
mgr inż. Alina Majewska-Pinda

Dziedzina: nauki rolnicze

Dyscyplina: zootechnika

Data otwarcia przewodu doktorskiego: 23.04.2013

Temat: Pełny suszony wywar kukurydziany (DDGS), jako krajowe źródło białka w mieszankach treściwych dla kóz mlecznych oraz jego wpływ na skład, jakość mleka oraz serów

Promotor: prof. dr hab. Stefania Kinal

Promotor dr inż. Marek Szoltysik

pomocniczy:

Recenzenci: Dr hab. inż. Piotr Micek, prof. UR

Prof. dr hab. Cezary Purwin

Streszczenie

Celem badań była ocena składu chemicznego sypkich i granulowanych DDGS pochodzących z różnych zbóż lub o różnej dacie produkcji, z których wybrane stosowano jako substytut białka poekstrakcyjnej śruty rzepakowej w mieszankach treściwych dla rosnących koźląt i kóz w laktacji i określano ich wpływ na wskaźniki produkcyjne kóz i koźląt, skład, jakość oraz przydatność technologiczną mleka w produkcji serów.

Przedmiotem badań były suszone wywary zbożowe z substancją rozpuszczalną (dried distillers' grains with solubles – ang. skrót DDGS): w 2012 roku pobrane w tym samym dniu- sypkie (S) i granulowane (G) DDGS z ziarna różnych zbóż- kukurydziane, jęczmienno-kukurydziane i pszenno-kukurydziane (odpowiednio KK, JK i PK), a w 2013 roku sypkie (S) i granulowane (G) DDGS kukurydziane pobrane w 3 różnych dniach produkcyjnych (odpowiednio I, II i III) w odstępach jednego miesiąca. Następnie wybrane na podstawie oceny składu chemicznego DDGS kukurydziane stosowano w dawkach pokarmowych dla kóz mlecznych i rosnących koźląt. Materiał badawczy w pierwszym i drugim doświadczeniu żywieniowym stanowiły 24 kozy rasy saaneńskiej utrzymywane indywidualnie i przydzielone metodą analogów do trzech grup po 8 zwierząt I- kontrolnej oraz II i III -eksperymentalnej. Równoległe z drugim doświadczeniem żywieniowym z badanego stada badaniami objęto

również 26 kozłat od kóz, które utrzymywano grupowo i w wieku 5 dni przydzielono metodą analogów do dwóch grup żywieniowych po 13 kozłat w każdej.

DDGS i pozostałe komponenty dawek pokarmowych poddano analizie chemicznej oznaczając podstawowy skład chemiczny oraz NDF, ADF, wapń i fosfor zgodnie z obowiązującymi metodami (AOAC 2012) oraz określono wartość pokarmową w jednostkach systemu (IZ PIB-INRA 2014) z zastosowaniem programu PrevAlim 3.23 zintegrowanego z pakietem INRAtion 3.3.. Ponadto w 2012 i 2013 roku w suszonych wywarach zbożowych z substancjami rozpuszczalnymi oznaczono azot nierozpuszczalny w kwaśnym detergencie (ADIN - acid detergent-insoluble nitrogen) i zawartość aminokwasów kwaśnych, siarkowych i tryptofanu zgodnie z rozporządzeniem komisji Wspólnoty Europejskiej (WE) nr 152/2009 (Komisja Europejska 2009). W 2012 roku celem oznaczenia stopnia rozkładu białka różnych rodzajów DDGS w żwaczu poddano je inkubacji metodą *in sacco* (Aufrère i in. 1991; NRC 2001). W sypkich i granulowanych DDGS pszenno-kukurydzianych i kukurydzianych oznaczono liczebność drożdży i pleśni oraz zawartość mikotoksyn. W 2013 roku w sypkich i granulowanych DDGS kukurydzianych oznaczono dodatkowo ligninę (ADL), skrobię, cukry proste i siarkę zgodnie z obowiązującymi metodami (AOAC 2012).

