

Wageningen UR Livestock Research

Partner in livestock innovations



Rapport 697

Effect van koolzuurgas en stikstofgas
toevoegen in geopende gras- en maïskuilen
op aerobe stabiliteit

Mei 2013



LIVESTOCK RESEARCH
WAGENINGEN UR



Colofon

Uitgever

Wageningen UR Livestock Research
Postbus 65, 8200 AB Lelystad
Telefoon 0320 - 238238
Fax 0320 - 238050
E-mail info.livestockresearch@wur.nl
Internet <http://www.livestockresearch.wur.nl>

Redactie

Communication Services

Copyright

© Wageningen UR Livestock Research, onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, 2013

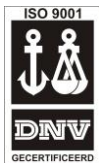
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

Aansprakelijkheid

Wageningen UR Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Wageningen UR Livestock Research en Central Veterinary Institute, beiden onderdeel van Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek vormen samen met het Departement Dierwetenschappen van Wageningen University de Animal Sciences Group van Wageningen UR (University & Research centre).

Losse nummers zijn te verkrijgen via de website.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op al onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponeerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Abstract

This report describes the results of research on the effect of adding carbon dioxide and nitrogen gas in opened grass and maize silages on the aerobic stability. The study was carried out with mini silos.

Keywords

Broei, graskuil, snijmaïskuil, koolzuurgas, stikstofgas, aerobe stabiliteit

Referaat

ISSN 1570 - 8616

Auteur(s)

P.G. van Wikselaar
H.A. van Schooten

Titel

Effect van koolzuurgas en stikstofgas toevoegen in geopende gras- en maïskuilen op aerobe stabiliteit

Rapport 697

Samenvatting

Dit rapport beschrijft de resultaten van onderzoek naar het effect van het toedienen van koolzuurgas en stikstofgas in geopende mais- en grassilage op de aerobe stabiliteit. Het onderzoek werd uitgevoerd met minisilo's.

Trefwoorden

Heating, grass, maize, silage, carbon dioxide, nitrogen gas, aerobic stability

Rapport 697

Effect van koolzuurgas en stikstofgas toevoegen in geopende gras- en maïskuilen op aerobe stabiliteit

Effect of addition of carbon dioxide and nitrogen gas in opened grass and maize silage on aerobic stability

P.G. van Wikselaar
H.A. van Schooten

Mei 2013

Voorwoord

Broei in gras- en maïskuilen kan in de praktijk leiden tot aanzienlijke voederwaarde verliezen en daling van de opname. Dit heeft naast economische schade ook een slechtere benutting van de mineralen tot gevolg. Voor de praktijk is het daarom van groot belang om broei zoveel mogelijk te beperken. Goed inkuilmanagement kan het risico op broei in de kuilen beperken. Het helemaal voorkomen van broei blijkt in de praktijk echter lastig.

Broei in een kuil kan alleen maar ontstaan wanneer er lucht in de kuil kan dringen. Tijdens het voeren is dit mogelijk vanaf het snijvlak. Het regelmatig of continu toedienen van gassen achter het snijvlak in de kuil zou een mogelijkheid kunnen zijn om indringing van lucht en daarmee broei te voorkomen. In dit onderzoek is met behulp van minisilo's onderzocht in hoeverre deze innovatieve gedachte perspectiefvol is om broei in kuilen te beperken.

Het onderzoek werd uitgevoerd door Wageningen UR Livestock Research en gefinancierd door het Productschap Zuivel.

Samenvatting

Dit rapport geeft de resultaten weer van drie pilot experimenten, waarin het effect werd onderzocht van het toedienen van stikstofgas (N_2) en kooldioxide gas (CO_2) op de aerobe stabiliteit van geopende gras- en maïssilage. In de literatuur is een beperkt aantal studies bekend waarbij naar de effecten van gassen (o.a. SO_2 en CO_2) op broeiremming in silages werd gekeken. Echter de gassen werden daarbij toegediend in het luchtdichte stadium. De gemeten effecten op broeiremming waren gering.

In dit onderzoek werd middels drie experimenten gekeken naar het effect van het toedienen van koolzuurgas (CO_2) en stikstofgas (N_2) op de aerobe stabiliteit van gras- en snijmaïssilage. Het onderzoek werd uitgevoerd met minisilo's. Direct na het openen van gras- en snijmaïssilages werden op gezette tijden verschillende hoeveelheden koolzuurgas en stikstofgas toegediend op circa 50 cm diepte vanaf de open zijde. Het aantal keren dat er gas werd toegediend varieerde van twee tot vijf keer per week en de hoeveelheden gas die werden toegediend varieerden van 10 tot 825 l/m^3 silage/week. De resultaten lieten weinig of geen effecten zien van het toedienen van koolzuurgas en stikstofgas op de aerobe stabiliteit. Stikstofgas vertoonde helemaal geen effect en koolstofdioxide vertoonde in één experiment een zeer beperkt en variabel effect op de temperatuurstijging. Het beperkte remmende effect van CO_2 op temperatuurstijging trad alleen op gedurende de eerste vier dagen van de aerobe periode en was in grassilage max. 4°C en in maïssilage max. $2,5^\circ\text{C}$.

Samengevat lijkt het toedienen van stikstofgas of koolzuurgas na openen van de kuil zoals in dit onderzoek toegepast niet erg perspectiefvol om groei in gras- en maïskuilen in de praktijk te beperken.

Summary

This report presents the results of three pilot experiments, in which the effect of the addition of carbon dioxide (CO₂) and nitrogen gas (N₂) on the inhibition of heating in grass and maize silage was studied during the aerobic period. In the literature, a few studies have evaluated the effects of the addition of gases (e.g. SO₂ and CO₂) on inhibition of heating in silages. In these studies the gases were added during the anaerobic stage. The results showed limited effects on inhibition of heating.

In this research the effect of the addition of carbon dioxide and nitrogen gas was studied in three experiments. The research was carried out with mini silos. Directly after the grass and maize silages were opened, different amounts of carbon dioxide and nitrogen gas were added at regular intervals about 50 cm behind the (open) face. The number of times the gases were added ranged from two to five times a week and the amounts of added gas ranged from 10 to 825 l/m³ silage per week.

The results showed limited or no effect of the addition of carbon dioxide and nitrogen gas on the aerobic stability. Nitrogen gas showed no effect and carbon dioxide showed a limited and variable effect on the increase of the temperature. The limited inhibitory effect of carbon dioxide on the increase of the temperature only occurred during the first four days of the aerobic period. The maximum inhibiting effect on the rise in temperature of grass silage was 4°C and of maize silage was 2.5°C.

Summarized the addition of carbon dioxide and nitrogen gas after opening the silages is not very promising to restrict heating in grass and maize silage.

