

# Die Wirkung von Essigsäure, Kaliumsorbat und Glutamin auf die aerobe Stabilität und Gärqualität von Gras- und Maissilagen



*Dr. Bernd Pieper  
Dr. Ulrich Korn  
Dr. Pieper Technologie und Produktentwicklung GmbH*

## Zusammenfassung

Die homofermentativen Milchsäurebakterien unseres Siliermittels BIO-SIL® wandeln sehr schnell die verfügbaren Kohlenhydrate im Mais und Gras in Milchsäure um und gewährleisten sensorisch einwandfreie Silage mit hohem Futterwert. Zur weiteren Verbesserung der aeroben Stabilität lässt sich BIO-SIL® zur Herstellung von Grassilage mit Kaliumsorbat und von Maissilage mit Harnstoff kombinieren.

Den Landwirtschaftsbetrieben werden zur Verbesserung der aeroben Stabilität von Silagen heterofermentative Milchsäurebakterienkulturen angeboten. Neben Milchsäure bilden diese Kulturen vermehrt Essigsäure, die ihrerseits die aerobe Stabilität verbessern soll. Um den Einfluss dieser Säure zu überprüfen, wurde zu fertiger Grassilage 1 % Essigsäure gegeben und eine Erhöhung der aeroben Stabilität um über 7 Tage festgestellt. Nach Zugabe der gleichen Menge Essigsäure zu fertiger Maissilage konnte die Stabilität gegenüber der Kontrolle um 1,5 Tage erhöht werden. Die stabilisierende Wirkung von Harnstoff auf Maissilage wird durch Ammoniumionen verursacht, die durch mikrobielle Urease freigesetzt werden. Wir setzten Silomais 1 % Ammoniumacetat zu, das aus dem Acetat der Essigsäure und dem Ammoniumion des Harnstoff besteht, und erzielten eine Verlängerung der aeroben Stabilität um über 7 Tage. Offensichtlich spielen auch die Ammoniumionen eine entscheidende Rolle bei der Beeinflussung gärschädigender Organismen während des Silierprozesses. Die in allen Mikroorganismen vorhandene Glutamin-Synthetase katalysiert die energieverbrauchende Bindungsreaktion des Ammoniums an Glutamat. Das Glutamin wird in viele andere Stoffwechselprodukte umgesetzt. Sind diese im Überschuss vorhanden, wird die Glutamin-Synthetase gehemmt und Ammoniumionen werden nicht verstoffwechselt. Wird Glutamin dem Silomais zugesetzt, erhöht sich die aerobe Stabilität um ca. 3 Tage, jedoch konnte die vermutete Zunahme des Ammoniums nicht beobachtet werden.

Ziel unserer Untersuchungen war es, gleichzeitig bei einer homofermentativen Gärung eine Stabilitätserhöhung zu erreichen und eine Essigsäurebildung zu vermeiden.

## Summary

### **The influence of acetic acid, potassium sorbate, and glutamine on the aerobic stability and quality of grass silage and corn silage**

The homofermentative lactic acid bacteria of our silage inoculant BIO-SIL® utilize all available carbohydrates of corn and grass into lactic acid and guarantee sensoric perfect silages with high nutritive values. For further improvement of the aerobic stability BIO-SIL® can be combined with potassium sorbate for the production of grass silage and with urea for corn silage. Other silage inoculants containing heterofermentative lactic acid bacteria shall use the toxic effect of acetic acid onto silage deteriorating microorganisms. To determine the influence on the aerobic stability 1 % acetic acid was added to ready made grass silage. We discovered an increase of stability of 7 days. The same amount acetic acid added to ready corn silage extended the stability by 1,5 days. The effect of urea on the aerobic stability of corn silage is caused by ammonia which is released by microbial urease. We added 1 % ammonium acetate to chopped corn plants and found after ensiling an increase of 7 days too. Ammonium ions play an obviously important role in suppressing the silage deteriorating microorganisms. The glutamine synthetase catalyses under energy consumption the binding of ammonia onto glutamate. Glutamine is an important precursor for a lot of metabolic products. A surplus of glutamine inhibits the glutamine synthetase and the ammonia is not metabolised via this cycle. After addition of glutamine to corn the aerobic stability of the silage extended by 3 days, but no increase of ammonia was considered. The aim of our experiments is to enlarge the aerobic stability with homofermentative lactic acid bacteria and at the same time to avoid the acetic acid production.