Przez okres 4 tygodni przed i 8 tygodni po wykocie (okres właściwy doświadczenia) kozy żywiono dawkami pokarmowymi sporządzonymi zgodnie z normami żywienia przeżuwaczy (IZ - PIB INRA, 1988) z udziałem siana łąkowego i izobiałkowych oraz izoenergetycznych mieszanek treściwych z jęczmienia, poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, DDGS kukurydzianego, kredy pastewnej i oleju kukurydzianego. W doświadczeniu na kozłętach przez okres 7 tygodni po odsadzeniu kozłęcia żywiono dawkami pokarmowymi z udziałem siana łąkowego i mieszanek treściwych sporządzonych z owsa, jęczmienia, poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, DDGS kukurydzianego, suplementu mineralno-witaminowego „Polfamiks-OK” i oleju kukurydzianego. Każde kozłę otrzymywało również 1 kg pełnego mleka koziego dziennie. Zwierzęta miały stały dostęp do lizawek oraz wody. Czynnikiem różnicującym grupy kóz w laktacji w pierwszym doświadczeniu było białko DDGS kukurydzianego w formie sypkiej lub granulowanej, którym w mieszankach treściwych zastąpiono 30% białka ogólnego (BO) poekstrakcyjnej śruty rzepakowej (PSR). W drugim doświadczeniu w mieszankach treściwych 30 lub 60% białka ogólnego PSR zastąpiono białkiem

granulowanego DDGS kukurydzianego. Czynnikiem różnicującym grupy żywieniowe kozłąt było białko granulowanego DDGS, którym zastąpiono 60% białka ogólnego PSR.

W okresie od odsadzenia kozłąt przez siedem kolejnych tygodni cotygodniowo kontrolowano ilość pobranych pasz i masę ciała kóz oraz kozłąt. Określono średnie przyrosty dobowe kozłąt oraz zużycie paszy. Ponadto w okolicy lędźwiowej i mostkowej dokonano wzrokowej i palpacyjnej oceny kondycji kóz mlecznych w skali BCS (body condition score) (Villaquiran, Gipson, i Merkel 2004).

W każdym z doświadczeń na kozach rejestrowano dzienną wydajność mleczną i raz w tygodniu określano skład chemiczny indywidualnych prób mleka. W drugim doświadczeniu, w VII tygodniu laktacji od każdej grupy kóz zbierano mleko zbiorcze i przeznaczano je bezpośrednio do produkcji serów zgodnie z instrukcją technologiczną dla serów typu holenderskiego. Próby mleka do analiz mrożono i przechowywano w temperaturze -20°C. W obu doświadczeniach w indywidualnych i zbiorczych próbach mleka kóz oznaczano skład chemiczny zgodnie z Polską Normą (1985), liczbę komórek somatycznych i liczbę bakterii zgodnie z normą PN-EN ISO 13366-2 (2007). Określono również właściwości fizykochemiczne mleka.

W drugim doświadczeniu ze zbiorczego mleka kóz w warunkach półtechnicznych w gospodarstwie dysponującym przydomową serownią oraz dojrzewalnią z kontrolowanymi parametrami temperaturowo-wilgotnościowymi sporządzono sery podpuszczkowe dojrzewające przez okres 0 i 4 tygodni. W serach oznaczano skład chemiczny, właściwości fizykochemiczne i liczebność wybranych grup drobnoustrojów zgodnie z przyjętymi metodami (Ardö i Polychroniadou 1999; Zmarlicki i Gawęł 1981). Oceny stopnia procesów proteolizy dokonano w oparciu o ilościowe i jakościowe analizy zmian degradacyjnych białek: azotu rozpuszczalnego w wodzie – WSN (water soluble nitrogen), przyrostu wolnych grup aminowych (WGA) frakcji rozpuszczalnej w wodzie z użyciem kwasu trinitrobenzenosulfonowego (TNBS). Ocenę stopnia zmian lipolitycznych tłuszczu wykonano określając zawartość wolnych kwasów tłuszczowych (WKT) wydzielonych z sera metodą Deeth i in. (1983), które oznaczono na chromatografii gazowej. Sery poddano również analizie barwy w skali L*a*b Huntera za pomocą kolorymetru odbiciowego CR-200 G, Minolta i ocenie sensorycznej.