Inhoudsopgave

Voorwoord

Samenvatting

Summary

| | | |
|----------|------------------------------------|-----------|
| 1 | Inleiding | 1 |
| 2 | Materiaal en Methoden | 2 |
| | 2.1 Proefopzet | 2 |
| | 2.2 Silages..... | 2 |
| | 2.3 Experimenten | 3 |
| | 2.3.1 Experiment 1 | 3 |
| | 2.3.2 Experiment 2..... | 4 |
| | 2.3.3 Experiment 3..... | 4 |
| 3 | Resultaten..... | 6 |
| | 3.1 Experiment 1 | 6 |
| | 3.2 Experiment 2 | 6 |
| | 3.2.1 Grassilage | 6 |
| | 3.2.2 Maissilage | 8 |
| | 3.3 Experiment 3 | 9 |
| 4 | Discussie | 10 |
| 5 | Conclusies | 11 |
| | Literatuur | 12 |
| | Bijlagen..... | 13 |

1 Inleiding

In de praktijk vormt broei in de kuilen tijdens het voeren en uitkuilen een belangrijk probleem. Uit metingen binnen een praktijknetwerk van VVB Flevoland en een inventarisatie binnen een groep CONO-melkveehouders bleek dat ruim de helft van de kuilen in meer of mindere mate last heeft van broei. Broei leidt tot voederwaarde verlies en slechtere opname en daarmee tot slechtere economische bedrijfsresultaten (Van Schooten en Philipsen, 2010). Daarnaast heeft onderzoek van NIZO food research aangetoond dat broei (aërobe instabiliteit) leidt tot schadelijke micro-organismen in de kuil (boterzuurbacteriën, Bacillus en micotoxine-vormende schimmels; Driehuis et al., 2008). Broei in graskuilen wordt veroorzaakt door indringing van lucht (zuurstof) in de kuil. Tijdens het voeren is de kuil open en kan er lucht indringen vanaf het snijvlak. Door een goede verdichting kan de indringing worden beperkt. Echter, volledige preventie van luchtindringing door een goede verdichting is met name in de toplaag van de kuil niet mogelijk. Broei ontstaat dan ook vaak in de top- en randlagen van de kuil. Een mogelijke oplossing om broei helemaal te voorkomen is tijdens de periode dat de kuil open ligt, gas toe te dienen met een lichte overdruk. Dit zorgt voor een blokkade bij de intrede van zuurstof. Koolzuurgas en stikstofgas zijn gassen die hiervoor mogelijk gebruikt kunnen worden. Koolzuurgas is zwaarder dan lucht. Gedurende de periode dat de kuil open ligt kan daarom koolzuurgas gas in de toplaag worden ingebracht. Wanneer het systeem succesvol lijkt wat betreft beperken van broei, kan gekeken worden of bestaande CO₂-bronnen op een bedrijf toepasbaar zijn (bijvoorbeeld van een verbrandingsmotor van een melkmachine of vergistingsinstallatie). Lucht bestaat voor ca. 80% uit stikstofgas waardoor winning relatief simpel en goedkoop is. Stikstofgas is inert en daarom bij uitstek geschikt om een zuurstofloze omgeving te creëren om zodoende bederf door aërobe organismen te voorkomen. Vloeibare stikstof wordt ondermeer gebruikt in de voedselverwerkende industrie en vaak als koel- of blusmateriaal. Tot op heden beperkt de toepassing van stikstofgas in de landbouw in Nederland zich tot het bewaren van sperma in een vat gevuld met vloeibare stikstof.

In het verleden is vaker onderzoek uitgevoerd waarbij gassen werden toegevoegd aan kuilen. Schukking en Hengeveld (1972) voegden tijdens de bewaarperiode SO₂ toe aan voordroogkuil en testten vervolgens de broeigevoeligheid. Muck et al. (1992) voegden CO₂ toe gedurende de conserverings- en bewaarperiode en bekeken vervolgens het effect op de broeigevoeligheid wanneer het materiaal werd blootgesteld aan de lucht. Genoemde methoden hadden echter beperkt effect op broeigevoeligheid.

Er is geen onderzoek bekend waarbij gas werd toegediend om luchttoetreding en daarmee broei gedurende de periode waarin de kuil open ligt te voorkomen. Doel van dit onderzoek was om de mogelijkheden van het toevoegen van koolzuurgas (CO₂) en stikstofgas (N₂) te verkennen. De toepassing van stikstofgas en koolzuurgas brengt weinig risico's met zich mee en met name wanneer blijkt dat de benodigde hoeveelheid gas beperkt is lijkt het perspectiefvol.

2 Materiaal en Methoden

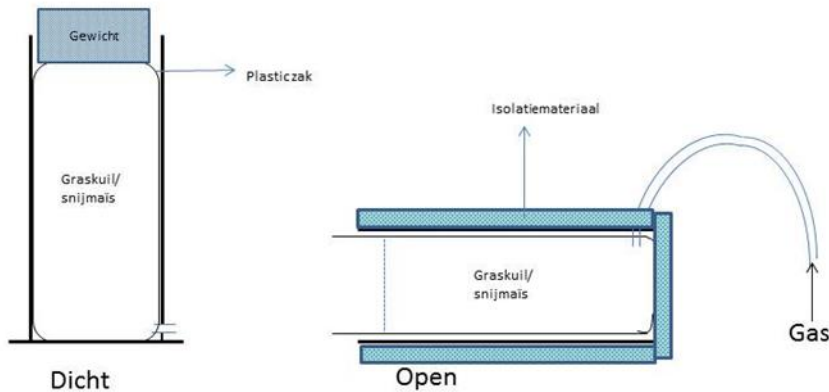
2.1 Proefopzet

In het onderzoek werden drie experimenten uitgevoerd. De opzet van experimenten 2 en 3 was afhankelijk van de uitkomsten van respectievelijk experiment 1 en 2.

Het onderzoek werd uitgevoerd met mini silo's. Deze bestonden uit een aan de onderkant afgesloten plastic pijp met een hoogte van 60 cm en een doorsnede van 20 cm. De totale inhoud was circa 20 liter. De binnenkant van de pijp werd bekleed met een plastic zak (low density polyethyleen (Ldpe), dikte 0.2 mm). De zak werd aan de onderkant verbonden met een ventiel en via een gat in de pijp naar buiten gebracht. Dit ventiel werd gebruikt voor het toedienen van de verschillende gassen (zie figuur 1).

Gras en maïs van bestaande praktijkkuilen werd overgekuild in de minisilo's. Na een bewaarperiode van minimaal 8 weken (om voldoende dichtheid te realiseren) werden de silo's geopend en werd er bij een deel van de silo's via het ventiel aan de onderkant het gas toegediend. Om warmteverlies via de wanden te beperken werden ze rondom geïsoleerd met behulp van glaswol (Knauf; dikte 90 mm). Door middel van constante temperatuurmetingen werd de aerobe stabiliteit van de behandelde en onbehandelde silo's vergeleken.

Figuur 1. Schematische weergave van een minisilo tijdens bewaarperiode (dicht) en na opening.



2.2 Silages

Voor het onderzoek werden op twee momenten een hoeveelheid gras- en snijmaïskuil vanuit een praktijkkuil van de Waiboerhoeve (melkveeproefboerderij van Wageningen UR Livestock Research in Lelystad) overgekuild in minisilo's.