## Резюме

### **Влияние уксусной кислоты, сорбата калия и глутаминна на аэробную стабильность и качество брожения силоса из злаковых трав и кукурузы**

Гомоферментативные молочнокислые бактерии нашего силосного добавочного средства BIO-SIL® очень быстро превращают имеющиеся углеводы в кукурузу и злаках в молочную кислоту и обеспечивают качественный силос с высокой кормовой ценностью. Для дальнейшего улучшения аэробной стабильности можно комбинировать BIO-SIL® для производства силоса из злаковых трав с сорбатом калия и для производства силоса из кукурузы с мочевиной. Другие силосные добавки на основании гетероферментативных молочнокислых бактерий используют токсическое действие образованной уксусной кислоты на вредные для качественного брожения организмы. Для проверки влияния этой кислоты на аэробную стабильность силоса мы добавили к

готовому силосу из злаков 1 % уксусной кислоты . При этом наблюдалось повышение аэробной стабильности на 7 дней . При добавке этого же количества уксусной кислоты к готовому кукурузному силосу аэробная стабильность повысилась на 1,5 дней . Ста – билизирующее действие мочевины на кукурузный силос вызывается ионами аммония , которые образуются под воздействием микробной уреазы . Мы добавили к кукурузно – му силосу 1 % ацетат аммония , состоящий из ионов ацетата и ионов аммония . Этим повысилась аэробная стабильность силоса на 7 дней . Очевидно играют ионы аммония и решающую роль при влиянии на вредные организмы в процессе силирования . Глютамин-синтетаза , которая содержится во всех микроорганизмах , катализирует энергос затратную реакцию связывания аммония к глютамату . Глютамин превращается во многие другие продукты обмена веществ . Если они находятся в избытке , подавля – ется глютамин-синтетаза и ионы аммония не вступают в обмен веществ . При добавле – нии глютамина к кукурузному силосу повысилась аэробная стабильность на 3 дня . Но ожидаемый прирост содержания аммония не наблюдался . Цель этих исследований состоит в том , при гомоферментативном брожении достигать повышение аэробной стабильности , но избежать образования уксусной кислоты .

Mit mikrobiologischen Starterkulturen, wie z. B. mit BIO-SIL® erzeugte Silagen sind heute ein wichtiger Bestandteil des Wiederkäuerfutters und nicht mehr vom Speiseplan der ökologisch und konventionell ernährten Hochleistungsrinder wegzudenken. Hauptvor – teil ist der hohe Veredlungsgrad relativ billig zu erzeugender Pflanzen bzw. Pflanzenbe – standteile und die Sicherheit der Milchsäuregärung durch die Milchsäurebakterien des BIO-SIL® bei richtigem Silagemanagement.

Die hohe Geschwindigkeit der Milchsäurebildung führt andererseits dazu, dass Dauer – formen unerwünschter Nebenkeime, wie Konidien (Hefen und Pilze) und Sporen (Bakte – rien) nicht mehr in ausreichendem Maße abgetötet werden. Nach dem Öffnen der Silos und damit verbundenem Sauerstoffzutritt kann es nach kur – zer Zeit zum Auskeimen der Dauerformen und bei unzureichendem Vorschub auch zum Verderb der Silagen kommen. Aus diesem Grund muss die aerobe Stabilität der Sila – gen verlängert werden bei gleichzeitiger schneller Milchsäurebildung unter Erhalt der wichtigsten Futterbestandteile der Frischpflanze und deren Struktur.

Zur Verbesserung der aeroben Stabilität haben wir bisher eine Reihe von Untersuchen – gen durchgeführt und können für unterschiedliche Silagen praktikable Lösungen anbie – ten. So verlängert beispielsweise der Zusatz von 0,4 % Kaliumsorbat zu Gras vor dem Silieren die Stabilität um 2 bis 3 Tage und die Zugabe von 0,3 bis 0,5 % Harnstoff zum Mais ebenfalls um 2 bis 3 Tage (Abb. 1).

