

Aus dem Institut für Nutztierwissenschaften und Technologie der  
Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Rostock

**Die Quantifizierung der Osmolalität in Futterpflanzen  
und ihre Veränderung in verschiedenen Stadien der Silierung**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Grades eines  
Doctor Agriculturae  
der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät  
der Universität Rostock

vorgelegt von

**Dipl.-Ing. agr. Sandra Hoedtke**  
geboren in Nürnberg

Rostock, im September 2007

urn:nbn:gbv:28-diss2008-0047-4

Gutachter: Prof. Dr. Martin Gabel (Universität Rostock)  
Prof. Dr. Karl-Heinz Südekum (Universität Bonn)  
Dr. Kirsten Weiß (Humboldt-Universität zu Berlin)

Tag der Verteidigung: 14.03.2008

---

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht.....</b>	<b>2</b>
2.1	Silierung .....	2
2.1.1	Grundsätze der Konservierung.....	2
2.1.2	Schätzung der Silierbarkeit pflanzlicher Materialien anhand chemischer Silierparameter .....	5
2.2	Wasserpotential von Pflanzen .....	8
2.2.1	Wasseraktivität .....	9
2.2.2	Osmolalität .....	10
2.2.2.1	Definitionen und Messprinzipien .....	10
2.2.2.2	Charakterisierung osmotisch wirksamer Substanzen und der Osmoregulation in Pflanzen und Mikroorganismen .....	13
2.2.2.3	Beziehung zwischen Osmolalität und Wasseraktivität .....	15
2.3	Die Osmolalität in Pflanzen und ihre Veränderung im Vegetationsverlauf und während der Silierung .....	17
2.4	Einfluss von Wasseraktivität und Osmolalität auf für die Silierung relevante Mikroorganismen .....	22
<b>3</b>	<b>Aufgaben- und Zielstellung .....</b>	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>Experimentelle Untersuchungen zur Quantifizierung der Osmolalität in Grünfutter und Silagen.....</b>	<b>30</b>
4.1	Material und Methoden .....	30
4.1.1	Auswahl, Ernte und Aufbereitung des Probenmaterials .....	30
4.1.2	Bestimmung von Futterwert- und Silierparametern .....	32

---

4.1.3	Herstellung von Modellsilagen .....	34
4.1.4	Bestimmung der Fermentationsprodukte .....	35
4.1.5	Herstellung von Presssaft, Auszug und Extrakt zur Messung der Osmolalität.....	36
4.1.6	Bestimmung der Wasseraktivität.....	37
4.1.7	Bestimmung der Osmolalität.....	38
4.1.8	Statistische Auswertung .....	39
4.2	Ergebnisse .....	40
4.2.1	Methodische Untersuchungen zur Quantifizierung der Osmolalität in Pflanzen und Silagen.....	40
4.2.1.1	Entwicklung einer Methode zur Osmolalitätsmessung.....	40
4.2.1.1.1	Ermittlung der Osmolalität durch Messung der Wasseraktivität .....	40
4.2.1.1.2	Osmolalitätsmessung von verdünnten Presssäften und trockensubstanzreichem Probenmaterial .....	42
4.2.1.1.3	Vorschrift zur Methode der Osmolalitätsmessung in Presssaft, Auszug und Extrakt von Pflanzen und Silagen.....	45
4.2.1.1.4	Verifizierbarkeit der Methode zur Messung der Osmolalität.....	47
4.2.1.2	Presssäfte, Auszüge und Extrakte von unsiliertem und siliertem Pflanzenmaterial als Medium zur Quantifizierung der Osmolalität und weiterer ausgewählter Parameter .....	50
4.2.2	Bestimmung der Osmolalität und weiterer Parameter des unsilierten Grüngutes, im Vegetationsverlauf und während des Anwelkens .....	58
4.2.2.1	Einfluss von Pflanzenart und -sorte auf die Osmolalität.....	58
4.2.2.2	Einfluss des Vegetationsstadiums auf Osmolalität und ausgewählte Nährstoffparameter .....	63
4.2.2.3	Einfluss des Anwelkens auf Osmolalität und ausgewählte Nährstoffparameter.....	66
4.2.3	Veränderung der Osmolalität und verschiedener Gärparameter während des Fermentationsprozesses.....	69
4.2.3.1	Einfluss des Zusatzes von Milchsäurebakterien auf die Osmolalität von Silagen.....	69
4.2.3.2	Einfluss des Silierverlaufs auf die Osmolalität .....	72

<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>85</b>
5.1	Anwendbarkeit der Methode zur Osmolalitätsmessung in Presssaft, Auszug und Extrakt von Pflanzen und Silagen .....	85
5.2	Beziehungen zwischen Osmolalität, Trockensubstanzgehalt und weiterer Parameter im zu silierenden Grüngut und in Silagen.....	94
<b>6</b>	<b>Schlussfolgerungen.....</b>	<b>106</b>
<b>7</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>109</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>112</b>
<b>9</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	
<b>10</b>	<b>Tabellenverzeichnis</b>	
<b>11</b>	<b>Anhang</b>	

---

**Abkürzungsverzeichnis**

A1-3	Anwelkstufe 1-3 (unsiliertes Material)
ADF	Säure-Detergenzienfaser
<i>aqua dest.</i>	destilliertes Wasser
$a_w$	Wasseraktivität
BBCH	phänologische Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen, abgeleitet von: <b>B</b> iologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, <b>B</b> undessortenamt und <b>C</b> hemische Industrie
BS	Buttersäure
c	Konzentration osmotisch wirksamer Teilchen
d	Tag
Dt. WG	Deutsches Weidelgras (Ernte 2004)
DWG	Deutsches Weidelgras (Ernte 2005)
ES	Essigsäure
F	frisches Material (unsiliert)
FFS	flüchtige Fettsäuren
FM	Frischmasse
i-VS	Isovaleriansäure
k.A.	keine Angabe
KBE	Kolonie bildende Einheiten
$\text{kp}\cdot\text{cm}^{-2}$	Kilopond je Quadratzentimeter
$K_s$	Säurekonstante
$\text{mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$	Milliosmol je Kilogramm
MS	Milchsäure
MSB	Milchsäurebakterien
n.b.	nicht bestimmt
NDF	Neutrale-Detergenzienfaser
$\text{NH}_3$	Ammoniak
OS	Originalsubstanz
$\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$	Osmol je Kilogramm
$\text{osmol}_{\text{TS}}$	trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung
p	Druck
Pa	Pascal
PK	Pufferkapazität

PKu	Presskuchen
PrS	Propionsäure
PS	Presssaft
R	Gaskonstante
R.P.M.	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)
SA1-3	Anwelkstufe 1-3 (siliertes Material)
SF	frisches Material (siliert)
So	Sommer
T	Temperatur
TS	Trockensubstanz
TS <sub>min</sub>	Mindestrockensubstanzgehalt
U·min <sup>-1</sup>	Umdrehungen pro Minute
V	Vegetationsstadium
VK	Vergärbarkeitskoeffizient
VS	Valeriansäure
WLK	wasserlösliche Kohlenhydrate
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XP	Rohprotein
XS	Stärke
Z	Zucker
Z/PK	Zucker/Pufferkapazitäts-Quotient
ΔT	Temperaturdifferenz
φ	osmotischer Koeffizient
π	osmotischer Druck
ψ	Wasserpotential

## 1 Einleitung

Die Herstellung gärobiologisch guter, anaerob stabiler Silagen ist ein wichtiges Ziel in der heutigen Landwirtschaft. Neben der Erhöhung der Tiergesundheit und der Minimierung schädlicher Umwelteinträge und ungewollter Tierausscheidungen durch eine fehlerhafte Gärfutterbereitung steht dabei vor allem eine bedarfsgerechte Fütterung von Milchkühen mit hohen Leistungen im Vordergrund.

Die biochemische Grundlage des Silierens ist die durch Mikroorganismen unter Luftabschluss verursachte Umwandlung der pflanzlichen Kohlenhydrate in organische Säuren. Letztere führen zu einer Absenkung des pH-Wertes und wirken somit antimikrobiell und konservierend. Der Nährwert des konservierten Grundfutters soll dabei weitgehend erhalten bleiben (PAHLOW, 2003). Für die Silageherstellung ist die Kenntnis einiger chemischer Parameter von Vorteil, die Aussagen über die Siliereignung von Pflanzenmaterial treffen können. Zu nennen sind der Zucker/Pufferkapazität-Quotient (Z/PK), der in Abhängigkeit des Z/PK ermittelte Mindesttrockensubstanzgehalt, der Vergärbarkeitskoeffizient und der trockenstanzabhängige kritische pH-Wert. Alle Parameter sind in ihrer Eignung bestätigt worden.

Da der Trockensubstanzgehalt in engem Zusammenhang mit der Osmolalität steht, wird bei einem hohen Trockensubstanzgehalt ein ebenfalls hoher osmotischer Wert erwartet, welcher in Verbindung mit einer genügenden pH-Wert-Absenkung Gärschädlinge wie Clostridien und Enterobakterien zuverlässig hemmt und somit unerwünschte Fermentationsprozesse unterbindet. Dennoch sind in der Literatur Beispiele zu finden, bei denen ungeachtet eines sehr hohen Trockensubstanzgehaltes über das Auftreten von Buttersäuregärung berichtet wurde (DRIEHUIS & VAN WIKSELAAR, 1996; DAVIES & HALL, 1999; WYSS, 1999). Nachdem davon auszugehen ist, dass es sich in den genannten Fällen nicht um sehr osmotolerante Clostridien handelte, die für die Entstehung von Buttersäure verantwortlich waren, stellt sich die Frage, ob der Trockensubstanzgehalt als universelles Kriterium herangezogen werden kann, um eine Vorhersage über die Hemmung von Gärschädlingen zu treffen. Bisher wird die Osmolalität über den TS-Gehalt geschätzt. Eine direkte Bestimmung in Silagen oder in zu silierendem Pflanzenmaterial erfolgt nicht, obwohl die Bedeutung dieses Parameters in der Siliertheorie allgemein bekannt ist und er durch die auf dem heutigen Stand der Technik befindlichen Osmometer sehr leicht zu messen ist.

Da bislang umfangreiches Datenmaterial zu der angesprochenen Problematik fehlt, sollen die vorliegenden Untersuchungen einen Beitrag dazu leisten, die Auswirkungen der Silierung auf die Osmolalität vom Schnitt über das Anwelken bis zum Silierverlauf zu dokumentieren und den Kenntnisstand über die Beziehung der Osmolalität zur Trockensubstanz, aber auch zu weiteren Parametern sowohl im zu silierenden Pflanzenmaterial als auch in Silagen zu erweitern.



## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Silierung**

#### **2.1.1 Grundsätze der Konservierung**

Das Trocknen mit Hilfe der Sonnenenergie ist die älteste Methode der Konservierung von Pflanzenmaterial. Obwohl keine genauen Angaben über die Anfänge der Heubereitung existieren, geht SCHUKKING (1976) davon aus, dass die Silierung von Grünfutter zeitlich nach der Heutrocknung einzuordnen ist. KIRSTEIN (1963) berichtet von archäologischen Funden in den Ruinen von Karthago, die darauf hindeuten, dass dort bereits 1200 v. Chr. Futter in einer Art Siloturm siliert wurde, welcher teilweise im Boden vergraben war. Das Wort Silo stammt vom griechischen *siros* ab, worunter eine in den Boden vertiefte Grube zur Lagerung von Mais verstanden wurde (McDONALD *et al.*, 1991).

THOMAS *et al.* (1968) untersuchten Zusammensetzung und Nährwert von Heu und Silage identischen Pflanzenmaterials (Luzerne) und ermittelten in den Silagen neben höheren Gehalten an Wasser, Faser und Energie auch geringere Werte der Verdaulichkeit und der Futteraufnahme. Allerdings postulierten die Autoren auch, dass schlechte Witterungsbedingungen während der Trocknungsphase bei der Heubereitung vor allem bei Leguminosen wie Luzerne zu signifikanten Bröckelverlusten und einem reduzierten Proteingehalt führen können. Unter dem Gesichtspunkt der Nährstoffhaltung des Grünfutters kann der Prozess der Silierung potentiell genauso effizient sein wie der der Heubereitung (WALDO, 1977; ZIMMER, 1980). Aufgrund der geringeren Abhängigkeit vom Wetter kann der Erntezeitpunkt des zu silierenden Materials dem optimalen Vegetationsstadium angepasst werden, um einen hohen Nährwert des Futters zu erzielen (PAHLOW *et al.*, 2003; McDONALD *et al.*, 1991). Trotzdem ist im Bereich der Futterkonservierung erst seit wenigen Jahren die Silageproduktion gegenüber der Heubereitung vorherrschend (WILKINSON *et al.*, 2003). Nach Angaben von WILKINSON & TOIVONEN (2003) wird heutzutage der Hauptteil des Grünfutters und der Getreideganzpflanzen siliert, was weltweit einer Silagetrockensubstanz von jährlich 200 Mio. Tonnen entspricht.

Silage wird von WOOLFORD (1984) definiert als das Produkt, welches entsteht, wenn Gras oder andere Pflanzenmaterialien, die normalerweise dem Verderb aerober Mikroorganismen unterliegen, mit einem ausreichenden Feuchtigkeitsgehalt unter anaeroben Bedingungen gelagert werden. Eine stabile Lagerung wird durch einen genügend tiefen pH-Wert erreicht. Der wichtigste Stoffwechselprozess dafür ist die Umwandlung von fermentierbaren Kohlenhydraten zu organischen Säuren, vor allem Milchsäure. Als drei wichtige Faktoren für eine erfolgreiche

Silierung sind weiterhin das zu silierende Grünfutter, der Trockensubstanzgehalt und der rasche Verbrauch von Sauerstoff innerhalb des Silos von Bedeutung (WILKINSON *et al.*, 2003).

Prinzipiell eignet sich zur Silierung jede Art von Grünfutter, solange es einen genügend hohen Trockensubstanzgehalt, ausreichend Gärsubstrat und epiphytischen Besatz an Milchsäurebakterien aufweist (GROSS & RIEBE, 1974). Neben der Auswahl des optimalen Erntezeitpunktes ist beim Schnitt vor allem auf erdfreies Pflanzenmaterial zu achten. Verunreinigungen senken den Energiegehalt des Futters und führen durch den Eintrag von unerwünschten Mikroorganismen zu Fehlgärungen und zu einem verringerten Futtermittelverzehr (WILHELM & WURM, 1999).

Gras und Leguminosen werden aus Gründen des Futterwertes meist mit einem für die Silierung zu niedrigen Trockensubstanzgehalt geerntet und deshalb vor dem Einsilieren angewelkt. NEHRING (1949) beschrieb Versuche von HEINZL und SPEER, die die positive Auswirkung des Anwelkens auf den Siliererfolg nachwies, jedoch noch nicht erklären konnten. Nach dem heutigen Wissensstand beruhen die wesentlichen positiven Effekte der Erhöhung der Trockensubstanz auf einem relativen Anstieg der osmotisch wirksamen Teilchen in der wässrigen Phase. Unter anderem führt diese Erhöhung des osmotischen Wertes zu einem vergleichsweise höheren Gehalt an vergärbarem Substrat (HONIG & PAHLOW, 1986) und zu einer selektiv bakteriostatischen Wirkung insbesondere auf buttersäurebildende Mikroorganismen (WIERINGA, 1958).

In der lebenden Pflanze herrschen nicht zuletzt aufgrund von Wachstum anabole Prozesse vor. Während des sich nach dem Schnitt anschließenden Anwelkens kommt es zu einer vollständigen Verschiebung hin zu katabolen Vorgängen. Diese Dissimilationsvorgänge sind nach ZIMMER (1967) positiv zu beurteilen. In den noch lebenden Pflanzenzellen werden aus nicht unmittelbar verfügbaren Reserve-Kohlenhydraten Monosaccharide abgespalten, die Bakterien für die Säurebildung nutzen können. Darüber hinaus fördert eine Zerkleinerung des Futters die Verfügbarkeit der Nährstoffe im Pflanzensaft (BREIREM & ULVESLI, 1960). Obwohl GREENHILL (1964c) in seinen Untersuchungen nur geringe Auswirkungen auf den Zellsaftaustritt nach mechanischer Behandlung des Pflanzenmaterials feststellen konnte, gibt es unter anderem Angaben über eine Begünstigung des Wachstums von Milchsäurebakterien (ANDERSON, 1956), eine Erhöhung des Gehaltes an organischen Säuren (DE MAN, 1952) und eine Verbesserung der Silagequalität mit steigendem Zerkleinerungsgrad (ZIMMER, 1967). Allerdings muss nach MURDOCH *et al.* (1955) ein hoher Zerkleinerungsgrad des Pflanzenmaterials nicht immer zu guten Silagen führen. Die Autoren fanden teilweise in Silagen aus gemustem Gras höhere Buttersäuregehalte als in Silagen aus gehäckseltem Material.

Durch Respiration der Pflanzenzellen wird der Restsauerstoff im Silo verbraucht und es stellen sich anaerobe Bedingungen ein, die die Autolyse der Pflanzenzellen fördern, wodurch es ebenfalls zu

einer Freisetzung des Zellinhaltes kommt (GREENHILL, 1964b; PITT *et al.*, 1985). Dabei existieren abhängig von der Pflanzenart Unterschiede in der Schnelligkeit dieses Prozesses, der z.B. bei Luzerne langsamer als bei Weidelgras verläuft (WOOLFORD, 1984). Da Bakterien an das Vorhandensein von Wasser gebunden sind, ist das Platzen der Pflanzenzellen von herausragender Bedeutung. GREENHILL (1964b) und GIBSON *et al.* (1961) gehen davon aus, dass die Lysis der Zellen und damit die Verfügbarkeit des Zellsaftes als Nahrungsquelle der Bakterien eine signifikante Produktion von Milchsäure in der Silage überhaupt erst möglich macht.

Generell kann der Prozess der Silierung in vier Phasen eingeteilt werden, die von WEINBERG und MUCK (1996) beschrieben wurden:

1. Die **aerobe Phase** umfasst den Zeitraum von der Silobefüllung bis zur Einstellung anaerober Verhältnisse. Durch Respiration der Pflanzenzellen und aerober sowie fakultativ aerober Mikroorganismen wie Pilze, Hefen oder Enterobakterien kommt es bei einem pH-Wert von 6,0 bis 6,5 zu einer drastischen Reduktion des Sauerstoffgehaltes innerhalb weniger Stunden (BAUER, 2004). In einem gut gehäckselten und optimal verdichteten Siliergut kann diese Zeit auf ein Minimum begrenzt werden (McDONALD *et al.*, 1991).
2. Die **Fermentationsphase** beginnt, sobald der Sauerstoff im Silo vollständig verbraucht ist. Sie kann je nach Pflanzenart und Silierbedingungen wenige Tage bis einige Wochen andauern (PAHLOW *et al.*, 2003). In dieser Phase setzen sich die Milchsäurebakterien gegenüber Enterobakterien, Clostridien, Bazillen und Hefen als vorherrschende Population durch. Die Bildung von Milchsäure und anderen organischen Säuren führt zu einer pH-Absenkung auf 5,0 bis 3,8.
3. Bei nur geringen Veränderungen der bisher bestehenden Bedingungen und einer Vermeidung des Eindringens von Sauerstoff in das Silo ist die dritte Phase **stabil** und kann nach PAHLOW *et al.* (2003) bei ausreichender Versorgung mit wasserlöslichen Kohlenhydraten beliebig lange andauern.
4. In der **Entnahmephase** dringt Luftsauerstoff in das Silo ein. Dies kann zur Reaktivierung aerober Mikroorganismen führen, darunter hauptsächlich Hefen, Schimmelpilze, Bazillen und Essigsäurebakterien, die den Verderb der Silage einleiten. Die Folge davon sind ein Anstieg des pH-Wertes im Bereich der Öffnungsstelle, Trockenmasseverluste und eine Reduzierung des Nährwertes der Silage.

Die bevorzugte Form der Gärung ist die durch Milchsäurebakterien stattfindende Umwandlung von Einzelzuckern wie Glucose oder Fructose zu Milchsäure, welche in ihrer undissoziierten Form mikrobiologische Aktivität unterdrücken kann (ROOKE & HATFIELD, 2003). Den effektivsten

Gärungsprozess der Silierung stellt die homofermentative Fermentation von Hexosen wie Glucose dar. Nach dem Embden-Meyerhof-Parnas-Weg werden je Mol Hexose zunächst 2 Mol Pyruvat gebildet, welche anschließend zu 2 Mol Milchsäure reduziert werden. Es entstehen keine Trockensubstanz- und vernachlässigbare Energieverluste (McDONALD *et al.*, 1991). Tabelle 2.1 gibt einen Überblick über die Hauptfermentationswege von Silagemikroorganismen und ihre Effizienz im Hinblick auf Säuerungspotential sowie Trockensubstanz- und Energieverluste.

**Tab. 2.1: Fermentationsprodukte sowie Trockensubstanz- und Energieausbeuten der Hauptgärungsvorgänge von Silagemikroorganismen (nach ROOKE & HATFIELD, 2003)**

Organismen	Fermentationsweg	Substrat	Produkte	Ausbeute (%)	
				TS	Energie
MSB	homofermentativ	1 Glucose	2 MS	100	96,9
MSB	heterofermentativ	1 Glucose	1 MS + 1 ES	83	79,6
MSB	heterofermentativ	1 Glucose	1 MS + 1 Ethanol	83	97,2
Hefen		1 Glucose	2 Ethanol	51	97,4
Clostridien		1 Glucose	1 BS	66	77,9
Enterobakterien		2 Glucose	2 MS + 1 ES + 1 Ethanol	83	88,9

MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, BS-Buttersäure, TS-Trockensubstanz

Da Hefen keine Säure produzieren, wertvolles Substrat daher nicht für die Ansäuerung genutzt wird und Clostridien nur ein geringes Säuerungspotential aufweisen und hohe Energieverluste verursachen, sind diese Gärungen bei der Konservierung nicht erwünscht. Die heterofermentativen MSB liegen zusammen mit den Enterobakterien zwischen den Extremen von homofermentativen MSB und den Hefen und Clostridien. Enterobakterien hemmen zwar die Vermehrung von Clostridien, müssen jedoch nicht zuletzt aufgrund der möglichen Freisetzung von Endotoxinen als Gärerschädlinge definiert werden und sind als Konkurrent der Milchsäurebakterien um die zur Verfügung stehenden Kohlenhydrate anzusehen (BAUER, 2004).

### **2.1.2 Schätzung der Silierbarkeit pflanzlicher Materialien anhand chemischer Silierparameter**

Die Siliereignung von Pflanzenmaterialien kann anhand einer Reihe chemischer Parameter geschätzt werden. Nach FENLON *et al.* (1995) ist für eine sichere Silierung die Verfügbarkeit an vergärbarem Substrat als wichtigster Faktor zu nennen. Er teilt die Kohlenhydrate gemäß ihrer chemischen Natur in Nichtstruktur- und Strukturkohlenhydrate ein. Letztere sind nicht direkt als fermentierbare Substanz verfügbar und können erst durch Hydrolyse nutzbar gemacht werden. Die

Nichtstrukturkohlenhydrate werden als **wasserlösliche Kohlenhydrate (WLK)** oder allgemein als Zucker (Z) bezeichnet und sind sofort zu Silierbeginn verfügbar. In Gräsern sind in der Fraktion der WLK hauptsächlich Glucose, Fructose, Saccharose und Fructane vorzufinden, wobei die Fructane in den Gräsern der gemäßigten Zonen den Hauptanteil an den WLK ausmachen (McDONALD *et al.*, 1991). Zwischen den Pflanzenarten bestehen dabei große Unterschiede im Zuckergehalt. So wurden in Welschem Weidelgras Gehalte von mehr als 300 g WLK je kg TS und in Knaulgras weniger als 10 g WLK je kg TS analysiert (McDONALD *et al.*, 1991). Neben der Pflanzenart hat weiterhin das Verhältnis von Halm- zu Blattgewebe Einfluss auf den WLK-Gehalt. So gibt SMITH (1973) an, dass der Zuckergehalt mit fortschreitender Reife entsprechend des Anteils an Halmgewebe zunimmt. Auch wurde ein Einfluss der Wetterbedingungen während des Wachstums festgestellt. Der WLK-Gehalt erhöhte sich signifikant mit steigender Sonnenstundenzahl und verringerte sich bei erhöhtem Regenfall und höheren Temperaturen (HAIGH, 1990). Als Mindestgehalt an Gärsubstrat geben HONIG & PAHLOW (1986) und GROSS & RIEBE (1974) 2 bis 3 % der Frischmasse an. HAIGH & PARKER (1985) sprechen dagegen von 3 % WLK in der TS bei einer Silierung ohne Silierzusätze bzw. 2,5 % WLK in der TS bei Zusatz von Ameisensäure. Da der Ansäuerung des Pflanzenmaterials sein Pufferungsvermögen entgegenwirkt, kann die Schätzung der Silierbarkeit nicht allein anhand des absoluten Zuckergehaltes erfolgen. Mit dem Parameter **Pufferkapazität (PK)** wird der Widerstand des Pflanzenmaterials gegen die natürliche Ansäuerung quantifiziert. Die PK ist die Menge an Milchsäure, die zur Einstellung eines pH-Wertes von 4,0 je 100 g TS Pflanzenmaterial erforderlich ist. Wie bereits GREENHILL (1964a) und PLAYNE & McDONALD (1966) vermuteten, ist das Ausmaß der PK nicht nur vom Rohproteingehalt abhängig. Nach Auswertung seiner Versuchsergebnisse mittels Regressionsgleichungen schlussfolgert WEISSBACH (1967), dass der Einfluss des alkalischen Aschegehaltes etwa doppelt so groß ist wie der des Rohproteins.

Der von WEISSBACH *et al.* (1974) eingeführte **Z/PK-Quotient** gibt an, um das Wievielfache der Zuckergehalt im Siliergut größer ist als die zum Ansäuern auf pH 4,0 erforderliche Milchsäuremenge. Im Allgemeinen gilt Pflanzenmaterial mit einem Z/PK < 2 als schwer vergärbar. Aus Gründen einer verstärkten alkoholischen Gärung bei überhöhten Zuckergehalten sollte der Quotient jedoch nicht über 10 liegen (KNABE *et al.*, 1986). In Zusammenhang mit dem TS-Gehalt lässt sich nach SCHMIDT *et al.* (1971) der **Vergärbarkeitskoeffizient (VK)** nach folgender Gleichung ableiten:

$$\text{VK} = \text{TS} [\%] + 8 \cdot \text{Z/PK} \quad [1]$$

Nach Aussagen von WEISSBACH (1996) ist davon auszugehen, dass bei einem VK > 45 eine genügend schnelle und tiefe pH-Wert-Absenkung stattfindet und damit Buttersäuregärung zuverlässig verhindert werden kann.

Die **Trockensubstanz** (TS) beeinflusst stark die Intensität der Fermentation und den Anteil der Milchsäuregärung am Gesamtgärprozess (KNABE *et al.*, 1986). Da der Grad der Verfügbarkeit an Wasser im Siliergut, ausgedrückt durch den osmotischen Druck (WIERINGA, 1958) bzw. die Wasseraktivität (WEISSBACH, 1968), und damit das Ausmaß der mikrobiellen Aktivität in starkem Maße von der TS abhängig sind, kommt diesem Parameter besondere Bedeutung zu. Der für die Erzeugung einer anaerob stabilen Silage in Abhängigkeit vom Z/PK-Quotienten erforderliche **Mindesttrockensubstanzgehalt** ( $TS_{\min}$ ) kann nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$TS_{\min} [\%] = 45 - 8 \cdot Z/PK \quad [2]$$

Somit kann für jedes Siliergut der erforderliche Anwelkgrad berechnet werden.

Das Kriterium für eine stabile Silage ist der nach Abschluss der Milchsäuregärung erzielte pH-Wert. Es kann jedoch keine generelle Aziditätsgrenze angegeben werden. Da bei niedrigen TS-Gehalten die Wasserverfügbarkeit im Allgemeinen größer ist als in sehr trockenen Silagen, sind die Mikroorganismen in feuchten Silagen wesentlich säuretolanter. Der nach WEISSBACH *et al.* (1974) trockenstanzabhängige **kritische pH-Wert** beschreibt die erforderliche Ansäuerung, die je nach TS des Siliergutes variiert (Tab. 2.2).

**Tab. 2.2: Kritischer pH-Wert in Abhängigkeit der Trockensubstanz (WEISSBACH *et al.*, 1974)**

TS [%]	15	20	25	30	35	40	45	50
Stabilität der Silage bei pH	4,10	4,20	4,35	4,45	4,60	4,75	4,85	5,00

Unter Beachtung der genannten Parameter bei der Silierung ist davon auszugehen, dass eine Buttersäuregärung zuverlässig verhindert werden kann. Trotzdem berichten DRIEHUIS & VAN WIKSELAAR (1996) über das Auftreten von Buttersäure in Höhe von 0,6 % in der TS bei Silagen über 60 % TS. DAVIES & HALL (1999) fanden in ihren Untersuchungen Buttersäuregehalte von 3,3 % in der TS bei einem TS-Gehalt von 45 % der Silagen. WYSS (1999) ermittelte 0,7 % Buttersäure in der TS bei einem TS-Gehalt von ebenfalls 45 %. Begründungen für das Auftreten der Buttersäuregärung wurden an diesen Stellen jedoch nicht gegeben. WEISSBACH & HAACKER (1988) wiesen in angewelkten Getreideganzpflanzensilagen von über 50 % TS ebenfalls Buttersäureanteile von bis zu 3 % in der TS aus und begründeten diesen unerwünschten

Fermentationsprozess mit einem Mangel an Nitrat im Pflanzenmaterial. Die Hemmwirkung von Nitrat auf Clostridien durch Reduktion des Nitrats in Nitrit und nitrose Gase zu Beginn der Silierung ist bekannt (SPOELSTRA, 1985; KAISER & WEISS, 1997) und findet in der Siliermittelherstellung Beachtung. Allerdings gibt es auch Hinweise auf bestimmte Milchsäurebakterienstämme, die in der Lage sind, Clostridien zu hemmen (KRAMER, 2002). Dies kommt der Forderung der Reduzierung des Einsatzes chemischer Siliermittel entgegen. Zu überlegen ist ferner, ob nicht weitere Ursachen für das Auftreten von Buttersäure in trockensubstanzreichen Silagen verantwortlich sein können. So ist es nicht unwahrscheinlich, dass in Getreideganzpflanzsilagen aufgrund der Umwandlung von mono- und dimeren Kohlenhydraten in Polysaccharide ein nicht der TS entsprechender und zu erwartender hoher osmotischer Wert vorliegt. Ebenso verhält es sich mit Gräsern des Extensivanbaus, die aufgrund verringerter Zucker- und Aschegehalte weniger osmotisch wirksame Teilchen aufweisen können. Eine genauere Untersuchung der allgemeingültigen Beziehung zwischen Trockensubstanz und Osmolalität scheint daher sinnvoll.

## 2.2 Wasserpotential von Pflanzen

Wasser ist für alle Organismen lebensnotwendig. Pflanzen bestehen zu etwa 80 bis 90 % aus Wasser, welches verschiedene Funktionen ausübt: Es transportiert gelöste Stoffe, dient als Rohmaterial für Stoffwechselfvorgänge und ist Ort aller biochemischen Reaktionen. Grundsätzlich kann Wasser in mindestens zwei Zuständen vorliegen (SLATYER, 1962). Zum einen als freies Wasser in den Hohlräumen der Pflanze, dem Phloem und Xylem, in Vakuolen, den Interzellularräumen und Zellwänden und zum anderen als gebundenes Wasser überall dort, wo elektrostatisch aufgeladene Oberflächen die H<sub>2</sub>O-Moleküle aufgrund ihres Dipolcharakters adsorbieren. Mit dem Konzept des Wasserpotentials lassen sich Bewegung und Zustand des Wassers in Pflanzen anschaulich beschreiben. Die theoretischen Grundlagen zum Wasserpotential sind umfassend in Lehrbüchern beschrieben (LIBBERT, 1993; TAIZ & ZEIGER, 2002; MENGEL, 1991; NOBEL, 1991; LÖSCH, 2001) und sollen daher nur verkürzt wiedergegeben werden.

Das Wasserpotential ( $\psi$ ) ist eine auf die Volumeneinheit bezogene Messgröße und setzt sich aus drei Komponenten zusammen: Das **Matrixpotential** ( $\psi_m$ ) ist ein Maß für die an das Protoplasma oder die Zellwand gebundenen Wassermoleküle. Der Wert dieses Potentials hängt von der Hydratation von Makromolekülen (z.B. Proteine im Protoplasma oder Polysaccharide in der Zellwand) und der kapillaren Wassereinlagerung in den Intermicellräumen der Zellwand ab. Für das

**Druckpotential** ( $\psi_p$ ) wird traditionell die Bezeichnung „Turgor“ verwendet, welcher der Aufrechterhaltung der Gewebestraffheit dient und stark vom osmotischen Druck abhängt. Das **osmotische Potential** ( $\psi_s$ ) ist Ausdruck des osmotisch gebundenen Wassers, weist nominell den gleichen Wert wie der osmotische Druck auf und erhöht sich mit steigender Konzentration der gelösten Teilchen. Nach SITTE *et al.* (1991) und LIBBERT (1993) lässt sich das osmotische Potential des Zellsaftes unter anderem durch Konzentrationsbestimmungen im Presssaft analysieren. Dies erfolgt überwiegend kryoskopisch, d.h. durch Bestimmung der Gefrierpunkt-erniedrigung.

Im Folgenden soll auf Messgrößen Bezug genommen werden, die in Beziehung zum osmotischen Potential der Pflanzen stehen.

### 2.2.1 Wasseraktivität

Der Term Wasseraktivität ( $a_w$ ) ist eine Definition der Wasserverfügbarkeit und wurde ursprünglich von der Lebensmittelindustrie und Pharmazie entwickelt, um Produkthaltbarkeit und -qualität zu bestimmen (GRANT *et al.*, 2004). Die Wasseraktivität muss abgegrenzt vom Wassergehalt gesehen werden, da letzterer nicht das thermodynamisch verfügbare Wasser betrachtet und somit mikrobiologische, chemische oder enzymatische Prozesse, meist unerwünschter Art, nicht vollständig zu beurteilen vermag. Der Zusammenhang zwischen Wasseraktivität und Wassergehalt ist produktspezifisch und kann durch so genannte Sorptions-Isothermen dargestellt werden (THALMANN & WOLF, 1980).

Nach dem *Raoult'schen* Gesetz kann  $a_w$  über den relativen Dampfdruck und den Molenbruch definiert werden:

$$a_w = \frac{p}{p_0} = \frac{n_2}{n_1 + n_2} \quad [3]$$

Dabei ist  $p$  und  $p_0$  der Dampfdruck der Lösung resp. des Lösungsmittels,  $n_1$  resp.  $n_2$  die Anzahl an Molen des gelösten Stoffes resp. des Lösungsmittels. Die Größe ist dimensionslos und kann Werte zwischen 0 und 1 annehmen. Durch Zugabe einer Substanz zu reinem Wasser ( $a_w=1$ ) verringert sich  $a_w$ , da der Dampfdruck abnimmt. Über den Molenbruch kann für eine 1-molare Lösung folgender  $a_w$ -Wert berechnet werden: Bei einem Molgewicht von rund 18,01 g/mol enthält 1 kg Wasser 55,51 Mole. Entsprechend Gleichung [3] ist  $a_w = 55,51/(55,51 + 1) = 0,982$ . Durch Multiplikation des  $a_w$ -



Wertes mit dem Faktor 100 erhält man die relative Feuchtigkeit (in %), welche ebenfalls durch den Quotienten aus Lösungsdampfdruck und Dampfdruck des reinen Lösungsmittels definiert ist.

In einer idealen Lösung ist  $a_w$  unabhängig von der Temperatur. Da jedoch der Dampfdruck temperaturabhängig ist, trifft das gleiche auch auf die Wasseraktivität zu. Für sehr verdünnte nichtideale Lösungen ist der Effekt der Temperatur auf  $a_w$  noch sehr klein (SCOTT, 1957). Er erhöht sich aber stark in konzentrierten und signifikant in gesättigten Lösungen.

Als Messprinzipien zur Bestimmung der Wasseraktivität werden sowohl gravimetrische oder titrimetrische Verfahren (Messgröße: Wassergehalt) als auch manometrische oder hygrometrische Verfahren (Messgröße: Wasserdampfpartialdruck) eingesetzt (WEISSER *et al.*, 1985; CHRISTIAN, 1980).

## 2.2.2 Osmolalität

### 2.2.2.1 Definitionen und Messprinzipien

#### *Definitionen*

Die Bedeutung des Anwelkens für die Silierung wurde bereits unter 2.1.1 herausgestellt. Da im Zusammenhang mit den Ursachen dieses positiven Effektes sowohl von einer Verringerung der Wasseraktivität (s. 2.2.1) als auch von einer Erhöhung des osmotischen Drucks bzw. der Osmolalität gesprochen wird, ist die begriffliche Abgrenzung dieser Messgrößen notwendig.