Gras- en snijmaïskuil Partij 1

Op 23 februari 2012 werd ongeveer 150 kg snijmaïssilage en 100 kg grassilage verzameld aan een vers snijvlak van een openstaande kuil op de Waiboerhoeve en getransporteerd naar een dichtbij zijnde opslagschuur. De samenstelling van de kuilen is weergegeven in tabel 1. Zowel de snijmaïssilage als de grassilage werden goed met de hand gemengd en vervolgens werden 14 minisilo's gevuld met elk 8 kg snijmaïssilage en 14 minisilo's met elk 5,5 kg grassilage. De plastic zak in de silo werd dichtgevouwen en afgedekt met houtblokken waarop weer een metalen gewicht van 20 kg werd gelegd om de silages aan te drukken met een gelijke kracht. De silo's werden opgeslagen in een schuur bij omgevingstemperatuur.

Graskuil Partij 2

Op 11 juli 2012 werd ongeveer 100 kg grassilage verzameld aan een vers snijvlak van een openstaande kuil op de Waiboerhoeve en getransporteerd naar een dichtbij zijnde opslagschuur. De samenstelling is weergegeven in tabel 1. De grassilage werd goed met de hand gemengd en vervolgens werden 9 minisilo's gevuld met elk 6 kg grassilage. De plastic zak in de silo werd dichtgevouwen en afgedekt met houtblokken waarop weer een metalen gewicht van 20 kg werd gelegd om de silages aan te drukken met een gelijke kracht. De silo's werden opgeslagen in een schuur bij omgevingstemperatuur.

Tabel 1. Samenstelling van de overgekuilde silages, voor overkuilen.

| Gehalten (g/kg drogestof, tenzij anders vermeld) | Partij 1 | | Partij 2 |
|--|----------|--------------|----------|
| | Graskuil | Snijmaïskuil | Graskuil |
| Drogestofgehalte (%) | 46,8 | 37,8 | 48,6 |
| VEM (per kg ds) | 860 | 953 | 885 |
| DVE | 49 | 50 | 61 |
| OEB | 16 | -31 | 46 |
| Ruw eiwit | 121 | 75 | 160 |
| Ruwe celstof | 264 | 193 | 249 |
| Ruw as | 105 | 56 | 124 |
| V.c. organische stof (%) | 74,4 | 75,8 | 76,3 |
| Suiker | 105 | <12 | 64 |
| Zetmeel | - | 330 | - |
| pH | 4,4 | 4,1 | 4,3 |
| Melkzuur | 49 | - | 52 |
| Azijnzuur | 8 | - | 3 |
| NH ₃ -fractie (%) | 6 | 5 | 6 |

2.3 Experimenten

Het onderzoek bestond uit drie experimenten waarbij op gezette tijden een hoeveelheid koolzuurgas en/of stikstofgas aan de silages werd toegevoegd. De hoeveelheden gas die in experiment 1 werden toegediend werden arbitrair vastgesteld. Daarbij werd rekening gehouden met het poriënvolume van de silages en met het feit dat de gassen in de praktijk beperkt beschikbaar zijn. De porositeitsfactor van silages is circa 0,5 (Buxton et al., 2003). Gemiddeld was het volume van de silages in de minisilo's circa 15 l. Dit betekent dat het totale poriënvolume 7,5 liter bedraagt. Voor experiment 1 is er voor gekozen om de hoogste dosering gas te baseren op een hoeveelheid waarbij wekelijks circa 10% van het totale poriënvolume wordt gespoeld. Bij de vaststelling van dit percentage werd veronderstelt dat hiermee de indringing van zuurstof voldoende zou worden belemmerd. Tevens is in acht genomen dat het systeem in de praktijk moet werken met een beperkte hoeveelheid gas. De gasbehandelingen van de experimenten 2 en 3 werden gekozen naar aanleiding van de resultaten en bevindingen van resp. experiment 1 en 2.

2.3.1 Experiment 1

Na een bewaarperiode van ca. 2 maanden werden (op 26 april 2012) van partij 1 tien minisilo's met snijmaïssilage en tien silo's met grassilage getransporteerd naar een geconditioneerde ruimte (20 °C; RLV 55%). De silo's werden geopend en plat neergelegd. Om warmteverlies via de wanden te beperken werden ze rondom geïsoleerd met behulp van glaswol (Knauf; dikte 90 mm). Op de ventielen werden kraantjes aangesloten en vervolgens werd er aan de geopende kant een PT100 thermokoppel geplaatst met het meetpunt op 10 cm diepte vanaf de geopende kant.

De volgende (gas) behandelingen werden in duplo aangebracht bij zowel de snijmais- als de grassilages:

1. Controle (geen gas)
2. CO₂ – 50 ml op dag 1, 4 en 6
3. CO₂ – 200 ml op dag 1, 4 en 6
4. N₂ 50 ml op dag 1, 4 en 6
5. N₂ – 200 ml op dag 1, 4 en 6

De verschillende gassen (Carbondioxide 4.0; Nitrogen 4.5; Linde) werden via de ventielen met behulp van een 100 ml gasmeetspuit plus een kraantje toegevoegd aan de silo's. De dagelijkse hoeveelheden werden in één keer toegevoegd.

Om de aerobe stabiliteit te bepalen van de silages werd, met behulp van de aangebrachte PT100's, de temperatuur gedurende 8 dagen continu gevolgd. De aerobe stabiliteit werd gedefinieerd als de tijd dat de temperatuur in de silage niet hoger was dan de omgevingstemperatuur vermeerderd met 3 °C. De resultaten van de aerobe stabiliteitsmetingen staan beschreven in paragraaf 3.1.

2.3.2 Experiment 2

Uit de resultaten van experiment 1 bleek dat de twee behandelingen (CO₂ en N₂) de aerobe stabiliteit niet significant verbeterden van zowel gras- als maïssilage. Daarom werd besloten om een experiment uit te voeren waarbij met name op dag 0 na openen een hogere gasdosering van 2500 ml werd toegevoegd. met hogere gasdoseringen. Omdat CO₂ iets meer effect leek te hebben (hoewel niet significant) dan N₂, werd tevens besloten om alleen met CO₂ verder te experimenteren.

Van Partij 1 werden de overgebleven mini silo's (4 silo's met snijmaïssilage en 4 silo's met grassilage) op 12 mei 2012 getransporteerd naar een geconditioneerde ruimte (20 °C; RLV 55%). De silo's werden plat neergelegd en rondom geïsoleerd met behulp van glaswol (Knauf; dikte 90 mm). Op de ventielen werden kraantjes aangesloten en vervolgens werden de silo's geopend (dag 0) en werd er aan de geopende kant een PT100 geplaatst met het meetpunt op 10 cm diepte.

De volgende behandelingen werden bij zowel snijmaïs- als grassilage in duplo aangelegd:

1. Controle (geen gas toevoeging)
2. CO₂ – 2500 ml CO₂ op dag 0, 200 ml CO₂ op dag 2 en 4 en 500 ml CO₂ op dag 7.

De temperatuur werd met de hand gemeten op 10 cm diepte vanaf de open kant op de dagen 0, 2, 4, 7 en 9 na opening. Op dag 9 werd tevens de temperatuur op verschillende dieptes (10, 20, 30 en 40 cm) vanaf de open kant gemeten in de individuele silo's. De resultaten staan beschreven in paragraaf 3.2.