| Siliermittel                     | Erhöhung der Stabilität im Vergleich zur Kontrolle (Tagen) |            |
|----------------------------------|--|------------|
|                                  | Maissilage   | Grassilage |
| BIO-SIL® + Kaliumsorbitat (0,4%) | —  | + 2 bis 3  |
| BIO-SIL® + Harnstoff (0,3-0,5%)  | 2 bis 3  | —          |
| BIO-SIL® + Essigsäure (1%)       | 2  | 7          |
| BIO-SIL® + Ammoniumacetat (1%)   | ≥ 5  | —          |
| BIO-SIL® + Glutamin (0,1%)       | 3  | —          |

Abb. 1

Möglichkeiten zur Verbesserung der aeroben Stabilität von Silagen mit verschiedenen Silierzusätzen

| heterofermentative Milchsäuregärung     |  |
|---|--|
| Milchsäurebakterien                     | Lactobacillus brevis<br>Lactobacillus buchneri<br>Leuconostoc mesenteroides u.a. |
| Diacetylgärung                          |  |
| Milchsäurebakterien                     | Lactococcus spec.<br>Leuconostoc spec. u.a.                                      |
| Gemischt-Säure-Gärung                   |  |
| Enterobakterien<br>(Hemmung bei pH 4,5) | E. coli<br>Enterobacter aerogenes u.a.   |

Abb. 2

Bildung von Essigsäure in der Silage

Quellen für Essigsäure in Silagen können heterofermentative Milchsäuregärungen, die Diacetylgärung und die Gemischt-Säure-Gärung sein (Abb. 2). KONINGS et al. 1995 sehen die Gemischt-Säure-Gärung von Enterobakterien, wie *E. coli* und *Enterobacter* besonders kritisch. Diese Organismen bilden in der ersten Gärphase sehr viel Essigsäure und werden erst bei einem pH-Wert von 4,5 gehemmt. Warum beschäftigen wir uns dann mit der Essigsäure so sehr? Einige biologische Silierhilfsmittel enthalten neben homofermentativen Organismen, die fast ausschließlich Milchsäure bilden, sogenannte heterofermentative Bakterien, die neben der Milchsäure unter Energieverlust Essig u. a. Säuren synthetisieren. Auf diese Weise sollen Essigsäure-empfindliche Nebenkeime gehemmt werden. So berichten RANJIT und KUNG, 2000 über Vergleichsversuche zur Maissilierung mit *Lb. plantarum* und *Lb. buchneri* und stellen fest, dass bei höheren Zellzahlen ( $10^6$  KbE/g) durch *Lb. buchneri* vermehrt Essigsäure gebildet wird und Hefen um zwei Zehnerpotenzen reduziert werden.

WEINBERG et al., 2002, verglichen die Leistungen der o. g. Mikroorganismen bei der Silierung von Weizen und Mais und beschrieben, dass sich zwar die aerobe Stabilität durch die Zugabe von *Lb. buchneri* insgesamt verbesserte, die Oberflächen jedoch insbesondere beim Mais stark verschimmelt waren. Die Silagequalität sinkt und die aerobe Stabilität ist noch nicht ausreichend, obwohl auch sie über eine Reduzierung der Hefezellzahl berichteten. Wir haben in einem einfachen Versuch durch das Umwelt- und Agrarlabor Fehrbellin bestimmen lassen, wie viel Milchsäure man braucht, um Grünfütter auf einen definierten pH-Wert 4,0 abzusenken. Dazu benötigt man 20,2 g und wenn das gleiche Futter mit Essigsäure angesäuert werden soll, werden 45,2 g benötigt (Abb. 3). Eine erhöhte Essigsäurebildung benötigt daher zur pH-Wertabsenkung die doppelte Zuckermenge. Bei mittelschwer vergärbaren Siliergut ist dadurch das Risiko buttersäurehaltige Silagen zu produzieren mit heterofermentativen Kulturen im Vergleich zu homofermentativen bedeutend größer.

|                      |                           |                          |
|----------------------|---------------------------|--------------------------|
| Absenkung bis pH 4,0 | Milchsäure (kg)<br>20,2 g | Essigsäure(kg)<br>45,2 g |
|----------------------|---------------------------|--------------------------|

Abb. 3 pH-Wertabsenkung durch Milchsäure und Essigsäure bei Grünfütter (Houben 2004)