Nach dem Gesetz von *van 't Hoff* berechnet sich für verdünnte Lösungen der osmotische Druck ( $\pi$ ) als das Produkt aus der Gaskonstante ( $R$ ), der Temperatur ( $T$ ) und der Konzentration an osmotisch wirksamen Teilchen ( $c$ ):

$$\pi = R \cdot T \cdot c \quad [4]$$

Da der osmotische Druck per Definition direkt von der Temperatur abhängt, stellt WEISSBACH (1968) fest, dass  $\pi$  für physiologische Untersuchungen weniger geeignet ist. WOLF (1966) sieht in der Temperaturabhängigkeit ebenfalls einen Nachteil und verweist wie DICK (1959) und SWEENEY & BEUCHAT (1993) darauf, dass die Osmolalität solchen Einschränkungen nicht unterworfen ist.

Die Osmolalität ist definiert als:

**die Summe der molaren Konzentration osmotisch wirksamer Teilchen pro Gewichtseinheit.**

Das Lösungs- oder Suspensionsmittel ist zumeist Wasser. Obwohl die *International Union of Pure and Applied Chemistry* seit 1984 (SIGGAARD-ANDERSEN *et al.*) als Einheit der Osmolalität  $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$  empfiehlt, ist bis heute im Allgemeinen  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  gebräuchlicher und findet auch in der vorliegenden Arbeit Verwendung. Ebenfalls als Konzentration osmotisch wirksamer Teilchen, jedoch bezogen auf 1 l Lösungsmittel, ist die Osmolarität definiert, welche oftmals fälschlicherweise im Sinne der Osmolalität verwendet wird. Da jedoch auch das Volumen von Wasser temperaturabhängig ist, eignet sich die Osmolarität ebenso nicht für physiologische Untersuchungen (DÜRRSCHMID, 1999).

### Messprinzipien

Werden Substanzen in reinem Wasser echt gelöst, senken sie durch Entropieerhöhung das chemische Potential der Lösung gegenüber dem des reinen Lösungsmittels, wodurch der osmotische Druck bzw. die Osmolalität ansteigen. Der osmotische Druck gehört zu den kolligativen Eigenschaften einer Lösung, d.h. diese Messgröße ist einzig von der Teilchenzahl, nicht aber von der chemischen Art dieser Teilchen abhängig. Als weitere kolligative Eigenschaften sind die Siedepunkterhöhung, die Dampfdruckerniedrigung und die Gefrierpunktniedrigung zu nennen. Die beiden Letztgenannten werden als Messprinzipien zur Bestimmung der Osmolalität verwendet. Abbildung 2.1 verdeutlicht die physikalischen Grundlagen der Messprinzipien.

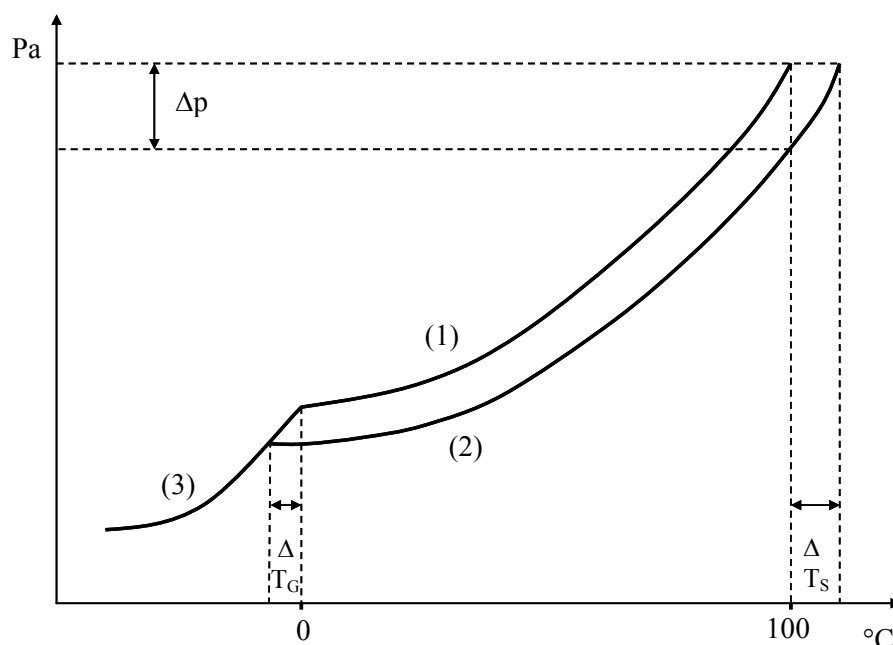


Abb. 2.1: Druck-Temperatur-Diagramm (nach MIEBS, 1993)

In Abb. 2.1 sind die Dampfdruckkurven von reinem Wasser (1), einer wässrigen Lösung (2) und reinem festem Wasser in Form von Eis (3) dargestellt. Infolge der zusätzlichen Anziehungskräfte der gelösten Moleküle und Ionen auf die Wassermoleküle (Verringerung von  $a_w$ ) verläuft (2) unterhalb

von (1), woraus die Dampfdruckerniedrigung  $\Delta p$  resultiert. Aufgrund eines geringeren Dampfdrucks weist die wässrige Lösung einen höheren Siedepunkt auf als reines Wasser ( $\Delta T_S$ ). Die Temperatur am Schnittpunkt von (2) und (3) entspricht dem Gefrierpunkt der wässrigen Lösung. Damit drückt  $\Delta T_G$  die Differenz des Gefrierpunktes der Lösung gegenüber dem reinen Lösungsmittel aus.

Die gebräuchlichste und sowohl in naturwissenschaftlichen als auch medizinischen Untersuchungen am häufigsten verwendete Methode zur Bestimmung der Osmolalität ist die Messung der Gefrierpunktdepression (RÖMPP, 1991; SIGGAARD-ANDERSEN *et al.*, 1984; DÜRRSCHMID, 1999; KIYOSAWA, 1988; COOK *et al.*, 2002; ERSTAD, 2003). Neben Gefrierpunktsmometern kommen jedoch im Bereich der Osmometrie auch Dampfdruckosmometer zum Einsatz. Obwohl Gefrierpunkt- und Dampfdruckerniedrigung auf dem selben thermodynamischen Prinzip basieren und beide theoretisch proportional zur molalen Konzentration wässriger Lösungen sind, stellt KIYOSAWA (2003) in ihren Untersuchungen Unterschiede zwischen den über Gefrierpunkt- bzw. Dampfdruckerniedrigung bestimmten Osmolalitätswerten fest. Sie schätzt anhand ihrer Ergebnisse die Dampfdruckosmometrie als unzuverlässiger ein. SWEENEY & BEUCHAT (1993) weisen außerdem auf eine wichtige Beschränkung der Dampfdruckmessmethodik hin. Enthält die zu messende Lösung flüchtige Substanzen, wie z.B. Alkohole oder andere organische gelöste Stoffe, führt das Dampfdruckosmometer den Autoren zufolge zu einem verfälschten Ergebnis der Osmolalität. Im Falle solcher Lösungen wird empfohlen, Gefrierpunktsmometer zu verwenden. Aufgrund der genannten Punkte ist die Gefrierpunktdepression die Methode der Wahl zur Durchführung der Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit.

Eine allgemeine Formel zur Berechnung der Osmolalität mittels Gefrierpunktdepression kann wie folgt formuliert werden:

$$\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1} = \frac{\Delta T}{1,86} \quad [5]$$

Die Osmolalität berechnet sich dabei als Quotient aus dem dimensionslosen Wert der Gefrierpunktdepression ( $\Delta T$ ) und der so genannten kryoskopischen Konstante von Wasser (1,86). Eine 1-molale Lösung eines Nichtelektrolytes weist einen Gefrierpunkt auf, der  $1,86^\circ\text{C}$  unterhalb des Gefrierpunktes von reinem Wasser liegt, woraus sich für die Osmolalität dieser Lösung  $1 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  ergibt. Wird eine 1-molale Lösung eines in zwei Teile dissoziierenden Elektrolyts wie z.B. NaCl gemessen, so liegt der Gefrierpunkt dieser Lösung nicht wie erwartet bei  $-1,86^\circ\text{C} \cdot 2 = -3,72^\circ\text{C}$  und somit die Osmolalität auch nicht bei  $2 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Die Diskrepanz zwischen dem tatsächlichen und theoretischen Gefrierpunkt einer Lösung wird durch den osmotischen Koeffizienten ( $\phi$ ) beschrieben

(TOMBS & PEACOCKE, 1974; WOLF, 1966; HARNED & OWEN, 1963), welcher z.B. für NaCl 1,86 und für KCl 1,85 beträgt. Umfangreichen Tabellenwerken wie, dem *CRC Handbook of chemistry and physics* (WEAST, 1985), kann der osmotische Koeffizient verschiedener Elektrolytlösungen entnommen werden.

#### **2.2.2.2 Charakterisierung osmotisch wirksamer Substanzen und der Osmoregulation in Pflanzen und Mikroorganismen**

Es wurde bereits herausgestellt, dass die Gefrierpunktniedrigung und damit die Osmolalität einer Lösung als kolligative Eigenschaften nicht von der chemischen Art der Teilchen, sondern einzig von deren Anzahl abhängig sind. Generell gelten alle chemischen Stoffe als osmotisch wirksam, entscheidend ist dabei nur die Größenordnung der Effekte. Proteine weisen z.B. bedeutend geringere Osmolalitäten auf als ihre Bruchstücke, die Aminosäuren. Ebenso verhält es sich mit dem Stärkemolekül gegenüber den Monosacchariden. Eine Osmolalität von Lösungen aus Makromolekülen oder Polymeren ist, bestimmt über das Prinzip der Gefrierpunktniedrigung, praktisch kaum nachweisbar (LEVINE, 2002). Dies liegt in den sehr hohen molaren Massen von Polymeren und Makromolekülen begründet. Die Stoffmenge, sprich die Anzahl der Mole, die in der Lösung vorhanden ist, ist bei hohen molaren Massen so gering, dass die Effekte der kolligativen Eigenschaften der Lösung entsprechend minimal und somit die Gefrierpunktniedrigungen unmessbar klein sind (ATKINS, 1993). Diese Erkenntnis ist für die im Projekt zu bearbeitenden Fragestellungen sehr wichtig. Aus der Tatsache, dass Proteine und Stärke kaum Einfluss auf den Osmolalitätswert besitzen, kann geschlussfolgert werden, dass z.B. ein Anstieg der Osmolalität während der Silierung als Maß für den Proteinabbau oder im Falle der Untersuchung von Getreideganzpflanzen im Vegetationsverlauf ein Absinken des osmotischen Wertes als Resultat der sukzessiven Umwandlung von Zucker in Stärke interpretiert werden kann.

Das osmotische Potential von Pflanzen ist nicht statisch. Es kann sich zum einen passiv ändern, wobei dies zumeist auf dem Tagesgang oder auf saisonalen Schwankungen beruht und wassergehaltsabhängig ist. Eine aktive Änderung liegt zum anderen vor, wenn sich die Menge osmotisch aktiver Substanzen pro Volumeneinheit verändert, was durch Pumpvorgänge in bestimmte Zellkompartimente unter ATP-Verbrauch erfolgt (LÖSCH, 2001). Diese aktiven Anreicherungen werden auch als osmotische Adaptation oder Osmoregulation bezeichnet und sind überwiegend stressinduziert (Wasser-, Salz- oder Kältestress). Osmoregulatorische Vorgänge

bewirken jedoch auch z.B. eine verstärkte Wasseraufnahme im Wurzelbereich oder die Aufrechterhaltung der Spaltöffnungen (TALBOTT & ZEIGER, 1998).

Eine Pflanzenzelle ist vereinfacht ein osmotisches System, bestehend aus einer Zentralvakuole und dem Zellsaft. Die Gesamtkonzentration der osmotischen Teilchen gibt LIBBERT (1993) mit einer Spannweite von 0,2 bis 0,8 mol·l<sup>-1</sup> an. Es existiert eine große Vielfalt osmotisch wirksamer Substanzen in Pflanzen, die als Osmotika bezeichnet werden und entweder anorganischer oder organischer Natur sein können. Anorganische Ionen werden überwiegend in der Vakuole der Zelle wirksam. Ihr Einsatz ist energetisch wenig aufwändig, da sie nicht synthetisiert werden müssen, sie wirken jedoch in hoher Konzentration toxisch. Organische Osmotika kommen cytoplasmatisch vor und werden auch als kompatible Solute bezeichnet, da sie stoffwechselverträgliche Osmotika sind. Als organische Osmotika können unter anderem Zucker, Aminosäuren, organische Säuren, Zuckeralkohole, tertiäre Sulfoniumverbindungen oder quartäre Ammoniumverbindungen fungieren. Insbesondere Prolin und Betain fungieren in höheren Pflanzen als kompatible Osmotika und werden unter Stresssituation im Cytoplasmakompartiment erheblich angereichert (LEIGH *et al.*, 1981; PAHLICH *et al.*, 1983). Während Prolin wieder metabolisiert werden kann und daher nur kurzfristig angehäuft wird, ist der protektive Nutzen des Betains über eine längerfristige Belastung hin gegeben.

Osmotika halten durch ihre Anreicherung das osmotische Gleichgewicht mit der Vakuole aufrecht. LÖSCH (2001) geht davon aus, dass die Gesamtkonzentration an Osmotika im Cytoplasma kaum je 0,500 osmol·kg<sup>-1</sup> erreicht, dieser Wert jedoch in den Vakuolen erheblich überschritten wird. In Zellen ohne Wassermangel oder Salzbelastung liegt nach WYN JONES & GORHAM (1983) die Menge gelöster Osmotika in einer Größenordnung von 0,300 bis 0,600 osmol·kg<sup>-1</sup>.

Landwirtschaftliche Nutzpflanzen können sich erheblich in ihrer Fähigkeit zur osmotischen Adaptation unterscheiden. So weist Weizen nach SIMMELSGAARD (1976) und JENSEN (1979) eine bedeutend größere Absenkung des osmotischen Potentials auf als Gerste (JENSEN *et al.*, 1992). Bei Gräsern konnte THOMAS (1986) die potentielle Absenkung des osmotischen Potentials in der Reihenfolge Deutsches Weidelgras > Welsches Weidelgras > Knautgras festlegen. MORGAN (1984) konnte in einem Trockenfeldbauversuch nachweisen, dass Weizen- und Sorghumsorten, die über eine besonders hohe Osmoregulation verfügen, höhere Erträge liefern.

Die Aufrechterhaltung des nach außen gerichteten positiven Turgors ist für alle Mikroorganismen lebensnotwendig und wird generell als die treibende Kraft der Zellausdehnung angesehen (KEMPF & BREMER, 1998). Da Mikroorganismen keinen aktiven Mechanismus für einen Wassertransport besitzen, reagieren sie auf hyper- bzw. hypoosmotischen Stress mit Anhäufung bzw. Ausschüttung

kompatibler Solute (POOLMAN & GLAASKER, 1998). Auch nach ROESSLER & MÜLLER (2001) stellen für Bakterien die entweder akkumulierten oder selbst synthetisierten kompatiblen Solute die gängigste Strategie zum Ausgleich von osmotischem Stress dar. Nur zu einem geringen Teil kommt es zu einer Anreicherung anorganischer Ionen, dabei hauptsächlich  $K^+$  und  $Cl^-$ . Die Autoren postulieren, dass sich das Spektrum der Osmotika auf eine geringe Anzahl von Verbindungen beschränkt. Sie teilen die kompatiblen Solute in zwei Hauptgruppen ein: (a) Zucker und Polyole und (b)  $\alpha$ - und  $\beta$ -Aminosäuren und deren Derivate. Betain ist eines der am weitesten verbreiteten kompatiblen Solute und ist nach COURTENAY *et al.* (2000) auch als das effektivste Osmotika einzuordnen. Ein spezielles, bei hohen Osmolalitäten aktiviertes Transportsystem, das unter anderem in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (OBIS *et al.*, 2001), *Lactobacillus acidophilus* (KASHKET, 1987; HUTKINS *et al.*, 1987) und *Lactobacillus plantarum* (GLAASKER *et al.*, 1996; GLAASKER *et al.*, 1998) nachgewiesen wurde, führt zu einer hohen Betainakkumulation und erlaubt es den entsprechenden Bakterien, auch bei hohen Osmolalitäten ihrer Umgebung zu überleben. TYMCZYSZYN *et al.* (2005) fanden bei ihren Untersuchungen von *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* heraus, dass ein osmoregulatorischer Mechanismus dafür verantwortlich ist, dass durch eine Veränderung in der Lipidzusammensetzung die Wasserdurchlässigkeit der Membranen herabgesetzt wird und es somit für das Bakterium zu keinem Wasserverlust in hochosmolaren Umgebungen kommt.

Mikroorganismen weisen unterschiedliche Osmotoleranzgrenzen auf, worauf jedoch in Kapitel 2.4 noch genauer eingegangen werden soll.

### 2.2.2.3 Beziehung zwischen Osmolalität und Wasseraktivität

Da in mikrobiologischen Untersuchungen im Hinblick auf Wachstumsgrenzen als Einheit meist die Wasseraktivität ( $a_w$ ) verwendet wird, ist eine Umrechnung der Osmolalität in die Wasseraktivität und umgekehrt zur Interpretation von Messergebnissen und Literaturwerten hilfreich.

Bei Zugabe eines Stoffes zu einem Lösungsmittel verringert sich  $a_w$  in gleichem Maße, wie sich der osmotische Druck erhöht (NOBEL, 1991). Die beiden Größen verändern sich in entgegengesetzte Richtung. Ihre Beziehung lässt sich wie folgt beschreiben (LÖSCH, 2001; SCOTT, 1957; BROWN, 1976; CHRISTIAN, 1980):

$$R \cdot T \cdot \ln a_w = -V_w \cdot \pi \quad [6]$$

Dabei ist  $V_w$  das partielle Molvolumen von Wasser ( $0,01801 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}$ ).

Es besteht weiterhin ein direkter Weg,  $a_w$  und den osmotischen Druck zu bewerten. Dieser Zusammenhang liegt in einer weiteren kolligativen Eigenschaft begründet. Nach NOBEL (1991) und SWEENEY & BEUCHAT (1993) kann über die Messung der Gefrierpunktniedrigung der osmotische Druck  $\pi$  berechnet werden. Letztgenannte Autoren geben dafür folgende Beziehung an:

$$\text{Osmolalität} = \frac{-\pi}{R \cdot T} \quad [7]$$

Bestehen Beziehungen zwischen  $a_w$  und  $\pi$  einerseits und  $\pi$  und der Osmolalität andererseits, so muss es auch möglich sein, für  $a_w$  und die Osmolalität eine Beziehung zu formulieren. In seinen Untersuchungen zur Osmolalität während des Gärungsverlaufs verwendete WEISSBACH (1968) zur Berechnung von  $a_w$  aus der Osmolalität folgende Gleichung:

$$a_w = \frac{1}{1 + 0,01801 \cdot \text{Osmolalität}} \quad [8]$$

Eine Herleitung dieser Formel wurde aus der Arbeit von WEISSBACH (1968) nicht ersichtlich. Nach eingehender Literaturrecherche konnte diese Beziehung zwischen  $a_w$  und der Osmolalität nicht durch weitere Autoren bestätigt werden.

In idealen wässrigen Lösungen ist unter anderem nach SIGGAARD-ANDERSEN *et al.* (1984), RÖMPP (1991), DÜRRSCHMID (1999) und SWEENEY & BEUCHAT (1993) die Osmolalität durch den Quotienten aus negativem natürlichen Logarithmus der Wasseraktivität und der molaren Masse von Wasser ( $0,01801 \text{ kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) definiert:

$$\text{Osmolalität} = \frac{-\ln a_w}{M(\text{H}_2\text{O})} \quad [9]$$

Entsprechend kann durch Umstellung von [9] die Wasseraktivität aus der Osmolalität berechnet werden (AYERST, 1965; SWEENEY & BEUCHAT, 1993):

$$a_w = e^{-0,01801 \cdot \text{Osmolalität}} \quad [10]$$

Um Literaturangaben zu vereinheitlichen und anschaulich wiedergeben zu können, werden im Folgenden die Gleichungen [9] und [10] zur Berechnung der Osmolalität aus der Wasseraktivität und umgekehrt verwendet.

### 2.3 Die Osmolalität in Pflanzen und ihre Veränderung im Vegetationsverlauf und während der Silierung

Generell wird davon ausgegangen, dass die Osmolalität eng mit der Trockensubstanz korreliert. Eine Bestimmung des osmotischen Wertes erfolgt, zumindest auf dem Gebiet der Silierung, meist nicht. In der Literatur sind daher nur wenige und zum Teil schwer verwertbare Angaben über Osmolalitätsmesswerte von Pflanzen bzw. Silagen zu finden.

Einige Autoren beschränken sich in ihren Untersuchungen auf die Messung der Osmolalität in Kompartimenten oder Zellen der Pflanze. Aufgrund von Akkumulationsvorgängen, beruhend z.B. auf Osmoregulation oder Photosynthese, können Zellorganellen oder Pflanzenteile verschieden hohe Osmolalitätswerte aufweisen. So stellten KOROLEVA *et al.* (2002) unterschiedliche osmotische Werte in den verschiedenen Blattgeweben bei Gerste fest. Während die Osmolalität im Mesophyll und in den parenchymatischen Leitbündeln durchschnittlich  $0,400 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  betrug, lag sie in der Epidermis mit  $0,600 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  deutlich darüber. Für die Osmolalität der gesamten Hauptblattmasse ermittelten die Autoren einen Wert von  $0,440 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Die Angabe über den TS-Gehalt fehlt an dieser Stelle, so dass die allgemein angenommene Korrelation zwischen den Parametern Osmolalität und Trockensubstanz nicht nachgeprüft werden kann.

In Luzerne wies GREENHILL (1964b) unterschiedliche  $a_w$ -Werte für das Transportgewebe aus. Während er im Transpirationsstrom, dem Xylem, eine Osmolalität von  $0,368 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  (berechnet aus  $a_w = 0,9934$ ) messen konnte, lag im Assimilationsstrom, dem Phloem, die Osmolalität bei  $0,496 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  (berechnet aus  $a_w = 0,9911$ ). Auch hier fehlte die Information über den TS-Gehalt. Weiterhin existieren Angaben zu Osmolalitätswerten der gesamten Pflanze. NOBEL (1991) beschreibt Zellflüssigkeit, die von jungen Erbsen- und Spinatblättern abgepresst wurde und gibt an, dass der osmotische Wert bei solchem Material bei ca.  $0,300 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  liegt. LEIGH *et al.* (1981) quantifizierten die Osmolalität von Presssaft aus Roter Beete und geben Schwankungsbreiten zwischen  $0,408$  und  $0,714 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  an. Der Presssaft von vier verschiedenen Winterweizensorten wies in Untersuchungen von WILLIAMS & HOPE (1981) Osmolalitäten zwischen  $0,440$  und  $0,500 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  auf. Die Autoren verwendeten zur Presssaftherstellung ebenfalls die Gesamtpflanze, machten jedoch wie in den beiden zuvor genannten Untersuchungen keine Angaben über TS-Gehalte des Materials. WIERINGA (1958) bestimmte im Presssaft von einem nicht näher beschriebenen Gras mit einem TS-Gehalt von 25,1 % eine Osmolalität von  $0,806 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  (berechnet aus der Gefrierpunktniedrigung von  $1,5^\circ\text{C}$ ). Der osmotische Wert des Presssaftes von Weißklee in der frühen Blüte (17,2 % TS) betrug nach GREENHILL (1964d)  $0,474 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  (berechnet aus  $a_w = 0,9915$ ).



Die hier angeführten Osmolalitätswerte verschiedener Pflanzenmaterialien sind angesichts des Fehlens von Angaben weiterer, auf die Osmolalität Einfluss nehmender Parameter nur bedingt aussagekräftig. Es deutet sich jedoch an, dass die Osmolalität nicht in jeder Pflanzenart den gleichen Wert aufweist und zudem sortenspezifische Unterschiede bestehen. Eine Untersuchung eines breiten Spektrums von Kulturpflanzen und deren Sorten wäre zur Bestätigung dieser Hypothese wünschenswert.

Im Vegetationsverlauf finden in der Pflanze neben der Erhöhung der Trockensubstanz viele synthetisierende und abbauende Prozesse statt, die in ihrer Gesamtheit Auswirkungen auf die Gehalte der verschiedenen Pflanzeninhaltsstoffe und damit auch auf die Osmolalität haben. Allein aufgrund einer TS-Erhöhung ist davon auszugehen, dass mit zunehmendem Vegetationsstadium eine Erhöhung der Osmolalität erfolgt. Durch Untersuchungen im Presssaft aus Weidelgras und Luzerne von GREENHILL (1964d) wird dies ansatzweise deutlich (Tab. 2.3). Die Osmolalitätswerte wurden mit Hilfe von Gleichung [9] (S. 16) über die Wasseraktivität berechnet.

**Tab. 2.3: Verlauf der Wasseraktivität bzw. Osmolalität im Presssaft von Weidelgras und Luzerne zu verschiedenen Vegetationsstadien (nach GREENHILL, 1964d)**

	TS [%]	$a_w$ [-]	Osmolalität* [osmol·kg <sup>-1</sup> ]
<b>Weidelgras</b>			
unreif, keine Samenanlagen	16,1	0,9920	0,446
keine Samenanlagen	15,0	0,9935	0,362
im Ährenschieben	25,6	0,9890	0,614
<b>Luzerne</b>			
vor der Blüte	22,0	0,9900	0,558
frühe Blüte	25,0	0,9895	0,586

\* über  $a_w$  berechnet

Ein Weidelgras wurde zu drei Vegetationszeitpunkten beprobt. Obwohl der phänologische Reifegrad des zweiten Stadiums über dem des ersten lag, sind sowohl Trockensubstanz als auch Osmolalität geringer. Es liegt die Vermutung nahe, dass es bei der Ernte dieses Materials zu Regen- oder Tauwasserbeeinflussung kam, wodurch die wahren Wasserverhältnisse nicht korrekt dargestellt werden können. Der Unterschied zwischen dem ersten und dem letzten Vegetationsstadium in Bezug auf TS und Osmolalität entspricht jedoch den Erwartungen. Von der Luzerne wurden zwei Vegetationsstadien mit geringfügig unterschiedlichem TS-Gehalt untersucht. Trotzdem ist auch hier eine Osmolalitätserhöhung festzustellen, so dass aus den Untersuchungen von GREENHILL (1964d) geschlussfolgert werden kann, dass im Vegetationsverlauf sowohl TS als auch Osmolalität zunehmen.

Weitere Angaben zur Osmolalität während des Vegetationsverlaufs konnten nach eingehender Literaturrecherche nicht gefunden werden. Solche Untersuchungen erscheinen jedoch gerade im Hinblick auf den Vergleich verschiedener Pflanzenarten interessant. Es ist denkbar, dass Getreideganzpflanzen im Vegetationsverlauf trotz steigender TS einen nur langsamen Anstieg oder sogar einen Abfall der Osmolalität aufweisen. Die sukzessive Umwandlung von Zucker in Stärke könnte eine Ursache für einen sinkenden osmotischen Wert sein, was es zu überprüfen gilt.

Der die Silage bestimmende Osmolalitätsanstieg ist einerseits auf die bereits angesprochene Autolyse der Pflanzenzellen durch Einstellung anaerober Bedingungen zu Beginn der Silierung zurückzuführen (s. 2.1.1). Andererseits muss auch davon ausgegangen werden, dass sich aufgrund der einsetzenden Fermentationsvorgänge der osmotische Wert erhöht. Aus Tab. 2.1 (S. 5) wird ersichtlich, dass sich im Falle der homofermentativen Gärung die Osmolalität verdoppeln müsste, da aus 1 Mol Glucose 2 Mol Milchsäure entstehen. Die Vergärung von Zuckern stellt allerdings nur eine exemplarische Ursache für die Osmolalitätssteigerung dar. Auch andere Fermentationsprozesse, wie z.B. Proteolyse und Desmolyse oder die Hydrolyse und Vergärung von Hemicellulosen, führen durch den Abbau weniger, gering osmotisch aktiver Makromoleküle in viele kleine, osmotisch aktive Bruchstücke zu einem Osmolalitätsanstieg. Es existieren nur sehr wenige Untersuchungen zum Osmolalitätsverlauf während der Silierung. Erste orientierende Experimente wurden von GREENHILL (1964b) durchgeführt. Er fertigte Modellsilagen aus Weidelgras und Luzerne an und führte in deren Presssaft Messungen zur Wasseraktivität nach einem bestimmten Zeitregime durch (Tab. 2.4). Die Silierung erfolgte ohne Siliermittelzusatz, Angaben über den TS-Gehalt des Pflanzenmaterials gehen aus der Versuchsbeschreibung nicht hervor. Bevor Presssaft gewonnen wurde, erfolgte ein Einfrieren und Auftauen der Silagen. Der Autor erzielte damit eine Erhöhung der Presssaftausbeute.

**Tab. 2.4: Verlauf der Wasseraktivität bzw. Osmolalität im Presssaft von Weidelgras- und Luzernesilage während der Lagerung (nach GREENHILL, 1964b)**

Lagerdauer [h]	Weidelgrassilage		Luzernesilage	
	$a_w$ [-]	Osmolalität* [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	$a_w$ [-]	Osmolalität* [osmol·kg <sup>-1</sup> ]
0	0,9915	0,474	0,9910	0,502
2	0,9915	0,474	0,9910	0,502
4	0,9910	0,502	0,9905	0,530
10	0,9900	0,558	0,9895	0,586
23	0,9870	0,727	0,9865	0,755
30	0,9860	0,783	0,9855	0,811
54	0,9855	0,811	0,9845	0,867
78	0,9850	0,839	0,9835	0,924
168	0,9840	0,896	0,9820	1,009

\* über  $a_w$  berechnet

Aus den Experimenten von GREENHILL (1964b) wird ersichtlich, dass die Fermentationsvorgänge zu Beginn der Silageeinlagerung schnell einsetzen. Nach nur einem Tag stieg die Osmolalität sowohl beim Weidelgras als auch bei der Luzerne bereits um jeweils 50 %. Weiterhin ist der osmotische Wert im Presssaft keine feststehende Größe. Bis zum Versuchsende nach 7 d (168 h) kam die Osmolalitätserhöhung nicht zum Erliegen.

In Untersuchungen von OFFER (1997) wurde nur sehr gering angewelktes Deutsches Weidelgras ohne Siliermittelzusatz siliert. An drei Öffnungsterminen wurden die Silagen zunächst bei -20°C eingefroren, bevor nach einem langsamen Auftauen die Gewinnung von Presssaft mittels einer Apfelpresse erfolgte. In Tab. 2.5 sind der TS-Gehalt der Silagen sowie der pH-Wert und die Osmolalität im Presssaft in Abhängigkeit der Lagerdauer dargestellt.

**Tab. 2.5: TS-Gehalt, pH-Wert und Osmolalität im Presssaft von Silagen von Deutschem Weidelgras während der Lagerung (nach OFFER, 1997)**

Lagerdauer [h]	TS der Silagen [%]	pH-Wert [-]	Osmolalität [osmol·kg <sup>-1</sup> ]
0	21,1	5,07	1,000
51,4	20,8	4,96	1,010
291,4	21,4	4,10	1,390

Die Silierversuche zeigten, dass mit steigender Fermentationsdauer der pH-Wert abnahm, während die Osmolalität im Silagepresssaft bis zu einer Lagerdauer von ca. 12 Tagen (291,4 h) deutlich anstieg. Im Gegensatz zu den Ergebnissen von GREENHILL (1964b) ist jedoch hier zum ersten Öffnungstermin der Silage nach etwas mehr als zwei Tagen (51,4 h) noch keine nennenswerte Erhöhung der Osmolalität zu verzeichnen gewesen. OFFER (1997) sieht den Grund für dieses Ergebnis in der Tatsache, dass auch die 0h-Variante vor der Presssaftgewinnung eingefroren wurde. Da das Pflanzenmaterial in Fässern mit 200 l Fassungsvermögen siliert wurde, vermutet der Autor, dass es bis zu zwei Tage gedauert haben kann, bis die Silage vollständig gefroren war und somit der Fermentationsprozess zum Erliegen kam. Diese Vermutung kann dadurch bestätigt werden, dass auch in der 0h-Variante geringe Mengen an Fermentationsprodukten wie Milchsäure, Essigsäure oder Ethanol gefunden wurden, so dass Osmolalität und weitere Gehalte nicht als Parameter von unsiliertem Material angesehen werden können. Die Versuche von OFFER (1997) weisen damit eine Unvollständigkeit auf, da gerade das Ausmaß der Osmolalitätserhöhung vom unsilierten zum silierten Pflanzenmaterial von bedeutendem Interesse ist. Deshalb erscheint es notwendig, dass weitere Untersuchungen zu dieser Problematik erfolgen.

Die Entwicklung des osmotischen Wertes während einer länger dauernden Silagelagerung wurde von WEISSBACH (1968) untersucht. Er stellte Silagen aus nicht angewelkter Luzerne mit einem

TS-Gehalt von 15,9 % her und versetzte das Pflanzenmaterial mit 1 % Zucker in der Frischmasse. Nach einem bestimmten Zeitregime, das sich über 48 Wochen (336 Tage) erstreckte, wurde im Presssaft der Silagen, der über eine Tinkturenpresse gewonnen wurde, die Gefrierpunktniedrigung bestimmt, woraus sich nach Gleichung [5] (S. 12) die Osmolalität berechnen lässt (Tab. 2.6).

**Tab. 2.6: TS-Gehalt, pH-Wert und Osmolalität im Presssaft von Silage einer nicht angewelkten Luzerne während der Lagerung (nach WEISSBACH, 1968)**

Lagerdauer [d]	TS der Silage [%]	pH-Wert [-]	Gefrierpunktniedrigung [°C]	Osmolalität* [osmol·kg <sup>-1</sup> ]
0	15,9	5,90	0,65	0,349
3	n.b.*	4,45	1,29	0,694
7	n.b.	4,45	1,50	0,806
14	n.b.	4,50	1,62	0,871
28	n.b.	4,65	1,51	0,812
56	14,3	5,05	1,64	0,882
84	14,1	5,50	1,60	0,860
112	13,5	5,45	1,75	0,941
140	13,3	5,70	1,73	0,930
168	12,8	5,55	1,80	0,968
196	12,5	5,45	1,96	1,054
224	12,9	5,40	1,93	1,038
252	13,1	5,20	1,76	0,946
280	13,3	5,35	2,01	1,081
308	13,2	5,30	2,02	1,086
336	13,9	5,10	2,11	1,134

n.b.-nicht bestimmt; \* über Gefrierpunktniedrigung berechnet

Der sprunghafte Anstieg der Osmolalität zu Beginn der Silierung wird auch in diesem Experiment deutlich. In den ersten drei Tagen kommt es dabei zu einer Verdopplung des osmotischen Wertes. Der ausgeprägte pH-Wert-Abfall zu Silierbeginn spricht dafür, dass an der Osmolalitätserhöhung neben der Freisetzung des Zellsaftes durch Autolyse in hohem Maße die Milchsäureproduktion beteiligt ist. Im weiteren Verlauf wurde die Erhöhung der Osmolalität zwar zunehmend kleiner, es kommt jedoch bis zum Versuchsende nach 336 Tagen zu keiner Stagnation des Wertes. Insgesamt erhöht sich die Osmolalität von Beginn der Silierung bis Versuchsende um mehr als das Dreifache. In Anbetracht des sehr geringen TS-Gehaltes und des deutlichen Wiederanstieges des pH-Wertes mit dem 56. Tag kann davon ausgegangen werden, dass die Silage ab diesem Zeitpunkt als verdorben bezeichnet werden kann. Denkbar ist, dass die weitere Osmolalitätserhöhung durch unerwünschte Nebengärungen und deren Produkte verursacht wurde. In weiteren Versuchsvarianten von WEISSBACH (1968) mit schwach (29,8 % TS) und stark (43,9 % TS) angewelkter Luzerne zeigte sich dieselbe Osmolalitätsdynamik. In beiden Fällen kam es gleichermaßen zu einem schnellen Osmolalitätsanstieg in den ersten drei Tagen von 0,699 auf 1,312 osmol·kg<sup>-1</sup> im schwach

angewelkten bzw. von 1,532 auf 2,419  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  im stark angewelkten silierten Pflanzenmaterial. In der ersten Anwelkstufe verdreifachte sich die Osmolalität bis zum Ende auf 2,043  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ , in der stark angewelkten Variante fand trotz eines für die Silierung sehr hohen TS-Gehaltes eine Verdopplung auf 3,022  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  statt. Die Ursache für den zeitlich degressiven Osmolalitätsverlauf in allen TS-Stufen sieht WEISSBACH (1968) nicht nur in den bereits diskutierten mikrobiellen Fermentationsvorgängen. Seiner Meinung nach sind Restaktivitäten bereits vorhandener pflanzlicher Enzyme ebenso dafür verantwortlich.