2.3.3 Experiment 3

In experiment 2 leek de hoge dosering (2500 ml) CO₂ die direct na het openen van de kuil was toegediend een positief effect te hebben op de aerobe stabiliteit. Daarnaast werden in grassilage betere resultaten verkregen dan in maïssilage. Daarom werd in experiment 3 besloten verder te gaan met het toedienen van alleen maar hoge doseringen (2500 ml) CO₂ aan grassilage.

Na een bewaarperiode ca. 2 maanden (op 18 september 2012) werden de 9 mini silo's met grassilage van partij 2 plat neergelegd in de opslagschuur zonder verwarming en rondom geïsoleerd met behulp van glaswol (Knauf; dikte 90 mm). Op de ventielen werden kraantjes aangesloten en vervolgens werden de silo's geopend (dag 0) en werd er aan de geopende kant een PT100 geplaatst met het meetpunt op 10 cm diepte.

De volgende (gas) behandelingen werden in triplo aangebracht bij de grassilages:

1. Controle (geen gas)
2. CO₂ – 2500 ml CO₂ op dag 0 en 3
3. CO₂ – 2500 ml op dag 0, 1, 2, 3, 6, 8 en 10

Het gas (Carbondioxide 4.0; Linde) werd met behulp van een reduceerventiel met flowmeter toegevoegd aan de silo's via de ventielen. Om de aerobe stabiliteit te bepalen van de silages werd de temperatuur in de silo's met behulp van de aangebrachte PT100's gedurende 10 dagen continu gevolgd. De aerobe stabiliteit werd gedefinieerd als de tijd dat de temperatuur in de silage niet hoger was dan de omgevingstemperatuur vermeerderd met 3 °C. De resultaten staan beschreven in paragraaf 3.3.



Afbeelding 1. Opstelling met minisilo's voorzien van PT100 thermokoppels en afgedekt met glaswollen dekens

3 Resultaten

3.1 Experiment 1

De resultaten van de aerobe stabiliteit bepalingen in experiment 1 staan vermeld in tabel 2. In bijlage 1 is het verloop van de temperatuur weergegeven.

Tabel 2. Effect van driemaal toedienen (op dag 1, 4 en 6) van twee doseringen (50 of 200 ml per keer) van respectievelijk CO₂ of N₂ aan respectievelijk gras- of maïssilage op de aerobe stabiliteit (uren).

| | Controle | CO ₂ | | N ₂ | | P-waarde | I.s.d. ¹ |
|------------|----------|-----------------|--------|----------------|--------|----------|---------------------|
| | | 50 ml | 200 ml | 50 ml | 200 ml | | |
| Grassilage | 67,0 | 77,0 | 77,5 | 73,0 | 70,0 | 0,891 | 32,0 |
| Maïssilage | 97,5 | 90,5 | 93,5 | 86,5 | 96,5 | 0,508 | 16,8 |

¹I.s.d. least significant difference

Grassilage zonder behandeling (controle) bleef gemiddeld 67 uur stabiel. Door toediening van 50 ml of 200 ml CO₂ op dag 1, 4 en 6 na opening van de kuil verbeterde de stabiliteit tot resp. 77 en 77,5 uren. Het verschil ten opzichte van de controle was echter niet significant. Toediening van 50 en 100 ml N₂ leidde tot een stabiliteit van de grassilages van de resp. 73 en 70 uren. Daarmee was het effect nog minder dan van de het toedienen van CO₂.

Maïssilage zonder behandeling (controle) bleef gemiddeld 98 uur stabiel. De maïssilages waaraan 50 of 200 ml CO₂ was toegevoegd op dag 1, 4 en 6 na opening van de kuil bleven met resp. 90,5 en 93,5 uren gemiddeld iets minder lang stabiel dan de controle. Het verschil was echter niet significant. Ook het toedienen van N₂ leek iets minder stabiele silages op te leveren (86,5 en 96,5 uren bij resp. 50 en 100 ml).

3.2 Experiment 2

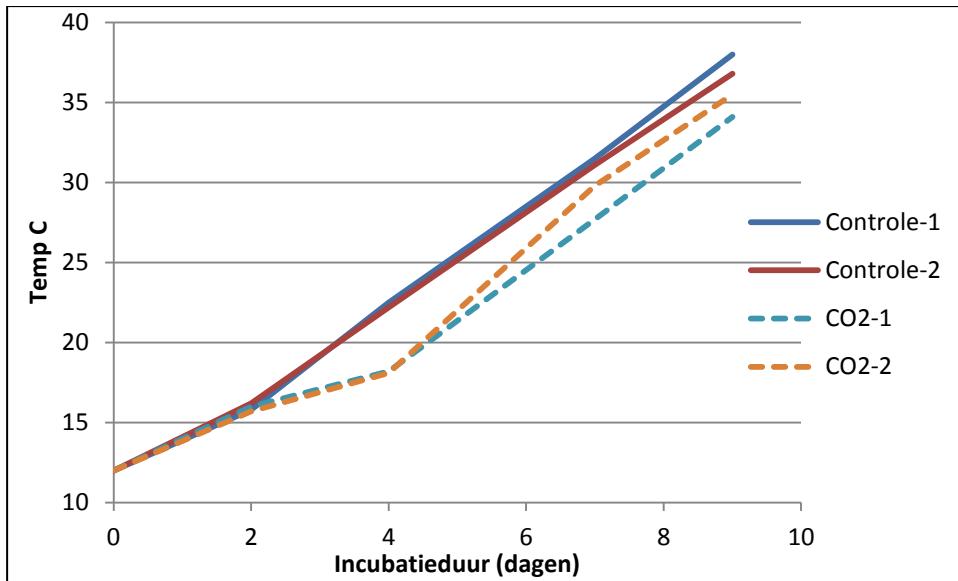
3.2.1 Grassilage

De resultaten van de temperatuurmetingen op 10 cm diepte vanaf de open kant op de dagen 0, 2, 4, 7 en 9 na opening zijn weergegeven in tabel 3 en figuur 2. De temperatuur van de controle-silage steeg rechtlijnig van 12°C op dag 0 tot ruim 37°C op dag 9. De stijging van de temperatuur van de met CO₂ behandelde silage verliep tussen dag 0 en 4 iets minder snel dan van de controle-silage. De temperatuur van de met CO₂ behandelde silage was daardoor op dag 4 ruim 4°C lager dan van de controle-silage. Vanaf dag 4 was de stijging van de temperatuur tussen de beide silages vergelijkbaar, waarbij de temperatuur van één met CO₂ behandelde silage zelfs wat sneller leek te stijgen dan van de controle (zie figuur 1).

Tabel 3. Effect van toedienen van CO₂ (2500 ml op dag 0, 200 ml op dag 2 en 500 ml op dag 4 en 7) op de temperatuur (°C) op 10 cm diepte vanaf de open kant van grassilage gedurende negen dagen.

