30., 180.
Szárazanyag tartalom	23,3 %
Kezelések	1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 1,5 % hydr. kukorica + oltás 4. 2,0 % hydr. kukorica + oltás 5. 2,5 % hydr. kukorica + oltás 6. Goldzym
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.
Szárazanyag tartalom	32,3 %
Kezelések	1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 1,0 % hydr. kukorica + oltás 4. 1,5 % hydr. kukorica + oltás 5. 2,0 % hydr. kukorica + oltás 6. Goldzym
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.
Szárazanyag tartalom	38,1 %
Kezelések	1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 0,5 % hydr. kukorica + oltás 4. 1,0 % hydr. kukorica + oltás 5. 1,5 % hydr. kukorica + oltás 6. Goldzym
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.
Szárazanyag tartalom	30,0 %
Kezelések	1. Kontroll 2. 1% hydr. kukorica + oltás 3. Goldzym 4. Bactozym 5. Lalsil PS
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.
Szárazanyag tartalom	28,8 %
Kezelések	1. Kontroll 2. 1,0 % hydr. kukorica + ricotta savó + oltás 3. 0,83 % hydr. kukorica + ricotta savó + oltás 4. Lalsil PS
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.

2.táblázat: Fűvel végzett erjedésdinamikai modellvizsgálatok során alkalmazott kezelések és bontási napok

Szárazanyag tartalom	31,6 %
Kezelések	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 0,33 % hidr. kukorica + oltás 4. 0,66 % hidr. kukorica + oltás 5. Goldzym
Bontási napok	3., 7., 15., 30., 180.
Szárazanyag tartalom	23,3 %
Kezelések	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 0,5 % hidr. kukorica + oltás 4. 1,0 % hidr. kukorica + oltás 5. 1,5 % hidr. kukorica + oltás 6. Goldzym
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.
Szárazanyag tartalom	29,6 %
Kezelések	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 0,2 % hidr. kukorica + oltás 4. 0,6 % hidr. kukorica + oltás 5. 1,0 % hidr. kukorica + oltás 6. Goldzym
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.
Szárazanyag tartalom	33,7 %
Kezelések	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontroll 2. Baktériumos kontroll 3. 0,1 % hidr. kukorica + oltás 4. 0,4 % hidr. kukorica + oltás 5. 0,7 % hidr. kukorica + oltás 6. Goldzym
Bontási napok	7., 15., 30., 60., 120.

Az erjedésdinamikai vizsgálatokat modellsilókkal végeztük, amelyek 850 ml űrtartalmúak voltak, és amelyekbe 400–430 g fonnyasztott lucernát, illetve fűvet silóztunk be. A silókat 25 ± 1 °C hőmérsékletű, temperált klímakamrában tároltuk az erjesztés során. Minden kezelés anyagából 25 modell silót töltöttünk meg, amelyekből az erjedés meghatározott napjain

kezelésenként 5- 5 silót felbontottunk és vizsgáltuk a szilázs pH-értékét, tejsav, illózsírsav-, alkohol-, és NH_3 -tartalmát. Az utolsó (120., illetve 180. napi) silóbontás alkalmával megállapítottuk a silózás alatti szárazanyag-, valamint energiaveszteséget is.

A hidrolizált kukorica és a ricotta savó kombináció erjedésre gyakorolt hatását nagyobb méretű (100 liter térfogatú) műanyag modell silókban is vizsgáltuk. Kezelésenként 2 silót töltöttünk meg enyhén – 28,7 % szárazanyag-tartalomig – előfonnyasztott lucernával. A kísérlet során a következő kezeléseket vizsgáltuk:

- Kontroll
- 0,5 % hidrolizált kukorica kiegészítés
- 0,41 % légszáraz hidrolizált kukorica + 0,09 % ricotta savó kiegészítés
- Lalsil PS biológiai tartósítószer 10g/t zöldlucerna koncentrációban

Az erjedésdinamikai kísérletek során vizsgált harmadik generációs biológiai tartósítószeres fontosabb paraméterei a következők voltak:

-A Goldzym biológiai tartósítószer *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei* és *Pediococcus pentosaceus* tejsavtermelő baktérium törzsek mellett celluláz és hemicelluláz enzimeket is tartalmazott. Az oltási élőtelepszám $1,5 \times 10^5$ /g zöldlucerna volt. A készítmény enzimaktivitása 0,17 IU/g volt.

-A Bactozym baktériumkultúrája ugyanazokból a baktériumtörzsekből állt, mint a Goldzym-é, enzimgarnitúrája azonban a celluláz és a hemicelluláz mellett még glükózoxidázt is tartalmazott. A készítmény enzimaktivitása 0,22 IU/g. A CFU szám a Bactozym esetében is $1,5 \times 10^5$ /g zöldlucerna.

-A Lalsil PS a baktériumkultúra (*Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*) mellett cellulázt és hemicellulázt tartalmazó enzimkomplexből állt. A javasolt adag (10 g/t) felhasználásakor a CFU szám $2,5 \times 10^5$ /g zöldlucerna. A készítmény deklarált enzimaktivitása: 10^4 CMC-áz/g.

2.2.4.2. Üzemi silózási kísérlet

A fejlesztő munka során üzemi méretű silózási kísérletet is végeztünk, amelyre Darnózselin, az Agrár Zrt. tehenészeti telepén került sor.