## 2.4 Einfluss von Wasseraktivität und Osmolalität auf für die Silierung relevante Mikroorganismen

Der Wassergehalt eines zu silierenden Grünfuttermittels wirkt auf das Wachstum von Mikroorganismen im Allgemeinen sowohl begünstigend als auch beeinträchtigend. Dabei beeinflusst der Wassergehalt nach MUCK *et al.* (2003) das Wachstum über die zwei prinzipiellen Parameter Wachstumsgeschwindigkeit und pH-Wert-Minimum, bei dem sich ein bestimmter Mikroorganismus gerade noch zu vermehren vermag. Nach den Autoren müssen diese beiden Einflussfaktoren bezüglich des Wassergehaltes korrekterweise auf die Wasseraktivität bzw. das osmotische Potential bezogen werden.

Für die Silierpraxis ist es sinnvoll, eine Beziehung zwischen dem TS-Gehalt und der Wasseraktivität aufzustellen. Eine direkte Abhängigkeit beider Parameter stellte LANIGAN (1963) in seinen Untersuchungen mit Weidelgraspresssaft heraus. GREENHILL (1964d) formulierte weiterhin eine Beziehung, nach der die Wasseraktivität über den TS-Gehalt der Pflanzen bestimmt werden kann. Er wies Unterschiede in der Wasseraktivität verschiedener Pflanzenmaterialien bei gleichem TS-Gehalt in Abhängigkeit vom Schnittzeitpunkt nach und stellte folgende Gleichung auf:

$$a_w = 1 - \frac{c}{m} \quad [11]$$

Dabei ist  $m$  der Feuchtegehalt des Materials, ausgedrückt in g Wasser je g TS. Die von GREENHILL (1964d) experimentell ermittelte Konstante  $c$  ist Ausdruck der Schwankungsbreite an osmotisch wirksamen Teilchen und pflanzenartspezifisch:

Deutsches Weidelgras	0,04 – 0,02
Klee und Luzerne	0,05 – 0,03

Während des Reifungsprozesses der Pflanze sinkt der Wert für  $c$ . Es muss jedoch nachdrücklich betont werden, dass diese Konstanten nur Näherungswerte sein können und deshalb nicht verallgemeinernd verwendet werden sollten. Außerdem weisen PITT *et al.* (1985) darauf hin, dass sich die Untersuchungen von GREENHILL (1964d) lediglich auf die Wasseraktivität zu Beginn des Silierprozesses beziehen, weshalb die Autoren die Fermentation der leicht löslichen Kohlenhydrate zu z.B. Milch- und Essigsäure in ihre Modellrechnungen integrierten.

Zu welchen unbefriedigenden Ergebnissen das Arbeiten mit der von GREENHILL (1964d) aufgestellten Gleichung führt, ist in Tab. 2.7 dargestellt. Auf Grundlage der Gleichungen [9] (S. 16) und [11] (S. 22) wurde die Beziehung zwischen TS-Gehalt, Wasseraktivität, Osmolalität und entsprechender Konzentration einer Salzlösung unter Verwendung der  $c$ -Werte für Weidelgras dargestellt.

**Tab. 2.7: Beziehung zwischen TS-Gehalt, Wasseraktivität, Osmolalität und Konzentration einer NaCl-Lösung – berechnet**

TS [%]	$a_w$ [-]		Osmolalität [osmol·kg <sup>-1</sup> ]		NaCl-Lösung [%]	
	für $c=0,02$	für $c=0,04$	für $c=0,02$	für $c=0,04$	für $c=0,02$	für $c=0,04$
10	0,998	0,996	0,111	0,223	0,35	0,70
20	0,995	0,990	0,278	0,558	0,87	1,75
30	0,991	0,983	0,502	0,952	1,56	2,99
40	0,987	0,973	0,727	1,520	2,28	4,78
50	0,980	0,960	1,122	2,267	3,53	7,12
60	0,970	0,940	1,691	3,436	5,31	10,80

Aus Tab. 2.7 wird ersichtlich, dass je nach verwendeter Konstante die Werte für die Wasseraktivität schwanken. Noch deutlicher ist dieser Unterschied in der Osmolalität oder in der äquivalenten NaCl-Lösung ausgeprägt. Vor allem in hohen TS-Bereichen kann es so bei Anwendung der Gleichung von GREENHILL (1964d) zu bedeutenden Fehleinschätzungen kommen.

Die Mikroflora der Silage ist sowohl aus nützlichen als auch aus schädlichen Mikroorganismen zusammengesetzt. Zu den erwünschten Mikroben zählen die Milchsäurebakterien, welche hauptsächlich für den Silierprozess verantwortlich sind. Als Vertreter der anaeroben Gärschädlinge sind vor allem Enterobakterien und Clostridien zu nennen. Der Unterdrückung bzw. Förderung dieser Mikroorganismengruppen kommt folglich, nicht zuletzt aufgrund der Forderung nach einer Erhöhung der Tiergesundheit und Lebensmittelsicherheit, besondere Bedeutung zu (DRIEHUIS & OUDE ELFERINK, 2000; LINDGREN, 1991). Neben der Möglichkeit, durch eine schnelle

Ansäuerung zu Silierbeginn auf die Entwicklung bestimmter Mikroben Einfluss zu nehmen, besitzt die Absenkung der Wasseraktivität bzw. die Erhöhung der Osmolalität einen ebenfalls positiven Effekt. Die Kenntnis über die artspezifischen mikrobiellen Anforderungen an den Wasserbedarf ( $a_w$  bzw. Osmolalität) ist dabei von Vorteil, da diese zwischen den verschiedenen Mikroorganismen stark variieren. Tabelle 2.8 gibt einen Überblick über die durchschnittlichen Wachstumsgrenzen verschiedener Silagemikroorganismen.

**Tab. 2.8: Einfluss der Wasseraktivität (Osmolalität berechnet) auf das Wachstum von für die Silierung relevanten Mikroorganismen (nach LINDGREN, 1991)**

Wachstumsgrenze		Mikroorganismen
$a_w$ [-]	Osmolalität* [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	
1,00 – 0,95	0 – 2,8	gram-negative Bakterien, <i>Bacillus</i> spec., Clostridien sporen
0,95 – 0,91	2,8 – 5,2	Clostridien, Milchsäurebakterien
0,91 – 0,87	5,2 – 7,7	Hefen
0,87 – 0,80	7,7 – 12,4	Feld-Schimmelpilze, <i>Penicillium</i> spec.
0,80 – 0,75	12,4 – 16,0	<i>Aspergillus</i> spec.
0,75 – 0,70	16,0 – 19,8	Lagerpilze

\* über  $a_w$  berechnet

Generell kann ausgesagt werden, dass Schimmelpilze und Hefen bei sehr niedrigen Wasseraktivitäten bzw. hohen Osmolalitäten überlebensfähig sind. Milchsäurebakterien weisen eine mittlere Osmotoleranz auf, während die gärschädigenden Bazillen und gram-negativen Bakterien, zu denen unter anderem auch die Enterobakterien zählen, in einem nur sehr eingeschränkten  $a_w$ -Bereich wachsen können. Diese verallgemeinerten Angaben stimmen unter anderem mit Aussagen von WOOLFORD (1984) und McDONALD *et al.* (1991) überein.

Nach LINDGREN (1991) sind Clostridien in derselben  $a_w$ -Wachstumszone wie Milchsäurebakterien lebensfähig. Es muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass es immer Stämme gibt, die außerhalb der in Tab. 2.8 angegebenen  $a_w$ -Grenzen wachsen können. In Tab. 2.9 soll deshalb detaillierter auf bei der Silierung vorkommende Mikroorganismen und ihre Osmotoleranzgrenzen eingegangen werden.

Tab. 2.9: Osmotoleranzgrenzen verschiedener bei der Siliierung relevanter Mikroorganismen

	Hemmung bei *		Bemerkungen	Quelle
	$a_w$	osmol·kg <sup>-1</sup>		
<b>Clostridium</b>				
<i>Cl. botulinum</i>	0,960	2,7	Sporeneimung gehemmt	BAIRD-PARKER & FREAME (1967)
	0,940	3,4	Toxinproduktion gehemmt bei pH 5,8	NOTERMANS <i>et al.</i> (1979)
	0,985	0,8	Toxinproduktion gehemmt bei pH 5,3	NOTERMANS <i>et al.</i> (1979)
<i>Cl. butyricum</i>	0,997-0,980	0,2-1,1	in Abhängigkeit des pH (4,1-6,4)	WIERINGA (1958)
<i>Cl. perfringens</i>	0,970	1,7		STRONG <i>et al.</i> (1970)
<b>Milchsäurebakterien</b>				
<i>L. plantarum</i>				
	0,947	3,0		BEKER <i>et al.</i> (1998)
	0,966	1,9		CAI <i>et al.</i> (1997)
	0,920-0,930	4,0-4,6	Spannbreite verschiedener Stämme	LANIGAN (1963)
	0,940	3,4		WOOLFORD & SAWCZYC (1984)
<i>L. lactis</i>	0,980	1,1		REHACEK <i>et al.</i> (1982)
	0,954	2,6	Osmotikum: Glycerin	STREIT <i>et al.</i> (1979)
<i>L. casei</i>	0,948	3,0		MARAUSKA <i>et al.</i> (1996)
	0,947	3,0		BEKER <i>et al.</i> (1998)
	0,972	1,6		CAI <i>et al.</i> (1997)
<i>L. delbrueckii</i>	0,980	1,1		HUTKINS <i>et al.</i> (1987)
	0,970-0,975	1,4-1,7	Spannbreite verschiedener Stämme	REHACEK <i>et al.</i> (1982)
<i>L. brevis</i>	0,945-0,950	2,8-3,1	Spannbreite verschiedener Stämme	LANIGAN (1963)
<i>L. helveticus</i>	0,970-0,978	1,2-1,7	Spannbreite verschiedener Stämme	REHACEK <i>et al.</i> (1982)
	0,976	1,3		STREIT <i>et al.</i> (1979)
<i>Strept. diacetylactis</i>	0,950	2,8	Osmotikum: Glycerol	BASSIT <i>et al.</i> (1993)
	0,968	1,8		REHACEK <i>et al.</i> (1982)
<i>Ped. cerevisiae</i>	0,930-0,940	3,4-4,0	Spannbreite verschiedener Stämme	LANIGAN (1963)
<i>Leuconostoc cremoris</i>	0,956	2,5		REHACEK <i>et al.</i> (1982)
<b>Hefen</b>				
<i>Sacch. cerevisiae</i>	< 0,940	> 3,4		REHACEK <i>et al.</i> (1982)
<i>Sacch. rouxii</i>	< 0,868	> 7,9		REHACEK <i>et al.</i> (1982)

\* kursiv: berechnete Werte



Die großen Spannbreiten der osmotischen Toleranzgrenzen innerhalb der Arten sind Ausdruck unterschiedlicher Stämme und verschiedenster Prüfbedingungen. Zur Testung der Osmotoleranz werden die Mikroorganismen in Medien mit verschiedenen  $a_w$ - oder Osmolalitätswerten kultiviert. Dafür kommen als osmotisch wirksame Zusätze neben Salzen wie NaCl auch Nichtelektrolyte wie Glycerol, Sorbitol oder Glucose zum Einsatz. Soweit in Tab. 2.9 nicht anders vermerkt, beziehen sich die angegebenen  $a_w$ - bzw. Osmolalitätsgrenzen der Mikroorganismen auf eine NaCl-Zugabe zum Testmedium. Über den Effekt des zur Testung verwendeten Osmotikums herrscht in der Literatur keine einheitliche Meinung. Während BEKER *et al.* (1998) und MARAUSKA *et al.* (1996) keine Unterschiede bezüglich des verwendeten Zusatzes zur  $a_w$ -Absenkung feststellten, sprechen BAIRD-PARKER & FREAME (1967), REHACEK *et al.* (1982) und STRONG *et al.* (1970) davon, dass die jeweiligen getesteten Mikroben in den Medien mit Salzzusatz weniger tolerant gegenüber geringen  $a_w$ -Werten waren als mit Nichtelektrolytzusatz. Innerhalb der Gruppen der Elektrolyt- bzw. Nichtelektrolytzusätze können außerdem Unterschiede ausgewiesen werden. Aus Untersuchungen von SHOCKEY & BORGER (1991) geht hervor, dass sich NaCl in der Hemmung von Gärschädlingen effektiver als KCl erwies. NOUT (1992) stellte fest, dass Glycerol im Gegensatz zu Sorbitol einen höheren inhibitorischen Effekt zeigte. Die unterschiedlichen Wirkungen der Zusätze werden auf bestimmte Vorgänge auf intrazellulärer Ebene zurückgeführt, können jedoch nicht vollständig erklärt werden.

Wie unter anderem aus den Untersuchungen von NOTERMANS *et al.* (1979) und WIERINGA (1958) hervorgeht, kann die gerade noch verträgliche Wasseraktivität bei den verschiedenen Mikroorganismen nicht als allein stehender Parameter betrachtet werden, sondern muss in Beziehung mit weiteren Faktoren wie der Temperatur oder dem pH-Wert gesehen werden. Je weiter sich die Umweltbedingungen von dem für den jeweiligen Mikroorganismus spezifischen Idealzustand entfernen, desto geringer ist auch seine Toleranz gegenüber einer erniedrigten Wasseraktivität bzw. erhöhten Osmolalität (LEIBENSPERGER & PITT, 1987). Die positive Wirkung einer verringerten Wasseraktivität zur Eliminierung von Gärschädlingen muss folglich immer im Zusammenhang mit allen auf die Mikroben einwirkenden Einflussfaktoren gesehen werden.

Die für den Organismus typischen Stoffwechselfvorgänge weisen ebenfalls unterschiedliche  $a_w$ -Grenzen auf. Wie aus Tabelle 2.9 ersichtlich wird, ist das Zellwachstum von *L. plantarum* nach BEKER *et al.* (1998) ab einer Osmolalität von  $3,0 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  gehemmt. Als Grenze der Milchsäureproduktion geben die Autoren jedoch einen deutlich darüber liegenden Wert von  $5,0 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  an. Zu vergleichbaren Ergebnissen kommen MARAUSKA *et al.* (1996).

Die in Tab. 2.9 dargestellten Toleranzgrenzen sind ebenfalls nur als Näherungswerte zu sehen und können nicht für die verschiedenen Arten generalisiert werden. Selbst vor dem Hintergrund unterschiedlicher Prüfbedingungen sind die von den Autoren angegebenen relativ großen Spannbreiten der Osmotoleranz einer Bakterienspezies schwer zu interpretieren. Für *L. plantarum* wird z.B. eine Wachstumsgrenze zwischen 1,9 und 4,6 osmol·kg<sup>-1</sup> angegeben (vgl. Tab. 2.9). Die bereits in Tab. 2.8 ausgewiesenen generellen Unterschiede der Osmotoleranzgrenzen zwischen Gärschädlingen wie Clostridien und Hefen einerseits und den in den Silagen erwünschten Milchsäurebakterien andererseits werden jedoch wiederholt deutlich.

Im Hinblick auf die Erzeugung qualitativ hochwertiger Silagen gilt es zur Eliminierung der eher osmointoleranten Clostridien durch Anwelken oder durch eine schnell einsetzende Milchsäureproduktion die Osmolalität zu erhöhen und gleichzeitig den pH-Wert zu senken. Dabei müssen jedoch die erwünschten Milchsäurebakterien in einer Silage mit einem hohen osmotischen Wert konkurrenzfähig bleiben. Als Kriterien für die Auswahl eines geeigneten Silage-Impfstammes werden deshalb aus Sicht der Praxis eine Säuretoleranz bis unterhalb pH 4,0 und vor allem eine ausgeprägte Osmotoleranz gefordert (PAHLOW & HONIG, 1986). Um das Wachstum der osmotoleranten Hefen zu unterbinden und damit die aerobe Stabilität der Silage zu verbessern, besteht neben dem Vermeiden von hohen Restzuckergehalten eine Möglichkeit in der Anwendung von Milchsäurebakterienpräparaten, die *Lactobacillus buchneri* enthalten. Diese Art vermag Milchsäure in Essigsäure und 1,2-Propandiol umzuwandeln, welche hemmend auf Verderbniserreger wie z.B. Hefen wirken (OUDE-ELFERINK *et al.*, 2001; DANNER *et al.*, 2003; HOLZER *et al.*, 2003).

### 3 Aufgaben- und Zielstellung

Von den allgemein anerkannten chemischen Silierparametern stellt nach wie vor die Erhöhung der Trockensubstanz der zu silierenden Futterpflanze eine der wichtigsten Voraussetzungen dar, um unerwünschte Fermentationsvorgänge zu unterbinden. Durch den Wasserentzug beim Anwelken kommt es zu einer relativen Erhöhung der osmotisch wirkenden Teilchen in der wässrigen Phase der Pflanze und somit zu einer Hemmung gärschädigender Mikroorganismen wie z.B. Clostridien, da diese eine geringere Osmotoleranz als die erwünschten Milchsäurebakterien aufweisen. Die These, dass bei Silagen mit hoher Trockensubstanz eine Buttersäurebildung ausgeschlossen werden kann, wird durch Beispiele der Literatur in Frage gestellt (DRIEHUIS & VAN WIKSELAAR, 1996; DAVIES & HALL, 1999; WYSS, 1999). Die allgemein angenommene hohe Korrelation zwischen Trockensubstanz und Osmolalität weist offensichtlich Ausnahmen auf, deren Ursachen unklar sind. Vor diesem Hintergrund ist nicht zu hinterfragen, wie sich der Trockensubstanzgehalt, sondern vielmehr die Osmolalität auf Silierbarkeit und Siliererfolg auswirkt.

Aufgrund der engen Beziehung der beiden Parameter wird die Osmolalität meist nicht direkt bestimmt, sondern lediglich über die Trockensubstanz geschätzt. Eine Berechnung der Osmolalität über den Trockensubstanzgehalt mit der von GREENHILL (1964d) entwickelten Gleichung kann zu großen Schwankungsbreiten führen. Deshalb muss angenommen werden, dass durch Anwendung einer bloßen Schätzmethode erhebliche Fehlbewertungen in der Silierpraxis auftreten können. Im Schrifttum dargestellte direkte Messungen der Osmolalität in einzelnen Zellen, Organellen oder der gesamten Pflanze können nur schwer eingeordnet oder interpretiert werden, da meist Angaben über den Trockensubstanzgehalt oder andere, die Osmolalität beeinflussende Parameter fehlen. Im Bereich der Silierung konnten systematische und verwertbare Messungen der Wasseraktivität bzw. Osmolalität nur bei GREENHILL (1964d) und WEISSBACH (1968) gefunden werden. Im Hinblick auf Vergärbarkeitseigenschaften und Fermentationsqualität liegt somit ein die Osmolalität betreffendes Informationsdefizit vor. Als wesentliche Aufgaben der vorliegenden Arbeit wurden daher folgende Punkte abgeleitet:

1. Entwicklung einer Methode zur Messung der Osmolalität in Pflanzen und Silagen hinsichtlich eines breiten Spektrums an Pflanzenarten und Trockensubstanzen,
2. Bestimmung der Osmolalität und Ermittlung von Beziehungen zwischen Osmolalität und Trockensubstanz sowie weiterer Nährstoff- und Silierparameter verschiedener Pflanzenarten bzw. -sorten, desgleichen im Vegetationsverlauf und während des Anwelkens,
3. Ermittlung des Osmolalitätsverlaufs während des Fermentationsprozesses und Darstellung von Beziehungen zwischen Osmolalität und Trockensubstanz sowie weiterer Silierparameter.

Durch die experimentelle Bearbeitung dieser Schwerpunkte soll die Prüfung nachstehender Hypothesen erfolgen:

1. Die Osmolalität in der wässrigen Phase von Futterpflanzen und daraus hergestellten Silagen lässt sich über das Prinzip der Gefrierpunktdepression einfach und reproduzierbar bestimmen.
2. Als repräsentative Probe der wässrigen Phase von Futterpflanzen und deren Silagen dient der durch mechanische Druckeinwirkung gewonnene Presssaft. Die Höhe des Abpressdruckes hat keinen Einfluss auf Osmolalität, Trockensubstanz- und Rohaschegehalt des Presssaftes.
3. Bei trockensubstanzreichen Substraten ist ein Abpressen von Presssaft nicht möglich. Die wässrige Phase kann dann als Auszug oder Extrakt gewonnen und entsprechend der Originaltrockensubstanz korrigiert werden. Unterschiede zwischen den Osmolalitäten von Presssaft, Auszug und Extrakt sind dabei nicht zu erwarten.
4. Die Korrelation zwischen Osmolalität und Trockensubstanz in Pflanzen ist nicht so hoch wie allgemein angenommen. Bei gleichem Trockensubstanzgehalt kann sich die Osmolalität zwischen Pflanzenfamilien und Sorten gleicher Pflanzenarten unterscheiden.
5. Aufgrund stoffwechselspezifischer Vorgänge in Pflanzen verhält sich die Beziehung zwischen Osmolalität und Trockensubstanz im Verlauf der Vegetation anders als während des Anwelkens, da es bei letzterem durch einen Wasserentzug nur zu einer Konzentrierung osmotischer Teilchen kommt.
6. Die Bestimmung der Osmolalität von Pflanzen und Silagen in Ergänzung zur Trockensubstanz ist von entscheidender Bedeutung. Durch die Formulierung eines trockensubstanzabhängigen osmotischen Potentials kann ein Kriterium geschaffen werden, das einerseits die Silierbarkeit von Grünfutter, andererseits die Fermentationsqualität von Silagen zu bewerten vermag.
7. Während der Silierung kommt es zu einem bedeutenden Anstieg der Osmolalität. Diese Erhöhung ist insbesondere in den ersten Tagen aufgrund der Zelllysis und einsetzender Fermentationsprozesse deutlich ausgeprägt.
8. Die mit der Silierung einsetzende Milchsäurebildung verursacht eine positiv zu bewertende Osmolalitätserhöhung, da sie eine erwünschte selektive Wirkung auf Mikroorganismen ausübt.
9. Die gebildeten Fermentationsprodukte tragen wesentlich zur Erhöhung der Osmolalität von Silagen bei. Eine über das notwendige Maß erhöhte Osmolalität lässt jedoch auf unerwünschte Nebengärungen und qualitativ schlechte Silagen schließen. Mit der Formulierung eines um die positiv zu bewertende Milchsäurebildung korrigierten trockensubstanzabhängigen osmotischen Potentials können die als negativ einzuschätzenden Osmolalitätserhöhungen beurteilt und damit Aussagen zur Silierqualität getroffen werden.

## **4 Experimentelle Untersuchungen zur Quantifizierung der Osmolalität in Grünfütter und Silagen**

### **4.1 Material und Methoden**

#### **4.1.1 Auswahl, Ernte und Aufbereitung des Probenmaterials**

Für die Bearbeitung der in der Aufgaben- und Zielstellung formulierten Fragestellungen sollte ein breites Probenspektrum untersucht werden. Es wurde erwartet, dass sich vor allem hinsichtlich der Aspekte Pflanzenart und Vegetationsstadium Unterschiede in der Varianz der Osmolalität ergeben. Die Auswahl des Probenmaterials fand folglich so weit wie möglich unter Berücksichtigung dieser Gesichtspunkte statt. Bei der Probennahme aller Materialien wurde darauf geachtet, dass der Wassergehalt der Pflanzen nicht durch Regen oder Tauwasser beeinflusst war.

Im Rahmen eines orientierenden Screenings wurde ein umfangreiches und differenziertes Pflanzenmaterial geerntet, welches insgesamt 48 Einzelproben umfasst. Hierzu zählen 22 Leguminosen, 8 Getreideganzpflanzen, 14 Gräser (davon 12 Sorten von Deutschem Weidelgras) sowie sonstige Pflanzenarten (Phacelia, Buchweizen, Topinambur und Brennessel). Angaben zu Pflanzenart (ggf. Sorte), Vegetationsstadium, Herkunft des Materials und Erntezeitpunkt sind Tab. A1 im Anhang zu entnehmen.

In Zusammenarbeit mit verschiedenen Saatzuchtbetrieben war es möglich, ein heterogenes Probenmaterial von Körnern großsamiger Leguminosen zusammenzustellen. Zur Untersuchung standen 10 Sorten der blauen Lupine (*Lupinus angustifolius*), 3 Sorten der weißen Lupine (*Lupinus albus*) sowie 6 Sorten von Erbse (*Pisum sativum*) und 3 Sorten von Ackerbohne (*Vicia faba*) zur Verfügung.

Welsches Weidelgras (*Lolium multiflorum*) wurde auf einer Anbaufläche des Guts Dummerstorf geerntet. Das Pflanzenmaterial befand sich im zweiten Aufwuchs, war frei von Verunkrautung und wurde direkt durch den Betrieb maschinell geerntet.

Das Deutsche Weidelgras (*Lolium perenne*) wurde ebenfalls auf den Flächen des Guts Dummerstorf geerntet. Das Schneiden dieses Materials erfolgte zum einen im August 2004 (im Folgenden als „Dt. WG“ bezeichnet). Es handelte sich dabei um den weitestgehend unkrautfreien dritten Aufwuchs, der durch den Betrieb maschinell geerntet wurde. Eine weitere Ernte auf derselben Fläche erfolgte im Jahr 2005 (im Folgenden als „DWG“ bezeichnet) mittels eines Balkenmähers. Vom ersten Aufwuchs wurde das Pflanzenmaterial zu drei Vegetationsstadien geerntet.

Auf Schauparzellen einer Fläche des Guts Dummerstorf wurden die Getreideganzpflanzen Gerste, Triticale, Weizen und Hafer mit einer Schnitthöhe von jeweils ca. 10 cm manuell geerntet. Die zu jeweils vier verschiedenen Vegetationsstadien beprobten Getreideganzpflanzen Gerste und Weizen sollten zu Vergleichszwecken dieselben Entwicklungsstadien aufweisen, was bis auf den ersten Erntetermin realisiert werden konnte. Eine Erläuterung des BBCH-Stadiums nach LANCASHIRE (1991) ist Tab. A2 im Anhang zu entnehmen.

Tabelle 4.1 zeigt eine Übersicht zu Vegetationsstadium, Erntezeitpunkt, Trockensubstanzgehalt und gegebenenfalls Anwelkstufen der geernteten Gräser und Getreideganzpflanzen.

**Tab. 4.1: Übersicht zu Entwicklungsstadium und Trockensubstanz (TS) von Gräsern und Getreideganzpflanzen**

Pflanzenart	Vegetationsstadium	Ernte	TS [%]	Anwelk- stufen [% TS]	siliert
<i>Gräser</i>					
Welsches Weidelgras	im Ährenschieben	13.06.04	24,2		x
				31,1	x
				46,7	x
Deutsches Weidelgras (Dt. WG)	vor dem Ährenschieben	18.08.04	15,5		x
				29,2	x
				35,7	x
				46,4	x
Deutsches Weidelgras (DWG)	Grünfutterstadium	12.05.05	16,9		x
				23,1	x
				35,1	x
	Ende Ährenschieben	08.06.05	20,8		x
				29,4	x
				38,0	x
Samenreife	22.06.05	27,3		x	
<i>Getreideganzpflanzen</i>					
Gerste	Ende Milchreife (BBCH 77)*	26.06.04	31,2		x
Weizen	Ende Milchreife (BBCH 77)	07.07.04	33,0		x
Triticale	Ende Milchreife (BBCH 77)	30.06.04	34,5		x
Hafer	frühe Milchreife (BBCH 73)	07.07.04	23,4		x
Gerste	BBCH	41	06.05.04	19,5	
		55	16.05.04	20,9	
		63	01.06.04	30,2	
		73	13.06.04	33,4	
Weizen	BBCH	37	16.05.04	18,8	
		55	01.05.04	20,3	
		63	13.06.04	25,4	
		73	29.06.04	30,5	

\* BBCH – Code des Entwicklungsstadiums nach LANCASHIRE (1991)

Zur Herstellung von Modellsilagen wurde das zu silierende Pflanzenmaterial ohne Zeitverzug nach der Ernte vom Feld abtransportiert, mit Hilfe eines Großprobenhäckslers (Häcksellänge ca. 2 cm) zerkleinert und im Anschluss daran gut homogenisiert. Für das Anwelken des Grases diente eine gemähte Rasenfläche der Versuchsstation „Friedrich Harms“ des Institutes für Nutztierwissenschaften und Technologie der Universität Rostock in Dummerstorf. Nachdem das Material unter mehrfachem Wenden bis zur erforderlichen Trockensubstanz angewelkt wurde, erfolgte ebenfalls ein Häckseln und Homogenisieren.

Pflanzenmaterial, welches nicht in größerem Umfang und daher manuell geerntet wurde, wie es beim Screening oder bei den Getreideganzpflanzen im Vegetationsverlauf der Fall war, wurde zunächst in Plastiktüten direkt nach der Ernte bei -20°C gelagert. Um das Material gut homogenisieren zu können, erfolgte im gefrorenen Zustand ein Musen der jeweiligen Probe mit einem Fleischwolf (HU-1, Ascobloc, VEB Gößnitz, GDR). Das Musen von gefrorenem Material ist von Vorteil, da es einem Erwärmen der Maschine und somit auch einer Schädigung des Pflanzenmaterials entgegenwirkt. Nach einer Homogenisierung wurden die Proben bis zur weiteren Verarbeitung erneut bei -20°C aufbewahrt.

#### 4.1.2 Bestimmung von Futterwert- und Silierparametern

Von allen gehäckselten bzw. gemusterten Pflanzenmaterialien wurden rund 200 g Frischmasse in Aluschalen eingewogen und für ca. 4 Tage gefriergetrocknet. Das lufttrockene Material wurde nach dem Zurückwiegen mit einer Wiley-Mühle (Brabender OHG, Germany) auf 1 mm gemahlen und stand so für die Bestimmung der wichtigsten Futterwert- und Silierparameter zur Verfügung.

Die **Trockensubstanz** der lufttrockenen Proben wurde nach den Richtlinien der Weender-Futtermittelanalyse in einer dreistündigen Trocknung bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz bestimmt. Im Anschluss daran wurden die getrockneten Proben bei 600°C für 5 h dem Muffelofen zugeführt, um den Gehalt an **Rohasche** zu ermitteln.

Eine Korrektur der Trockensubstanz von Silagen, wie sie von WEISSBACH & KUHLA (1995) aufgrund von Stoffverlusten flüchtiger Substanzen bei der Vortrocknung vorgeschlagen wird, wurde nicht vorgenommen, da sowohl Grünfütter- als auch Silageproben gefriergetrocknet wurden und nach Angaben der Autoren die Verluste durch Anwendung dieser Trocknungstechnik vermieden werden.

Die Bestimmung der Trockensubstanz von Presssäften erfolgte ebenfalls durch Trocknung bei 105°C für 17,5 h. Die Veraschung fand analog zu den lufttrockenen Proben statt.

Der **Gesamt-N**-Gehalt der luftgetrockneten Proben wurde nach DUMAS (SCHUSTER *et al.*, 1991) mit Macro-N-Analysator (Elementar Analysensysteme GmbH, Germany) ermittelt und daraus das **Rohprotein** errechnet ( $N \times 6,25$ ).

Die Gehalte an **wasserlöslichen Kohlenhydraten (WLK)** wurden als mono- und dimere Kohlenhydrate im Kaltwasserextrakt über eine HPLC-Anlage unter Verwendung einer Vorsäule (Micro-Guard Deashing Cartridge, Biorad, USA) und einer Trennsäule (HPX - 87 C, Biorad, USA) am Brechungsindexdetektor bestimmt. Dazu wurden etwa 2 g Probenmaterial (genaue Einwaageermittlung) mit 100 ml *aqua dest.* + 20 mg  $HgCl_2$  versetzt. Die Extraktion erfolgte 1 h im Schüttelbad (SW 21, Julabo, Germany) mit einer Schüttelfrequenz von 150 R.P.M. bei Zimmertemperatur.

Die **Stärke** wurde durch ein enzymatisches Verfahren bestimmt (FRIEDEL *et al.*, unveröffentlichte Hausmethode). Hierfür war es erforderlich, die Proben mittels einer Labor-Schwingmühle (MM 200, Retsch, Germany) fein zu vermahlen. Der enzymatische Aufschluss von 0,5 g (genaue Einwaageermittlung) dieses Materials erfolgte mit 100 ml einer 0,2 %igen thermostabilen  $\alpha$ -Amylase-Lösung (Thermamyl 120, Novo Nordisk A/S, Denmark) bei 90°C im Schüttelwasserbad (150 R.P.M., 30 min). Sofort nach Ablauf der Zeit wurde das Filtrat abgenommen, davon 2 ml in ein 10 ml-Reagenzglas (mit Schliffstopfen) pipettiert und mit 2 ml 0,1 %iger Amyloglucosidase-Lösung (aus *Aspergillus niger*, FLUKA-Nr. 10115) versetzt, welche zur Stabilisierung der Fermentation 8 mg Thiomersal (2-(Ethylmercurithio)-benzoesäure-Natrium-Salz) je 100 ml Lösung enthielt. Die Reagenzgläser wurden für 16 h bei 60°C inkubiert. Die Glukosekonzentration der Fermentationslösung wurde nach Durchlaufen der Vor- und Trennsäule der HPLC-Anlage (Laufmittel: Wasser; Temperatur: 80°C; Flussrate: 0,65 ml/min) mittels Brechungsindexdetektor gemessen. Der Stärkegehalt wurde folgendermaßen berechnet:

- *Glucose-Konzentration durch Stärkehydrolyse*  
Gesamt-Glucose-Konzentration - Blindwert - Glucose-Konzentration d. Wasserextraktes
- *Glucosemenge*  
Glucose-Konzentration x Verdünnungsfaktor
- *Stärkemenge*  
Glucosemenge x 0,9
- *% Stärke in der TS des Probenmaterials*  
Stärkemenge/TS-Einwaage x 100

An Gerüstsubstanzen wurden die neutrale (**NDF**) und saure (**ADF**) Detergenzienfaser nach GOERING & VAN SOEST (1970) bestimmt. Die Ermittlung des **Rohfasergehaltes** erfolgte durch



Kochen mit Schwefelsäure und Kalilauge nach NAUMANN & BASSLER (1976) im FOSS-Analysator (Fibertec 2010, Sweden).

Für die Bestimmung der **Pufferkapazität** nach WEISSBACH (1967) wurden 0,5 g (genaue Einwaage) lufttrockenes Probenmaterial zunächst mit 50 ml *aqua dest.* versetzt und 30 min abgedeckt. Danach erfolgte eine Titration mit n/100 Milchsäure. Die Pufferkapazität errechnet sich aus der Menge an Milchsäure, die notwendig ist, um den pH-Wert des Pflanzenmaterials auf 4,0 abzusenken.

#### 4.1.3 Herstellung von Modellsilagen

Für die Bereitung von Modellsilagen wurde das mit einem Großprobenhäsler zerkleinerte Pflanzenmaterial zunächst je nach erforderlicher Variante mit dem entsprechenden Zusatz versetzt. Neben den Kontrollvarianten ohne Zusatz wurde ein flüssig zu applizierendes Milchsäurebakterienpräparat (*Lactobacillus plantarum*) in der vom Hersteller empfohlenen Dosis ( $3 \cdot 10^5$  KBE·gFM<sup>-1</sup>) angewendet. Nach gewissenhafter Homogenisierung aller Varianten wurden jeweils 500 g Pflanzenmaterial in Polyethylen-tüten mit verschweißten Nähten (20 x 30 cm, Lacers, Germany) eingewogen und per Hand gut verdichtet. Die Anfertigung von Modellsilagen in Plastikbeuteln wurde bereits von JONES (1970) beschrieben. Aus den Ergebnissen von WILSON & WILKINS (1972) kann geschlossen werden, dass die Ergebnisse der chemischen Analysen von in Polyethylen-tüten siliertem Pflanzenmaterial eng mit Werten von Großraumsilos korrelieren.

Um annähernd anaerobe Bedingungen herzustellen, wurde die Luft im Beutel mittels einer Vakuumpumpe evakuiert. Durch die Verwendung einer zweiten Tüte, in die der mit einem Gummiband verschlossene erste Beutel gegeben wurde, konnte ein Lufteintritt aufgrund von Beschädigungen des ersten Beutels ausgeschlossen werden. Die ebenfalls luftevakuierte zweite Tüte wurde mit Paketband fest verklebt und bei Zimmertemperatur gelagert.