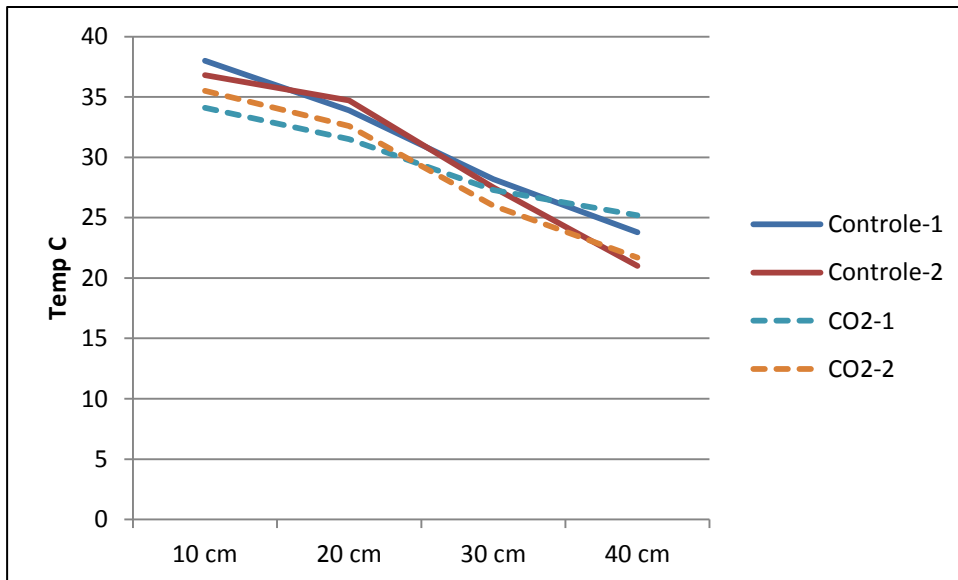
| dag | Controle | CO ₂ | P-waarde | I.s.d. ¹ |
|-----|----------|-----------------|----------|---------------------|
| 0 | 12,0 | 12,0 | * | * |
| 2 | 16,0 | 15,9 | 0,609 | 1,1 |
| 4 | 22,4 | 18,2 | 0,001 | 0,7 |
| 7 | 31,3 | 28,8 | 0,140 | 4,6 |
| 9 | 37,4 | 34,8 | 0.106 | 4,0 |

¹I.s.d. = least significant difference



Figuur 2. Effect van toedienen van CO₂ (twee minuten flushen op dag 0, 200 ml op dag 2 en 500 ml op dag 4 en 7) op de temperatuur (°C) op 10 cm diepte aan het front van grassilage gedurende negen dagen. De waardes zijn van individuele silo's.

De resultaten van de temperatuurmetingen op verschillende dieptes vanaf de open zijde op dag 9 zijn weergegeven in figuur 3. Hieruit blijkt dat de temperatuur in de controle-silage daalde van ca. 37°C op een diepte van 10 cm tot ca. 23°C op een diepte van 40 cm. De temperatuur van de silage waaraan CO₂ was toegevoegd lijkt alleen in de ondiepe laag (10 en 20 cm) wat lager dan van de controle. Het verschil is echter maar ca. 2°C.



Figuur 3. Effect van toedienen van CO₂ (twee minuten flushen op dag 0, 200 ml op dag 2 en 500 ml op dag 4 en 7) op de temperatuur (°C) op 10, 20, 30 en 40 cm diepte van het front van grassilage op dag 9. De waardes zijn van individuele silo's.

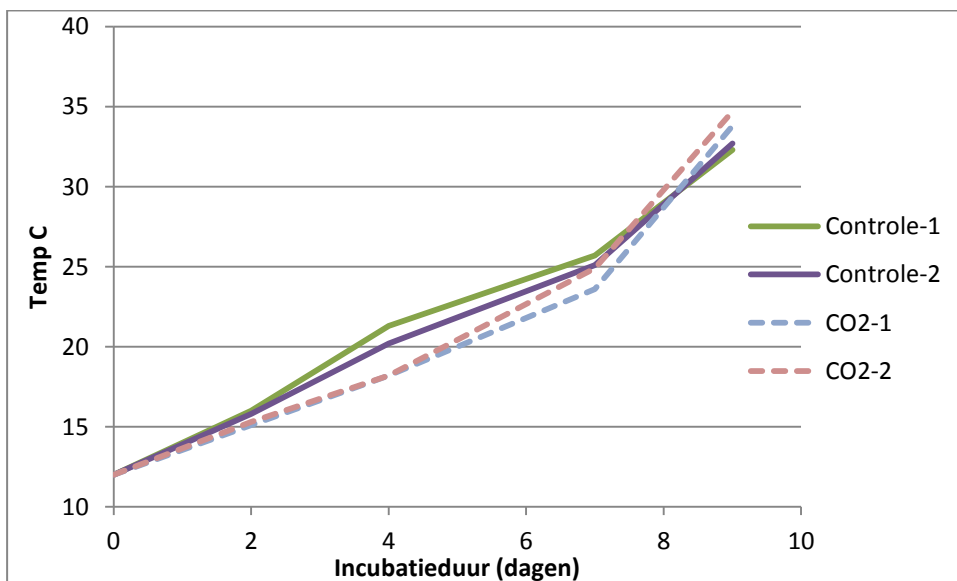
3.2.2 Maïssilage

De resultaten van de temperatuurmetingen op 10 cm diepte vanaf de open kant op de dagen 0, 2, 4, 7 en 9 na opening zijn weergegeven in tabel 4 en figuur 4. Hieruit blijkt dat de temperatuur van de controle-silage rechtlijnig steeg van 12°C op dag 0 tot 32,5 °C op dag 9. Evenals bij de grassilage verliep de stijging van de temperatuur van de met CO₂ behandelde silage verliep tussen dag 0 en 4 iets minder snel dan van de controlesilage. De temperatuur van de met CO₂ behandelde silage was daardoor op dag 4 ruim 2,5°C lager dan van de controlesilage. Vanaf dag 4 steeg de temperatuur van de met CO₂ behandelde silage wat sneller dan de temperatuur van de controle-silage, waardoor de temperatuur van de met CO₂ behandelde silage uiteindelijk na 9 dagen zelfs iets hoger uitkwam.

Tabel 4. Effect van toedienen van CO₂ (2500 ml op dag 0, 200 ml op dag 2 en 500 ml op dag 4 en 7) aan maïssilage op de temperatuur (°C) op 10 cm diepte vanaf de open zijde gedurende negen dagen.