Wszystkie uzyskane wyniki liczbowe opracowano statystycznie metodą analizy wariancji w układzie jedno- lub dwuczynnikowym z wykorzystaniem programu STATISTICA 12

(StatSoft Inc. 2014) a istotność różnic oszacowano testem rozstępu Duncana przy $p \leq 0,05$. Materiał liczbowy o rozkładzie odbiegającym od normalnego, który dotyczył wyników oznaczeń mikrobiologicznych, opracowywano statystycznie po przekształceniu na postać logarytmiczną.

Ocena składu chemicznego DDGS z różnych zbóż i dat produkcyjnych wykazała wysoką zmienność ich składu chemicznego a zwłaszcza tłuszczu, białka, włókna surowego, NDF, ADF, ADL, skrobi, cukrów, fosforu i siarki. Wyższą zawartość tłuszczu i niższą zawartość włókna NDF i ADF zawierały granulowane DDGS. DDGS kukurydziany granulowany zawierał najwięcej lizyny w 1 kg białka i stosunkowo niską zawartość ADIN. Wyraźnie niższym wskaźnikiem efektywnego rozkładu białka w żwaczu odznaczały się DDGS kukurydziane i jęczmienno-kukurydziane niż pszenno-kukurydziane. DDGS kukurydziane zawierały więcej mikotoksyn niż pszenno-kukurydziane. W wywarach zbożowych poddanych granulowaniu zawartość zearalenonu była niższa niż w wywarach sypkich.

Sypki i/ lub granulowany DDGS kukurydziany stosowany w mieszankach treściwych dla kóz jako substytut białka poekstrakcyjnej śruty rzepakowej nie miał wpływu na wydajność mleczną i skład mleka. Podanie DDGS w mieszankach treściwych dla rosnących kozłat spowodowało wyższe przyrosty masy ciała i nieco wyższą końcową masę ciała. Skutkowało to osiągnięciem lepszego zużycia mieszanki treściwej na 1 kg przyrostu masy ciała za cały okres doświadczenia. Sery sporządzone z mleka kóz otrzymujących DDGS miały zwiększoną liczebność mikroflory, zarówno w grupie starterowych ziarniaków mlekowych, ale także przenikających z mleka i środowiska produkcyjnego niestarterowych pałeczek mlekowych oraz drożdży. Podanie DDGS w dawkach pokarmowych skutkowało obniżeniem stężenia azotowych związków rozpuszczalnych w wodzie, wskazujących na ograniczony zakres zmian proteolitycznych oraz mniejszy stopień dojrzałości. Odnotowano natomiast zwiększenie dynamiki zmian w obrębie parametrów barwy, polegającą na ograniczeniu barwy czerwonej z jednoczesnym wzrostem udziału barwy żółtej w ogólnym tonie barwy. W dojrzewających 4 tygodnie serach nie odnotowano zróżnicowania parametrów sensorycznych, które były zbliżone do próby kontrolnej.

Uzyskane wyniki wskazują, że w mieszankach treściwych dla kóz mlecznych i rosnących kozłat zasadna jest substytucja białka poekstrakcyjnej śruty rzepakowej białkiem DDGS kukurydzianego. Świadczy o tym stosunkowo niski efektywny rozkład w żwaczu białka DDGS,

wyniki odchowu koźląt, a także typowa dla serów holenderskich liczebność mikroflory starterowej i niestarterowej. Również intensywność barwy żółtej i optymalna ocena sensoryczna potwierdzają brak negatywnego wpływu DDGS na jakość dojrzewających serów kozich typu holenderskiego. Spowolnienie w nich zmian proteolitycznych w trakcie dojrzewania wskazuje na konieczność kontrolowania procesu produkcji i dojrzewania.

Słowa kluczowe: suszone wywary zbożowe z substancją rozpuszczalną, DDGS, wartość pokarmowa, skład chemiczny, kozy mleczne, koźlęta rosące, mleko kozie, kozie sery, dojrzewające sery typu holenderskiego.