Nach Ablauf der jeweiligen Silierdauer entsprechend der Versuchsansätze wurden die Beutel zunächst bei -20°C gelagert. Nach einem schonenden Auftauen im Kühlschrank erfolgte die Öffnung, wobei die Silagen zunächst einer organoleptischen Beurteilung anhand des DLG-Bewertungsschlüssels (DLG, 2004) unterzogen wurden. Zur Extrakterstellung wurden 50 g der Silage mit 200 ml, bei sehr trockensubstanzreichen Silagen mit 300 ml *aqua dest.* versetzt, gut verrührt und abgedeckt über Nacht im Kühlschrank (4°C) aufbewahrt. Nach Filtration und Messung des pH-Wertes lagerten die Silageextrakte bis zur Analyse der Fermentationsprodukte bei -20°C.

#### 4.1.4 Bestimmung der Fermentationsprodukte

Die Fermentationsprodukte Milchsäure, Essigsäure, Propionsäure, n-Buttersäure, n-Valeriansäure, Isovaleriansäure, Ethanol, Propanol und n-Butanol wurden über HPLC bzw. Gaschromatographie unter den in Tab. 4.2 beschriebenen Analysebedingungen in den Silageextrakten bestimmt.

**Tab. 4.2: Analysebedingungen der Bestimmung der Fermentationsprodukte**

Fermentationsprodukt	Bestimmung
Milchsäure	<b>HPLC:</b> Aminex HPX87H
	Flussmittel: 10 mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	Flussrate: 0.6 ml/min
	Temperatur: 60°C
	Detektion: UV-Index bei 210 nm
Essigsäure Propionsäure n-Buttersäure n-Valeriansäure Isovaleriansäure Ethanol Propanol n-Butanol	<b>Gaschromatograph:</b> Shimadzu GC-14A, CLASS-VP
	Säule: Permabond FFAP-DF-0.25, 25 m x 0.32 mm
	Injektionsmenge: 0.5 µl mit Splitt 1:50 bis 1:70
	Injektionstemperatur: 190°C
	Ofentemperatur: 1.5 min bei 110°C konst. Aufheizphase: 12° C/min bis 170°C, 3 min konst. bei 170°C
	Trärgas: N <sub>2</sub> reinst = 1 kp/cm <sup>2</sup> ; H <sub>2</sub> = 0.6 kp/cm <sup>2</sup> Luft = 0.5 kp/cm <sup>2</sup>
	Detektor: Flammenionisationsdetektor, 190°C
	Detektorsensitivität: 10 <sup>1</sup>
	innere Standards: Isocaprionsäure für FFS n-Pentanol für Alkohole

Die Bestimmung des Ammoniak-Gehaltes (NH<sub>3</sub>) erfolgte nach der CONWAY-Methode in einer Modifikation von VOIGT & STEGER (1967).

Die ermittelten Fermentationsprodukte beziehen sich zunächst auf deren Konzentration in % des Extraktes. Durch Multiplikation dieses Wertes mit einem Faktor, der neben dem zugesetzten Wasser auch den Wassergehalt der Silageprobe berücksichtigt, kann der Gehalt in % der Originalsubstanz abgeleitet werden. Der Faktor wurde nach einer Gleichung von BLOCK & WEISSBACH (1982) berechnet.

#### 4.1.5 Herstellung von Presssaft, Auszug und Extrakt zur Messung der Osmolalität

##### *Herstellung von Presssaft*

Vor der Gewinnung von Presssaft (PS) wurden sowohl das unsilierte Pflanzenmaterial als auch die in Polyethylenbeuteln silierten Modellsilagen für mindestens eine Woche bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert, danach schonend im Kühlschrank über Nacht aufgetaut und erst dann der Pressung zugeführt. Nach GREENHILL (1964b) ist der Effekt einer solchen Behandlung die Förderung des kompletten Zusammenbruchs aller Pflanzenzellen, die vor dem Einfrieren noch nicht geplatzt waren, wodurch eine maximale Presssaftausbeute erzielt werden kann.

Die Presssaftherstellung erfolgte in Anlehnung an GREENHILL (1964b) und weitere Autoren (WEISSBACH, 1968; HEIER, 1983; STRAUB *et al.*, 1983; CLAUS, 1985; OFFER, 1997; NISHINO *et al.*, 1997) mittels einer Tinkturenpresse. Das zu pressende Pflanzen- oder Silagematerial ( $\leq 40\%$  TS) wurde in einen im unteren Drittel mit Löchern versehenen Metallzylinder gefüllt, welcher in einem Auffangbecher mit Ausgießöffnung stand. Ein hydraulisch betriebener Stempel senkt sich in den Zylinder, der Presssaft sammelt sich im Auffangbecher und kann direkt aufgefangen werden. Als Standarddruck für alle Proben wurde  $120\text{ kp}\cdot\text{cm}^{-2}$  gewählt, der Pressvorgang wurde jeweils nach einer Dauer von 2 min beendet. Nach jeder Probe wurden Zylinder und Auffangbecher mit Wasser gereinigt und gut getrocknet, um eine Verfälschung oder Verdünnung der folgenden Probe auszuschließen.

##### *Herstellung eines Auszuges*

Da bei hohen Trockensubstanzgehalten die technischen Möglichkeiten zur Presssaftgewinnung begrenzt sind, wurde für Probenmaterial mit einer TS  $> 40\%$  ein Auszug hergestellt. In Anlehnung an Angaben aus der Literatur (MADRID *et al.*, 1999; NISHINO & UCHIDA, 1999; HANG *et al.*, 2003) wird durch Einwirken von Wasser auf Pflanzen- oder Silagematerial ein Extrahieren und somit ein Übergang von Stoffen in die wässrige Phase bewirkt.

Von gemustem und gut homogenisiertem Probenmaterial mit vorher ermitteltem TS-Gehalt wurden 50 g in ein Becherglas (600 ml) eingewogen und mit *aqua dest.* versetzt, so dass im Pflanzen- oder Silagematerial ein TS-Gehalt von 20 % eingestellt wurde. Dies erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Wasserzugabe in ml je kg Ausgangsmaterial} = \frac{100 \cdot (10 \cdot p - w)}{100 - p}$$

p = % Wasser in Zieltrockensubstanzstufe

w = Wassermenge in ml in 1 kg Ausgangsmaterial

Die Berechnung des Wasserentzuges beim Anwelken je kg Frischmasse erfolgt entsprechend der folgenden Formel:

$$\text{Wasserentzug in ml je kg Ausgangsmaterial} = \frac{100 \cdot (w - 10 \cdot p)}{100 - p}$$

Die Berechnung des entzogenen Wassers beim Anwelken ist Voraussetzung für die Ermittlung des Einengungsverhältnisses (s. 4.2.1.1.2).

Mit einem Glasstab wurde das Probenmaterial mit dem zugesetzten Wasser gut vermengt und abgedeckt über Nacht im Kühlschrank (4°C) gelagert. Am nächsten Tag erfolgte ein Abpressen des Auszuges unter den bei der Presssaftgewinnung beschriebenen Bedingungen. Die Argumentation aus methodischer Sicht für diese Vorgehensweise wird unter 4.2.1.1.2 erläutert.

#### *Herstellung von Extrakten*

Entsprechend der Extraktherstellung aus Silagen zur Bestimmung der Fermentationsprodukte (s. 4.1.3) wurden aus unsiliertem Pflanzenmaterial gleichermaßen Extrakte bereitet.

#### **4.1.6 Bestimmung der Wasseraktivität**

Die Bestimmung der Wasseraktivität ( $a_w$ ) erfolgte mit dem Wasseraktivitätsmessgerät HygroPalm AW1 und der Wasseraktivitätsstation AW-DIO (Rotronic AG, Germany). Das feste oder flüssige Probenmaterial wird in einen Behälter aus Plastik (Ø ca. 4 cm) gefüllt und dieser in eine Vertiefung des unteren Teils der Wasseraktivitätsstation gestellt. Der obere Teil der Wasseraktivitätsstation wird aufgesetzt, so dass eine gut abgedichtete Sensorkammer entsteht. Über der Probe kann sich so die Gleichgewichtsfeuchte einstellen, aus welcher sich über den relativen Dampfdruck die Höhe der Wasseraktivität berechnet. Das Erreichen dieses Gleichgewichtszustandes kann je nach Feuchte der Probe unterschiedlich lange dauern. Nach Herstellerangaben erlaubt dieses Gerät aufgrund einer speziellen Softwarefunktion eine beschleunigte Messung und kann die Wasseraktivität der meisten Produkte nach 4 - 6 Minuten bestimmen.

#### 4.1.7 Bestimmung der Osmolalität

Die Messung der Osmolalität erfolgte über das Prinzip der Gefrierpunktniedrigung mittels eines Kryoskopes (Osmomat 030, Gonotec, Germany). Die Kryoskopie zählt zu den instationären thermoanalytischen Verfahren (WEISSER *et al.*, 1985), bei denen der Gefrierpunkt durch eine geeignete Temperaturmessung und -registrierung beim kontrollierten Abkühlen einer Probe über einen Halbleiter (Thermistor) mit einem stark temperaturabhängigen Widerstand (MIEBS, 1993) bestimmt wird. Abbildung 4.1 veranschaulicht das Messprinzip des Gefrierpunktsometers.

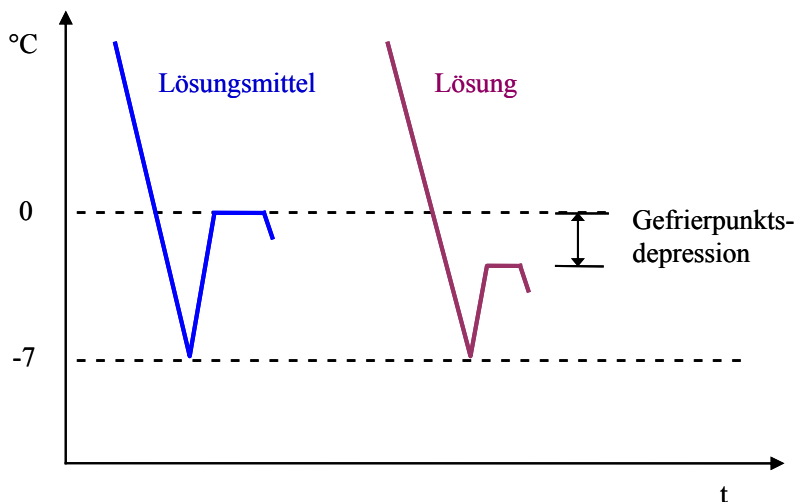


Abb. 4.1: Messprinzip des Gefrierpunktsometers Osmomat 030

Von der Probenlösung werden 50  $\mu\text{l}$  in ein Probenröhrchen pipettiert und in eine thermostatisch gesteuerte Kühleinrichtung gegeben. Danach wird die Probe kontrolliert auf  $-7^\circ\text{C}$  abgekühlt, ohne dass dabei die Lösung gefriert. Bei Erreichen dieser Temperatur wird die Eiskristallbildung induziert, d.h. die Probe wird mit Eiskristallen, die sich zuvor an einer Nadel gebildet haben, beimpft. Durch das teilweise Gefrieren der Lösung wird Kristallisationswärme abgegeben, die Temperatur steigt daraufhin an. Gleichzeitig erfolgt eine ständige Neubildung von Eiskristallen. Ein Temperaturanstieg erfolgt so lange, bis sich ein Plateau einstellt, welches durch das Gerät erfasst und automatisch unter Berücksichtigung der Kalibrierung in  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  umgerechnet wird. Der erniedrigte Gefrierpunkt der Lösung gegenüber dem des reinen Wassers ist die Gefrierpunktsdepression und Ausdruck einer erhöhten Osmolalität der Lösung gegenüber der des Lösungsmittels.

Die Eichung des Nullpunktes des Gerätes erfolgt mit destilliertem Wasser. Standardmäßig kann vom Hersteller eine Kalibrierlösung mit einer Osmolalität von  $300 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  in Ampullen abgefüllt bezogen werden. Weitere Lösungen können vom Anwender in Form von NaCl-Lösungen

( $\phi_{\text{NaCl}} = 1,86$ ) selbst hergestellt werden. Es ist möglich, das Kryoskop auf die Werte 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 750, 1000, 1200, 1800 und 2500  $\text{mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  zu eichen.

#### 4.1.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programmpaket SPSS Version 11.0 (SPSS Inc., Chicago/Illinois, USA). In den Tabellen der vorliegenden Arbeit sind zumeist Mittelwerte und Standardabweichungen ( $\pm s$ ) angegeben und signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten durch Klein- bzw. Großbuchstaben gekennzeichnet.

Paarweise Mittelwertvergleiche wurden mittels t-Test nach Student durchgeführt. Die Prüfung der Varianzhomogenität erfolgte dabei mit dem Levene-Test. Für den Vergleich von mehr als zwei Stichproben wurde eine einfaktorielle ANOVA angewendet. Bei vorliegender Varianzhomogenität wurden die Differenzen der Mittelwerte der Parameter nach dem Duncan-Test auf Signifikanz geprüft. Daten, für die keine Varianzhomogenität vorlag, wurden mittels Dunnett-T3-Test auf signifikante Unterschiede der Mittelwerte untersucht. Das Signifikanzniveau  $\alpha$  wurde auf 5 % festgelegt ( $\alpha = 0,05$ ).

Beziehungen zwischen Parametern wurden über Regressionsanalysen mit Angabe der Regressionsgleichung, des Bestimmtheitsmaßes ( $R^2$ ) und des Standardfehlers der Gleichung ( $s$ ) für die Signifikanzniveaus  $p < 0,001$ ,  $p < 0,01$  und  $p < 0,05$  ausgewiesen.

## 4.2 Ergebnisse

### 4.2.1 Methodische Untersuchungen zur Quantifizierung der Osmolalität in Pflanzen und Silagen

#### 4.2.1.1 Entwicklung einer Methode zur Osmolalitätsmessung

##### 4.2.1.1.1 Ermittlung der Osmolalität durch Messung der Wasseraktivität

Da der zur Bestimmung der Osmolalität verwendete *Osmomat 030* nur über einen Messbereich bis  $3 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  verfügt, jedoch insbesondere trockensubstanzreiche Anwelksilagen einen sehr hohen osmotischen Wert erwarten lassen, wurde angenommen, dass durch Messung der Wasseraktivität (Messbereich  $a_w$  0 bis 1) das gesamte im Hinblick auf den TS-Gehalt breite Probenspektrum ohne Komplikationen untersucht werden könnte.

Eine Überprüfung der Beziehung zwischen Osmolalität und Wasseraktivität erfolgte anhand von Salzlösungen mit bekannten  $a_w$ -Werten. Die in Tab. 4.3 aufgeführten NaCl-Lösungen sind für die Kalibrierung eines  $a_w$ -Messgerätes verwendete Salzstandards (ungesättigte Salzlösungen) mit definierter  $a_w$  nach ROBINSON & STOKES (1965).

**Tab. 4.3: Osmolalitäten unterschiedlich konzentrierter NaCl-Lösungen und daraus berechnete  $a_w$ -Werte (nach WEISSBACH, 1968) im Vergleich zu  $a_w$ -Werten nach ROBINSON & STOKES (1965)**

NaCl-Lösung [%]	$a_w$ [-] nach ROBINSON & STOKES (1965)	Osmolalität gemessen (n=3) [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	$a_w$ [-] berechnet aus Osmolalität nach WEISSBACH(1968)
1,72	0,990	0,538 ±0,001	0,990 ±0,000
3,39	0,980	1,084 ±0,002	0,981 ±0,000
5,00	0,970	1,586 ±0,001	0,972 ±0,000
6,55	0,960	2,092 ±0,010	0,964 ±0,000
7,95	0,950	2,485 ±0,009	0,957 ±0,000
9,30	0,940	2,834 ±0,010	0,951 ±0,000

In den entsprechend der Konzentrationsangabe angefertigten Lösungen ließ sich die in Tab. 4.3 dargestellte Osmolalität messen. Aus diesen Werten wurde mit Hilfe der von WEISSBACH (1968) vorgeschlagenen Gleichung [8] die Wasseraktivität berechnet (Tab. 4.3, 4. Spalte). Der Vergleich

dieser kalkulierten Werte mit den  $a_w$ -Werten nach ROBINSON & STOKES (1965) ergab, dass die Beziehung zwischen Wasseraktivität und Osmolalität nicht linear ist (Abb. 4.2).

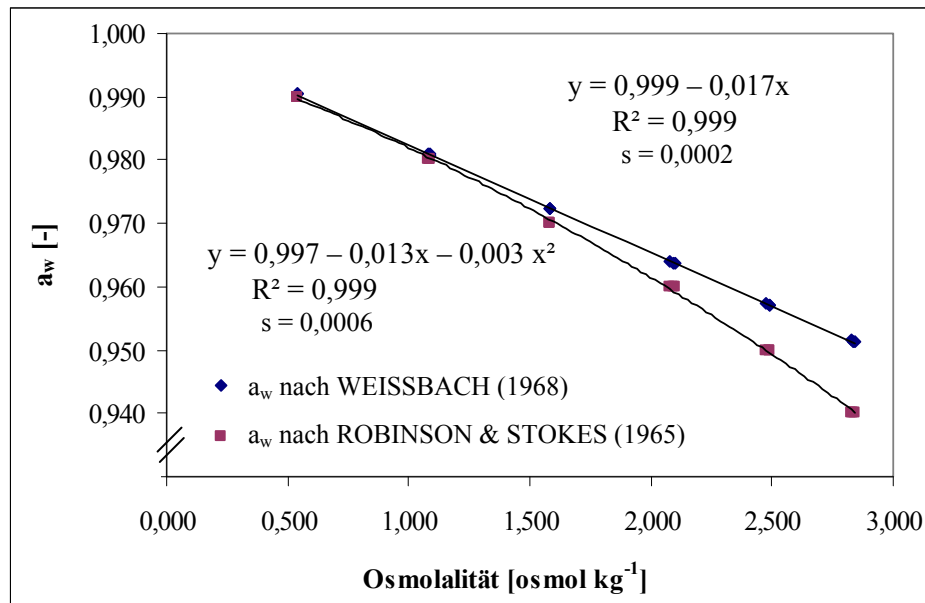


Abb. 4.2: Berechnete (nach WEISSBACH, 1968) und nach ROBINSON & STOKES (1965) angegebene Wasseraktivitäten ( $a_w$ ) von NaCl-Lösungen in Abhängigkeit ihrer Osmolalität (n=18)

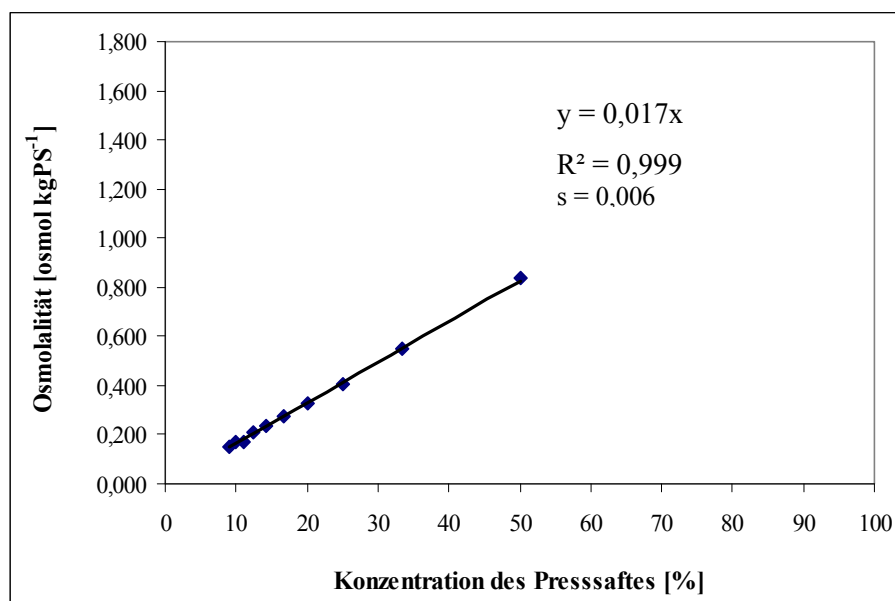
Eine Umrechnung der Wasseraktivität in die Osmolalität und umgekehrt ist mit der von WEISSBACH (1968) vorgeschlagenen Gleichung vermutlich nur für sehr verdünnte Lösungen zulässig. Da jedoch insbesondere Presssäfte von Silagen flüssige Medien sind, die eher Suspensionscharakter als Eigenschaften einer echten Lösung aufweisen und somit ihre Wasseraktivität nur bedingt in die Osmolalität umgerechnet werden kann, wurde die Messung der Wasseraktivität als nicht praktikabel angesehen und daher eine direkte Messung der Osmolalität bevorzugt. Ein weiterer Nachteil der  $a_w$ -Messung lag in der sehr langen Dauer einer Einzelmessung des HygroPalm AW1, die bis zu 70 min betrug. Mögliche Ursachen für die weit über die angegebene Probenmessdauer benötigte Zeit können laut Hersteller des  $a_w$ -Messgerätes unter anderem auf einem Temperaturfehler beruhen. Eine zu kurze Angleichzeit, starke Sonneneinstrahlung, die Nähe zu anderen Wärmequellen oder auch Luftzug sind weitere Gründe für eine verlängerte Messdauer. Ferner werden Verschmutzungen der Probe als problematisch genannt. Silagen bzw. deren Presssäfte sind als inhomogene Probenmaterialien anzusprechen. Es ist daher zu vermuten, dass präzise Messungen nicht uneingeschränkt realisierbar sind, was die Methode der  $a_w$ -Messung für die geplanten Untersuchungen als zu unverlässlich erscheinen lässt.



#### 4.2.1.1.2 Osmolalitätsmessung von verdünnten Presssäften und trockensubstanzreichem Probenmaterial

##### *Osmolalitätsmessung von verdünnten Presssäften*

Aufgrund eines hohen Anwelkgrades oder einer langen Lagerdauer können insbesondere Presssäfte von Silagen eine Osmolalität  $> 3 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  aufweisen, welche außerhalb des Messbereiches des *Osmomat 030* liegt. Als Lösung dieses methodischen Problems wurde eine Verdünnung von Proben mit hoher Osmolalität mit *aqua dest.* und eine anschließende Berechnung des originalen Osmolalitätswertes über das Verdünnungsverhältnis gesehen. Orientierende Verdünnungsreihen von Anwelksilagepresssäften (1:1, 1:2 und 1:3) ergaben nach Multiplikation mit dem Verdünnungsfaktor Werte, die durchschnittlich 8 % unter dem Originalwert der unverdünnten Probe lagen. Innerhalb einer Verdünnungsreihe unterschieden sich die korrigierten Werte jedoch nicht signifikant voneinander ( $p > 0,05$ ). In Abb. 4.3 sind die Osmolalitäten einer Verdünnungsreihe (1:1 bis 1:10) des Presssaftes einer Anwelksilage (27,6 % TS;  $1,786 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ) als Konzentration des verdünnten Presssaftes dargestellt (Verdünnung 1:1 entspricht Konzentration von 50 %).



**Abb. 4.3:** Osmolalität eines verdünnten Silagepresssaftes in Abhängigkeit der Konzentration

Ein sehr hohes Bestimmtheitsmaß und eine sehr geringe Streuung der linearen Regression der Osmolalitätswerte des verdünnten Presssaftes in Abhängigkeit seiner Konzentration bestätigen die sehr hohe Korrelation der Verdünnungen. Anhand der Gleichung kann für den unverdünnten Presssaft eine Osmolalität von  $1,700 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  berechnet werden, die um rund 5 % vom unverdünnten Wert abweicht. Die korrigierte Osmolalität verdünnter Presssäfte unterscheidet sich von nicht verdünnten Proben, wodurch sich eine Unterschätzung der originalen Werte ergibt.

Verschiedene Verdünnungsverhältnisse stehen jedoch zueinander in Beziehung und sind dadurch miteinander vergleichbar. Für die Methode zur Osmolalitätsmessung wird deshalb empfohlen, ausschließlich mit verdünnten Presssäften zu arbeiten.

#### *Osmolalitätsmessung von trockensubstanzreichem Probenmaterial*

Bei sehr trockensubstanzreichen Materialien sind der Presssaftgewinnung technische Grenzen gesetzt. Die Gewinnung einer ausreichenden Presssaftmenge war selbst bei einem technisch möglichen Maximaldruck von  $160 \text{ kp}\cdot\text{cm}^{-2}$  ausgeschlossen. Eine universelle Anwendbarkeit der Methode hinsichtlich differenzierter Probenmaterialien hätte somit nicht realisiert werden können.

In Anlehnung an Experimente von GREENHILL (1964d) wurde vor der Presssaftgewinnung vom zu untersuchenden Material ein Auszug hergestellt (s. 4.1.5). Ein Musen der Proben erzielt einen hohen Homogenisierungsgrad bei einer gleichzeitig großen Materialoberfläche, so dass die Aufnahme von zugesetztem Wasser leicht erfolgen kann.

Da es vorgesehen ist, neben Presssäften auch Auszüge im Rahmen der Osmolalitätsmessung zu verwenden, ist ein Vergleich beider Verfahren notwendig. Davon ausgehend, dass der Presssaft eine annähernd repräsentative Probe der wässrigen Phase des Pflanzenmaterials darstellt, muss eine Verdünnung im selben Verhältnis sowohl des Presssaftes als auch der wässrigen Phase des Materials zu vergleichbaren Ergebnissen führen. Für den Vergleich der Medien Presssaft und Auszug wurden bei vier unsilierten Pflanzenmaterialien und vier Silagen der gewonnene Presssaft und die wässrige Phase des jeweiligen Materials (Auszug) 1:1 verdünnt und deren Osmolalität bestimmt (Tab. 4.4).

**Tab. 4.4: Vergleich der Osmolalitätswerte der Verdünnungen von Presssaft und der wässrigen Phase (Auszug) von Silagen bzw. Pflanzenmaterial im Verhältnis 1:1 (n=3)**

Material	TS [%]	Presssaft	Auszug	Differenz [%]
		1:1 verdünnt [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	wässrige Phase 1:1 verdünnt * [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	
Dt. WG „Pastorale“	19,0	0,264 <sup>a</sup> ±0,002	0,271 <sup>b</sup> ±0,003	3
So-Wicke „Ina“	21,6	0,262 <sup>a</sup> ±0,003	0,281 <sup>b</sup> ±0,003	7
So-Triticale „Abaco“	38,1	0,329 <sup>a</sup> ±0,001	0,345 <sup>b</sup> ±0,003	5
So-Weizen „Thasos“	40,9	0,339 <sup>a</sup> ±0,002	0,365 <sup>b</sup> ±0,001	8
Anwelksilage	24,3	0,568 <sup>a</sup> ±0,004	0,593 <sup>b</sup> ±0,008	4
Maissilage	25,0	0,584 <sup>a</sup> ±0,002	0,620 <sup>b</sup> ±0,006	6
Luzernesilage	30,5	1,016 ±0,011	1,029 ±0,022	1
Kleegrassilage	38,0	1,238 <sup>a</sup> ±0,014	1,274 <sup>b</sup> ±0,008	3

<sup>a, b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede für  $p < 0,05$ .

\* Originalsubstanz [g] – TS [g] = wässrige Phase [g]; Beispiel „Pastorale“: bei 19% TS enthalten 100g Originalsubstanz 100 g – 19 g = 81 g wässrige Phase, d.h. für eine Verdünnung im Verhältnis 1:1 müssen 100 g Originalsubstanz 81 g Wasser zugesetzt werden

Die Osmolalitäten der Auszüge von Grüngut und Silage lagen mit Differenzen von durchschnittlich 4-5 % nur geringfügig über den Werten der verdünnten Presssäfte. Die Unterschiede wurden zwar bis auf eine Probe statistisch gesichert, können jedoch als absolute Werte in  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  nur als tendenzielle Abweichungen gewertet werden und sind daher als unbedeutend einzuordnen.

Wird der TS-Gehalt eines Materials durch Wasserzugabe verändert, muss die gemessene Osmolalität dieses Auszuges über das Einengungsverhältnis auf die Originalsubstanz korrigiert werden. Tabelle 4.5 zeigt die von Auszügen ermittelten Osmolalitätswerte einer Luzernesilage und die Berechnungen der jeweiligen Osmolalitäten auf die Originalsubstanz. Die Bestimmung der den Berechnungen zugrunde liegenden Einengungsverhältnisse (s. Tab. 4.5) soll durch Abb. A1 im Anhang verdeutlicht werden.

**Tab. 4.5: Einstellen definierter TS-Gehalte einer Luzernesilage (31 % TS) durch Zugabe von Wasser (Auszug) und Vergleich der Osmolalitäten durch Berechnung über das Einengungsverhältnis (EV)**

TS [%]	10	15	20	31
	(Auszug)	(Auszug)	(Auszug)	(Originalsubstanz)
$[\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}]$ (n=3)	0,538 $\pm 0,002$	0,855 $\pm 0,008$	1,206 $\pm 0,008$	2,236 $\pm 0,023$
<i>berechnet</i> (EV)	auf 10% TS	auf 15% TS	auf 20% TS	auf 31% TS
von 10 % TS	-	0,855 (1,59)	1,211 (2,25)	2,174 (4,04)
von 15 % TS	0,538 (1,59)	-	1,206 (1,41)	2,180 (2,55)
von 20 % TS	0,536 (2,25)	0,855 (1,41)	-	2,171 (1,80)

*kursiv*: berechnete Werte; Werte in Klammern: Einengungsverhältnis

Die Ergebnisse aus Tab. 4.5 zeigen, dass der originale Wert der Silage von  $2,236 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  durch Auszugherstellung um weniger als 3 % unterschätzt wurde (Mittelwert der korrigierten Auszüge:  $2,175 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Durch Anwendung des Einengungsverhältnisses lassen sich die Osmolalitätswerte der Auszüge ineinander umrechnen.

Die Messung der Osmolalität verdünnter Presssäfte mit anschließender Korrektur durch den Verdünnungsfaktor spiegelt die wahren Verhältnisse des Originalpresssaftes nicht vollständig wider. Es erfolgt eine systematische Unterschätzung der Werte um durchschnittlich 7 %. Die Herstellung eines Auszuges bei trockensubstanzreichem Material konnte als eine Alternative zur Presssaftgewinnung herausgestellt werden und führt mit geringen Abweichungen von durchschnittlich 4 - 5 % zu denselben Ergebnissen wie die Messungen verdünnter Presssäfte. Um eine Osmolalitätsmessung sowohl von Presssäften mit hohen Osmolalitäten als auch von sehr trockensubstanzreichem Pflanzen- oder Silagematerial zu ermöglichen, wird für die Methode der Osmolalitätsmessung empfohlen, Presssäfte generell zu verdünnen und bei sehr trockenem

Material, bei dem eine Presssaftgewinnung nicht möglich ist, einen Auszug herzustellen. Zwar konnte gezeigt werden, dass bei diesen Verfahrensweisen die wahren Osmolalitätswerte generell unterschätzt werden. Es handelt sich dabei jedoch um eine systematische Abweichung, welche die Vergleichbarkeit der Ergebnisse untereinander ermöglicht.

#### **4.2.1.1.3 Vorschrift zur Methode der Osmolalitätsmessung in Presssaft, Auszug und Extrakt von Pflanzen und Silagen**

##### Prinzip

Um die Osmolalität in der wässrigen Phase messen zu können, wird von gemustem Pflanzen- und Silagematerial Presssaft, ein Auszug oder ein Extrakt hergestellt. In diesen Medien wird über ein Osmometer, das mit dem Prinzip der Gefrierpunktniedrigung arbeitet, die Osmolalität bestimmt.

##### Geräte und Chemikalien

- Fleischwolf (HU-1, Ascobloc, VEB Gößnitz, GDR)
- Tinkturenpresse
- Bechergläser (600 ml) und Glasstäbe
- Reagenzgläser (10 cm ohne Schliff)
- Aluminiumfolie
- Pipetten (einstellbar auf 1 ml und 50 µl)
- Reagenzglasschüttler (Vortex Genie 2, Bender & Hobein AG, Switzerland)
- Wasserbad (Type 1003, GFL, Germany)
- Zentrifuge (Megafuge 1.0 R, Heraeus, Germany)
- Gefrierpunktsmometer (Osmomat 030, Gonotec, Germany) und Messgefäße
- destilliertes Wasser
- NaCl-Lösungen (selbst herzustellen zu 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 750, 1000, 1200, 1800 und 2500 mosmol·kg<sup>-1</sup>)

##### Durchführung

###### *Herstellung von Presssäften, Auszügen und Extrakten*

Das zu untersuchende und zuvor bei -20°C gelagerte Pflanzen- und Silagematerial wird im gefrorenen Zustand mit einem Fleischwolf gemust und anschließend gut homogenisiert. Bis zu einem Trockensubstanzgehalt von 40 % erfolgt mittels einer Tinkturenpresse direkt eine

Presssaftgewinnung bei standardisiertem Druck ( $120 \text{ kp}\cdot\text{cm}^{-2}$ , 2 min). Bis zur weiteren Analyse wird der Presssaft bei  $-20^\circ\text{C}$  aufbewahrt. Bei Material, das einen Trockensubstanzgehalt  $> 40 \%$  aufweist, wird durch Zugabe von *aqua dest.* ein Trockensubstanzgehalt von  $20 \%$  eingestellt. Dazu werden  $50 \text{ g}$  gemustes Probenmaterial in ein Becherglas gegeben, mit der entsprechenden Menge Wasser versetzt, mit einem Glasstab vermischt und abgedeckt über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Am nächsten Tag wird der Auszug ebenfalls abgepresst und eingefroren. Für den Extrakt werden  $50 \text{ g}$  gemustes Probenmaterial in einem Becherglas mit  $200 \text{ ml}$  *aqua dest.* versetzt, mit einem Glasstab gut verrührt und über Nacht im Kühlschrank gelagert. Am nächsten Tag erfolgt ein Abfiltrieren.

### *Probenaufbereitung*

Zur Bestimmung der Osmolalität werden die aufgetauten Presssäfte, Auszüge oder Extrakte in Reagenzgläser pipettiert. Von allen drei Medien werden für jede Probe drei Parallelen angefertigt. Die Presssäfte werden im Verhältnis  $1:1$  mit *aqua dest.* verdünnt und mit einem Reagenzglasschüttler gut vermischt. Bei Auszügen und Extrakten erfolgt keine Verdünnung. Um die in den Proben enthaltenen Kristallisationskeime (z.B. gelöste Gase) zu eliminieren und somit eine vorzeitige Kristallisation der Proben zu verhindern, werden diese für  $2 \text{ min}$  nahe des Siedepunktes bei  $80^\circ\text{C}$  im Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen erfolgt ein Zentrifugieren ( $10 \text{ min}$  bei  $20^\circ\text{C}$  und  $4.000 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Der klare Überstand wird vorsichtig in ein sauberes Reagenzglas überführt und vor der Messung nochmals gut durchmischt.

### *Messung der Osmolalität*

Die Kalibrierung des Nullpunktes des Gefrierpunktosmometers erfolgt mit destilliertem Wasser. Sowohl für Kalibrierungen als auch für Probenmessungen werden  $50 \mu\text{l}$  in ein Messgefäß des Osmometers pipettiert. Nach jeder Eichung ist die Genauigkeit mit einer wiederholten Messung zu überprüfen. Bei Abweichungen vom exakten Nullpunkt ist erneut zu kalibrieren.

Im Anschluss an die Kalibrierung des Nullpunktes wird vor der Probenmessung das Osmometer mit einer NaCl-Lösung bekannter Osmolalität geeicht ( $100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 750, 1200, 1800$  oder  $2500 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Die dafür benötigte Konzentration der NaCl-Lösung ist über das Molgewicht und den osmotischen Koeffizienten ( $\phi=1,86$ ) zu berechnen. Grundsätzlich ist in dem jeweiligen Messbereich der Proben zu kalibrieren. Auch hier muss die Genauigkeit der Eichung überprüft werden, bevor die Proben gemessen werden können. Bei Messreihen längerer Dauer empfiehlt sich eine wiederholte Kalibrierung. Die gemessenen Osmolalitätswerte müssen im Hinblick auf die Verdünnung (Presssaft) oder entsprechend der Originaltrockensubstanz des Materials (Auszug bzw. Extrakt) korrigiert werden.

#### 4.2.1.1.4 Verifizierbarkeit der Methode zur Messung der Osmolalität

##### *Genauigkeit der Kalibrierung*

Für die Genauigkeit der Osmolalitätsmessung ist die Kalibrierung des Kryoskopes von entscheidender Bedeutung (SCHÄFER, 1986). Da RÜEGG *et al.* (1981) eine Eichung des Gerätes möglichst nahe des zu erwartenden Messwertes der Probenlösung empfehlen, jedoch nur eine standardisierte Eichlösung ( $300 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) von Herstellerseite vorliegt, musste die Genauigkeit von selbst angefertigten Lösungen über den gesamten Messbereich geprüft werden (Abb. 4.4).