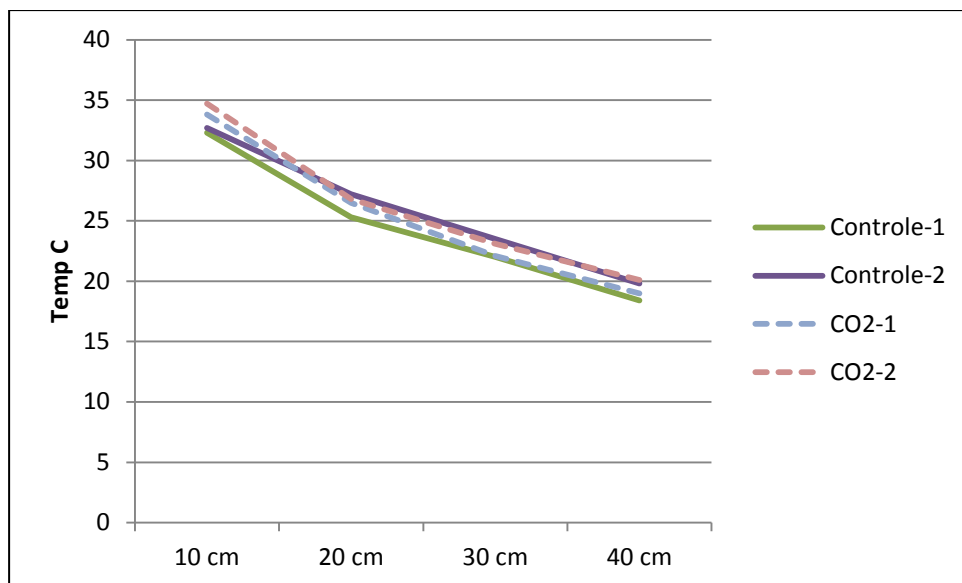
| dag | Controle | CO ₂ | P-waarde | I.s.d. ¹ |
|-----|----------|-----------------|----------|---------------------|
| 0 | 12,0 | 12,0 | * | * |
| 2 | 15,9 | 15,2 | 0,038 | 0,6 |
| 4 | 20,8 | 18,2 | 0,044 | 2,4 |
| 7 | 25,4 | 24,3 | 0,249 | 3,1 |
| 9 | 32,5 | 34,3 | 0,071 | 2,1 |

¹I.s.d. = least significant difference



Figuur 4. Effect van toedienen van CO₂ (2500 ml op dag 0, 200 ml op dag 2 en 500 ml op dag 4 en 7) aan maïssilage op het verloop van de temperatuur (°C) op 10 cm diepte vanaf de open zijde gedurende negen dagen. De waarden zijn van individuele silo's.

De resultaten van de temperatuurmetingen op verschillende dieptes vanaf de open zijde op dag 9 zijn weergegeven in figuur 5. Hieruit blijkt dat de temperatuur in de controle-silage daalt van ca. 33°C op een diepte van 10 cm tot ca. 19°C op een diepte van 40 cm. De temperatuur van de silage waaraan CO₂ was toegevoegd vertoonde een vergelijkbaar beeld.



Figuur 5. Effect van toedienen van CO₂ (2500 ml op dag 0, 200 ml op dag 2 en 500 ml op dag 4 en 7) op de temperatuur (°C) op 10, 20, 30 en 40 cm diepte van het front van maïssilage op dag 9. De waarden zijn van individuele silo's.

3.3 Experiment 3

De resultaten van de aerobe stabiliteitsmeting van experiment 3 staan vermeld in tabel 5. Hieruit blijkt dat de aerobe stabiliteit van de controle-silage met 269 uur erg hoog was. Zowel 2500 ml CO₂ toevoegen aan grassilage op dag 0 en 3 na opening als zeven keer 2500 ml CO₂ toevoegen op dag 0, 1, 2, 3, 6, 8, en 10 na opening hadden geen significant effect op de aerobe stabiliteit.

Tabel 5. Effect van respectievelijk tweemaal toedienen (2500 ml op dag 0 en 3) en zeven maal toedienen (2500 ml op dag 0, 1, 2, 3, 6, 8, 10) van CO₂ aan grassilage op de aerobe stabiliteit (uren).

| | CO ₂ | | | P-waarde | I.s.d. ¹ |
|------------|-----------------|------------|------------|----------|---------------------|
| | Controle | 2x flushen | 7x flushen | | |
| grassilage | 269 | 286 | 293 | 0.625 | 60.4 |

¹I.s.d. = least significant difference

4 Discussie

De gedachte achter dit onderzoek was om broei in silages te beperken door de indringing van zuurstof te belemmeren c.q. zuurstof te verdringen middels het toedienen van koolzuurgas (CO_2) of stikstofgas (N_2). Jones et al. (1982) onderzochten de effecten van koolstofdioxide (CO_2) in waterige oplossing op de groei van gisten. Ze zagen verminderde groei en concludeerden dat de meest waarschijnlijke oorzaak van de verminderde groei in de veranderde staat van het membraan van gisten leek te zitten. Cellen van de gist *S. cerevisiae* (ATCC7754) bleken het percentage onverzadigde vetzuren van het membraan te verhogen bij blootstelling aan een verhoogde CO_2 concentratie. Selectieve remming van specifieke transport permeases en groei-enzymen in het membraan, werden gezien als mogelijke oorzaak van de remming van de groei.

Groeiremming van gisten door directe inwerking van CO_2 op de membranen, zou een belangrijke verklaring kunnen zijn voor de remming van broei door CO_2 in silages, mede omdat gisten belangrijke veroorzakers zijn van broei in gras- en maïssilage (Elferink et al., 2000). Verdringing van zuurstof (O_2) door CO_2 zou een mogelijke andere verklaring van broeiremming door CO_2 kunnen zijn.

Voor stikstof (N_2) is verdringing van zuurstof waarschijnlijk het enige werkingsmechanisme, omdat van N_2 verder géén antimicrobiële werking bekend is. Echter gisten hebben maar heel weinig O_2 nodig (minimaal 5%) om toch te kunnen groeien (Magan and Lacey, 1984). De O_2 uit de lucht zal zich passief mengen met de ingebrachte N_2 . Echter, zodra de grens van 5% O_2 bereikt wordt, zal het verdringingseffect van N_2 op O_2 verdwijnen en zal N_2 geen remmend effect meer hebben op de groei van gisten. Hoe snel dit proces zal gaan is onder andere afhankelijk van hoe vaak en hoeveel N_2 wordt ingebracht in de silage. Als dit proces redelijk snel gaat, dan zou dit een reden kunnen zijn waarom in de beschreven experimenten N_2 géén effect vertoonde op de broeiemming.

Het (zeer) beperkte effect van CO_2 op de broeiemming in dit onderzoek is daarom waarschijnlijk het gevolg van het directe effect van CO_2 op de celwanden van gisten en niet zozeer van het effect van verdringing van O_2 .

Wat betreft een zo volledig mogelijke verdringing van O_2 door CO_2 of N_2 is het belangrijk dat de verdeling van de beide toegevoegde gassen in de kuil zeer regelmatig is. Op detailniveau zullen silages niet overal dezelfde dichtheid hebben. Wanneer gas wordt toegevoegd achter het snijvlak is het daarom denkbaar dat het gas zich niet regelmatig verdeelt maar dat het (deels) via plekken met lagere dichtheden en grotere poriën vanuit het snijvlak verdwijnt. Hierdoor is het mogelijk dat de indringing van zuurstof niet op alle plekken volledig genoeg wordt geblokkeerd om de broei genoeg te beperken.