Wir haben einen Zulageversuch zu fertigen Silagen durchgeführt, angeregt durch Ueli Wyss (WYSS, 2002) aus der Schweiz, der mehrere Jahre Maissorten testete. Er fand heraus, dass die Sorte bei der Stabilität der Maissilage keine Rolle spielt. Interessant war, dass er keine Beziehung zwischen Essigsäuregehalt und Stabilität der Maissilage finden konnte. Er konnte ebenso keine Beziehung zwischen Milchsäuregehalt und Stabilität der Silage feststellen. Wir haben zu einer **fertigen** Maissilage 10 l reine Essigsäure pro Tonne gegeben (Abb. 4).

| Variante                                    | Erhöhung der Stabilität |                                |
|---|-------------------------|--------------------------------|
|   | Tage stabil             | Vergleich zur Kontrolle (Tage) |
| Maissilage Kontrolle                        | 1,75                    |                                |
| Maissilage +<br>10 l Essigsäure/t = 1%      | 3,25                    | + 1,5                          |
| Grassilage int. Kontrolle                   | 6,5                     |                                |
| Grassilage int. +<br>10 l Essigsäure/t = 1% | >14                     | > 7,5                          |
| Grassilage ext. Kontrolle                   | 6,5                     |                                |
| Grassilage ext. +<br>10 l Essigsäure/t = 1% | >14                     | > 7,5                          |

Abb. 4

Einfluss der **Zulage** von Essigsäure zu **fertigen** Silagen auf die aerobe Stabilität

Dadurch wurde eine Erhöhung der aeroben Stabilität von 1,5 Tagen erreicht. Danach wurde eine intensive Grassilage ebenso behandelt. Die Stabilität erhöhte sich um über 7 Tage. Bei einer extensiven Grassilage erhöht sich die Stabilität bei einer Zulage von Essig ebenfalls um über 7 Tage. In den Versuchen wurden fertige Silagen mit Essig versetzt, in einer Größenordnung, die praktisch kaum vorkommt. In den letzten Jahren konnten wir zeigen, dass auch Harnstoff zu Maissilage eine stabilisierende Wirkung hat. Wenn der Essig eine gewisse Wirkung aufweist und der Harnstoff eine gewisse Wirkung hat, könnte eine Kombination beider noch günstiger sein. Es lag also nahe Ammoniumacetat, das sich aus Acetationen und Ammoniumionen zusammensetzt, zu testen. Ammoniumacetat wurde beim Einsilieren von Mais zugesetzt. Die Kontrollsilage und die BIO-SIL®-Silage, waren bereits nach einem Tag schon instabil. Die Variante mit Essigsäure plus Bakterien war etwa 3 Tage stabil. Die Variante mit der Zugabe von BIO-SIL® plus Ammoniumacetat (Essigsäure und Ammonium), in Höhe von 10 kg/t Siliergut, war mehr als 7 Tage stabil (Abb. 5).

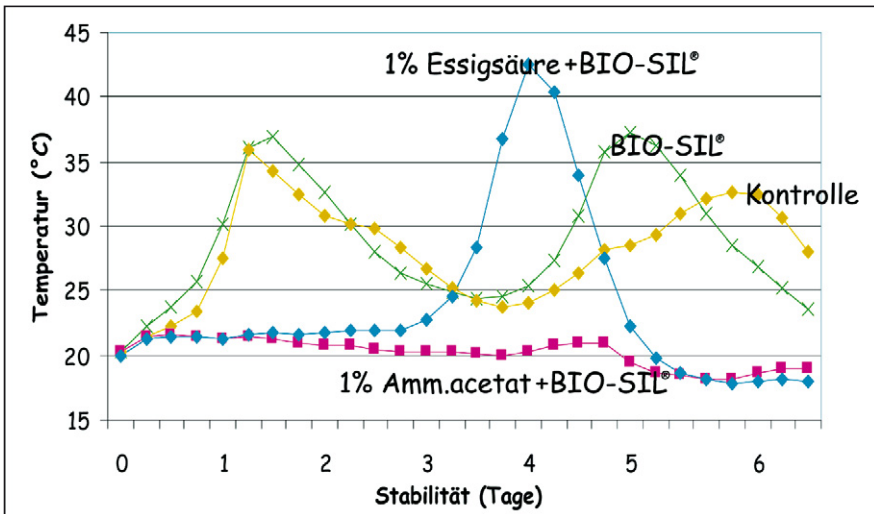


Abb. 5 Silierung von Mais unter Zugabe von Essigsäure und Ammoniumionen

Es sollte nun der Frage nachgegangen werden, was mit den Ammoniumionen in der Silage passiert. Die Ammoniumionen werden von den Mikroorganismen zur Synthese von Glutamin genutzt. Die in allen Mikroorganismen vorhandene Glutamin-Synthetase katalysiert die energieverbrauchende Bindungsreaktion (ATP) des Ammoniums an das Glutamat. Das Glutamin wird weiter umgesetzt in viele andere Stoffwechselprodukte. Sind diese im Überschuss vorhanden, wird die Glutamin-Synthetase gehemmt und die Ammoniumionen werden nicht verstoffwechselt.