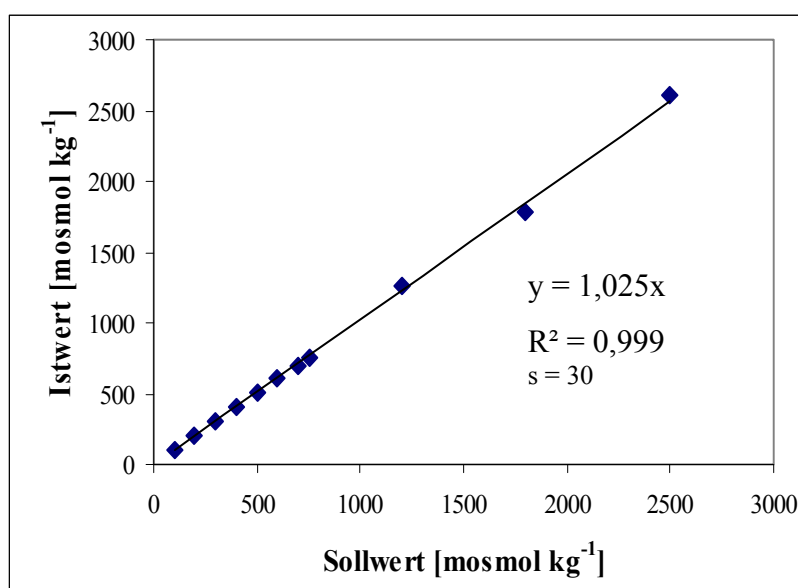


Abb. 4.4: Vergleich von Ist- und Sollwerten selbst hergestellter NaCl-Lösungen zur Kalibrierung (n=3)

Indem zunächst eine Kalibrierung mit der Standard Eichlösung ( $300 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) erfolgte, waren im Bereich  $100$  bis  $700 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  keine Diskrepanzen zwischen Ist und Soll zu verzeichnen. In den folgenden Messpunkten nahm die Ungenauigkeit des Istwertes zu, so dass bei  $2500 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  die höchste Abweichung von  $76 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  auftrat. Dies betont nochmals die Empfehlung der messwertnahen Kalibrierung. Eine Eichung mit  $1800 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  im Bereich der Messungen von  $1200$  bis  $2500 \text{ mosmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  führte zu einer nahezu optimalen Korrelation ( $y=1,016x$ ;  $R^2=0,9996$ ;  $s=14$ ).

##### *Einfluss von Temperatur und Dauer der Erhitzung bei der Probenaufbereitung*

Es zeigte sich, dass Presssäfte von Pflanzen und Silagen nur bedingt ohne geeignete Vorbehandlung messbar sind. Durch Kristallisationskeime (z.B. gelöste Gase) wird eine Eisbildung vor Erreichen der Auslösetemperatur des Gefrierpunktometers verursacht (spontane Kristallisation), worauf das Gerät den Messvorgang vorzeitig abbricht. Ein Erwärmen der Probe vor der Messung kann dem laut Herstellerangaben entgegenwirken. Zur Beurteilung des Wärmeeinflusses wurde Presssaft einer

Luzernesilage (30,5 % TS) vor der Osmolalitätsmessung bei unterschiedlichen Temperaturen erwärmt (Tab. 4.6).

**Tab. 4.6: Einfluss der Temperatur auf die Osmolalitätsmessung bei der Presssaftaufbereitung (n=3)**

°C	30	40	50	60	70	80	90	100
spontane Kristallisation (Anzahl von 3)	3	2	2	1	1	0	0	0
Osmolalität [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	-	2,186	2,190	2,194/ 2,199	2,207/ 2,215	2,233 ±0,013	2,257 ±0,011	2,240 ±0,004

Die geringe Erwärmung des Presssaftes bei 30°C führte bei allen Messungen zu einer spontanen Kristallisation. Wurden die Temperaturen in Schritten von jeweils 10°C erhöht, traten bis zu 70°C weiterhin teilweise Fehlmessungen auf. Erst ab einer Temperatur von 80°C konnten die Proben störungsfrei gemessen werden. Eine weitere Erhöhung der Temperatur auf 90 und 100°C führte nur zu unbedeutenden Unterschieden in den Osmolalitätswerten. Für die weitere Methodenanwendung wurde daher ein Erwärmen der Proben auf 80°C festgelegt. Sowohl Temperatur als auch Erhitzungsdauer kommen damit den Empfehlungen von ENGLAND & NEFF (1963) nahe, zur Eliminierung von Kristallisationskeimen eine fünfminütige Erwärmung von Proben bei 75°C vorzunehmen.

Zur Standardisierung der Erhitzungsdauer wurde Presssaft von Luzerne unterschiedlich lange erwärmt und im Anschluss daran die Osmolalität bestimmt (Tab. 4.7).

**Tab. 4.7: Einfluss der Dauer des Erhitzens auf die Osmolalität (n=4)**

Erhitzen [min]	1	2	3	4	5	10
Osmolalität [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	0,530 ±0,001	0,535 ±0,001	0,537 ±0,003	0,536 ±0,001	0,539 ±0,001	0,543 ±0,001

Durch das Erwärmen der Proben war ein zeitabhängiger leichter Anstieg der Osmolalität zu verzeichnen. Die Unterschiede zwischen den Zeiten sind jedoch gerade im Zeitintervall zwischen 1 und 4 min als sehr gering und tendenziell einzustufen und daher ohne Bedeutung. Als Standard für das Erhitzen wurde eine Dauer von 2 min festgelegt. Diese Zeit ist in jedem Falle ausreichend, um die Proben vollständig zu erwärmen und dadurch Kristallisationskeime zu entfernen.

#### *Mögliche Fehlereinflüsse im Rahmen der Osmolalitätsmessung*

Um Aussagen über Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Osmolalitätsmessung zu treffen, erfolgte eine Prüfung von drei systematischen Fehlereinflüssen bei der Probenverarbeitung. In

mehrfacher Wiederholung wurden Modellsilagen aus Klee gras (16,7 % TS) ohne Silierzusatz hergestellt und nach zwei Wochen geöffnet. Während bei der „Probenanfertigung“ der mögliche Fehlereinfluss in der Herstellung der Modellsilagen und der Presssaftgewinnung liegt, sind bei der „Probenaufbereitung“ die Presssaftverdünnung, das Erhitzen und Zentrifugieren Einfluss nehmende Faktoren. Die wiederholte „Messung“ erfolgte aus einer zufällig gewählten Probenaufbereitung und stellt somit die Messgenauigkeit des Gefrierpunktsmometers dar (Tab. 4.8).

**Tab. 4.8: Fehlereinfluss unterschiedlicher Faktoren bei der Osmolalitätsbestimmung von Klee grassilagen**

Fehlereinfluss	n	Mittelwert [osmol·kg <sup>-1</sup> ]	s	s%
Probenanfertigung	10	0,910	0,015	1,6
Probenaufbereitung	10	0,905	0,003	0,3
Messung	10	0,905	0,002	0,2

Anhand der prozentualen Standardabweichung vom arithmetischen Mittel ist zu erkennen, dass bei der Anfertigung der Parallelen der größte Fehler auftrat (s% = 1,6), welcher jedoch trotzdem als sehr gering gewertet werden kann. Die Probenaufbereitung hatte weitaus weniger Einfluss auf das Messergebnis (s% = 0,3). Die geringste Fehlerabweichung wurde mit einem Variationskoeffizienten von 0,2 % durch die Osmolalitätsmessung selbst verursacht, was für eine sehr gute Reproduzierbarkeit spricht und die Eignung des Osmometers unterstreicht. Da die auf die Osmolalitätsbestimmung wirkenden Einflussfaktoren nur anhand eines Probenmaterials überprüft wurden, ist diese Untersuchung nur als exemplarisch anzusehen. Es wird aber davon ausgegangen, dass sich die Ergebnisse an weiteren Proben reproduzieren lassen.

Da bei experimentellen Untersuchungen Messwiederholungen nicht auszuschließen sind, stellt sich die Frage nach der Wiederholbarkeit von Osmolalitätsmessungen. Zu diesem Zweck wurde die Osmolalität in den Medien Presssaft, Auszug und Extrakt an drei aufeinander folgenden Tagen bestimmt (Tab. 4.9). Zwischen den Messtagen wurden die Proben gemäß der Methodenvorschrift bei -20°C eingefroren und für jede Bestimmung wieder schonend aufgetaut.

**Tab. 4.9: Osmolalitätsbestimmung von Presssaft (PS), Auszug und Extrakt zu verschiedenen Messtagen (n=10)**

Probenmaterial	Tag 1	Tag 2	Tag 3
	[osmol·kg <sup>-1</sup> ]	Abweichung zu Tag 1	
PS Silage (Wintergerste)	0,626 ±0,003	+ 2 %	0
Auszug (Grassilage)	1,079 ±0,007	- 5 %	- 4 %
Extrakt (Lupinenschrot)	1,410 ±0,012	+ 3 %	+ 1 %



Die Osmolalitätswerte zwischen den Messtagen unterscheiden sich bei allen Medien. Es kann jedoch keine gerichtete Veränderung in Abhängigkeit des Messtages festgestellt werden. Die sehr geringen Unterschiede sind daher von untergeordneter Bedeutung und eventuell auf Einflüsse zurückzuführen, die in Tab. 4.8 ausgewiesen wurden.

Für die geforderte Kalibrierung des Gefrierpunktsmometers nahe des zu erwartenden Messwertes sind selbst hergestellte NaCl-Lösungen definierter Osmolalität geeignet. Eine Erwärmung auf 80°C für 2 min entspricht der Empfehlung des Herstellers, Proben vor der Osmolalitätsmessung kurzzeitig nahe des Siedepunktes zu erhitzen und sichert das störungsfreie Messen aller anfallenden Proben. Wiederholte Messungen, sowohl innerhalb einer Messreihe als auch an verschiedenen Prüftagen, bestätigen die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der Methode.

#### **4.2.1.2 Presssäfte, Auszüge und Extrakte von unsiliertem und siliertem Pflanzenmaterial als Medium zur Quantifizierung der Osmolalität und weiterer ausgewählter Parameter**

Prinzipiell sind biochemische Reaktionen in Pflanzen und Silagen an das Vorhandensein von Wasser gebunden und finden somit in der wässrigen Phase des Pflanzenmaterials statt (LÖSCH, 2001). Mit der Gewinnung von Presssaft, Auszügen und Extrakten zur Messung der Osmolalität wurde unterstellt, dass es sich um repräsentative Proben der wässrigen Phase von Pflanzen- und Silagematerial handelt. Um diese Hypothese zu prüfen, erfolgten Modelluntersuchungen, die durch den Vergleich von Presssaft, Auszug und Extrakt Aussagen zulassen sollten, ob diese Medien zur Bearbeitung der in der vorliegenden Arbeit aufgestellten Arbeitshypothesen geeignet sind.

Die Untersuchungen fanden an frischem und angewelktem Deutschen Weidelgras (Dt. WG) statt. Dabei erfolgte zur Herstellung von drei Anwelkstufen eine Trocknung unter Laborbedingungen bei 30°C in einem Umlufttrockenschrank. Von einer definierten Menge Pflanzenmaterial jeder TS-Stufe wurde über eine festgelegte Zeit von 5 min Presssaft (PS) gewonnen und dessen Volumen und Gewicht sowie das Gewicht des nach der Pressung verbleibenden Presskuchens (PKu) ermittelt. Nach einer TS-Bestimmung des PKu wurde von diesem ein Auszug angefertigt und denselben Analysen wie der PS unterzogen. Sowohl vom Pflanzenmaterial als auch von PS und PKu wurden Trockensubstanz, Rohasche und Osmolalität bestimmt. In den Extrakten (50 g Pflanzenmaterial + 200 ml *aqua dest.*) wurde die Osmolalität gemessen.

Aus frischem und angewelktem Pflanzenmaterial aller vier TS-Stufen erfolgte unter Zusatz von Milchsäurebakterien ( $3 \cdot 10^5$  KBE·gFM<sup>-1</sup>) die Herstellung von Modellsilagen mit einer Lagerdauer von 48 Tagen. Die Silagen wurden hinsichtlich derselben Parameter in den genannten Medien untersucht.

Um den Einfluss der Druckhöhe auf Presssaft- bzw. Presskuchenmenge und auf die Gehalte der untersuchten Parameter zu ermitteln, wurde jedes Material sowohl bei 60 als auch bei 120 kp·cm<sup>-2</sup> gepresst. Dieser Vergleich konnte für die ersten drei TS-Stufen erfolgen. In der höchsten Anwelkstufe war bei einem Druck von 60 kp·cm<sup>-2</sup> kein Abpressen von Saft möglich, weshalb im Folgenden nur die Werte der Pressung bei 120 kp·cm<sup>-2</sup> dargestellt und ausgewertet werden können. Tabelle 4.10 zeigt die Trockensubstanz sowie ausgewählte Nährstoff- und Silierparameter des frischen Weidelgrases.

**Tab. 4.10: Chemische Charakterisierung des für die Modelluntersuchungen verwendeten frischen Deutschen Weidelgrases**

TS [%]	XA	XP	WLK [% d. TS]	XF	NDF	ADF	PK [g MS/100 g TS]
15,5	10,9	16,2	7,8	24,8	49,8	26,5	6,8

Durch Trocknung des Pflanzenmaterials wurden drei Anwelkstufen realisiert. Die Trockensubstanzen aller TS-Stufen des unsilierten Materials (F bis A3) sowie der daraus hergestellten Silagen (SF bis SA3) sind in Tab. 4.11 dargestellt.

**Tab. 4.11: Trockensubstanzgehalte der TS-Stufen von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras (n=3)**

TS [%]			
F	A1	A2	A3
15,5 ±0,0	29,2 ±0,1	35,7 ±0,2	46,4 ±0,1
SF	SA1	SA2	SA3
14,7 ±0,2	27,7 ±0,2	34,6 ±0,1	44,5 ±0,2

Das mit einer TS von 15,5 % geerntete Weidelgras wurde auf bis zu 46,4 % TS angewelkt. Die TS-Gehalte der von jeder TS-Stufe angefertigten Silagen lagen aufgrund von Verlusten während des Silierens erwartungsgemäß geringfügig unter den Werten des unsilierten Materials.

#### *Verhältnis von Presssaft und Presskuchen*

Zur Erfassung der potentiell abpressbaren Menge an Presssaft in Abhängigkeit von TS-Gehalt und Druckhöhe wurde sowohl von unsiliertem Material als auch von Silagen eine exakt abgewogene Menge der Pressung zugeführt und Presssaftvolumen und –gewicht sowie Presskuchengewicht

ermittelt. Die in Tab. 4.12 dargestellten Ergebnisse beziehen sich auf jeweils 1000 g gepresste Frischmasse (FM) unsiliertes (F bis A3) bzw. siliertes (SF bis SA3) Material.

**Tab. 4.12: Anteile an Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) je 1000 g Frischmasse (FM) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3)**

TS-Stufe	Druck [kp·cm <sup>-2</sup> ]		PS [ml]		PS [g]		PKu [g]	PS + PKu [g]	Differenz [%]
je 1000 g FM									
F	60	A	611,3 ±8,2	A	617,0 ±3,7	B	366,8 ±0,7	983,8	1,6
	120		625,8 ±20,2		625,3 ±18,7		331,5 ±29,5	956,8	4,3
A1	60	A	362,5 ±22,5	A	393,1 ±22,1	B	592,0 ±25,9	985,1	1,5
	120		387,5 ±13,9		418,7 ±11,6		562,9 ±11,4	981,6	1,8
A2	60	A	241,7 ±14,4	A	264,9 ±15,9	B	727,4 ±17,6	992,3	0,8
	120		241,7 ±2,9		273,2 ±1,9		717,9 ±6,2	991,1	0,9
A3	120		91,7 ±4,0		106,6 ±5,4		877,3 ±4,3	983,9	1,6
SF	60	B	723,3 <sup>a</sup> ±2,9	B	733,9 <sup>a</sup> ±6,7	A	254,5 <sup>b</sup> ±8,7	988,4	1,2
	120		747,5 <sup>b</sup> ±2,5		760,5 <sup>b</sup> ±3,8		226,7 <sup>a</sup> ±10,9	987,2	1,3
SA1	60	B	440,8 ±13,8	B	459,5 ±11,2	A	540,0 ±6,5	999,5	0,1
	120		448,3 ±1,4		476,9 ±18,3		520,2 ±18,2	997,1	0,3
SA2	60	B	272,0 ±17,4	B	292,2 ±7,4	A	695,2 ±5,5	987,4	1,3
	120		282,7 ±18,0		310,1 ±19,5		678,9 ±19,9	989,0	1,1
SA3	120		110,4 ±19,1		114,1 ±20,3		873,8 ±18,3	987,9	1,2

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Spalte und TS-Stufe bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben innerhalb einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters zwischen unsiliertem und siliertem Material gleicher TS-Stufe (Druckstufen zusammengefasst) für p<0,05.

Eine Erhöhung der Trockensubstanz im Pflanzen- bzw. Silagematerial führt erwartungsgemäß zu einer Verringerung des abpressbaren Volumens und der Menge des Presssaftes. Gleichzeitig kommt es zu einem Anstieg des PKu-Anteils von F bis A3 bzw. SF bis SA3. Bei einer Summierung von PS und PKu können in allen TS-Stufen Differenzen zwischen 0,1 und 4,3 % (berechnet auf 1000 g FM) festgestellt werden, welche auf Verluste während des Pressvorgangs zurückzuführen sind, jedoch als sehr gering eingestuft werden können. Bis auf die Parameter der TS-Stufe SF zeigte eine Druckerhöhung von 60 auf 120 kp·cm<sup>-2</sup> keinen Einfluss auf die Höhe von Volumen und Gewicht des PS bzw. Menge des PKu. Zum Vergleich der unsilierten mit der silierten TS-Stufe erfolgte daher eine zusammengefasste Auswertung. Bis auf die höchste Anwelkstufe konnten dadurch in den Silagen signifikant höhere PS-Ausbeuten und damit einhergehend geringere PKu-Mengen nachgewiesen werden.

### Trockensubstanz

Die Trockensubstanz nimmt in Form der Gesamtheit aller gelösten Stoffe Einfluss auf die Osmolalität. Da für den PS eine Dichte  $> 1$  bestimmt werden kann (vgl. Tab. 4.12, PS [g]/PS [ml]), ist davon auszugehen, dass im PS ein gewisser Anteil der TS wieder zu finden ist. In Tab. 4.13 sind die TS-Gehalte von Presssäften und Presskuchen aller TS-Stufen des unsilierten und silierten Pflanzenmaterials dargestellt.

**Tab. 4.13: TS-Gehalte von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3)**

TS-Stufe	TS [%]			
	PS		PKu	
	60 kp·cm <sup>-2</sup>	120 kp·cm <sup>-2</sup>	60 kp·cm <sup>-2</sup>	120 kp·cm <sup>-2</sup>
F	5,0 <sup>A</sup> ±0,0	5,1 <sup>A</sup> ±0,1	32,8 <sup>A</sup> ±0,4	34,4 <sup>A</sup> ±2,5
A1	11,2 <sup>B</sup> ±0,2	11,1 <sup>B</sup> ±0,2	41,1 <sup>B</sup> ±1,3	42,3 <sup>B</sup> ±1,0
A2	15,0 <sup>C</sup> ±0,1	15,0 <sup>C</sup> ±0,1	43,4 <sup>aC</sup> ±0,3	44,2 <sup>bB</sup> ±0,4
A3	-	19,2 <sup>D</sup> ±0,7	-	48,9 <sup>C</sup> ±0,9
SF	5,9 <sup>A</sup> ±0,1	5,8 <sup>A</sup> ±0,1	40,3 <sup>AB</sup> ±1,4	43,3 <sup>A</sup> ±1,3
SA1	11,8 <sup>B</sup> ±0,2	12,2 <sup>B</sup> ±0,3	41,4 <sup>A</sup> ±0,4	42,7 <sup>A</sup> ±1,6
SA2	16,3 <sup>C</sup> ±0,1	16,2 <sup>C</sup> ±0,0	43,1 <sup>B</sup> ±0,3	43,6 <sup>A</sup> ±0,5
SA3	-	20,6 <sup>D</sup> ±0,2	-	47,4 <sup>B</sup> ±0,7

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile und eines Mediums bedeuten signifikante Unterschiede für  $p < 0,05$ .

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben innerhalb einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb der silierten bzw. unsilierten Variante für  $p < 0,05$ .

Die TS-Gehalte der Presssäfte im unsilierten Pflanzenmaterial erhöhen sich entsprechend der steigenden TS-Stufen signifikant von 5,0 % (F) auf 19,2 % (A3). In der jeweils vergleichbaren TS-Stufe der Silagen liegen die Werte geringfügig höher, wobei die Gehalte ebenfalls signifikant zwischen 5,8 % (SF) und 20,6 % (SA3) variieren. Gesicherte Unterschiede zwischen den Druckstufen konnten beim PS nicht festgestellt werden.

Die TS-Gehalte der Presskuchen lagen erwartungsgemäß über den TS-Gehalten der ungepressten Materialien und variierten im unsilierten Pflanzenmaterial zwischen 32,8 % (F) und 48,9 % (A3), in den Silagen zwischen 40,3 % (SF) und 47,4 % (SA3). Der einzige signifikante Unterschied in Bezug zu einer Druckerhöhung konnte beim PKu in der TS-Stufe A2 festgestellt werden. Innerhalb jeder Druckstufe wurde eine Zunahme des TS-Gehaltes des PKu mit steigender Anwelkstufe im unsilierten Pflanzenmaterial deutlicher als bei den Silagen.

Auf Basis der relativen TS-Gehalte von Tab. 4.13 wurden die absoluten Mengen an TS in PS und PKu berechnet und mit der Gesamt-TS der Ausgangsmaterialien verglichen (Tab. 4.14).

**Tab. 4.14: Absolute Mengen an Trockensubstanz (TS) [g·kgFM<sup>-1</sup>] von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken**

TS-Stufe	TS gesamt [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	Druck [kp·cm <sup>-2</sup> ]	TS des PS [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	TS des PKu [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	Σ PS + PKu [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	Differenz [%]
F	155	60	30,7	120,3	151,0	2,6
		120	31,8	114,1	145,9	5,9
A1	292	60	44,1	243,4	287,5	1,5
		120	46,4	238,1	284,5	2,6
A2	357	60	39,9	315,7	355,6	0,4
		120	41,0	317,5	(358,5)	(0,4)
A3	464	120	20,5	429,4	449,9	3,0
SF	147	60	42,9	102,5	145,4	1,1
		120	44,3	98,2	142,5	3,1
SA1	277	60	54,0	223,7	(277,7)	(0,3)
		120	58,1	222,3	(280,4)	(1,2)
SA2	346	60	47,5	299,8	(347,3)	(0,4)
		120	50,2	296,0	(346,2)	(0,1)
SA3	445	120	23,5	414,3	437,8	1,6

Während die relativen TS-Gehalte im PS mit steigender TS-Stufe ebenfalls ansteigen (vgl. Tab. 4.13), werden für die absoluten Mengen zunächst nur bis A1 resp. SA1 steigende TS-Werte berechnet, danach erfolgt ein Rückgang der absoluten TS bis hin zu A3 resp. SA3. Für die absolute TS des PKu kann ein kontinuierlicher Anstieg verzeichnet werden.

In der Summe der TS von PS und PKu ergaben sich Abweichungen zur Gesamt-TS des jeweiligen Ausgangsmaterials zwischen 0,4 und 5,9 %, welche unter Umständen auf Schwächen in der Probennahme oder Analyse zurückzuführen sind. Werte in Klammern stellen Ergebnisse dar, bei denen die Summe der TS von PS und PKu einen höheren Wert als im Ausgangsmaterial ergab. Auch hier könnten Analysefehler die Ursache sein. Insgesamt gesehen sind jedoch sowohl die positiven wie auch negativen Abweichungen als gering zu betrachten, so dass die Gesamt-TS durch die Summierung der einzelnen Medien nahezu vollständig erfasst wurde.

### Rohasche

Die Rohasche (XA) hat als Summe der anorganischen Bestandteile einer Pflanze einen maßgeblichen Anteil an der Höhe der Osmolalität, weshalb es sinnvoll ist, diesen Parameter zu bestimmen. Tabelle 4.15 zeigt die XA-Gehalte von Presssaft und Presskuchen des unsilierten und silierten Deutschen Weidelgrases der verschiedenen TS-Stufen bei unterschiedlichen Druckstufen.

**Tab. 4.15: XA-Gehalte von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3)**

TS-Stufe	XA [% d. TS]			
	PS		PKu	
	60 kp·cm <sup>-2</sup>	120 kp·cm <sup>-2</sup>	60 kp·cm <sup>-2</sup>	120 kp·cm <sup>-2</sup>
F	28,5 ±1,2	28,8 ±0,2	5,9 <sup>A</sup> ±0,4	5,5 <sup>A</sup> ±0,2
A1	28,0 ±0,4	28,7 ±0,6	7,4 <sup>B</sup> ±0,3	7,1 <sup>B</sup> ±0,2
A2	28,3 ±2,2	28,6 ±1,3	8,0 <sup>BB</sup> ±0,0	7,8 <sup>aC</sup> ±0,1
A3	-	29,2 ±1,0	-	9,5 <sup>D</sup> ±0,1
SF	27,0 ±0,7	27,1 <sup>AB</sup> ±1,0	4,6 <sup>A</sup> ±0,1	4,6 <sup>A</sup> ±0,4
SA1	28,1 ±0,5	27,8 <sup>A</sup> ±0,1	7,0 <sup>B</sup> ±0,2	6,8 <sup>B</sup> ±0,3
SA2	27,6 ±0,6	27,2 <sup>A</sup> ±0,4	8,2 <sup>C</sup> ±0,1	8,1 <sup>C</sup> ±0,2
SA3	-	29,8 <sup>B</sup> ±0,4	-	10,0 <sup>D</sup> ±0,2

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile und eines Mediums bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.  
<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben innerhalb einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb der silierten bzw. unsilierten Variante für p<0,05.

Die XA-Gehalte bleiben im PS über alle TS-Stufen auf nahezu gleichem Niveau, wobei auch keine signifikanten Unterschiede zwischen den Druckstufen festzustellen sind. Im PKu hingegen nehmen die Gehalte von F bzw. SF bis A3 bzw. SA3 kontinuierlich auf nahezu das Doppelte des Ausgangswertes zu, liegen aber deutlich unter den Werten des PS. Zwischen den Druckstufen war lediglich in A2 ein gesicherter Unterschied nachweisbar. Tabelle 4.16 zeigt die absoluten Mengen an XA in PS und PKu, welche aus den relativen Gehalten berechnet wurden.

**Tab. 4.16: Absolute Mengen an Rohasche (XA) [g·kgFM<sup>-1</sup>] von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken**

TS-Stufe	XA gesamt [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	Druck [kp·cm <sup>-2</sup> ]	XA des PS [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	XA des PKu [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	Σ PS + PKu [g·kgFM <sup>-1</sup> ]	Differenz [%]
F	16,3	60	8,8	7,1	15,9	2,5
		120	9,1	6,3	15,4	5,5
A1	30,1	60	12,3	17,9	(30,2)	(0,3)
		120	13,3	16,8	30,1	0
A2	37,5	60	11,3	25,4	36,7	2,1
		120	11,7	24,9	36,6	2,4
A3	48,3	120	6,0	40,7	46,7	3,3
SF	16,3	60	11,6	4,7	16,3	0
		120	12,0	4,5	(16,5)	(1,2)
SA1	30,2	60	15,2	15,6	(30,8)	(2,0)
		120	16,1	15,1	(31,2)	(3,3)
SA2	37,4	60	13,1	24,6	(37,7)	(0,8)
		120	13,6	24,1	(37,7)	(0,8)
SA3	49,8	120	7,0	41,3	48,3	3,0

Die absoluten XA-Mengen steigen mit zunehmendem TS-Gehalt der Ausgangsmaterialien ebenfalls an. Ähnlich den Ergebnissen der TS-Mengen ist auch bei der XA im PS nach einem Anstieg bis A1 resp. SA1 ein Rückgang bis A3 resp. SA3 zu verzeichnen, während im PKu die Mengen von F bis A3 resp. SF bis SA3 kontinuierlich ansteigen. Bei der Summierung der XA-Mengen von PS und PKu ergeben sich wiederum geringfügige Abweichungen in Bezug zur Gesamtmenge, die zwischen 0 und 5,5 % liegen.

### Osmolalität

Da die Osmolalität per Definition die Konzentration der osmotischen Teilchen in 1 kg des Lösungsmittels wiedergibt, ist davon auszugehen, dass in den verschiedenen Medien der gleiche Osmolalitätswert ermittelt werden kann. Um dies zu prüfen wurde die Osmolalität in Extrakt, PS und PKu gemessen, wobei aufgrund der hohen TS-Gehalte des PKu von diesem ein Auszug hergestellt wurde. Die ermittelten Werte des Extraktes und des Auszuges (PKu) wurden entsprechend der zugesetzten Wassermenge über das Einengungsverhältnis auf die Original-TS korrigiert, um sie mit den Werten des Presssaftes vergleichbar zu machen (Tab. 4.17).

**Tab. 4.17: Osmolalität von Extrakt, Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3)**

TS-Stufe	Osmolalität [osmol·kg <sup>-1</sup> ]				
	Extrakt	PS		PKu	
		60 kp·cm <sup>-2</sup>	120 kp·cm <sup>-2</sup>	60 kp·cm <sup>-2</sup>	120 kp·cm <sup>-2</sup>
F	0,490 ±0,018	0,439 ±0,035	0,453 ±0,006	0,503 ±0,029	0,499 ±0,050
A1	1,187 <sup>b</sup> ±0,036	1,062 <sup>a</sup> ±0,016	1,047 <sup>a</sup> ±0,010	1,250 <sup>c</sup> ±0,009	1,243 <sup>c</sup> ±0,013
A2	1,428 ±0,001	1,447 ±0,013	1,446 ±0,010	1,524 ±0,041	1,515 ±0,037
A3	2,443 <sup>b</sup> ±0,045	-	2,167 <sup>a</sup> ±0,027	-	2,490 <sup>b</sup> ±0,082
SF	0,629 <sup>a</sup> ±0,040	0,861 <sup>b</sup> ±0,019	0,832 <sup>b</sup> ±0,020	0,852 <sup>b</sup> ±0,004	0,856 <sup>b</sup> ±0,009
SA1	1,559 <sup>a</sup> ±0,059	1,718 <sup>b</sup> ±0,016	1,711 <sup>b</sup> ±0,033	1,666 <sup>b</sup> ±0,038	1,686 <sup>b</sup> ±0,015
SA2	1,960 <sup>a</sup> ±0,097	2,322 <sup>c</sup> ±0,015	2,317 <sup>bc</sup> ±0,025	2,261 <sup>bc</sup> ±0,022	2,262 <sup>b</sup> ±0,007
SA3	2,874 <sup>a</sup> ±0,045	-	3,210 <sup>b</sup> ±0,082	-	3,124 <sup>b</sup> ±0,041

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.

Erwartungsgemäß steigt die Osmolalität in allen Medien mit zunehmender TS aufgrund der relativen Erhöhung osmotisch wirksamer Teilchen durch Wasserentzug stark an. Als Folge von Fermentationsprozessen steigt ebenfalls die Menge osmotischer Teilchen, weshalb die silierte TS-Stufe eine höhere Osmolalität gegenüber der jeweils nicht silierten aufweist.

Im unsilierten Pflanzenmaterial der Stufen F und A2 können zwischen den Osmolalitätswerten von Extrakt, PS und PKu keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, wohingegen sich bei A1

die Osmolalitäten aller Medien voneinander unterscheiden. In der TS-Stufe A3 hingegen ist der Osmolalitätswert des PS signifikant von den Werten des Extraktes und des PKu verschieden. In den Silagen weist in jeder TS-Stufe der Extrakt die geringste Osmolalität auf. PS und PKu unterscheiden sich bis auf SA2 nicht voneinander. Die Höhe des einwirkenden Druckes hatte weder beim unsilierten noch beim silierten Pflanzenmaterial einen signifikanten Einfluss auf den Osmolalitätswert von PS oder PKu.

Bis auf einige Ausnahmen wird die Osmolalität im Extrakt gegenüber PS und PKu unterschätzt. Da in diesem Medium die größte Umrechnung in Bezug auf die Original-TS erfolgt, ist eine Potenzierung von eventuellen Messungenauigkeiten im Extrakt wahrscheinlicher als im PKu. Es kann jedoch gesagt werden, dass die Unterschiede zwischen den drei Medien in einem noch zu tolerierenden Bereich liegen, weshalb davon auszugehen ist, dass Extrakt, PS und PKu insgesamt geeignet sind, die Osmolalität der wässrigen Phase der Pflanze zu repräsentieren.

In den Medien Presssaft und Auszug (Presskuchen) von Deutschem Weidelgras vier verschiedener TS-Stufen konnten wie auch in der Frischmasse bzw. im Extrakt sowohl im unsilierten als auch silierten Material Trockensubstanz, Rohasche und Osmolalität nachgewiesen werden. Pflanzen- und Silagematerial kann in Presssaft und Presskuchen getrennt werden, wobei in beiden Fraktionen der Nachweis von Trockensubstanz und Inhaltsstoffen möglich ist.

Der Abpressgrad, d.h. die Menge gewonnenen Presssaftes, verringert sich mit steigender Trockensubstanz des Substrates. Bezogen auf 1000 g Frischmasse wurden in der Summe sowohl mit der Menge an Presssaft und Presskuchen als auch mit Ermittlung der untersuchten Parameter in diesen Medien die Gesamtmengen der jeweiligen Gehalte nahezu vollständig erfasst.

Die Osmolalität konnte in allen untersuchten Medien bestimmt werden und war teilweise signifikant verschieden. Zwischen PS und PKu konnten dabei weniger Unterschiede festgestellt werden als zwischen dem Extrakt und diesen Medien. Dennoch kann die Messung im Extrakt, besonders im Hinblick auf die einfache Herstellung dieses Mediums, empfohlen werden.

Generell konnten anhand der Osmolalitätswerte und der Gehalte weiterer untersuchter Parameter keine Unterschiede zwischen einem Pressdruck von 60 und 120  $\text{kp}\cdot\text{cm}^{-2}$  festgestellt werden, so dass davon auszugehen ist, dass bei jedem Pressvorgang dieselbe repräsentative wässrige Phase des Pflanzen- bzw. Silagematerials abgepresst wird.



## 4.2.2 Bestimmung der Osmolalität und weiterer Parameter des unsilierten Grüngutes, im Vegetationsverlauf und während des Anwelkens

### 4.2.2.1 Einfluss von Pflanzenart und -sorte auf die Osmolalität

Aufgrund genetisch bedingter pflanzentypischer Stoffwechselfvorgänge ist davon auszugehen, dass sich hinsichtlich Pflanzenarten und deren Sorten große Varianzen der Osmolalität ergeben. Aus diesem Grund wurde in einem orientierenden Screening ein heterogenes Probenspektrum untersucht. Tabelle 4.18 zeigt eine Auswahl geprüfter Arten und Sorten der Pflanzenfamilien *Leguminosae* und *Poaceae* (darunter Gräser und Getreide). Eine Auflistung aller untersuchten Probenmaterialien mit Rohaschegehalten und pH-Werten ist Tab. A3 im Anhang zu entnehmen.

Tab. 4.18: Trockensubstanz (TS), Osmolalität und  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  ausgewählter Pflanzenarten bzw. -sorten

Pflanzenart	Sorte	TS [%]	Osmolalität (n=4) [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	$\text{osmol}_{\text{TS}}$ [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]
<i>Leguminosen</i>				
Rotklee	Pirat	15,2	0,488 ±0,001	2,72 ±0,01
Ackerbohne	Music	15,3	0,467 ±0,003	2,58 ±0,02
Rotklee	Mars 2000	15,3	0,381 ±0,001	2,11 ±0,00
blaue Lupine	k.A.*	15,4	0,485 ±0,001	2,66 ±0,01
Rotklee	SLM 3.441	16,3	0,604 ±0,002	3,10 ±0,01
Seradella	k.A.	16,4	0,398 ±0,002	2,03 ±0,01
<i>Gräser</i>				
Dt. Weidelgras	Tivoli	17,2	0,519 ±0,004	2,50 ±0,02
	Orion	17,3	0,557 ±0,002	2,66 ±0,01
	Sirius	17,8	0,515 ±0,002	2,38 ±0,01
	Gemma	18,3	0,506 ±0,001	2,26 ±0,01
	Pastoral	18,5	0,571 ±0,002	2,51 ±0,01
	Sambin	18,5	0,596 ±0,001	2,62 ±0,01
<i>Getreideganzpflanzen</i>				
Hafer	Aragon	34,3	0,550 ±0,002	1,05 ±0,00
Einkorn	k.A.	34,5	0,783 ±0,002	1,49 ±0,00
Emmer	k.A.	35,3	0,709 ±0,003	1,30 ±0,01
Mais	k.A.	35,4	0,493 ±0,003	0,90 ±0,00
So-Roggen	Sorom	39,1	0,790 ±0,004	1,23 ±0,01
So-Weizen	Thasos	40,9	0,692 ±0,002	1,00 ±0,00

\* keine Angabe

In den jeweiligen Pflanzenfamilien wurden lediglich Beispiele gewählt, die sich in ihrem TS-Gehalt nur geringfügig unterscheiden. So wird unter anderem bei den Leguminosen deutlich, dass bei gleichem TS-Gehalt sowohl zwischen Pflanzenarten (Rotklee „SLM 3.441“: 0,604 osmol·kgPS<sup>-1</sup> und Seradella: 0,398 osmol·kgPS<sup>-1</sup>) als auch zwischen Sorten gleicher Pflanzenarten, z.B. bei

Rotklee („Pirat“:  $0,488 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  und „Mars 2000“:  $0,381 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ) deutliche Differenzen in der Osmolalität bestehen. Auch bei sechs Sorten des Deutschen Weidelgrases, die eine TS von rund 17 bis 18 % aufweisen, variieren die Osmolalitätswerte zwischen  $0,506$  und  $0,596 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ . Innerhalb der Gruppe der Getreideganzpflanzen liegen zwischen Pflanzenarten gleicher TS ebenfalls große Unterschiede von bis zu  $0,216 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  (s. Emmer und Mais).