Het kleinere effect van CO_2 op broeiemming in maïssilage dan in grassilage zou mogelijk kunnen worden verklaard uit het feit dat in maïssilage naast gisten ook andere bacteriën, zoals azijnzuur bacteriën, een rol kunnen spelen in het veroorzaken van broei (Muck et al., 1991). Mogelijk worden azijnzuur bacteriën niet geremd in hun groei door CO_2 , waardoor het effect van CO_2 op broeiemming minder zal zijn.

In experiment 2 bleek dat, nadat de broei begonnen was ($>25\text{ °C}$), toevoeging van CO_2 zelfs een negatief (versnellend) effect leek te vertonen op de temperatuurstijging. Het is bekend dat bij een hogere temperatuur minder CO_2 oplost dan bij een lagere temperatuur. Hierdoor zou de groei van de gisten bij oplopende temperatuur steeds minder kunnen geremd worden, waardoor de temperatuur relatief sneller kan oplopen.

5 Conclusies

In dit onderzoek werd gekeken naar het effect van het toedienen van koolzuurgas (CO₂) en stikstofgas (N₂) aan gras- en snijmaïssilage op de aërobe stabiliteit. Het onderzoek werd uitgevoerd met minisilo's waarbij direct na het openen van gras- en snijmaïssilages gedurende een aantal dagen verschillende hoeveelheden koolzuurgas en stikstofgas werden toegediend.

Uit de resultaten van dit onderzoek kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

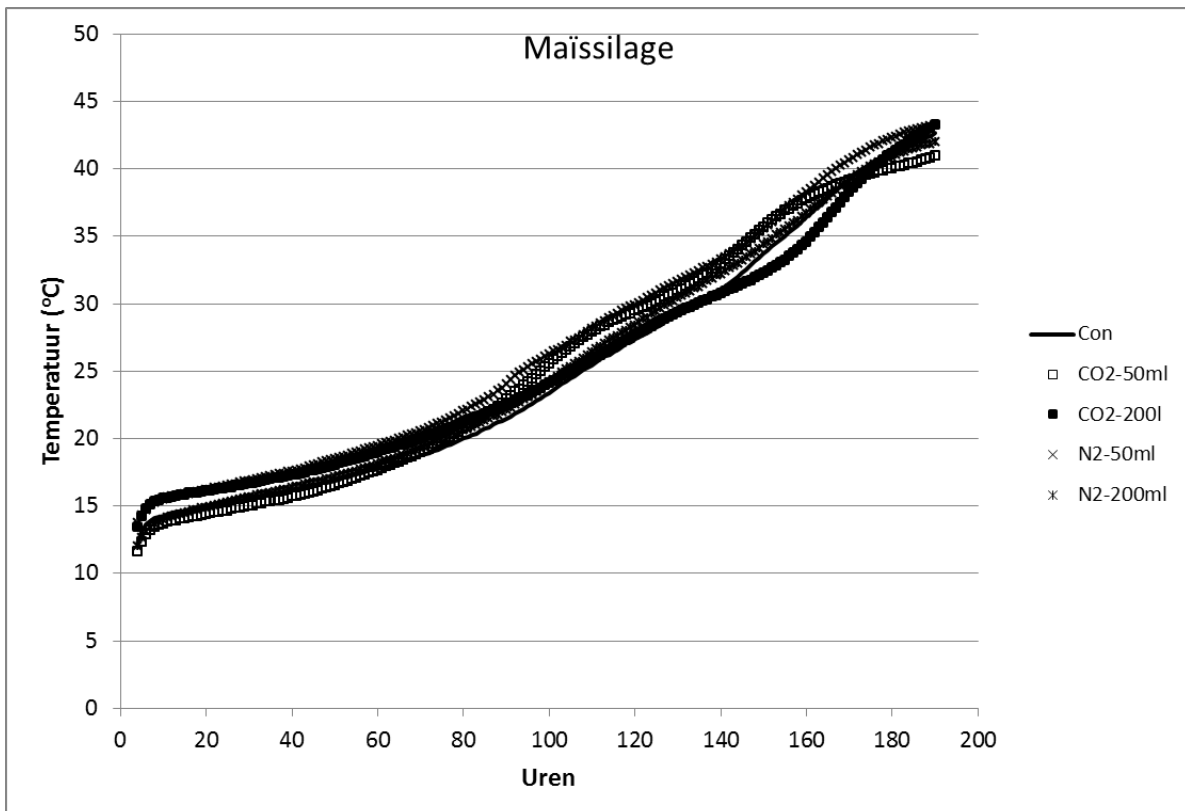
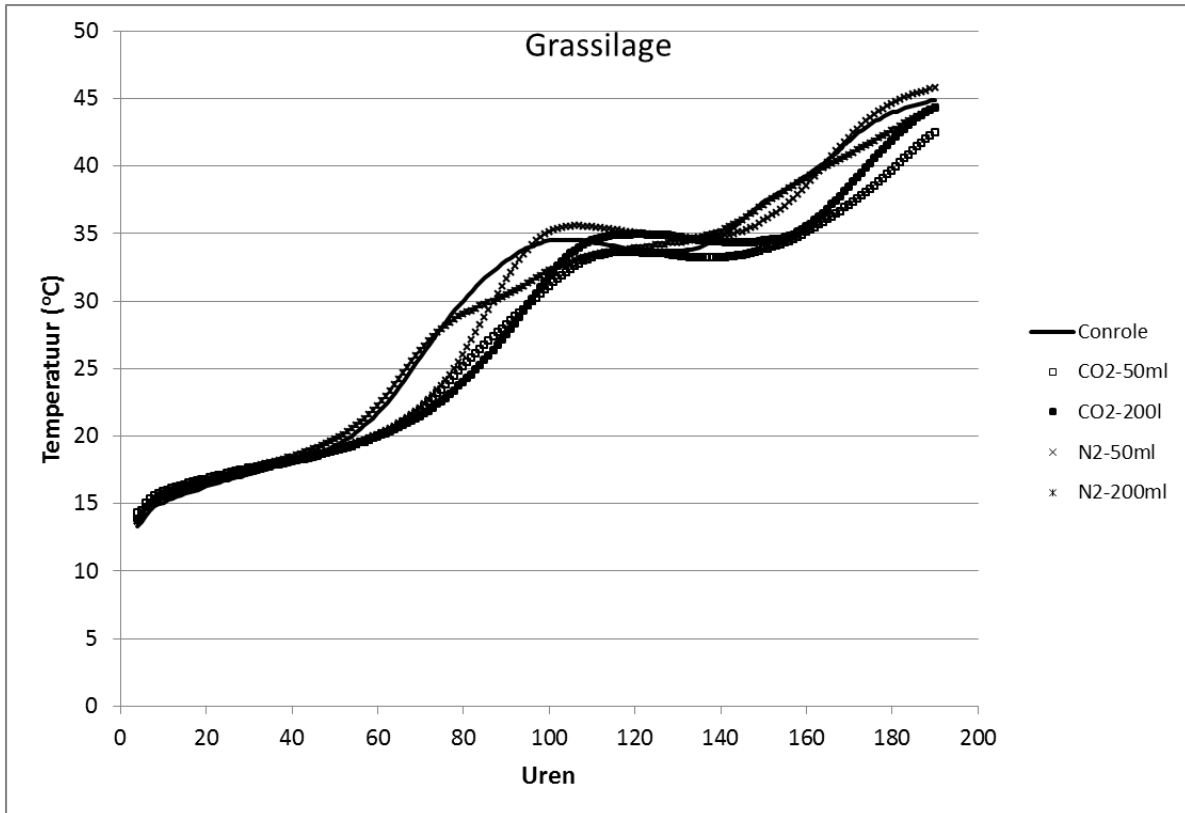
- Het drie keer per week toedienen van een beperkte hoeveelheid stikstofgas en koolzuurgas (40 l/m³ silage/week) op circa 50 cm diepte vanaf de open zijde van de silo had nauwelijks tot geen invloed op de aerobe stabiliteit van zowel mais- als grassilage.
- Het vier keer per week toedienen van een hoeveelheid koolzuurgas (ruim 200 l/m³ silage/week) op circa 50 cm diepte vanaf de open zijde van de silo had een tijdelijk en zeer beperkt effect op de temperatuurstijging van grassilage (max. 4°C) en maïssilage (max. 2,5°C).
- Het twee keer per week en 5 keer per week toedienen van ruim 130 l koolzuurgas/m³ silage/week op circa 50 cm diepte vanaf de open zijde van de silo had geen significant effect op de aerobe stabiliteit van grassilage.
- Het toedienen van stikstofgas of koolzuurgas volgens in dit onderzoek toegepaste methoden lijkt niet erg perspectiefvol om broei in gras- en maïskuilen in de praktijk te beperken. Meer fundamenteel onderzoek is nodig om eventueel tot meer perspectievolle methoden te komen.