Abstract

The aim of this studies was to: assess the chemical composition of dried distillers' grains with solubles (DDGS) in loose and pelleted form, derived from various cereals or with different production dates, some of which were subsequently selected and used as a local protein substitute for the crude protein from rapeseed meal in concentrate mixtures for lactating goats and growing kids as well as their impact on animals' production and chemical composition, quality and technological value of milk in cheese production were determined.

The objectives of these studies were – DDGS, in 2012 sampled on the same day: in loose (S) and pelleted (G) form derived from various cereals grain- corn, barley - corn and wheat-corn (KK, JK and PK, respectively), and in 2013: loose (S) and pelleted (G) maize DDGS sampled on 3 different production days (I, II and III, respectively) at the same duration intervals of one month. Next, maize DDGS were chosen at the basis of the results of chemical analysis and used in feeding rations for Saanen dairy goats and growing kids. The research material in the first and second feeding experiment consisted of 24 Saanen goats kept individually and allocated by the analogue method to three groups of 8 animals each: I- control and II and III- experimental. During the second feeding experiment 26 kids originated from the investigated herd were included in the additional third feeding study and at the age of 5 days, randomly allocated to two feeding groups of 13 kids each, where were they maintained in the groups.

DDGS and other components of the rations were subjected to the chemical analysis in order to determine the content of: basic chemical components, NDF, ADF, calcium, and phosphorus in accordance with standard methods (AOAC 2012). Nutritional value was also determined and expressed in units of (IZ PIB-INRA 2014) system using the PrevAlim 3.23 software integrated with the INRAtion 3.3 package. In addition, in 2012 and 2013 in dried distillers' grains with solubles, the content of acid detergent-insoluble nitrogen (ADIN) and amino acids were determined in accordance with the Regulation of European Commission committees (EC) No. 152/2009. In 2012, in order to determine the degree of protein degradation in the rumen of various types of DDGS, they were incubated by means of the *in sacco* method (Aufrère i in. 1991; NRC 2001b). In 2012 yeast and moulds counts as well as the content of mycotoxins were determined in loose and pelleted wheat-maize and maize DDGS.

In 2013, in loose and pelleted maize DDGS, lignin (ADL), starch, simple sugars, and sulphur were additionally determined according to the standard methods (AOAC 2012).

During 4 weeks before and 8 weeks after the parturition (period of the data collection), the goats were fed with rations prepared following the standards of ruminants nutrition (IZ - PIB INRA, 1988) which contained meadow hay and isoprotein and isoenergetic concentrate mixtures prepared from barley, rapeseed meal, DDGS, mineral supplement and corn oil. In the experiment on kids during 7 weeks after the separation from mothers, the kids were fed with rations with the inclusion of meadow hay and concentrate mixtures made of oats, barley, rapeseed meal, corn DDGS, mineral- vitamin supplement "Polfamiks-OK" and corn oil. Each kid received also 1 kg of whole goat's milk per day. In 2012 The factor differentiating groups of goats in lactation was the inclusion of protein from maize DDGS in loose or pelleted form, which was replacing 30% crude protein (CP) from rapeseed meal in the concentrate mixtures. In 2013, 30% or 60% of protein from the rapeseed meal (RSM) was replaced by protein from pelleted maize DDGS in the concentrate mixtures. The factor differentiating the feeding groups of the kids was the inclusion of protein from pelleted maize DDGS, which was replacing 60% of the protein from rapeseed meal.

In the period from the beginning of separation of the kids, for seven consecutive weeks, the amount of feed intake and the bodyweight of goats and kids were weekly monitored. Average daily body mass gain of kids and feed intake were determined. In addition, a condition of goats expressed in the BCS (body condition score) scale was assessed visually and palpable in the lumbar and sternal area (Villaquiran, Gipson, and Merkel 2004).

In each of the experiments on goats, daily milk yield was recorded and the chemical composition of individual milk samples was determined once a week. In the VIIth week of the second experiment, collective milk from each group was directly designated for the production of cheeses by the Dutch cheese technological instruction. Milk samples for analysis, which were collected during experiments, were frozen and stored under -20 ° C. In both experiments, the content of chemical components by Polish Norm (1985) as well as the somatic cells count and the number of bacteria following PN-EN ISO 13366-2 (2007) was determined in goat's milk. The physicochemical properties of milk samples were also determined.