## Glutaminsynthese



Abb. 6

Es war naheliegend, das Glutamin dem Siliergut direkt zuzusetzen. Dann könnte theoretisch, da die Bakterien die Ammoniumionen für die Glutaminsynthese nicht mehr benötigen, ein Stau von Ammoniumionen entstehen und die Stabilität der Silage könnte sich erhöhen. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse dieses Versuches dargestellt.

| Variante                        | Tage stabil | Essigsäure<br>(g/kg OS) | NH <sub>3</sub> -N |
|---------------------------------|-------------|-------------------------|--------------------|
| Kontrolle                       | 4,0         | 5,04                    | 0,14               |
| BIO-SIL®                        | 6,0         | 3,19                    | 0,09               |
| BIO-SIL® +<br>1 kg Gln/te=0,1 % | 9,0         | 4,05                    | 0,10               |

Abb. 7

*Silierung von  
Mais unter Zugabe  
von Glutamin (Gln)*

Die Kontrollsilage ohne Zulagen ist schon recht stabil mit 4 Tagen. Die Variante mit BIO-SIL® erhöht die Stabilität um weitere 2 Tage auf 6 Tage. Die Zulage von Bakterien und Glutamin erhöhen die Stabilität der Silage nochmals um 3 Tage. Das ist etwa die Größenordnung, die durch eine Harnstoffzulage von 3-4 kg in der Maissilage erreicht wird. 1 kg Glutamin entspricht etwa der Zulage von 3-4 kg Harnstoff. Durch die Glutaminzulage sollte ein »Stau« von Ammoniumionen in der Silage auftreten. Wie aus Tabelle 3 zu erkennen ist, war dies nicht der Fall. Es ist möglich, dass das zugelegte Glutamin auch für den Stoffwechsel anderer Mikroorganismen von Bedeutung ist.

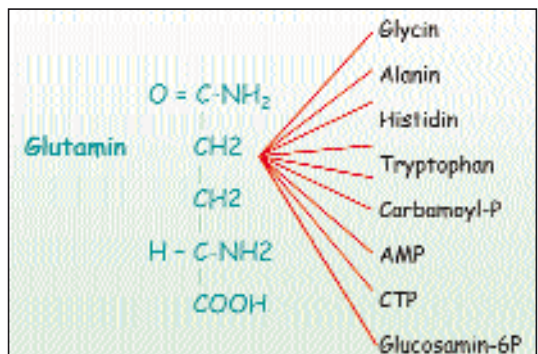


Abb. 8

*Bedeutung von Glutamin im  
mikrobiellen Stoffwechsel*

Hier liegt vielleicht ein wissenschaftlicher Ansatz zur Erhöhung der aeroben Stabilität von Silagen. Unser Ziel ist es, eine homofermentative Gärung und gleichzeitig eine Stabilitätserhöhung zu erreichen. Essigsäurebildung durch Enterobakterien in der ersten Gärphase gepaart mit einer langsamen und schwachen pH-Wertabsenkung soll im Hinblick auf einen hohen Futterwert vermieden werden.

## **Literatur**

**Houben, H. D. 2004**

Umwelt- und Agrarlabor Fehrbellin

**Konings, W. N., Lolkema, J. S. und B. Poolman**

Archives of Microbiology 1995 (164) 235-242

**Ranjit, N.K. und L. Kung,**

Journal of Dairy Sciences 2000, 83(3), 526-535

**Venturini, M. E., D. Blanco und R. Oría**

Journal of Food Production 2002, 65 (5), 834-839

**Weinberg, Z. G., G. Ashbell, Y. Hen, A. Azrieli, G. Szakacs und I. Filya**

Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 2002, 28 (1), 7-11

**Wyss, U. (2002)**

Einfluss verschiedener Maissorten auf die aerobe Stabilität

Agrarforschung 9 (9) : 380-385