Aus Tab. 4.18 lässt sich ableiten, dass ein bestimmter TS-Gehalt nicht zwingend einer definierten Osmolalität zugeordnet werden kann. Um den osmotischen Wert verschiedener Pflanzenmaterialien bei einem gegebenen TS-Gehalt vergleichen zu können, kann der Parameter **osmol<sub>TS</sub>** Verwendung finden, der die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung ausdrückt. Anders als die Osmolalität ist er nicht als die Konzentration osmotisch aktiver Teile je kg Lösungsmittel ( $\text{H}_2\text{O}$ ), sondern je kg TS des jeweiligen Pflanzenmaterials definiert und kann wie folgt ermittelt werden:

$$\text{osmol}_{\text{TS}} = \frac{\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}}{m'} = \frac{\text{osmol}\cdot\text{kg H}_2\text{O}^{-1}}{\text{kg TS}\cdot\text{kg H}_2\text{O}^{-1}} = \frac{\text{osmol}}{\text{kg TS}} \quad [12]$$

In Anlehnung an GREENHILL (1964d) drückt  $m'$  die Trockensubstanz in kg TS je kg  $\text{H}_2\text{O}$  aus. Nach Kürzen der Einheiten kann  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  als  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  angegeben werden. Für den Rotklee „Pirat“ ergibt sich beispielsweise folgende Berechnung:  $0,152 \text{ kg TS} / 0,848 \text{ kg H}_2\text{O} = 0,179 \text{ kg TS}\cdot\text{kg H}_2\text{O}^{-1}$ , so dass  $\text{osmol}_{\text{TS}} = 0,488 \text{ osmol}\cdot\text{kg H}_2\text{O}^{-1} / 0,179 \text{ kg TS}\cdot\text{kg H}_2\text{O}^{-1} = 2,72 \text{ osmol}\cdot\text{kg TS}^{-1}$ .

Das unterschiedliche osmotische Potential der Leguminosen und Gräser einerseits und der Getreidearten andererseits wird in Tab. 4.18 bereits deutlich. Das Screeningmaterial unterscheidet sich bezüglich der für jede Pflanzenfamilie charakteristischen Stoffwechselforgänge. Deshalb war zu vermuten, dass sich dies auch im Vergleich zwischen den Gruppen zeigt. In Tab. 4.19 wurden die Werte von TS, Osmolalität und  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  innerhalb der Leguminosen, Gräser und Getreideganzpflanzen zusammengefasst und einander gegenübergestellt.

**Tab. 4.19: Vergleich von Trockensubstanz (TS), Osmolalität sowie  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  der Screening-Pflanzenmaterialien**

	Leguminosen (n=22)	Gräser (n=14)	Getreideganzpflanzen (n=8)
<b>TS [%]</b>	15,5 ±2,7	18,6 ±2,1	36,9 ±2,4
min.	9,9	14,2	34,2
max.	21,6	23,6	40,9
<b>Osmolalität [osmol·kgPS<sup>-1</sup>]</b>	0,456 ±0,074	0,552 ±0,042	0,664 ±0,105
min.	0,328	0,488	0,493
max.	0,628	0,625	0,790
berechnet auf 30 % TS	1,078 ±0,166	1,045 ±0,118	0,487 ±0,081
<b>osmol<sub>TS</sub> [osmol·kgTS<sup>-1</sup>]</b>	2,52 ±0,38	2,44 ±0,27	1,14 ±0,18

Gemäß der Annahme einer hohen Korrelation zwischen TS und Osmolalität nimmt mit steigender TS der Pflanzenmaterialien die Osmolalität ebenfalls zu. Allerdings weisen bei einer ungefähr doppelt so hohen TS von 36,9 gegenüber 18,6 % die Getreideganzpflanzen verglichen mit den Gräsern eine nur um ein Fünftel höhere Osmolalität von 0,664 gegenüber 0,552  $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  auf. Um die Pflanzenfamilien miteinander vergleichbar zu machen, wurden deren Osmolalitäten auf eine TS von 30 % TS umgerechnet. Diese Verfahrensweise beruht auf der Berechnung mittels Einengungsverhältnis und ist aus methodischer Sicht gerechtfertigt (s. 4.2.1.1). Leguminosen bzw. Gräser weisen dadurch bei gleicher TS ähnliche Osmolalitäten von 1,078 bzw. 1,045  $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  auf, während die Osmolalität der Getreideganzpflanzen mit 0,488  $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  um mehr als die Hälfte geringer ist. Zu den gleichen Schlussfolgerungen führt die Berechnung der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  mit 2,52 und 2,44  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  für Leguminosen und Gräser im Gegensatz zu lediglich 1,14  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  für Getreideganzpflanzen. Die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  ist somit geeignet, die Osmolalität in Bezug zur Trockensubstanz als universelles Kriterium zu bewerten.

Der bedeutende Unterschied in der Osmolalität von Getreideganzpflanzen im Vergleich zu Leguminosen und Gräsern bei gleicher TS deutet darauf hin, dass gerade im Bereich der nicht traditionellen Siliergüter die aus dem Bereich des Grünfutters bekannte Beziehung zwischen Osmolalität und TS nicht zutrifft. Da in neuester Zeit die Silierung von Körnern der großsamigen Leguminosen an Bedeutung gewinnt, erfolgten ebenfalls Untersuchungen an diesem Probenmaterial. In Tab. 4.20 sind die wichtigsten Nährstoff- und Silierparameter der untersuchten Leguminosenarten dargestellt. Eine detaillierte Auflistung ist Tab. A4 im Anhang zu entnehmen.

**Tab. 4.20: Chemische Charakterisierung der Körner von großsamigen Leguminosen**

	TS	XA	XP	XS	WLK	PK
	[%]		[% d. TS]			g MS/100 g TS
blaue Lupine (10 Sorten)	88,6 ±1,3	3,9 ±0,2	37,0 ±2,3	1,6 ±0,1	4,2 ±0,2	4,4 ±0,4
weiße Lupine (3 Sorten)	89,4 ±0,4	3,9 ±0,4	38,6 ±1,5	1,4 ±0,2	4,6 ±0,5	5,6 ±0,4
Erbse (6 Sorten)	87,5 ±0,8	3,3 ±0,3	24,8 ±1,7	49,8 ±1,5	3,2 ±0,6	4,6 ±0,3
Ackerbohne (3 Sorten)	87,3 ±1,0	3,5 ±0,0	30,5 ±1,5	42,6 ±1,1	2,2 ±0,3	5,0 ±0,3

Die TS zur Vollreife unterscheidet sich zwischen Lupinen, Erbsen und Ackerbohnen nur unwesentlich und liegt zwischen 87 und 89 %. Die XA-Gehalte liegen ebenfalls bei allen Arten auf

gleichem Niveau. Deutliche Unterschiede gibt es im XP-Gehalt, der bei den Lupinen gegenüber Erbse und Ackerbohne höher liegt. Stärke (XS) ist in den getesteten Lupinen mit ca. 1,5 % der TS kaum vorhanden, während die Sorten von Erbsen mit 49,8 und Ackerbohnen mit 42,6 % der TS als stärkereich zu bezeichnen sind. Im Gegensatz dazu weisen die Lupinen etwas höhere WLK-Gehalte auf. Für alle Pflanzenarten kann unter Einbeziehung der PK ein Z/PK von  $< 1$  berechnet werden.

Tabelle 4.21 zeigt Osmolalitätswerte in Extrakten von Leguminosenkörnern in Abhängigkeit der Art. Gemäß der Methodenvorschrift zur Osmolalitätsmessung wird von Probenmaterial  $> 40$  % TS ein Auszug angefertigt und die TS durch Zugabe von *aqua dest.* auf 20 % eingestellt. Bei den untersuchten Körnerleguminosen handelte es sich um die Analyse von 22 verschiedenen Sorten mit nur leicht differenzierten TS-Gehalten. Die Berechnung der zuzusetzenden Wassermenge wäre zwar zwischen den einzelnen Sorten leicht verschieden, jedoch ähnlich. Um aber bei dem relativ großen Probenumfang und dem hinsichtlich der TS eher homogenen Material wesentliche Unterschiede herausarbeiten zu können und mögliche methodische Fehler in der Wasserzugabe auszuschließen, wurden Extrakte hergestellt, so dass grundsätzlich zu 50 g Probenmaterial 200 ml *aqua dest.* gegeben wurden. Wie aus Tab. 4.21 ersichtlich wird, konnte dadurch nahezu die nach der Methode vorgeschriebene TS von 20 % erreicht werden. Über das Einengungsverhältnis erfolgte eine Hochrechnung auf drei TS-Stufen bis hin zur TS des originalen Materials (s. Tab. 4.20).

**Tab. 4.21: Osmolalität in Extrakten von Leguminosenkörnern in Abhängigkeit von Art und TS-Gehalt und Vergleich mit Deutschem Weidelgras gleichen TS-Gehaltes ( $\text{osmol}_{\text{TS}}$  [ $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ] kursiv in Klammern)**

	TS [%]		Osmolalität [ $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ]		
	im Extrakt	im Extrakt	Hochrechnung auf		
			60 % TS	70 % TS	TS der OS
blaue Lupine (10 Sorten)	17,7 $\pm 0,3$	0,120 <sup>b</sup> $\pm 0,020$ <i>(0,56 <math>\pm 0,10</math>)</i>	0,836 $\pm 0,145$ <i>(0,56 <math>\pm 0,10</math>)</i>	1,308 $\pm 0,231$ <i>(0,56 <math>\pm 0,10</math>)</i>	4,330 $\pm 0,666$ <i>(0,56 <math>\pm 0,10</math>)</i>
weiße Lupine (3 Sorten)	17,9 $\pm 0,1$	0,144 <sup>c</sup> $\pm 0,009$ <i>(0,66 <math>\pm 0,05</math>)</i>	0,993 $\pm 0,056$ <i>(0,66 <math>\pm 0,04</math>)</i>	1,547 $\pm 0,082$ <i>(0,66 <math>\pm 0,04</math>)</i>	5,539 $\pm 0,457$ <i>(0,66 <math>\pm 0,03</math>)</i>
Erbse (6 Sorten)	17,5 $\pm 0,1$	0,097 <sup>a</sup> $\pm 0,007$ <i>(0,46 <math>\pm 0,03</math>)</i>	0,683 $\pm 0,051$ <i>(0,46 <math>\pm 0,03</math>)</i>	1,069 $\pm 0,082$ <i>(0,46 <math>\pm 0,04</math>)</i>	3,175 $\pm 0,328$ <i>(0,45 <math>\pm 0,03</math>)</i>
Ackerbohne (3 Sorten)	17,5 $\pm 0,2$	0,092 <sup>a</sup> $\pm 0,010$ <i>(0,43 <math>\pm 0,05</math>)</i>	0,648 $\pm 0,074$ <i>(0,43 <math>\pm 0,05</math>)</i>	1,018 $\pm 0,114$ <i>(0,44 <math>\pm 0,05</math>)</i>	2,946 $\pm 0,266$ <i>(0,43 <math>\pm 0,05</math>)</i>
<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb der Osmolalitätswerte des Extrakts bedeuten signifikante Unterschiede für $p < 0,05$ .					
<b>zum Vergleich</b>	in OS	in OS	60 % TS	70 % TS	
Dt. Weidelgras (8 Sorten)	18,2 $\pm 0,7$	0,549 $\pm 0,033$ <i>(2,47 <math>\pm 0,14</math>)</i>	3,711 $\pm 0,207$ <i>(2,47 <math>\pm 0,14</math>)</i>	5,773 $\pm 0,315$ <i>(2,47 <math>\pm 0,13</math>)</i>	-

In den Extrakten der blauen und weißen Lupine sowie der Erbsen- und Ackerbohnsorten konnten bei gleichem TS-Gehalt signifikante Unterschiede der Osmolalität zwischen den Arten ermittelt werden. Deutlich liegen dabei Erbse und Ackerbohne unter den Werten der blauen und weißen Lupine. Der Vergleich mit Deutschem Weidelgras, welches in der Originalsubstanz (OS) denselben TS-Gehalt aufweist wie die Extrakte der Leguminosen, stellt die allgemeingültige Beziehung zwischen Osmolalität und TS weiterhin in Frage. Während ein auf 60 bzw. 70 % angewelltes Grüngut mit rund 3,7 bzw. 5,8  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  die Osmotoleranz der für die Silierung empfohlenen Milchsäurebakterien überwiegend überschreitet (vgl. Tab. 2.9, S. 25), liegt bei den Leguminosenkörnern dieser TS-Stufen zum Teil ein osmotischer Wert vor, der selbst von wenig osmotoleranten Gärschädlingen toleriert wird. Bei der Silierung von vor der Vollreife geernteten Leguminosenkörnern muss aufgrund dieses Sachverhaltes der schnellen pH-Wert-Absenkung besondere Beachtung geschenkt werden, was den Einsatz von Silierhilfsmitteln erforderlich macht.

Die Unterschiede zwischen den Arten werden ebenfalls durch Berechnung der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  deutlich. Während jedoch für die Osmolalität bei steigender TS ebenfalls eine Erhöhung ermittelt werden kann, bleibt die  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  über alle TS-Stufen konstant, wodurch ihre Eignung als universeller Parameter zur Beurteilung der TS-abhängigen osmotischen Wirkung bestätigt wird.

Der Einfluss der Sorte auf die Osmolalität konnte anhand von 10 Sorten der blauen Lupine geprüft werden (Tab. 4.22). Die Ergebnisse dürfen jedoch lediglich als Tendenz gesehen werden, da weitere Einflüsse wie Standort, Düngung und Witterung vernachlässigt wurden.

**Tab. 4.22: Osmolalitäten in Extrakten aus Körnern der blauen Lupine in Abhängigkeit von der Sorte**

Sorte	TS [%]		Osmolalität [ $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ]	$\text{osmol}_{\text{TS}}$
	in der OS	im Extrakt	im Extrakt (n=3)	[ $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ]
Sonet	85,7	17,1	0,115 <sup>bc</sup> $\pm 0,006$	0,56 <sup>c</sup> $\pm 0,03$
Bordako	87,2	17,4	0,154 <sup>d</sup> $\pm 0,003$	0,73 <sup>d</sup> $\pm 0,01$
Borweta	88,5	17,7	0,157 <sup>d</sup> $\pm 0,012$	0,73 <sup>d</sup> $\pm 0,06$
Boltensia	88,5	17,7	0,109 <sup>b</sup> $\pm 0,005$	0,51 <sup>bc</sup> $\pm 0,02$
Azuro	88,9	17,8	0,112 <sup>bc</sup> $\pm 0,003$	0,52 <sup>bc</sup> $\pm 0,01$
Bora	89,0	17,8	0,113 <sup>bc</sup> $\pm 0,006$	0,52 <sup>bc</sup> $\pm 0,03$
Rubine	89,0	17,8	0,112 <sup>bc</sup> $\pm 0,007$	0,52 <sup>bc</sup> $\pm 0,03$
Borlu	89,3	17,9	0,107 <sup>b</sup> $\pm 0,005$	0,49 <sup>ab</sup> $\pm 0,02$
Boruta	89,5	17,9	0,096 <sup>a</sup> $\pm 0,002$	0,44 <sup>a</sup> $\pm 0,01$
Bolivio	90,1	18,0	0,122 <sup>c</sup> $\pm 0,003$	0,56 <sup>c</sup> $\pm 0,01$

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb der Osmolalität und  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  bedeuten signifikante Unterschiede für  $p < 0,05$ .

Bei einem als einheitlich anzusehenden TS-Gehalt der Extrakte (17 - 18 %) konnten zwischen den Sorten der blauen Lupine signifikante Unterschiede zwischen 0,096 und 0,157  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  ermittelt werden, was ebenfalls anhand der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  nachgewiesen wurde.

Der Vergleich verschiedener Pflanzenfamilien zeigte, dass Unterschiede in der Beziehung zwischen Osmolalität und Trockensubstanz bestehen, welche vermutlich auf den jeweils charakteristischen Stoffwechselfvorgängen der Pflanzenarten beruhen. Bei Betrachtung mehrerer Sorten einer Pflanzenart wurden ebenfalls Differenzen in der Osmolalität bei gleichem TS-Gehalt deutlich. Die Osmolalität der Früchte bzw. Samen von Pflanzen muss bei gleicher TS anders als die der Gesamtpflanze bewertet werden, woraus sich Hinweise für die Notwendigkeit von Silierhilfsmitteln ergeben können. Die trockenstanzabhängige osmotische Wirkung  $osmol_{TS}$  erwies sich als geeigneter Parameter, die genannten Unterschiede zu bestätigen. Durch dieses universelle Kriterium kann es möglich sein, die Siliereignung verschiedener Siliergüter im Hinblick auf die Osmotoleranz erwünschter und unerwünschter Mikroorganismen zu bewerten.

#### 4.2.2.2 Einfluss des Vegetationsstadiums auf Osmolalität und ausgewählte Nährstoffparameter

Während des Wachstums der Pflanze laufen eine große Anzahl anaboler und kataboler Prozesse ab, so dass es zu erheblichen Stoffproduktionen und -umwandlungen kommt. Dabei ist davon auszugehen, dass manche Stoffwechselfvorgänge nicht zwingend zu einer Osmolalitätserhöhung beitragen. Zur Überprüfung des Einflusses dieser Prozesse auf die Osmolalität sowie weitere ausgewählte Nährstoff- und Silierparameter wurden Weizenganzpflanzen im Vegetationsverlauf untersucht (Tab. 4.23). Erläuterungen zum BBCH-Code sind Tab. A2 im Anhang zu entnehmen.

**Tab. 4.23: Veränderung der Osmolalität und weiterer Nährstoff- und Silierparameter im Vegetationsverlauf von Weizenganzpflanzen (n=3)**

	BBCH			
	37	55	63	73
TS [%]	18,8 <sup>a</sup> ±1,1	20,3 <sup>a</sup> ±0,5	25,4 <sup>b</sup> ±1,3	30,5 <sup>c</sup> ±0,1
Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	0,665 <sup>a</sup> ±0,013	0,648 <sup>a</sup> ±0,005	0,781 <sup>b</sup> ±0,012	0,840 <sup>c</sup> ±0,033
$osmol_{TS}$ [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	2,91 <sup>c</sup> ±0,16	2,55 <sup>b</sup> ±0,06	2,30 <sup>b</sup> ±0,16	1,92 <sup>a</sup> ±0,07
XA [% d. TS]	9,2 <sup>c</sup> ±1,2	7,2 <sup>bc</sup> ±0,3	6,1 <sup>b</sup> ±0,4	5,3 <sup>a</sup> ±0,3
XP [% d. TS]	22,2 <sup>ab</sup> ±4,3	14,9 <sup>b</sup> ±0,3	13,8 <sup>ab</sup> ±0,6	12,5 <sup>a</sup> ±0,5
XF [% d. TS]	22,4 <sup>a</sup> ±0,8	24,6 <sup>ab</sup> ±0,9	27,4 <sup>b</sup> ±0,7	28,4 <sup>ab</sup> ±3,8
XS [% d. TS]	1,5 <sup>a</sup> ±0,6	2,1 <sup>a</sup> ±0,4	2,2 <sup>a</sup> ±0,7	5,8 <sup>b</sup> ±1,4
WLK [% d. TS]	13,9 <sup>ab</sup> ±2,3	15,5 <sup>b</sup> ±0,3	12,3 <sup>a</sup> ±0,8	12,0 <sup>a</sup> ±0,4
PK [g MS/100 g TS]	7,2 <sup>c</sup> ±0,3	5,8 <sup>b</sup> ±0,1	4,5 <sup>a</sup> ±0,1	4,2 <sup>a</sup> ±0,2
pH-Wert [-]	5,96 ±0,04	6,02 ±0,01	6,03 ±0,05	5,98 ±0,04

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede für  $p < 0,05$ .

Die TS des Weizens nimmt zwischen BBCH 37 und 73 signifikant von 16,5 auf 30,5 % zu, was zunächst in Zusammenhang mit einem Anstieg der Osmolalität von 0,665 auf 0,840  $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  gesehen werden kann. Eine signifikante Verringerung der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  von BBCH 37 bis 73 macht jedoch deutlich, dass sich die Osmolalität nicht in gleichem Maße wie die TS erhöht.

Im Gegensatz zu XA bzw. XP, welche erwartungsgemäß im Vegetationsverlauf von 9,2 auf 5,3 bzw. 22,2 auf 12,5 % in der TS sinken, nimmt XF von 22,4 auf 28,4 % in der TS zu. Dieser Anstieg steht im Gegensatz zu Angaben von Tabellenwerten (DLG, 1997), wonach die XF-Gehalte im Zuge der Kornbildung zurückgehen müssten. Der XS-Gehalt nimmt wie erwartet von 1,5 auf 5,8 % in der TS aufgrund der Polymerisierung der WLK im Zuge der Kornbildung zu, wobei erst bei BBCH 73 ein signifikanter Unterschied festzustellen ist. Es ist davon auszugehen, dass XP-, XF- und XS-Gehalte aufgrund ihrer Molekülgröße keinen Einfluss auf die Osmolalität ausüben und somit nicht zu ihrer Erhöhung oder Verringerung beitragen. Die WLK hingegen weisen eine leicht fallende Tendenz von 13,9 % (BBCH 37) bis 12,0 % (BBCH 73) in der TS auf und sind möglicherweise eine Ursache für den nicht sehr ausgeprägten Osmolalitätsanstieg.

Einhergehend mit sinkenden XP- und XA-Gehalten fällt die PK von 7,2 auf 4,2 g MS/100 g TS im Verlauf von BBCH 37 bis 73. Der Zucker-Pufferkapazitäts-Quotient (Z/PK) steigt damit von 2 (BBCH 37) auf 3 (BBCH 73) im Verlauf der Vegetation an. Die im Extrakt gemessenen pH-Werte des Pflanzenmaterials unterschieden sich in allen Vegetationsstadien nicht signifikant.

Tabelle 4.24 zeigt Osmolalitätswerte sowie ausgewählte Nährstoff- und Silierparameter von Gersteganzpflanzen im Verlauf der Vegetation.

**Tab. 4.24: Veränderung der Osmolalität und weiterer Nährstoff- und Silierparameter im Vegetationsverlauf von Gersteganzpflanzen (n=3)**

	BBCH			
	41	55	63	73
TS [%]	19,5 <sup>a</sup> ±1,4	20,9 <sup>a</sup> ±1,2	30,3 <sup>b</sup> ±1,5	33,4 <sup>c</sup> ±1,6
Osmolalität [ $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ]	0,683 <sup>a</sup> ±0,028	0,697 <sup>ab</sup> ±0,134	0,906 <sup>ab</sup> ±0,075	0,826 <sup>b</sup> ±0,037
$\text{osmol}_{\text{TS}}$ [ $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ]	2,82 <sup>c</sup> ±0,14	2,63 <sup>c</sup> ±0,22	2,09 <sup>b</sup> ±0,03	1,65 <sup>a</sup> ±0,11
XA [% d. TS]	8,7 <sup>b</sup> ±0,4	8,2 <sup>b</sup> ±0,7	4,9 <sup>a</sup> ±0,2	4,8 <sup>a</sup> ±0,2
XP [% d. TS]	18,6 <sup>b</sup> ±1,8	13,6 <sup>ab</sup> ±1,3	9,5 <sup>a</sup> ±0,1	10,0 <sup>a</sup> ±0,9
XF [% d. TS]	22,7 <sup>a</sup> ±0,5	27,6 <sup>c</sup> ±1,2	26,7 <sup>c</sup> ±1,0	25,1 <sup>b</sup> ±0,4
XS [% d. TS]	1,7 <sup>a</sup> ±0,2	1,5 <sup>a</sup> ±0,1	2,2 <sup>a</sup> ±0,2	16,0 <sup>b</sup> ±2,2
WLK [% d. TS]	15,5 <sup>b</sup> ±0,2	13,9 <sup>b</sup> ±0,4	13,9 <sup>b</sup> ±1,2	9,0 <sup>a</sup> ±1,0
PK [g MS/100 g TS]	7,5 <sup>b</sup> ±0,6	6,0 <sup>ab</sup> ±0,3	4,6 <sup>a</sup> ±0,2	4,3 <sup>a</sup> ±0,1
pH-Wert [-]	5,86 ±0,04	5,80 ±0,11	5,92 ±0,03	6,08 ±0,07

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede für  $p < 0,05$ .

Auch bei Gerste steigt die TS von BBCH 41 zu 73 von 19,5 auf 33,4 % signifikant an. Die Osmolalität erhöht sich scheinbar abhängig von der TS von 0,683 osmol·kg<sup>-1</sup> auf 0,826 osmol·kgPS<sup>-1</sup>, wobei nach BBCH 63 ein tendenzieller Rückgang zu verzeichnen ist. Wie beim Weizen zeigt sich jedoch bei Betrachtung der sinkenden osmol<sub>TS</sub> im Vegetationsverlauf, dass die Osmolalität im Vergleich zur TS nur mäßig ansteigt. Neben sinkenden XP- und XA-Gehalten während des Wachstums kommt es erwartungsgemäß zunächst zu einem Anstieg und mit Einsetzen der Kornbildung wieder zu einem Rückgang von XF. Der XS-Gehalt erhöht sich, ähnlich wie beim Weizen, erst zu BBCH 73 signifikant von ca. 2 auf 16 % in der TS und liegt damit wesentlich höher als beim Weizen. Die WLK-Gehalte weisen eine fallende Tendenz ohne signifikanten Unterschied von 15,5 % auf 13,9 % in der TS in den ersten drei Vegetationsstadien auf. Zu BBCH 73 sinkt der Gehalt signifikant auf 9,0 % in der TS. Hier sind möglicherweise erneut die Gründe für den verzögerten Anstieg der Osmolalität zu suchen.

Die Pufferkapazität sinkt im Vegetationsverlauf erwartungsgemäß von 7,2 auf 4,2 g MS/100 g TS. Der Z/PK steigt damit von 2 auf 3 bis BBCH 63 und fällt schließlich zu BBCH 73 wieder auf 2 ab. Die pH-Werte der Extrakte der verschiedenen Vegetationsstadien unterscheiden sich nicht voneinander.

Osmolalitätswerte sowie ausgewählte Nährstoff- und Silierparameter von zu drei verschiedenen Vegetationsstadien geerntetem Deutschem Weidelgras (DWG) sind in Tab. 4.25 dargestellt.

**Tab. 4.25: Veränderung der Osmolalität und weiterer Nährstoff- und Silierparameter im Vegetationsverlauf von Deutschem Weidelgras (n=3)**

	Vegetationsstadium		
	Grünfutterstadium	Ende Ährenschieben	Samenreife
TS [%]	16,9 <sup>a</sup> ±0,2	20,8 <sup>b</sup> ±0,3	27,3 <sup>c</sup> ±0,4
Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	0,425 <sup>a</sup> ±0,022	0,562 <sup>b</sup> ±0,004	0,711 <sup>c</sup> ±0,003
osmol <sub>TS</sub> [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	2,09 <sup>b</sup> ±0,11	2,14 <sup>b</sup> ±0,05	1,89 <sup>a</sup> ±0,04
XA [% d. TS]	9,6 <sup>c</sup> ±0,1	7,4 <sup>b</sup> ±0,2	6,1 <sup>a</sup> ±0,2
XP [% d. TS]	18,2 <sup>b</sup> ±0,1	10,1 <sup>a</sup> ±0,5	9,8 <sup>a</sup> ±0,6
XF [% d. TS]	20,0 <sup>a</sup> ±0,3	26,1 <sup>b</sup> ±1,1	30,7 <sup>c</sup> ±0,8
NDF [% d. TS]	44,5 <sup>a</sup> ±0,3	45,9 <sup>a</sup> ±2,3	55,5 <sup>b</sup> ±0,8
ADF [% d. TS]	21,3 <sup>a</sup> ±0,4	25,8 <sup>b</sup> ±0,1	31,5 <sup>c</sup> ±0,4
WLK [% d. TS]	9,3 <sup>a</sup> ±0,2	12,7 <sup>c</sup> ±0,4	11,0 <sup>b</sup> ±0,3
PK [g MS/100 g TS]	7,0 <sup>c</sup> ±0,1	5,7 <sup>b</sup> ±0,1	4,9 <sup>a</sup> ±0,1
pH-Wert [-]	6,24 <sup>b</sup> ±0,09	6,23 <sup>b</sup> ±0,05	6,07 <sup>a</sup> ±0,04

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.



Im Verlauf der Vegetation erhöht sich die TS des DWG von 16,9 % auf 27,3 %. Gleichzeitig kommt es zu einem Anstieg der Osmolalität von 0,425 auf 0,711  $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ . Zwar sinkt  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  vom Grünfutterstadium bis zur Samenreife signifikant, dies ist jedoch im Vergleich zu den Getreideganzpflanzen weniger stark ausgeprägt, so dass die Abhängigkeit der Osmolalität von der TS beim Weidelgras höher zu sein scheint. Die sinkenden XA-Gehalte wirken möglicherweise negativ auf eine Osmolalitätserhöhung, was jedoch in Anbetracht der geringen Unterschiede nicht bedeutend ist. Der Rohproteingehalt fällt erwartungsgemäß mit zunehmendem Vegetationsstadium von 18,2 auf 9,8 % in der TS. Sowohl Rohfaser- als auch NDF- und ADF-Gehalte steigen aufgrund der Verholzung des vegetativen Teils der Pflanze vom Grünfutterstadium bis zur Samenreife an, wobei nur beim NDF-Gehalt zwischen dem ersten und zweiten Vegetationsstadium kein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte. Rohprotein-, XF-, NDF- und ADF-Gehalt haben jedoch aufgrund der bereits angesprochenen Molekülgröße einen nur untergeordneten Einfluss auf die Osmolalität. Der Gehalt an WLK steigt zum Ende des Ährenschiebens stark an und sinkt zur Samenreife wieder leicht ab, weist jedoch insgesamt eine steigende Tendenz auf und ist damit der Entwicklung des WLK-Gehaltes von Getreideganzpflanzen entgegengesetzt. Insgesamt liegen die Gehalte an Nährstoffparametern unter den Angaben von Futterwerttabellen (DLG, 1997). Die Pufferkapazität nimmt von 7,0 auf 4,9 g MS/100 g TS ab, womit der Z/PK von 1,3 auf 2,2 ansteigt. Der pH-Wert wies eine leicht fallende Tendenz auf und unterschied sich im letzten Vegetationsstadium signifikant von den beiden ersten Stadien.

Während des Vegetationsverlaufs führen auf- und abbauende Stoffwechselfvorgänge zu Akkumulation bzw. Verbrauch verschiedener Inhaltsstoffe der Pflanze, welche positive oder negative Auswirkungen auf die Osmolalitätserhöhung bei gleichzeitigem TS-Anstieg besitzen. Es konnte gezeigt werden, dass bei Weizen- und Gersteganzpflanzen im Gegensatz zu Weidelgras die Osmolalität nicht in gleichem Maße wie die TS ansteigt, was ebenfalls anhand der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  ersichtlich wurde. Die Unterschiede sind auf die den verschiedenen Pflanzenarten eigenen Stoffwechselprozesse zurückzuführen.

#### **4.2.2.3 Einfluss des Anwelkens auf Osmolalität und ausgewählte Nährstoffparameter**

Die Beziehung der Osmolalität zur TS und weiteren Einflussgrößen während des Anwelkens ist von besonderem Interesse, da im Gegensatz zu den Veränderungen während des Vegetationsverlaufs der Osmolalitätsanstieg während des Anwelkens auf einer durch Wasserentzug bedingten relativen Erhöhung der osmotisch wirksamen Teilchen beruht. Osmolalitäten und Gehalte ausgewählter

Parameter von frischem (F) Welschem Weidelgras und zwei Anwelkstufen (A1 und A2) sind in Tab. 4.26 dargestellt. Das Anwelken fand unter Praxisbedingungen auf einer Grünfläche statt, wobei das Pflanzenmaterial im Hinblick auf eine kurze Feldliegezeit und zügige Trocknung mehrmals gewendet wurde. Zur Ernte wies das Gras im Ährenschieben einen Rohfasergehalt von 24 % in der TS auf und befand sich damit in der optimalen Silierreife.

**Tab. 4.26: Veränderung der Osmolalität und weiterer ausgewählter Parameter während des Anwelkens von Welschem Weidelgras (n=3)**

	<b>F</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>
TS [%]	24,2 <sup>a</sup> ±0,3	31,1 <sup>b</sup> ±0,2	46,7 <sup>c</sup> ±2,1
Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	0,738 <sup>a</sup> ±0,012	1,004 <sup>b</sup> ±0,026	2,208 <sup>c</sup> ±0,117
osmol <sub>TS</sub> [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	2,31 <sup>a</sup> ±0,06	2,22 <sup>a</sup> ±0,06	2,52 <sup>b</sup> ±0,13
XA [% d. TS]	9,7 <sup>b</sup> ±0,2	8,8 <sup>a</sup> ±0,2	8,5 <sup>a</sup> ±0,2
XP [% d. TS]	25,0 <sup>c</sup> ±0,3	20,5 <sup>a</sup> ±0,3	21,5 <sup>b</sup> ±0,2
WLK [% d. TS]	9,6 ±0,5	9,0 ±0,6	9,3 ±0,2
PK [g MS/100 g TS]	4,6 ±0,2	4,5 ±0,2	4,3 ±0,4
pH-Wert [-]	6,15 <sup>a</sup> ±0,04	6,24 <sup>b</sup> ±0,01	6,28 <sup>b</sup> ±0,05

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede für  $p < 0,05$ .

Durch Anwelken des frischen Materials (24,2 % TS) wurden TS-Gehalte von 31,1 % (A1) und 46,7 % (A2) realisiert. Dementsprechend stieg die Osmolalität aufgrund des Wasserentzugs von 0,738 (F) auf 2,208 osmol·kgPS<sup>-1</sup> (A2). Die osmotische Wirkung osmol<sub>TS</sub> bleibt trotz eines signifikanten Anstiegs zu A2 bei allen TS-Stufen auf vergleichbarem Niveau und stellt damit einen bedeutenden Unterschied zum Verlauf von osmol<sub>TS</sub> während der Vegetation dar. Das Verhältnis der Osmolalität zur Trockensubstanz verändert sich folglich während des Anwelkens kaum.

Der XA-Gehalt ist trotz gesicherter Unterschiede in den Anwelkstufen als gleich bleibend einzuordnen und hat deshalb, wie auch der WLK-Gehalt und die PK, die ebenfalls während des Anwelkens unverändert bleiben, keinen Einfluss auf die Osmolalitätserhöhung. Die Schwankungen des XP-Gehaltes zwischen 25,0 % (F) und 21,5 % (A2) der TS sind unerwartet. Sie wären mit Bröckelverlusten während der Trocknung erklärbar, was jedoch bei Weidelgras als eher unwahrscheinlich anzusehen ist. Der pH-Wert im Extrakt weist einen leichten Anstieg aufgrund eventuell einsetzender Atmungsprozesse während des Anwelkens auf. Diese Erhöhung ist jedoch von untergeordneter Bedeutung.

Das Deutsche Weidelgras des Erntejahres 2005 (DWG) wurde zu zwei Vegetationsstadien und unter den bereits beschriebenen Praxisbedingungen angewelkt, so dass 3 TS-Stufen (F, A1 und A2)

ebenfalls hinsichtlich Veränderungen der Osmolalität und weiterer ausgewählter Parameter untersucht werden konnten (Tab. 4.27).