In the second experiment, rennet cheeses matured for a period of 0 and 4 weeks were manufactured from goat's milk in semi-technical conditions, on a farm that had a small backyard cheese dairy and a ripening room with controlled temperature-humidity parameters. The cheeses were analysed for chemical composition, physicochemical properties and the number of selected groups of microorganisms in accordance with the standard methods (Ardö and Polychroniadou 1999; Zmarlicki and Gawel 1981). Evaluation of the degree of proteolysis was based on quantitative and qualitative analysis of protein degradation changes: water-soluble nitrogen (WSN), accumulation of free amino groups in the water-soluble fraction using trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) and electrophoresis separation of proteins in a 10% polyacrylamide gel. The assessment of the lipolytic changes of fat was made by determining the content of free fatty acids (FFA) isolated from the cheeses by the solid-phase microextraction (SPME) method of Deeth et al. (1983), which were separated on a capillary gas chromatography system. The cheeses were also subjected to a colour analysis expressed in the Hunter's L * a * b scale using the CR-200 G, Minolta reflection colourimeter, as well as sensory evaluation.

All of the numerical data obtained in the studies were subjected to a one- or two-way analysis of variance (ANOVA) followed by the estimation of the significance of differences by Duncan's multiple range test with significance level at $p < 0.05$ using the STATISTICA 12 software (StatSoft Inc. 2014). Numeric material with the distribution deviating from the normal, considering mainly results of the microbiological analysis, were preprepared and processed statistically after transforming them into a logarithmic form.

The evaluation of the chemical composition of DDGS from various cereals and production dates have shown a high variability of their chemical composition, in particular, crude fat, crude protein, crude fibre, NDF, ADF, ADL, starch, sugars, phosphorus, and sulphur. Pelleted DDGS contained higher fat content and lower content of NDF and ADF fibres. Pelleted maize DDGS contained the most lysine in 1 kg of protein and relatively low content of ADIN. Corn and barley-corn DDGS demonstrated distinctly lower effective rumen degradability of crude protein than wheat- corn DDGS. Corn DDGS contained more mycotoxins than wheat-corn DDGS. The content of zearalenone was lower in pelleted distillers' grains than in loose ones.

Loose and/ or pelleted maize DDGS which were used in concentrate mixtures for goats as a substitute for rapeseed meal protein had no impact on yield and composition of the milk. Feeding growing kids with concentrate mixtures containing DDGS resulted in higher body weight gain and slightly higher final bodyweight. It resulted in a better feed conversion ratio per kg of bodyweight. Cheeses made from milk of goats fed with DDGS were characterized by an increased population of cheese microflora including a group of starter lactococci as well as non-starter yeasts and lactobacilli which originate from the manufacturing environment. Offering DDGS in feeding rations resulted in a lower concentration of water-soluble nitrogen in cheeses what indicates the reduction of proteolysis changes and lower ripening level, whereas it was noticed that among colour parameters dynamic of colour changes increased and was revealed as a reduction of red colour, while the contribution of yellow colour increased. For cheeses aged for 4 weeks, there were no differences in sensory parameters, which were similar to the control group.

Results obtained in the studies indicate that for dairy goats and growing kids, the substitution of the protein of rapeseed meal with corn DDGS protein is fully reasonable. This is evidenced by a favourable effective degradation in the rumen of DDGS protein, results of kids rearing, count of starter and non-starter microflora of cheeses, typical for Dutch ripened variety. The intensity of yellow colour, as well as results of sensory evaluation, confirm a lack of negative impact of DDGS on cheese quality. The slower intensity of proteolysis changes during ripening indicates the necessity to control the manufacturing as well as ripening process.

Key words: dried distillers' grains with solubles, DDGS, dairy goats, growing kids, goat milk, goat cheese, Dutch-type cheese.

Aline Mojsuska-Pinde