A silózási kísérletet enyhén, 32,7-33,8 % szárazanyag-tartalomig előfonnyasztott zöldlucernával, fóliatömlős technológiával végeztük. A kontroll szilázs esetében az üzemben használt Lalsil harmadik generációs tartósítószer adagoltuk a zöldlucernához 10 g/tonna zöldtakarmány mennyiségben. A kísérleti szilázst 1,0 % hidrolizált kukorica kiegészítéssel készítettük, amely kiegészítés a baktériumos oltásra szolgáló liofilezett tejsavbaktérium-kultúrát is magában foglalta. Az oltási élőtelepszám $1,5 \times 10^5$ /g zöldlucerna volt. A besilózott zöldlucerna mennyiség a kontroll szilázs esetében 50,5 tonna, a kísérleti szilázs esetében pedig 50,0 tonna volt.

2.2.5. A kísérlet során alkalmazott kémiai vizsgálati eljárások

A szilázsminták tejsav-, illózsírsav-, valamint alkoholtartalmát Biotronik 2000 típusú HPLC berendezéssel vizsgáltuk (Wissenschaftliche Geräte GmbH, Germany, Maintal 1.). Az oszlop típusa Bio-Rad Aminex[®]

HPX-874, mérete 300 mm x 7,8 mm volt. Az elválasztás hőmérséklete 45°C
Eluens: 0,005M H₂SO₄. Pumpa: átfolyás:0,85 ml/min., nyomás 77 kg/cm².

A zöldlucerna és a fű, valamint a szilázminták, szárazanyag, nyersfehérje, nyerszsír, nyersrost és nyersshamu tartalmát a Magyar Takarmánykódexben (2004) leírt módszerekkel állapítottuk meg. A lucerna, a fű, továbbá a szilázminták vízdoldható szénhidráttartalmát Somogyi (1952) módszerével vizgáltuk.

A szilázminták NH₃-tartalmát OP-264/2 típusú ammóniaérzékeny elektróddal (Radelkis, Hungary, Budapest) mértük.

A lucerna, a fű, a hidrolizált kukorica, valamint a szilázminták energiataralmát C-2000 basic IKA típusú bombakaloriméterrel (IKA-WERKE GmbH, Staufen, Germany) vizgáltuk.

2.2.7. Statisztikai analízis

A kísérleti eredmények statisztikai értékelését egytényezős variancianalízissel (one-way ANOVA) az *SPSS 12.0 for Windows* program (*SPSS Inc.*, Chicago, USA) segítségével végeztük. A szórások homogenitás vizsgálata *Levene-teszt* segítségével történt. A statisztikai programban választható post hoc tesztek közül homogén szórások esetén az *LSD* (amennyiben az n-számok megegyeztek), illetve a *Scheffe* (amennyiben az n-számok különböztek), míg heterogén szórások esetében a *Dunnnett's T3* próbát alkalmaztuk. A választott szignifikancia szint $P < 0,05$ volt.

3. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Olyan kombinált enzimes hidrolízis eljárást dolgozott ki, amellyel a kukorica keményítőjének 90%-a 20 óra alatt redukáló cukorra bontható.
2. Eljárást dolgozott ki a sajkészítés egyik melléktermékének, a ricotta savónak silózási segédanyagként történő hasznosítására.
3. Jó hatékonyságú, hidrolizált kukoricára és rikotta savóra alapozott biológiai tartósítószer fejlesztett ki a közepesen és nehezen erjeszhető zöldtakarmányok silózással történő tartósítása céljára.
4. Erjedésdinamikai kísérletekkel megállapította azt a szárazanyagtól függő tartósítószer adagot, amellyel zöldlucernából és fűből kevés veszteséggel, kedvező tejsav-ecetsav arányú, stabil szilázst lehet előállítani.

4. A DISSZERTÁCIÓ TÉMAKÖRÉBŐL KÉSZÜLT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

Tudományos lapokban megjelent dolgozatok magyar nyelven

1. Rigó E. – Zsedely E – Tóth T. – Schmidt J. (2010): Lucerna és fű silózása szénhidrát alapú biológiai tartósítószerrel. Állattenyésztés és Takarmányozás. 59. évf. 1.szám 45-56. o
2. Rigó E. – Zsedely E – Tóth T. – Schmidt J. (2010): Lucerna silózása biológiai tartósítószerrel. Takarmányozás. 59. évf. 2-3.szám 205-214.

Tudományos lapokban megjelent dolgozatok idegen nyelven

1. Rigo E.- Zsedely E.- Toth T. – Schmidt J. (2011): Ensiling alfalfa with hydrolized corn meal additive and bacterial inoculant. Acta Agronomica Óváriensis (közlésre elfogadva)
2. Rigo E. - Szigeti J. - Asvanyi B. - Zsedely E. - Schmidt J. (2012): The use of dried permeat powder for ensiling green alfalfa. Journal of Animal and Feed Sciences (benyújtva)

Tudományos konferenciákon tartott teljes terjedelemben megjelent előadások

1. Rigó E. : Zöldlucerna silózása második generációs biológiai tartósítószerrel. XIII. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely, 2007. március 22.(CD kiadvány)
2. Rigó E. – Tóth T. – Schmidt J.: Második generációs biológiai tartósítószer kifejlesztése a zöldlucerna silózással történő tartósításához. XXXII. Óvári Tudományos Nap, Mosonmagyaróvár, 2008.október 09.

Tudományos konferenciák kiadványában megjelent absztraktok

1. Rigó E. - Tóth T. : Erjeszhető szénhidrát szubsztrát előállítása a kukorica enzimes hidrolízisével. – poszter- 50. Georgikon napok, Keszthely, 2008.szeptember 25-26.
2. Rigó E. - Schmidt J.: Zöldlucerna silózása szénhidrátalapú biológiai tartósítószerrel. 51. Georgikon napok, Keszthely, 2009. október 01-02.

Tudományos konferenciákon bemutatott poszterek

1. Rigó E. - Tóth T. : Erjeszhető szénhidrát szubsztrát előállítása a kukorica enzimes hidrolízisével. 50. Georgikon napok, Keszthely, 2008.szeptember 25-26.