Literatuur

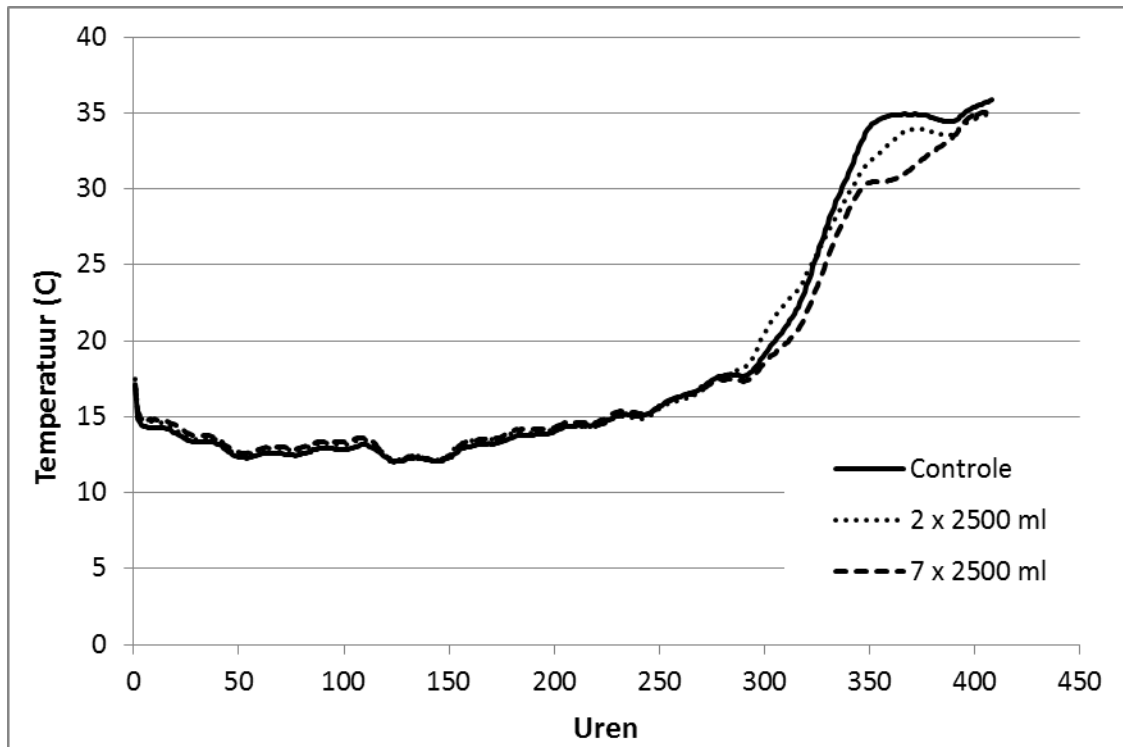
- Buxton, D.R., R.E. Muck en J.H. Harrison, 2003. Silage Science and Technology. Number 42 in the series Agronomy. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of American, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA: 927 pp.
- Driehuis, F., M.C. Spanjer, J.M. Scholten en M.C. te Giffel. 2008. Occurrence of mycotoxins in maize, grass and wheat silage for dairy cattle in the Netherlands. Food Additives and Contaminants Part B1, 41-50.
- Elferink, S., Driehuis, F, Gottscha, I J.C., Spoelstra, S.F. 2000 Silage fermentation processes and their manipulation. FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPERS:17-30
- Jones, R.P., Greenfield, P.F. 1982. Effect of carbon dioxide on yeast growth and fermentation. Enzyme and Microbial Technology 4:210-223
- Magan, N., Lacey, J. 1984. Effects of gas composition and water activity on growth of field and storage fungi and their interactions. Transactions of the British Mycological Society 82:305-314
- Muck, R.E., Pitt, R.E., Leibensperger, R.Y. 1991. A model of aerobic fungal growth in silage. Grass and Forage Science 46:283-299
- Muck, R.E., S.F. Spoelstra en P.G. van Wikselaar. 1992. Effects of carbon dioxide on fermentation en aerobic stability of maize silage. J. Sci. Food Agric. 59, 405-412.
- Schukking, S. en A.G. Hengeveld. 1972. Broeibestrijding met chemische middelen in voordroogkuil, in vers en voorgedroogd gras. Mededelingen 401, IBVL Wageningen, 32 pp.
- Van Schooten, H.A. en B. Philipsen. 2010. Effect van inkuilmanagement op emissie van broeikasgassen op bedrijfsniveau. Rapport 403, Wageningen UR Livestock Research, Lelystad, 33 pp.

Bijlagen

Bijlage 1. Effect van driemaal toedienen (op dag 1, 4 en 6) van twee doseringen (50 en 200 ml per keer) koolzuurgas (CO₂) of stikstofgas (N₂) aan gras- en maïssilage op het verloop van de temperatuur op 10 cm diepte vanaf de open zijde (experiment 1).



Bijlage 2. Effect van respectievelijk tweemaal toedienen (2500 ml op dag 0 en 3) en zeven maal toedienen (2500 ml op dag 0, 1, 2, 3, 6, 8, 10) van CO₂ aan grassilage op het verloop van de temperatuur op 10 diepte vanaf de open zijde (gemiddelde van drie silo's).





Wageningen UR Livestock Research

Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad T 0320 238238 F 0320 238050

E info.livestockresearch@wur.nl | www.livestockresearch.wur.nl