**Tab. 4.27: Veränderung der Osmolalität und weiterer Parameter während des Anwelkens von Deutschem Weidelgras (DWG) zu zwei Vegetationsstadien (n=3)**

	F	A1	A2
<b>Grünfutterstadium</b>			
TS [%]	16,9 <sup>a</sup> ±0,2	23,1 <sup>b</sup> ±0,2	35,1 <sup>c</sup> ±0,5
Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	0,425 <sup>a</sup> ±0,022	0,637 <sup>b</sup> ±0,094	1,214 <sup>c</sup> ±0,090
osmol <sub>TS</sub> [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	2,09 ±0,11	2,12 ±0,31	2,25 ±0,22
XA [% d. TS]	9,4 <sup>a</sup> ±0,2	9,9 <sup>b</sup> ±0,2	9,7 <sup>ab</sup> ±0,2
XP [% d. TS]	18,2 <sup>ab</sup> ±0,1	18,0 <sup>a</sup> ±0,1	18,3 <sup>b</sup> ±0,2
WLK [% d. TS]	9,3 <sup>a</sup> ±0,2	11,0 <sup>b</sup> ±0,6	12,2 <sup>b</sup> ±0,9
PK [g MS/100 g TS]	7,0 <sup>b</sup> ±0,1	6,2 <sup>a</sup> ±0,4	6,3 <sup>a</sup> ±0,2
pH-Wert [-]	6,24 <sup>a</sup> ±0,09	6,28 <sup>a</sup> ±0,03	6,47 <sup>b</sup> ±0,02
<b>Ende Ährenschieben</b>			
TS [%]	20,8 <sup>a</sup> ±0,3	29,4 <sup>b</sup> ±0,7	38,0 <sup>c</sup> ±0,9
Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	0,562 <sup>a</sup> ±0,005	0,888 <sup>b</sup> ±0,003	1,382 <sup>c</sup> ±0,027
osmol <sub>TS</sub> [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	2,14 ±0,05	2,13 ±0,07	2,26 ±0,09
XA [% d. TS]	7,4 ±0,2	7,3 ±0,1	7,7 ±0,3
XP [% d. TS]	10,1 <sup>a</sup> ±0,1	10,4 <sup>ab</sup> ±0,1	10,4 <sup>b</sup> ±0,1
WLK [% d. TS]	12,7 <sup>ab</sup> ±0,4	11,8 <sup>a</sup> ±0,2	13,5 <sup>b</sup> ±0,1
PK [g MS/100 g TS]	5,7 ±0,1	5,4 ±0,5	5,0 ±0,1
pH-Wert [-]	6,23 <sup>a</sup> ±0,05	6,29 <sup>a</sup> ±0,04	6,39 <sup>b</sup> ±0,01

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.

In beiden Vegetationsstadien nimmt die Osmolalität entsprechend einer TS-Erhöhung im Verlauf des Anwelkens signifikant zu. Die osmotische Wirkung osmol<sub>TS</sub> unterscheidet sich zwischen den Anwelkstufen nicht signifikant und liegt sowohl im Grünfutterstadium als auch zum Ende des Ährenschiebens auf gleichem Niveau. Damit entspricht der Osmolalitätsanstieg der TS-Zunahme. Trotz zum Teil gesicherter Unterschiede sind die Gehalte an XA, XP und PK in beiden Vegetationsstadien während des Anwelkens generell als konstant anzusprechen und liegen im jüngeren Gras erwartungsgemäß über den Werten des zweiten Stadiums. Der Anstieg bzw. nicht gerichtete Verlauf des WLK-Gehaltes im ersten bzw. zweiten Vegetationsstadium ist unerwartet und zunächst nicht erklärbar, da die Ergebnisse in Analysewiederholungen bestätigt wurden. Die pH-Werte steigen in beiden Vegetationsstadien nur unbedeutend zu A2 an.

Mit Zunahme der Trockensubstanz während des Anwelkens kommt es in gleichem Maße zu einer Osmolalitätserhöhung, während die untersuchten Nährstoffparameter überwiegend konstant

bleiben. Der Anstieg der Osmolalität kann folglich nahezu vollständig durch den Wasserentzug und die damit verbundene relative Erhöhung osmotisch wirkender Teilchen erklärt werden. Die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ , welche während des Anwelkprozesses fast unverändert bleibt, stützt diese Schlussfolgerung.

## 4.2.3 Veränderung der Osmolalität und verschiedener Gärparameter während des Fermentationsprozesses

### 4.2.3.1 Einfluss des Zusatzes von Milchsäurebakterien auf die Osmolalität von Silagen

Zur Prüfung des Einflusses von Milchsäurebakterien (MSB) auf die Osmolalität von Silagen wurden zunächst orientierend Siliermittelprüfungsversuche der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein ausgewertet. Die Modellsilagen wurden von unterschiedlichen Wiesengrasbeständen ohne und mit Zusatz von MSB-Präparaten hergestellt und 90 Tage bis zur Öffnung gelagert. In Tab. 4.28 sind pH-Werte sowie Milchsäuregehalte und osmotische Größen ausgewählter Versuche dargestellt, wobei die Präparate anonymisiert sind.

**Tab. 4.28: Gärparameter und osmotische Werte verschiedener Wiesengrassilagen ohne und mit Zusatz von MSB-Präparaten (n=3)**

Z/ PK [-]	Zusatz	TS [%]	pH-Wert [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	$\text{osmol}_{\text{TS}}$ [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	$\text{osmol}_{\text{TS}}$ (MS-korrigiert) [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	MS [% d. TS]
2,7	ohne	24,4	3,87 <sup>b</sup> ±0,03	1,266 ±0,063	3,93 ±0,25	2,85 ±0,25	9,69 ±0,38
	MSB	24,9	3,74 <sup>a</sup> ±0,01	1,224 ±0,038	3,69 ±0,19	2,50 ±0,13	10,70 ±0,52
1,2	ohne	23,8	4,39 <sup>c</sup> ±0,03	1,735 <sup>b</sup> ±0,033	5,55 <sup>b</sup> ±0,10	4,84 <sup>b</sup> ±0,14	5,92 <sup>a</sup> ±0,92
	MSB1	25,2	4,26 <sup>b</sup> ±0,05	1,513 <sup>a</sup> ±0,038	4,48 <sup>a</sup> ±0,11	3,08 <sup>a</sup> ±0,10	12,59 <sup>b</sup> ±0,09
	MSB2	25,2	3,90 <sup>a</sup> ±0,05	1,512 <sup>a</sup> ±0,110	4,48 <sup>a</sup> ±0,35	3,08 <sup>a</sup> ±0,36	12,59 <sup>b</sup> ±0,09
2,0	ohne	25,8	4,14 <sup>b</sup> ±0,04	1,472 ±0,055	4,23 ±0,11	3,43 <sup>b</sup> ±0,12	7,21 <sup>a</sup> ±0,13
	MSB	26,1	3,74 <sup>a</sup> ±0,02	1,418 ±0,031	4,02 ±0,13	2,84 <sup>a</sup> ±0,12	10,65 <sup>b</sup> ±0,15
3,0	ohne	27,8	4,13 <sup>b</sup> ±0,02	1,848 <sup>b</sup> ±0,029	4,79 ±0,09	4,30 <sup>b</sup> ±0,10	4,46 <sup>a</sup> ±0,21
	MSB1	27,3	3,61 <sup>a</sup> ±0,01	1,795 <sup>a</sup> ±0,011	4,79 ±0,01	3,59 <sup>a</sup> ±0,02	10,83 <sup>c</sup> ±0,13
	MSB2	27,6	3,62 <sup>a</sup> ±0,03	1,791 <sup>a</sup> ±0,031	4,71 ±0,09	3,58 <sup>a</sup> ±0,09	10,17 <sup>b</sup> ±0,45

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb eines Versuches sowie Parameters bedeuten signifikante Unterschiede für  $p < 0,05$

Die TS des für die Silierung nur schwach angewelkten Grünfutters variiert zwischen 23,8 und 27,8 %. Aus dem Z/PK kann ein ausreichender Zuckergehalt und daher eine gute Silierbarkeit des

Wiesengrases abgeleitet werden. Da den MSB genügend Gärsubstrat zu Verfügung stand, sind somit die durch einen Silierzusatz erzielten Effekte ausschließlich auf diesen zurückführbar.

Erwartungsgemäß führte der Einsatz von MSB-Präparaten zu einem gegenüber der unbehandelten Kontrolle signifikant erniedrigten pH-Wert. Die Osmolalität in den MSB-Silagen lag überwiegend signifikant unter den Werten der Kontrollvariante. Dieser Unterschied konnte auch anhand der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  festgestellt werden, die überwiegend in den MSB-Varianten geringer war.

Um bei Silagen die unerwünschte von der auf der Milchsäurebildung beruhenden erwünschten Osmolalitätserhöhung getrennt betrachten zu können, wurde  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  um den Wert korrigiert, der sich aus der gebildeten Milchsäure (MS) der Silagen ergibt. Aus dem Gehalt der MS lässt sich mittels des Molgewichtes (90,08) zunächst die entsprechende Osmolalität und anschließend die **MS-korrigierte trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$**  berechnen. Es wurde keine Dissoziation unterstellt, welche in Form des osmotischen Koeffizienten bei der Berechnung der Osmolalität zu berücksichtigen wäre. Da die MS aufgrund ihrer Säurekonstante zu den schwachen Säuren zu zählen ist, dissoziiert sie einerseits in weit geringerem Maße als eine starke Säure. Andererseits besagt das *Ostwald'sche Verdünnungsgesetz*, dass der Dissoziationsgrad einer schwachen Säure mit zunehmender Konzentration abnimmt. Für den Dissoziationsgrad  $\alpha$  ergaben sich nach der Formel  $\alpha = \sqrt{K_s/c}$  mit einem  $K_s$ -Wert von  $1,5 \cdot 10^{-4}$  und  $c$  als molaler Gesamtkonzentration der Milchsäure selbst bei sehr geringen Konzentrationen in den Silagen Dissoziationsgrade von weniger als 10 %, weshalb vereinfachend generell auf eine Einbeziehung der Dissoziation in die Berechnung der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  verzichtet wird. Diese osmotische Größe kann zwar aufgrund der verallgemeinerten Berechnung nur als Näherungswert angesehen werden. Sie erleichtert jedoch die Einschätzung des Siliererfolges, da die überwiegend negativ zu bewertende Osmolalitätserhöhung deutlicher als über  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  alleine herausgestellt wird. In Tab. 4.28 bestätigte dieser neue Parameter die bereits getroffenen Aussagen über den Einfluss eines MSB-Zusatzes auf die Silagequalität.

Aus einem weiteren Versuch der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein konnten bezüglich des Einflusses eines MSB-Silierzusatzes auf die Osmolalität dieselben Schlüsse gezogen werden. Die TS des dafür verwendeten Ausgangsmaterials zur Silierung (Wiesengras) betrug 34,6 %, der Zuckergehalt war bei einem Z/PK von 2,0 ebenfalls nicht limitierend. Die getesteten MSB-Präparate unterschieden sich hinsichtlich ihrer Formulierung und wurden in granuliert und flüssig applizierte Präparate eingeteilt (Tab. 4.29).

**Tab. 4.29: Gärparameter und osmotische Werte von Wiesengrassilagen ohne und mit Zusatz von granuliert oder flüssig applizierten MSB-Präparaten**

Zusatz	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	osmol <sub>TS</sub> (MS-korr.)	MS
	[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[% d. TS]
ohne (n=3)	35,4	4,34 <sup>b</sup> ±0,01	1,768 <sup>b</sup> ±0,052	3,23 <sup>b</sup> ±0,08	2,75 <sup>b</sup> ±0,08	4,30 <sup>a</sup> ±0,03
MSB granuliert (6 Präparate)	35,0	3,98 <sup>a</sup> ±0,09	1,658 <sup>a</sup> ±0,058	3,09 <sup>ab</sup> ±0,21	2,25 <sup>a</sup> ±0,27	7,59 <sup>b</sup> ±0,91
MSB flüssig (9 Präparate)	34,4	3,94 <sup>a</sup> ±0,05	1,563 <sup>a</sup> ±0,092	3,00 <sup>a</sup> ±0,16	2,11 <sup>a</sup> ±0,24	7,96 <sup>b</sup> ±1,14

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Spalte bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.

Sowohl pH-Wert als auch die osmotischen Parameter liegen in den mit MSB behandelten Silagen unter der Kontrollvariante. Zwar liegen in allen Parametern keine signifikanten Unterschiede zwischen den Applikationsformen vor, jedoch ist bei den osmotischen Parametern ein tendenzieller Einfluss erkennbar. WHITER & KUNG (2001) fanden in Silierversuchen mit Luzerne heraus, dass granuliert im Gegensatz zu flüssig applizierten MSB-Präparaten eine verzögerte Ansäuerung zeigen. Somit werden Gärschädlinge in der Anfangsphase der Silierung nicht gehemmt und verursachen durch Nebengärungen unerwünschte Osmolalitätserhöhungen.

In Untersuchungen mit Deutschem Weidelgras (DWG) stellten sich die Ergebnisse zum Einfluss von MSB-Zusätzen auf die Silierung ähnlich dar. Zur Silageherstellung wurde das Pflanzenmaterial zu zwei Vegetationsstadien beprobt. Von jedem Erntegut erfolgte die Silierung frisch (F) und in zwei Anwelkstufen (A1 und A2) ohne und mit Zusatz von MSB bei 48 Tagen Lagerung. Nährstoff- und Silierparameter des Ausgangsmaterials zur Silierung sind Tab. 4.25 und 4.27 zu entnehmen. Gärparameter und osmotische Werte der Silagen sind in Tab. 4.30 und 4.31 dargestellt.

**Tab. 4.30: Gärparameter und osmotische Werte von Silagen aus frischem und angewelktem Deutschem Weidelgras (Grünfütterstadium) ohne und mit Zusatz von MSB (n=3)**

	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP
		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[% d. TS]	
<b>F</b>	ohne	13,1	4,71 <sup>b</sup> ±0,10	1,119 <sup>b</sup> ±0,006	6,82 <sup>b</sup> ±0,14	6,34 <sup>b</sup> ±0,16	4,66 <sup>a</sup> ±2,43	15,82 <sup>b</sup> ±2,33
	mit	15,7	3,74 <sup>a</sup> ±0,00	1,045 <sup>a</sup> ±0,012	5,44 <sup>a</sup> ±0,05	3,55 <sup>a</sup> ±0,05	17,54 <sup>b</sup> ±0,10	2,74 <sup>a</sup> ±0,12
<b>A1</b>	ohne	20,7	4,26 <sup>b</sup> ±0,02	1,533 <sup>b</sup> ±0,012	5,68 <sup>b</sup> ±0,10	4,62 <sup>b</sup> ±0,09	9,88 <sup>a</sup> ±0,16	5,45 <sup>b</sup> ±0,05
	mit	21,4	3,79 <sup>a</sup> ±0,01	1,458 <sup>a</sup> ±0,005	5,12 <sup>a</sup> ±0,04	3,39 <sup>a</sup> ±0,07	16,34 <sup>b</sup> ±0,46	3,82 <sup>a</sup> ±0,39
<b>A2</b>	ohne	33,4	4,46 <sup>b</sup> ±0,04	2,588 <sup>b</sup> ±0,030	4,98 <sup>b</sup> ±0,03	4,26 <sup>b</sup> ±0,03	6,67 <sup>a</sup> ±0,15	3,12 <sup>b</sup> ±0,12
	mit	33,9	3,88 <sup>a</sup> ±0,01	2,439 <sup>a</sup> ±0,002	4,61 <sup>a</sup> ±0,08	3,33 <sup>a</sup> ±0,10	11,93 <sup>b</sup> ±0,73	2,09 <sup>a</sup> ±0,27

F-frisch, A1 bzw. 2-Anwelkstufen, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärparameter ohne MS (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, NH<sub>3</sub>), Urdaten Tab. A5

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben zwischen den Behandlungen innerhalb eines Parameters und einer TS-Stufe bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.

**Tab. 4.31: Gärparameter und osmotische Werte von Silagen aus frischem und angewelktem Deutschem Weidelgras (Ende Ährenschieben) ohne und mit Zusatz von MSB (n=3)**

	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP
		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[% d. TS]	
<b>F</b>	ohne	16,8	4,85 <sup>b</sup> ±0,25	1,202 <sup>b</sup> ±0,009	5,67 <sup>b</sup> ±0,17	5,23 <sup>b</sup> ±0,34	4,09 <sup>a</sup> ±1,88	10,09 <sup>b</sup> ±1,60
	mit	19,3	3,69 <sup>a</sup> ±0,03	1,090 <sup>a</sup> ±0,012	4,38 <sup>a</sup> ±0,04	2,79 <sup>a</sup> ±0,03	14,98 <sup>b</sup> ±0,17	2,36 <sup>a</sup> ±0,23
<b>A1</b>	ohne	24,1	4,75 <sup>b</sup> ±0,19	1,741 <sup>b</sup> ±0,007	5,36 <sup>b</sup> ±0,06	4,78 <sup>b</sup> ±0,05	5,33 <sup>a</sup> ±1,00	6,12 <sup>b</sup> ±0,23
	mit	26,5	3,76 <sup>a</sup> ±0,02	1,576 <sup>a</sup> ±0,033	4,18 <sup>a</sup> ±0,12	2,81 <sup>a</sup> ±0,12	12,87 <sup>b</sup> ±0,20	2,36 <sup>a</sup> ±0,10
<b>A2</b>	ohne	34,9	4,86 <sup>b</sup> ±0,10	2,420 ±0,041	4,43 <sup>b</sup> ±0,07	4,05 <sup>b</sup> ±0,04	3,48 <sup>a</sup> ±0,49	4,54 <sup>b</sup> ±0,54
	mit	36,1	3,90 <sup>a</sup> ±0,02	2,352 ±0,036	3,94 <sup>a</sup> ±0,06	2,91 <sup>a</sup> ±0,06	9,78 <sup>b</sup> ±0,12	2,91 <sup>a</sup> ±0,32

F-frisch, A1 bzw. 2-Anwelkstufen, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärparameter ohne MS (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, NH<sub>3</sub>), Urdaten Tab. A6

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben zwischen den Behandlungen innerhalb eines Parameters und einer TS-Stufe bedeuten signifikante Unterschiede für p<0,05.

Osmolalitäten, osmol<sub>TS</sub> und pH-Werte sind auch beim DWG in beiden Vegetationsstadien in den MSB-Varianten gegenüber den unbehandelten Silagen signifikant geringer. Zur Beurteilung der Silagequalität kann die gegenüber den MSB-Silagen signifikant erhöhte Summe der als negativ zu bewertenden Gärparameter als Anhaltspunkt genommen werden. Die MS-korrigierte osmol<sub>TS</sub>, die in der Kontrolle weit über dem Wert der MSB-Silagen liegt, zeigt jedoch am deutlichsten, dass der Zusatz von MSB eine Reduzierung unerwünschter Nebenfermentationen ermöglicht.

Ein Milchsäurebakterienzusatz führt aufgrund einer schnell einsetzenden und umfangreichen Milchsäureproduktion sowohl durch eine Verringerung des pH-Wertes als auch durch eine Erhöhung der Osmolalität zu Beginn der Silierung zur Hemmung von säure- und osmointoleranten Gärschädlingen. In der ausgereiften Silage ist jedoch eine über die Maßen erhöhte Osmolalität offensichtlich Ausdruck unerwünschter Fermentationen, wie der Vergleich von unbehandelten zu MSB-behandelten Silagen zeigte. Durch Berechnung der MS-korrigierten trockenstanzabhängigen osmotischen Wirkung können Einschätzungen der unerwünschten Nebengärungen erfolgen und Aussagen zur Silagequalität abgeleitet werden.

#### 4.2.3.2 Einfluss des Silierverlaufs auf die Osmolalität

Um Aussagen zur Dynamik des Osmolalitätsverlaufs während der Silierung treffen zu können, wurde Welsches Weidelgras frisch und in zwei weiteren Anwelkstufen ohne (Kontrolle) und mit Zusatz von Milchsäurebakterien (MSB) siliert und Osmolalität, pH-Wert sowie Gärparameter nach

0, 1, 3, 6, 48 und 96 d bestimmt. Die das Pflanzenmaterial charakterisierenden Nährstoff- und Silierparameter können Tab. 4.26 entnommen werden. In Tab. 4.32 sind die Werte der Silagen des nicht angewelkten silierten Pflanzenmaterials dargestellt.

**Tab. 4.32: Gärparameter und osmotische Werte von siliertem frischem Welschem Weidelgras ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP	NH <sub>3</sub>
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0		24,2	6,15 <sup>eE</sup> ±0,04	0,738 <sup>aA</sup> ±0,012	2,31 <sup>aA</sup> ±0,06	2,29 <sup>aA</sup> ±0,06	0,13 <sup>aA</sup> ±0,02	0,61 <sup>aA</sup> ±0,02	0,04 <sup>aA</sup> ±0,00
1	ohne	23,5	5,80 <sup>d</sup> ±0,09	0,856 <sup>b</sup> ±0,022	2,78 <sup>b</sup> ±0,07	2,62 <sup>b</sup> ±0,07	1,48 <sup>b</sup> ±0,03	0,75 <sup>a</sup> ±0,11	0,08 <sup>a</sup> ±0,01
	mit	24,5	4,55 <sup>D</sup> ±0,11	1,144 <sup>B</sup> ±0,062	3,54 <sup>B</sup> ±0,34	2,88 <sup>B</sup> ±0,28	5,90 <sup>B</sup> ±0,66	0,85 <sup>AB</sup> ±0,02	0,07 <sup>B</sup> ±0,00
3	ohne	23,3	4,57 <sup>c</sup> ±0,09	1,064 <sup>c</sup> ±0,031	3,51 <sup>c</sup> ±0,16	2,87 <sup>c</sup> ±0,16	5,79 <sup>c</sup> ±0,34	1,83 <sup>b</sup> ±0,08	0,17 <sup>b</sup> ±0,01
	mit	24,5	3,57 <sup>C</sup> ±0,01	1,208 <sup>B</sup> ±0,039	3,72 <sup>B</sup> ±0,25	2,31 <sup>A</sup> ±0,20	12,76 <sup>C</sup> ±0,44	0,88 <sup>AB</sup> ±0,02	0,07 <sup>AB</sup> ±0,01
6	ohne	22,6	4,31 <sup>b</sup> ±0,04	1,159 <sup>d</sup> ±0,042	3,96 <sup>d</sup> ±0,14	3,19 <sup>d</sup> ±0,11	6,93 <sup>c</sup> ±0,31	2,00 <sup>bc</sup> ±0,15	0,21 <sup>b</sup> ±0,01
	mit	24,0	3,51 <sup>B</sup> ±0,01	1,472 <sup>C</sup> ±0,019	4,66 <sup>C</sup> ±0,09	2,99 <sup>B</sup> ±0,06	15,00 <sup>D</sup> ±0,19	1,02 <sup>B</sup> ±0,06	0,07 <sup>B</sup> ±0,00
48	ohne	23,0	3,91 <sup>a</sup> ±0,01	1,378 <sup>e</sup> ±0,015	4,62 <sup>e</sup> ±0,07	3,44 <sup>e</sup> ±0,07	10,66 <sup>d</sup> ±0,33	2,62 <sup>c</sup> ±0,13	0,31 <sup>c</sup> ±0,03
	mit	23,7	3,49 <sup>B</sup> ±0,01	1,471 <sup>C</sup> ±0,033	4,73 <sup>C</sup> ±0,21	2,93 <sup>B</sup> ±0,21	16,23 <sup>E</sup> ±0,18	1,48 <sup>C</sup> ±0,15	0,11 <sup>C</sup> ±0,00
96	ohne	22,0	3,87 <sup>a</sup> ±0,17	1,438 <sup>f</sup> ±0,019	5,10 <sup>f</sup> ±0,06	3,88 <sup>f</sup> ±0,01	10,96 <sup>d</sup> ±0,52	3,43 <sup>d</sup> ±0,90	0,44 <sup>d</sup> ±0,10
	mit	23,9	3,37 <sup>A</sup> ±0,01	1,501 <sup>C</sup> ±0,086	4,78 <sup>C</sup> ±0,23	3,13 <sup>B</sup> ±0,20	14,89 <sup>D</sup> ±0,22	2,19 <sup>D</sup> ±0,38	0,11 <sup>C</sup> ±0,00

ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol), NH<sub>3</sub>-Ammoniak; Urdaten Tab. A7 und A8

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters ohne MSB (p<0,05).

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters mit MSB (p<0,05).

In den ersten sechs Tagen der Silierung kann in beiden Varianten der größte Anstieg der Osmolalität verzeichnet werden. Zwar ist bis Versuchsende keine Stagnation der Osmolalitätswerte festzustellen, in den Silagen mit MSB-Zusatz sind die Osmolalitäts erhöhungen zwischen ÖT 6 und 96 jedoch im Vergleich zu den Kontrollsilagen unbedeutend. Ein scheinbarer Grenzwert, dem sich die Osmolalität in den MSB-Varianten annähert, wird dort schneller erreicht. Insgesamt findet bis Versuchsende in beiden Varianten eine Erhöhung der Osmolalität um etwa das Doppelte des Ausgangswertes (ÖT 0) statt. Zu allen Öffnungsterminen liegen die Osmolalitätswerte der Varianten ohne Zusatz im Mittel unter den Werten der MSB-Silagen, was vor allem auf die unterschiedlichen Milchsäuregehalte zurückzuführen ist.



Zu ähnlichen Ergebnissen führt die Berechnung der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ . Da die Osmolalitäten der Kontrollsilagen unter denen der MSB-Varianten liegen und sich die TS-Gehalte der Varianten nicht wesentlich unterscheiden, weist auch die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung der MSB-Silagen einen höheren Wert auf, als die der unbehandelten Kontrolle. Eine unwesentliche Ausnahme bildet lediglich der letzte Öffnungstag (ÖT 96). Hier zeigen die MSB-Silagen mit  $4,78 \text{ osmol} \cdot \text{kgTS}^{-1}$  eine geringere  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  als die unbehandelte Variante mit  $5,10 \text{ osmol} \cdot \text{kgTS}^{-1}$ , obwohl sich die Osmolalitäten entgegengesetzt verhalten. Die Ursache hierfür könnte möglicherweise auf dem verhältnismäßig großen TS-Unterschied der Varianten zu diesem Öffnungstag beruhen.

Für die Beurteilung des negativ zu bewertenden Osmolalitätsanstiegs stellt sich wiederum die Berechnung der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  als geeignet heraus. Nach Abzug der durch die Milchsäurebildung positiven Osmolalitätserhöhung zeigt der Vergleich zwischen unbehandelten und behandelten Silagen bis auf ÖT 1 eindeutig höhere osmotische Werte für die Kontrollvarianten. Offensichtlich fand dort, bedingt durch weitere Fermentationen neben der Milchsäuregärung, eine Osmolalitätserhöhung über das notwendige Maß hinaus statt.

Der schnellere und tiefere pH-Wert-Abfall der MSB-Varianten spiegelt sich in der Milchsäureproduktion wider, welche in der Kontrolle zu allen Öffnungstagen unter dem Niveau der MSB-Silagen liegt. Der für dieses Pflanzenmaterial kritische pH-Wert von 4,31 wird in der Kontrolle zu ÖT 6, in den MSB-Silagen bereits zu ÖT 3, unterschritten bzw. erreicht, was insgesamt auf einen gelungenen Fermentationsprozess schließen lässt.

Die in Tab. 4.32 als Summe der Gärparameter dargestellte Fraktion aller im Sinne einer unerwünschten Osmolalitätserhöhung angesehenen Fermentationsprodukte liegt bis auf den ersten Öffnungstag in den unbehandelten Silagen erwartungsgemäß über den MSB-Varianten. Allerdings befinden sich alle einzelnen Parameter im akzeptablen Bereich. Neben Milch- und Essigsäure gehörte Ethanol zu den dominierenden Gärprodukten aller Silagevarianten und war unerwartet in den MSB-Silagen zu ÖT 96 höher als in der Kontrolle (vgl. Tab. A8). Die Ammoniakgehalte sind in den MSB-Silagen erwartungsgemäß geringer als in den Kontrollvarianten, aber auch in Letzteren in einem zu tolerierenden Bereich. Buttersäure konnte in keiner Silagevariante in nennenswerten Mengen festgestellt werden.

Nach demselben Versuchsaufbau wurde die erste Anwelkstufe des Welschen Weidelgrases siliert. Osmotische Werte und pH-Werte sowie Gehalte an Gärprodukten der Silagen ohne und mit Zusatz von MSB zu fünf Öffnungsterminen sind in Tab. 4.33 dargestellt.

**Tab. 4.33: Gärparameter und osmotische Werte von siliertem Welschem Weidelgras der ersten Anwelkstufe ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP	NH <sub>3</sub>
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0		31,1	6,24 <sup>dE</sup> ±0,01	1,004 <sup>aA</sup> ±0,026	2,22 <sup>aA</sup> ±0,06	2,21 <sup>aA</sup> ±0,06	0,13 <sup>aA</sup> ±0,01	0,49 <sup>aA</sup> ±0,02	0,05 <sup>aA</sup> ±0,00
1	ohne	31,4	6,12 <sup>d</sup> ±0,04	1,030 <sup>a</sup> ±0,122	2,22 <sup>a</sup> ±0,24	2,18 <sup>a</sup> ±0,24	0,42 <sup>b</sup> ±0,05	0,93 <sup>b</sup> ±0,06	0,09 <sup>b</sup> ±0,00
	mit	30,8	5,44 <sup>D</sup> ±0,12	1,200 <sup>B</sup> ±0,011	2,78 <sup>B</sup> ±0,05	2,49 <sup>C</sup> ±0,02	2,62 <sup>B</sup> ±0,35	0,82 <sup>B</sup> ±0,04	0,07 <sup>AB</sup> ±0,01
3	ohne	29,5	5,62 <sup>c</sup> ±0,08	0,989 <sup>a</sup> ±0,059	2,32 <sup>a</sup> ±0,09	2,08 <sup>a</sup> ±0,08	2,18 <sup>c</sup> ±0,10	1,33 <sup>c</sup> ±0,13	0,13 <sup>c</sup> ±0,01
	mit	29,0	3,68 <sup>C</sup> ±0,02	1,437 <sup>C</sup> ±0,024	3,52 <sup>C</sup> ±0,04	2,35 <sup>B</sup> ±0,02	10,52 <sup>C</sup> ±0,23	0,83 <sup>b</sup> ±0,04	0,07 <sup>B</sup> ±0,00
6	ohne	28,7	4,93 <sup>b</sup> ±0,01	1,490 <sup>b</sup> ±0,055	3,70 <sup>b</sup> ±0,21	3,20 <sup>b</sup> ±0,22	4,49 <sup>d</sup> ±0,10	1,65 <sup>d</sup> ±0,08	0,17 <sup>d</sup> ±0,00
	mit	29,3	3,51 <sup>B</sup> ±0,00	1,516 <sup>D</sup> ±0,027	3,65 <sup>D</sup> ±0,06	2,26 <sup>AB</sup> ±0,04	12,56 <sup>D</sup> ±0,35	0,89 <sup>B</sup> ±0,02	0,07 <sup>B</sup> ±0,00
48	ohne	29,2	4,14 <sup>a</sup> ±0,02	1,744 <sup>c</sup> ±0,058	4,22 <sup>c</sup> ±0,10	3,31 <sup>b</sup> ±0,14	8,24 <sup>e</sup> ±0,41	2,27 <sup>e</sup> ±0,06	0,28 <sup>c</sup> ±0,02
	mit	28,6	3,51 <sup>B</sup> ±0,01	1,635 <sup>E</sup> ±0,063	4,09 <sup>E</sup> ±0,10	2,60 <sup>D</sup> ±0,10	13,46 <sup>D</sup> ±0,02	1,08 <sup>C</sup> ±0,04	0,11 <sup>C</sup> ±0,00
96	ohne	29,7	3,95 <sup>a</sup> ±0,07	1,853 <sup>d</sup> ±0,058	4,40 <sup>c</sup> ±0,19	3,43 <sup>b</sup> ±0,14	8,72 <sup>e</sup> ±0,50	2,16 <sup>e</sup> ±0,12	0,30 <sup>e</sup> ±0,00
	mit	29,3	3,39 <sup>A</sup> ±0,02	1,693 <sup>E</sup> ±0,034	4,09 <sup>E</sup> ±0,04	2,64 <sup>D</sup> ±0,03	13,03 <sup>D</sup> ±0,11	1,37 <sup>D</sup> ±0,13	0,12 <sup>D</sup> ±0,00

ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol), NH<sub>3</sub>-Ammoniak; Urdaten Tab. A7 und A9

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters ohne MSB (p<0,05).

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters mit MSB (p<0,05).

Erst am 6. Tag nach Beginn der Silierung kann in den Kontrollvarianten des angewelkten Welschen Weidelgrases ein signifikanter Anstieg der Osmolalität von 1,004 auf 1,490 osmol·kgPS<sup>-1</sup> verzeichnet werden. Bis Versuchsende erhöht sich die Osmolalität weiter kontinuierlich auf 1,853 osmol·kgPS<sup>-1</sup>, wobei es wie in den Frischsilagen nahezu zu einer Verdopplung der Osmolalität von ÖT 0 kommt. In den MSB-Varianten kommt es ab ÖT 48 zu einer Stagnation des Wertes. Die absolute Erhöhung der Osmolalität zu ÖT 96 liegt mit 1,693 osmol·kgPS<sup>-1</sup> deutlich unter dem Wert der Kontrolle. Anders als in den Frischsilagen liegen die absoluten Osmolalitätswerte bei den Silagen mit MSB-Zusatz ab ÖT 48 unter den Werten der Kontrollvarianten, was ebenso aus der berechneten osmol<sub>TS</sub> ersichtlich wird. Erneut können durch Berechnung der MS-korrigierten osmol<sub>TS</sub> Aussagen zur Silierqualität gemacht werden. Demnach weisen ab ÖT 6 die MSB-Varianten eine deutlich geringere osmotische Wirkung auf, so dass offensichtlich in der Kontrolle eine nicht konservierungsnotwendige Osmolalitätserhöhung stattfand.

Der pH-Wert sinkt entsprechend der Behandlung in den Kontrollsilagen langsamer als in den MSB-Varianten. Der kritische pH-Wert von 4,50 wird in der Kontrolle zu ÖT 48, in den MSB-Silagen bereits zu ÖT 3 unterschritten. Die Milchsäuregehalte nehmen in beiden Varianten gemäß der pH-Absenkung kontinuierlich zu, liegen jedoch trockensubstanzabhängig insgesamt unter den Werten der Frischsilagen. Die Gehalte an Gärparametern sind im Einzelnen entsprechend der Variante als normal einzustufen. Eine Buttersäurebildung konnte nicht nachgewiesen werden (Tab. A9).

In Tab. 4.34 sind osmotische Werte und pH-Werte sowie die Gehalte der wichtigsten Fermentationsprodukte der Silagen der zweiten Anwelkstufe des Welschen Weidelgrases dargestellt.

**Tab. 4.34: Gärparameter und osmotische Werte von siliertem Welschem Weidelgras der zweiten Anwelkstufe ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP	NH <sub>3</sub>
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0		46,7	6,28 <sup>CD</sup> ±0,01	2,208 <sup>aA</sup> ±0,117	2,52 <sup>aA</sup> ±0,13	2,50 <sup>aA</sup> ±0,13	0,16 <sup>aA</sup> ±0,02	0,53 <sup>aA</sup> ±0,06	0,04 <sup>aA</sup> ±0,01
1	ohne	45,4	6,37 <sup>c</sup> ±0,01	2,253 <sup>a</sup> ±0,034	2,71 <sup>ab</sup> ±0,04	2,69 <sup>a</sup> ±0,04	0,19 <sup>a</sup> ±0,01	0,73 <sup>a</sup> ±0,05	0,04 <sup>a</sup> ±0,00
	mit	49,0	6,28 <sup>D</sup> ±0,00	2,710 <sup>B</sup> ±0,060	2,82 <sup>A</sup> ±0,03	2,79 <sup>B</sup> ±0,03	0,24 <sup>A</sup> ±0,05	0,51 <sup>A</sup> ±0,02	0,04 <sup>A</sup> ±0,00
3	ohne	46,2	5,98 <sup>b</sup> ±0,12	2,580 <sup>ab</sup> ±0,072	3,01 <sup>bc</sup> ±0,06	2,95 <sup>b</sup> ±0,05	0,51 <sup>a</sup> ±0,19	0,83 <sup>a</sup> ±0,05	0,07 <sup>b</sup> ±0,00
	mit	48,1	5,17 <sup>C</sup> ±0,14	2,958 <sup>B</sup> ±0,062	3,20 <sup>B</sup> ±0,02	2,87 <sup>BC</sup> ±0,05	2,91 <sup>B</sup> ±0,66	0,74 <sup>B</sup> ±0,07	0,04 <sup>A</sup> ±0,00
6	ohne	46,5	5,90 <sup>b</sup> ±0,10	3,028 <sup>b</sup> ±0,332	3,11 <sup>c</sup> ±0,27	3,04 <sup>b</sup> ±0,23	0,65 <sup>a</sup> ±0,39	0,94 <sup>a</sup> ±0,22	0,09 <sup>b</sup> ±0,00
	mit	47,5	4,33 <sup>B</sup> ±0,02	3,333 <sup>C</sup> ±0,019	3,68 <sup>C</sup> ±0,04	2,99 <sup>CD</sup> ±0,05	6,16 <sup>C</sup> ±0,10	0,86 <sup>C</sup> ±0,03	0,04 <sup>A</sup> ±0,00
48	ohne	46,6	4,86 <sup>a</sup> ±0,09	3,952 <sup>c</sup> ±0,499	4,18 <sup>d</sup> ±0,13	3,91 <sup>c</sup> ±0,10	2,51 <sup>b</sup> ±0,36	1,64 <sup>b</sup> ±0,31	0,11 <sup>c</sup> ±0,02
	mit	47,8	4,13 <sup>A</sup> ±0,00	3,672 <sup>D</sup> ±0,008	4,01 <sup>D</sup> ±0,01	3,09 <sup>D</sup> ±0,01	8,25 <sup>D</sup> ±0,21	1,07 <sup>D</sup> ±0,06	0,07 <sup>B</sup> ±0,00
96	ohne	44,6	4,93 <sup>a</sup> ±0,15	4,236 <sup>c</sup> ±0,609	4,11 <sup>d</sup> ±0,24	3,86 <sup>c</sup> ±0,13	2,27 <sup>b</sup> ±1,05	1,46 <sup>b</sup> ±0,46	0,11 <sup>c</sup> ±0,02
	mit	47,6	4,13 <sup>A</sup> ±0,00	3,754 <sup>D</sup> ±0,073	4,14 <sup>D</sup> ±0,03	3,29 <sup>E</sup> ±0,08	7,66 <sup>D</sup> ±0,43	1,20 <sup>E</sup> ±0,02	0,08 <sup>C</sup> ±0,00

ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol), NH<sub>3</sub>-Ammoniak; Urdaten Tab. A7 und A10

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters ohne MSB (p<0,05).

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters mit MSB (p<0,05).

Bereits am ersten Tag der Silierung steigt die Osmolalität in den Silagen mit MSB-Zusatz signifikant von 2,208 auf 2,710 osmol·kgPS<sup>-1</sup>, während in den Kontrollvarianten ein nennenswerter Anstieg erst zu ÖT 3 erfolgt (2,580 osmol·kgPS<sup>-1</sup>). Die Kontrollsilagen resp. MSB-Silagen erhöhen sich bis ÖT 96 auf 4,236 resp. 3,754 osmol·kgPS<sup>-1</sup>. Gleich der ersten Anwelkstufe liegen bei den

Silagen ohne Zusatz Osmolalitätswerte wie auch  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  bis ÖT 6 unter denen der MSB-Silagen. Danach kommt es zu einer Umkehr dieses Verhältnisses. Die Berechnung der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  veranschaulicht wiederholt deutlich, dass, bezogen auf die TS in den Kontrollvarianten, eine über das Maß erforderliche Osmolalitätserhöhung im Vergleich zu den MSB-Silagen stattfand. Die pH-Absenkung im Silierverlauf ist in allen Silagen aufgrund des hohen TS-Gehaltes verzögert. Gleichzeitig ist die Milchsäureproduktion im Vergleich zu den anderen silierten TS-Stufen erwartungsgemäß deutlich geringer. Der für den TS-Gehalt des Ausgangsmaterials definierte kritische pH-Wert von 4,91 wird in der Kontrolle zu ÖT 48, in den Silagen der MSB-Variante bereits zu ÖT 6 unterschritten. Die Gehalte der einzelnen Gärparameter liegen im nicht kritischen Bereich. In keiner Variante konnte Buttersäure nachgewiesen werden (vgl. Tab. A10). Deutsches Weidelgras (Erntejahr 2005) wurde zu den Vegetationsstadien Grünfütterstadium (V1), Ende Ährenschieben (V2) und Samenreife (V3) geerntet, von welchen die Herstellung von Modellsilagen unter Zusatz von Milchsäurebakterien zu drei Öffnungsterminen (3, 12 und 48 d) erfolgte. Osmotische Werte, pH-Werte sowie Gärparameter der Silagen sind in Tab. 4.35 dargestellt.

**Tab. 4.35: Gärparameter und osmotische Werte von Silagen von Deutschem Weidelgras (DWG) mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Vegetationsstadien (V) und Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	V	TS	pH-Wert	Osmolalität	$\text{osmol}_{\text{TS}}$	MS-korr. $\text{osmol}_{\text{TS}}$	MS	$\Sigma$ GP	$\text{NH}_3$
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0	1	16,9	6,24 <sup>c</sup> ±0,09	0,425 <sup>a</sup> ±0,022	2,09 <sup>a</sup> ±0,11	2,09 <sup>a</sup> ±0,11	0	0,48 <sup>a</sup> ±0,07	0,04 <sup>a</sup> ±0,01
	2	20,8	6,23 <sup>c</sup> ±0,05	0,562 <sup>a</sup> ±0,004	2,14 <sup>a</sup> ±0,05	2,14 <sup>a</sup> ±0,05	0	0,33 <sup>a</sup> ±0,03	0,02 <sup>a</sup> ±0,01
	3	27,3	6,07 <sup>c</sup> ±0,04	0,711 <sup>a</sup> ±0,003	1,89 <sup>a</sup> ±0,04	1,89 <sup>a</sup> ±0,04	0	0,44 <sup>a</sup> ±0,02	0,02 <sup>a</sup> ±0,00
3	1	16,0	3,98 <sup>b</sup> ±0,02	0,810 <sup>b</sup> ±0,004	4,25 <sup>b</sup> ±0,04	2,91 <sup>b</sup> ±0,01	12,02 <sup>a</sup> ±0,36	1,84 <sup>b</sup> ±0,07	0,07 <sup>b</sup> ±0,00
	2	20,3	3,98 <sup>b</sup> ±0,06	0,860 <sup>b</sup> ±0,019	3,38 <sup>b</sup> ±0,13	2,32 <sup>b</sup> ±0,13	9,51 <sup>a</sup> ±1,14	1,78 <sup>b</sup> ±0,12	0,06 <sup>b</sup> ±0,00
	3	26,1	3,80 <sup>ab</sup> ±0,02	1,171 <sup>b</sup> ±0,009	3,31 <sup>b</sup> ±0,13	2,27 <sup>b</sup> ±0,09	9,37 <sup>a</sup> ±0,41	1,77 <sup>b</sup> ±0,07	0,04 <sup>b</sup> ±0,01
12	1	15,9	3,77 <sup>a</sup> ±0,01	0,932 <sup>c</sup> ±0,003	4,92 <sup>c</sup> ±0,07	3,05 <sup>b</sup> ±0,05	16,85 <sup>b</sup> ±0,41	2,20 <sup>c</sup> ±0,12	0,10 <sup>c</sup> ±0,01
	2	19,7	3,73 <sup>a</sup> ±0,03	0,996 <sup>c</sup> ±0,016	4,05 <sup>c</sup> ±0,06	2,42 <sup>b</sup> ±0,09	14,69 <sup>b</sup> ±0,33	2,23 <sup>c</sup> ±0,14	0,07 <sup>b</sup> ±0,00
	3	25,5	3,75 <sup>a</sup> ±0,04	1,209 <sup>c</sup> ±0,023	3,53 <sup>c</sup> ±0,10	2,27 <sup>b</sup> ±0,06	11,33 <sup>b</sup> ±0,30	2,20 <sup>c</sup> ±0,10	0,04 <sup>b</sup> ±0,00
48	1	15,7	3,76 <sup>a</sup> ±0,01	1,033 <sup>d</sup> ±0,013	5,54 <sup>d</sup> ±0,08	3,61 <sup>c</sup> ±0,08	17,39 <sup>b</sup> ±0,03	2,49 <sup>d</sup> ±0,12	0,11 <sup>d</sup> ±0,00
	2	19,9	3,75 <sup>a</sup> ±0,03	1,098 <sup>d</sup> ±0,003	4,42 <sup>d</sup> ±0,02	2,75 <sup>c</sup> ±0,01	15,09 <sup>b</sup> ±0,25	2,55 <sup>d</sup> ±0,15	0,07 <sup>b</sup> ±0,00
	3	26,8	3,84 <sup>b</sup> ±0,04	1,275 <sup>d</sup> ±0,010	3,48 <sup>c</sup> ±0,05	2,28 <sup>b</sup> ±0,03	10,79 <sup>b</sup> ±0,23	2,63 <sup>d</sup> ±0,15	0,05 <sup>c</sup> ±0,00

V-Vegetationsstadium, MSB-Milchsäurebakterien, ÖT-Öffnungstag, MS-Milchsäure,  $\Sigma$  GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol),  $\text{NH}_3$ -Ammoniak; Urdaten Tab. A11 und A12

<sup>ab</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters und Vegetationsstadiums ( $p < 0,05$ ).

In allen Vegetationsstadien findet von ÖT 0 zu 3 die größte Osmolalitätserhöhung statt, während die Werte zu ÖT 12 und 48 nur noch geringfügig aber signifikant ansteigen. Obwohl V1 und V2 außer im Ausgangsmaterial (ÖT 0) annähernd gleiche Osmolalitäten aufweisen, unterscheiden sich ihre  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ -Werte abhängig von der Trockensubstanz. Erwartungsgemäß weist V3 als trocken-substanzreichstes Vegetationsstadium zu allen Öffnungstagen die höchste Osmolalität, jedoch die geringste  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  auf. Die mit steigendem Vegetationsstadium sinkende Tendenz der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  spiegelt sich ebenso, aufgrund sinkender MS-Gehalte von V1 zu V3, in der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  wider.

Die aus der TS abgeleiteten kritischen pH-Werte werden in allen Vegetationsstadien aufgrund des MSB-Zusatzes bereits zu ÖT 3 unterschritten. Die Milchsäuregehalte weisen entsprechend der steigenden TS eine Abnahme in den Vegetationsstadien auf, obwohl sich die pH-Werte zu den jeweiligen Öffnungstagen annähernd auf gleichem Niveau befinden. In V3 findet zu ÖT 48, einhergehend mit einer geringen Absenkung des Milchsäuregehaltes, eine leichte pH-Wert-Erhöhung statt. Die Summe der Gärprodukte ist in allen Vegetationsstadien vergleichbar, während die Ammoniakgehalte leicht mit zunehmendem Vegetationsstadium sinken. Alle analysierten Fermentationsprodukte liegen im akzeptablen Bereich (vgl. Tab. A12).

Vor dem Hintergrund, dass Getreideganzpflanzen und deren Silagen eine zunehmende Bedeutung in der Wiederkäuerfütterung erlangen, aus verschiedenen Gründen jedoch zu den problem-behafteten Siliergütern zählen, war die Osmolalität und deren Entwicklung während der Silierung ebenfalls von Interesse, weshalb von den gebräuchlichsten Getreidearten Modellsilagen hergestellt wurden. Die wichtigsten Nährstoff- und Silierparameter von zur Silierung verwendeten Weizenganzpflanzen sind in Tab. 4.36 dargestellt.

**Tab. 4.36: Chemische Charakterisierung von Weizenganzpflanzen zur Silierung**

TS	XA	XP	WLK	XS	XF	NDF	ADF	PK
[%]				[% d. TS]				[g MS/100 g TS]
33,0	4,9	11,3	6,8	9,4	22,9	45,2	24,4	3,4

Zum Zeitpunkt der Ernte befand sich der Weizen in der späten Milchreife, was der gängigen Praxisempfehlung für die Silierung entspricht. Die Polymerisierung von mono- und dimeren Zuckern zu Stärke hat bereits eingesetzt, da der Stärkegehalt den WLK-Gehalt übersteigt. Bei einem Z/PK-Quotienten von 2 kann jedoch eine gute Silierbarkeit erwartet werden. Tabelle 4.37 zeigt osmotische Werte, pH-Werte sowie Gärparameter der Weizenganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu fünf Öffnungsterminen.

**Tab. 4.37: Gärparameter und osmotische Werte von Weizenganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP	NH <sub>3</sub>
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0		33,0	6,13 <sup>eE</sup> ±0,03	0,683 <sup>aA</sup> ±0,009	1,39 <sup>aA</sup> ±0,03	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
1	ohne	32,7	5,53 <sup>d</sup> ±0,09	0,808 <sup>b</sup> ±0,015	1,66 <sup>b</sup> ±0,04	1,62 <sup>a</sup> ±0,04	0,39 <sup>a</sup> ±0,03	1,17 <sup>a</sup> ±0,05	0,05 <sup>a</sup> ±0,00
	mit	32,1	5,10 <sup>D</sup> ±0,03	0,876 <sup>B</sup> ±0,022	1,85 <sup>B</sup> ±0,02	1,73 <sup>A</sup> ±0,02	1,06 <sup>A</sup> ±0,03	1,28 <sup>A</sup> ±0,01	0,05 <sup>A</sup> ±0,00
3	ohne	31,7	4,59 <sup>c</sup> ±0,05	1,108 <sup>c</sup> ±0,033	2,38 <sup>c</sup> ±0,05	2,17 <sup>b</sup> ±0,07	1,93 <sup>b</sup> ±0,32	2,20 <sup>b</sup> ±0,44	0,07 <sup>b</sup> ±0,00
	mit	31,6	4,26 <sup>C</sup> ±0,03	1,122 <sup>C</sup> ±0,010	2,43 <sup>C</sup> ±0,06	2,10 <sup>B</sup> ±0,06	2,92 <sup>B</sup> ±0,02	1,63 <sup>B</sup> ±0,05	0,06 <sup>B</sup> ±0,01
6	ohne	31,1	4,34 <sup>b</sup> ±0,10	1,308 <sup>d</sup> ±0,042	2,90 <sup>d</sup> ±0,13	2,61 <sup>c</sup> ±0,09	2,64 <sup>c</sup> ±0,46	2,68 <sup>b</sup> ±0,35	0,09 <sup>b</sup> ±0,00
	mit	31,1	3,98 <sup>B</sup> ±0,01	1,283 <sup>D</sup> ±0,005	2,85 <sup>D</sup> ±0,02	2,29 <sup>B</sup> ±0,05	4,99 <sup>C</sup> ±0,24	1,95 <sup>C</sup> ±0,09	0,08 <sup>C</sup> ±0,00
48	ohne	30,2	4,17 <sup>a</sup> ±0,03	1,728 <sup>e</sup> ±0,020	3,99 <sup>e</sup> ±0,06	3,61 <sup>d</sup> ±0,02	3,41 <sup>d</sup> ±0,33	4,02 <sup>c</sup> ±0,20	0,18 <sup>c</sup> ±0,01
	mit	29,3	3,79 <sup>A</sup> ±0,01	1,681 <sup>E</sup> ±0,023	4,05 <sup>E</sup> ±0,10	3,30 <sup>C</sup> ±0,14	6,73 <sup>D</sup> ±0,36	4,70 <sup>D</sup> ±0,59	0,13 <sup>D</sup> ±0,01
96	ohne	29,5	4,10 <sup>a</sup> ±0,06	1,888 <sup>f</sup> ±0,031	4,41 <sup>f</sup> ±0,14	4,04 <sup>e</sup> ±0,13	3,34 <sup>d</sup> ±0,20	5,31 <sup>d</sup> ±1,05	0,20 <sup>c</sup> ±0,02
	mit	29,9	3,82 <sup>A</sup> ±0,02	1,800 <sup>F</sup> ±0,015	4,49 <sup>E</sup> ±0,26	3,64 <sup>C</sup> ±0,22	7,63 <sup>D</sup> ±0,37	5,94 <sup>E</sup> ±0,94	0,16 <sup>E</sup> ±0,01

n.b.-nicht bestimmt, MSB-Milchsäurebakterien, ÖT-Öffnungstag, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol), NH<sub>3</sub>-Ammoniak; Urdaten Tab. A13

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters ohne MSB (p<0,05).

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters mit MSB (p<0,05).

Das Ausgangsmaterial zur Silierung (ÖT 0) weist bei einer TS von 33,0 % mit 0,683 osmol·kgPS<sup>-1</sup> im Gegensatz zu Osmolalitätswerten von Gräsern mit ähnlichen TS-Gehalten eine vergleichsweise geringe Osmolalität auf. In beiden Varianten steigt die Osmolalität bis ÖT 96 kontinuierlich an, wobei der höchste Anstieg, vermutlich aufgrund des großen Zeitintervalls, zwischen ÖT 6 und 48 festgestellt werden kann. Dabei differieren die Werte der Kontroll- und MSB-Varianten zu allen Öffnungsterminen nicht wesentlich. Dementsprechend verhält es sich mit den Werten der osmol<sub>TS</sub>. Nach Berechnung der MS-korrigierten osmol<sub>TS</sub> zeigt sich jedoch mit Ausnahme von ÖT 1, dass die Kontrollen im Vergleich zu den MSB-Silagen eine höhere osmotische Wirkung aufweisen, welche im Hinblick auf eventuelle Nebengärungen als negativ zu bewerten ist.

Bereits am ersten Tag der Silierung kommt es in beiden Varianten zu einer deutlichen pH-Wert-Absenkung. Bis zu ÖT 96 sinkt der pH-Wert in der Kontrollvariante auf 4,10 bzw. in den MSB-Silagen auf 3,82. Die Milchsäurebildung war in den MSB-Silagen erwartungsgemäß höher und nahm in beiden Varianten kontinuierlich bis ÖT 96 zu. Unerwartet liegt die Summe der

Gärparameter in den MSB-Varianten zu ÖT 48 und 96 über den Werten der Kontrolle. Dies ist unter anderem auf erhöhte Ethanolgehalte der behandelten Silagen zurückzuführen (vgl. Tab. A13). Nennenswerte Gehalte an Buttersäure konnten nicht festgestellt werden.

Nach gleichem Versuchsaufbau wurde Gerste ebenfalls zur späten Milchreife als Ganzpflanze siliert. Nährstoff- und Silierparameter sind aus Tab. 4.38 ersichtlich.

**Tab. 4.38: Chemische Charakterisierung von Gersteganzpflanzen zur Silierung**

TS	XA	XP	WLK	XS	XF	NDF	ADF	PK
[%]	[% d. TS]					[g MS/100 g TS]		
31,2	5,0	12,1	6,8	19,6	21,5	47,6	22,6	3,7

Die Gehalte an TS, XA, XP, WLK und Gerüstsubstanzen sowie der Z/PK (1,8) liegen auf demselben Niveau wie Weizen, während der Stärkegehalt bei Gerste deutlich höher ist. Osmotische Werte, pH-Werte sowie Gärparameter der Gersteganzpflanzensilagen sind in Tab. 4.39 dargestellt.

**Tab. 4.39: Gärparameter und osmotische Werte von Gersteganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP	NH <sub>3</sub>
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0		31,2	6,15 <sup>CE</sup> ±0,00	0,679 <sup>AA</sup> ±0,015	1,50 <sup>AA</sup> ±0,08	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
1	ohne	27,9	5,97 <sup>c</sup> ±0,08	0,684 <sup>a</sup> ±0,015	1,72 <sup>a</sup> ±0,11	1,69 <sup>a</sup> ±0,11	0,28 <sup>a</sup> ±0,03	0,57 <sup>a</sup> ±0,08	0,04 <sup>a</sup> ±0,00
	mit	28,1	5,83 <sup>D</sup> ±0,14	0,722 <sup>B</sup> ±0,007	1,85 <sup>B</sup> ±0,07	1,77 <sup>A</sup> ±0,08	0,65 <sup>A</sup> ±0,15	0,54 <sup>A</sup> ±0,09	0,04 <sup>A</sup> ±0,00
3	ohne	28,8	4,45 <sup>b</sup> ±0,04	0,901 <sup>b</sup> ±0,023	2,23 <sup>b</sup> ±0,15	1,95 <sup>ab</sup> ±0,14	2,51 <sup>b</sup> ±0,20	1,50 <sup>b</sup> ±0,10	0,06 <sup>b</sup> ±0,01
	mit	29,3	4,20 <sup>C</sup> ±0,02	0,960 <sup>C</sup> ±0,007	2,32 <sup>C</sup> ±0,01	1,82 <sup>AB</sup> ±0,03	4,54 <sup>B</sup> ±0,34	1,11 <sup>B</sup> ±0,02	0,05 <sup>B</sup> ±0,00
6	ohne	28,7	4,41 <sup>b</sup> ±0,03	0,961 <sup>c</sup> ±0,005	2,40 <sup>b</sup> ±0,20	2,08 <sup>b</sup> ±0,14	2,81 <sup>b</sup> ±0,58	1,81 <sup>b</sup> ±0,27	0,07 <sup>b</sup> ±0,02
	mit	29,2	3,97 <sup>B</sup> ±0,06	1,042 <sup>D</sup> ±0,020	2,52 <sup>D</sup> ±0,06	1,93 <sup>B</sup> ±0,06	5,36 <sup>C</sup> ±0,24	1,27 <sup>BC</sup> ±0,19	0,06 <sup>C</sup> ±0,00
48	ohne	28,5	4,18 <sup>a</sup> ±0,02	1,150 <sup>d</sup> ±0,006	2,88 <sup>c</sup> ±0,05	2,50 <sup>c</sup> ±0,06	3,49 <sup>c</sup> ±0,13	2,34 <sup>c</sup> ±0,08	0,11 <sup>c</sup> ±0,00
	mit	28,5	3,77 <sup>A</sup> ±0,02	1,156 <sup>E</sup> ±0,048	2,90 <sup>E</sup> ±0,06	2,15 <sup>C</sup> ±0,03	6,79 <sup>D</sup> ±0,33	1,40 <sup>CD</sup> ±0,07	0,08 <sup>D</sup> ±0,00
96	ohne	28,2	4,17 <sup>a</sup> ±0,02	1,215 <sup>e</sup> ±0,015	3,11 <sup>c</sup> ±0,36	2,70 <sup>c</sup> ±0,34	3,69 <sup>c</sup> ±0,18	2,38 <sup>c</sup> ±0,40	0,13 <sup>d</sup> ±0,01
	mit	28,5	3,83 <sup>A</sup> ±0,02	1,180 <sup>E</sup> ±0,012	2,97 <sup>E</sup> ±0,17	2,14 <sup>C</sup> ±0,12	7,49 <sup>E</sup> ±0,46	1,56 <sup>D</sup> ±0,03	0,11 <sup>E</sup> ±0,00

n.b.-nicht bestimmt, MSB-Milchsäurebakterien, ÖT-Öffnungstag, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol), NH<sub>3</sub>-Ammoniak; Urdaten Tab. A14

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters ohne MSB (p<0,05).

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters mit MSB (p<0,05).

Entsprechend ähnlicher TS-Gehalte liegt die Osmolalität der Gerste im Ausgangsmaterial (ÖT 0) bei einem zum Weizen vergleichbaren Wert von  $0,679 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ . Zu ÖT 1 kann in beiden Varianten keine nennenswerte Erhöhung der Osmolalität verzeichnet werden. Der größte Anstieg findet sowohl in den Kontroll- als auch MSB-Silagen zu ÖT 3 statt, die weitere Osmolalitäts-erhöhung ist weniger deutlich ausgeprägt. Insgesamt gesehen ist der Anstieg der Osmolalität bis Versuchsende (ÖT 96) bei der Gerste weitaus geringer als beim Weizen. Die Osmolalitäten wie auch  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  der MSB-Silagen sind gegenüber der Kontrolle bis auf ÖT 96 nur tendenziell leicht erhöht. Mit Ausnahme von ÖT 1 veranschaulicht die Berechnung der um die MS korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  wiederholt die im Vergleich zu den MSB-Silagen erhöhte osmotische Wirkung der unbehandelten Variante, woraus sich das Ausmaß der neben der Milchsäuregärung unerwünschten Fermentationen ableiten lässt.

Die pH-Werte fallen in beiden Varianten ab ÖT 3 entsprechend steigender Milchsäuregehalte deutlich ab und erreichen ein dem TS-Gehalt genügend konservierungswirksames Niveau. Die höheren Milchsäuregehalte in den MSB-Varianten haben jedoch offensichtlich keinen Einfluss auf die Osmolalität. Die Summe der Gärparameter und die Ammoniakgehalte sind in den Kontrollvarianten gegenüber den MSB-Silagen erhöht, aber im Einzelnen nicht als bedenklich einzustufen. Bei einer Parallele der Silagen ohne Zusatz trat zu ÖT 96 zwar ein nennenswerter Buttersäuregehalt von 0,30 % in der TS auf, es kann dabei jedoch nur von einer Einzelercheinung gesprochen werden (vgl. Tab. A14).

Triticale wurde ebenfalls zur späten Milchreife siliert. Nährstoff- und Silierparameter des Ausgangsmaterials werden in Tab. 4.40 dargestellt.

**Tab. 4.40: Chemische Charakterisierung von Triticaleganzpflanzen zur Silierung**

TS	XA	XP	WLK	XS	XF	NDF	ADF	PK
[%]				[% d. TS]				[g MS/100 g TS]
34,5	4,0	7,7	8,5	8,2	25,5	47,4	25,4	3,2

Im Vergleich zu Weizen und Gerste sind XP- und XS-Gehalte der Triticale erniedrigt, der Z/PK liegt dagegen mit 2,7 leicht über dem der beiden anderen Getreidearten. Der TS-Gehalt weist das gleiche Niveau auf. Generell können die Parameter von Triticale denen der vorhergehenden Getreidearten zugeordnet werden. Osmotische Werte, pH-Werte sowie Gärparameter der Triticaleganzpflanzensilagen sind in Tab. 4.41 dargestellt.



**Tab. 4.41: Gärparameter und osmotische Werte von Triticaleganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP	NH <sub>3</sub>
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0		34,5	6,02 <sup>fE</sup> ±0,03	0,745 <sup>aA</sup> ±0,007	1,41 <sup>aA</sup> ±0,01	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
1	ohne	33,8	4,86 <sup>e</sup> ±0,02	1,067 <sup>b</sup> ±0,012	2,09 <sup>b</sup> ±0,01	1,95 <sup>a</sup> ±0,02	1,25 <sup>a</sup> ±0,08	1,44 <sup>a</sup> ±0,03	0,04 <sup>a</sup> ±0,01
	mit	33,4	4,69 <sup>D</sup> ±0,06	1,095 <sup>B</sup> ±0,017	2,18 <sup>B</sup> ±0,03	2,00 <sup>A</sup> ±0,04	1,59 <sup>A</sup> ±0,15	1,33 <sup>A</sup> ±0,11	0,04 <sup>A</sup> ±0,00
3	ohne	33,2	4,40 <sup>d</sup> ±0,03	1,284 <sup>c</sup> ±0,033	2,59 <sup>c</sup> ±0,09	2,34 <sup>b</sup> ±0,07	2,21 <sup>b</sup> ±0,20	2,08 <sup>b</sup> ±0,10	0,06 <sup>b</sup> ±0,00
	mit	32,8	4,13 <sup>C</sup> ±0,01	1,310 <sup>C</sup> ±0,023	2,69 <sup>C</sup> ±0,07	2,30 <sup>B</sup> ±0,08	3,51 <sup>B</sup> ±0,22	1,91 <sup>B</sup> ±0,04	0,05 <sup>AB</sup> ±0,00
6	ohne	33,0	4,28 <sup>c</sup> ±0,04	1,414 <sup>d</sup> ±0,032	2,87 <sup>c</sup> ±0,09	2,58 <sup>c</sup> ±0,09	2,65 <sup>b</sup> ±0,41	2,33 <sup>b</sup> ±0,15	0,07 <sup>b</sup> ±0,01
	mit	32,6	3,94 <sup>B</sup> ±0,04	1,441 <sup>D</sup> ±0,020	2,99 <sup>D</sup> ±0,02	2,51 <sup>C</sup> ±0,03	4,31 <sup>C</sup> ±0,41	1,98 <sup>B</sup> ±0,08	0,06 <sup>AB</sup> ±0,00
48	ohne	31,8	4,07 <sup>b</sup> ±0,01	1,835 <sup>e</sup> ±0,045	3,94 <sup>d</sup> ±0,04	3,51 <sup>d</sup> ±0,04	3,83 <sup>c</sup> ±0,09	3,54 <sup>c</sup> ±0,18	0,12 <sup>c</sup> ±0,01
	mit	31,9	3,81 <sup>A</sup> ±0,03	1,711 <sup>E</sup> ±0,011	3,65 <sup>E</sup> ±0,04	3,00 <sup>D</sup> ±0,03	5,88 <sup>D</sup> ±0,68	3,81 <sup>C</sup> ±0,38	0,07 <sup>B</sup> ±0,01
96	ohne	31,4	4,00 <sup>a</sup> ±0,03	1,895 <sup>f</sup> ±0,026	4,08 <sup>d</sup> ±0,19	3,64 <sup>d</sup> ±0,17	3,95 <sup>c</sup> ±0,30	3,84 <sup>d</sup> ±0,23	0,12 <sup>c</sup> ±0,01
	mit	30,3	3,83 <sup>A</sup> ±0,02	1,844 <sup>F</sup> ±0,016	4,28 <sup>F</sup> ±0,12	3,62 <sup>E</sup> ±0,08	5,92 <sup>D</sup> ±0,37	5,86 <sup>D</sup> ±0,34	0,10 <sup>C</sup> ±0,01

n.b.-nicht bestimmt, MSB-Milchsäurebakterien, ÖT-Öffnungstag, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol), NH<sub>3</sub>-Ammoniak; Urdaten Tab. A15

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters ohne MSB (p<0,05).

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters mit MSB (p<0,05).

Insgesamt war der Osmolalitätsanstieg während des Siliervorgangs bei Triticale ähnlich wie bei Weizen ausgeprägt. Die deutlichsten Erhöhungen fanden dabei zu ÖT 1 und zwischen ÖT 6 und 48 statt. Mit Ausnahme von ÖT 48 unterschieden sich sowohl die Osmolalität als auch osmol<sub>TS</sub> der beiden Varianten nur tendenziell, so dass kein Einfluss des Zusatzes erkennbar wird. Ähnliche Schlussfolgerungen können auch, trotz unterschiedlicher MS-Gehalte der Varianten, aus der Berechnung der MS-korrigierten osmol<sub>TS</sub> gezogen werden.

In beiden Silagevarianten fiel der pH-Wert bereits zu ÖT 1 stark unter den Ausgangswert. Im Vergleich zu den Milchsäuregehalten der anderen Getreidearten war die Produktion jedoch, bei einer Absenkung auf annähernd gleiche pH-Werte in den Varianten, als gering einzustufen. Die Summe der Gärparameter bewegte sich bis auf ÖT 96 auf gleichem Niveau, wobei der Ethanolgehalt ähnlich wie bei Weizen in den MSB-Silagen deutlich höher als in der Kontrolle lag. Der Ammoniakgehalt war in beiden Varianten gering, Buttersäure wurde in keiner Silage gebildet (vgl. Tab. A15).

Hafer wurde bereits zur frühen Milchreife geerntet. Ein später Erntezeitpunkt ist bei dieser Getreideart von Nachteil, da mit zunehmender Reife der Körneranteil nicht in gleichem Maß steigt wie bei anderen Getreidearten und damit ein sehr ungünstiges Korn-Stroh-Verhältnis geschaffen wird. Die chemische Charakterisierung des Ausgangsmaterials zur Silierung erfolgt in Tab. 4.42.

**Tab. 4.42: Chemische Charakterisierung von Haferganzpflanzen zur Silierung**

TS	XA	XP	WLK	XS	XF	NDF	ADF	PK
[%]	[% d. TS]					[g MS/100 g TS]		
23,4	5,6	12,3	9,1	2,1	32,5	59,6	33,3	4,3

Entsprechend der frühen Ernte liegt die TS unter den Gehalten der bisherigen Getreidearten. Der WLK-Gehalt ist in diesem Entwicklungsstadium gegenüber dem XS-Gehalt noch deutlich erhöht. Aufgrund des geringen Kornanteils weisen die Gerüstsubstanzen höhere Werte auf als vergleichsweise Weizen oder Gerste. Ein Z/PK von 2,1 lässt auf eine gute Silierbarkeit schließen. Tabelle 4.43 zeigt osmotische Werte, pH-Werte sowie Gärprodukte der Haferganzpflanzensilagen.

**Tab. 4.43: Gärparameter und osmotische Werte von Haferganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3)**

ÖT	MSB	TS	pH-Wert	Osmolalität	osmol <sub>TS</sub>	MS-korr. osmol <sub>TS</sub>	MS	Σ GP	NH <sub>3</sub>
[d]		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]	[osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]		[% d. TS]	
0		23,4	5,97 <sup>eD</sup> ±0,03	0,520 <sup>aA</sup> ±0,004	1,70 <sup>aA</sup> ±0,02	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
1	ohne	23,2	5,12 <sup>d</sup> ±0,02	0,654 <sup>b</sup> ±0,015	1,87 <sup>a</sup> ±0,21	1,72 <sup>a</sup> ±0,19	1,40 <sup>a</sup> ±0,13	1,19 <sup>a</sup> ±0,04	0,04 <sup>a</sup> ±0,00
	mit	23,4	4,81 <sup>C</sup> ±0,03	0,637 <sup>B</sup> ±0,011	2,13 <sup>B</sup> ±0,11	1,86 <sup>AB</sup> ±0,10	2,44 <sup>A</sup> ±0,17	1,18 <sup>A</sup> ±0,09	0,04 <sup>A</sup> ±0,00
3	ohne	22,1	4,60 <sup>c</sup> ±0,01	0,728 <sup>b</sup> ±0,001	2,46 <sup>b</sup> ±0,22	2,10 <sup>b</sup> ±0,20	3,23 <sup>b</sup> ±0,24	1,92 <sup>ab</sup> ±0,19	0,08 <sup>b</sup> ±0,00
	mit	22,6	4,10 <sup>B</sup> ±0,14	0,724 <sup>C</sup> ±0,020	2,48 <sup>C</sup> ±0,12	1,80 <sup>A</sup> ±0,09	6,14 <sup>B</sup> ±1,17	1,39 <sup>B</sup> ±0,05	0,06 <sup>A</sup> ±0,00
6	ohne	23,3	4,39 <sup>b</sup> ±0,06	0,840 <sup>c</sup> ±0,052	2,62 <sup>b</sup> ±0,28	2,17 <sup>b</sup> ±0,24	4,02 <sup>b</sup> ±0,39	2,16 <sup>b</sup> ±0,16	0,10 <sup>c</sup> ±0,01
	mit	23,3	3,90 <sup>A</sup> ±0,04	0,804 <sup>D</sup> ±0,011	2,65 <sup>D</sup> ±0,07	1,77 <sup>A</sup> ±0,06	7,88 <sup>C</sup> ±0,44	1,41 <sup>B</sup> ±0,03	0,06 <sup>A</sup> ±0,00
48	ohne	23,9	3,98 <sup>a</sup> ±0,03	1,042 <sup>d</sup> ±0,084	3,07 <sup>c</sup> ±0,12	2,29 <sup>b</sup> ±0,14	6,97 <sup>c</sup> ±0,49	2,71 <sup>b</sup> ±0,25	0,16 <sup>d</sup> ±0,00
	mit	23,3	3,83 <sup>A</sup> ±0,01	0,904 <sup>E</sup> ±0,016	3,03 <sup>E</sup> ±0,10	1,97 <sup>BC</sup> ±0,08	9,57 <sup>D</sup> ±0,27	1,65 <sup>C</sup> ±0,08	0,12 <sup>B</sup> ±0,01
96	ohne	22,1	4,01 <sup>a</sup> ±0,11	1,085 <sup>d</sup> ±0,109	3,58 <sup>d</sup> ±0,14	2,79 <sup>c</sup> ±0,20	7,12 <sup>c</sup> ±2,09	3,76 <sup>c</sup> ±0,89	0,20 <sup>e</sup> ±0,01
	mit	22,9	3,85 <sup>A</sup> ±0,02	0,930 <sup>F</sup> ±0,011	3,12 <sup>E</sup> ±0,08	2,04 <sup>C</sup> ±0,06	9,76 <sup>D</sup> ±0,25	1,78 <sup>C</sup> ±0,15	0,13 <sup>B</sup> ±0,00

n.b.-nicht bestimmt, MSB-Milchsäurebakterien, ÖT-Öffnungstag, MS-Milchsäure, Σ GP-Summe der erfassten Gärprodukte ohne Milchsäure (ES, PS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol, Butandiol), NH<sub>3</sub>-Ammoniak; Urdaten Tab. A16

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters ohne MSB (p<0,05).

<sup>A,B</sup> Unterschiedliche Großbuchstaben bedeuten signifikante Unterschiede innerhalb eines Parameters mit MSB (p<0,05).

Die Osmolalität des Ausgangsmaterials zeigte entsprechend des TS-Gehaltes einen im Vergleich zu den anderen Getreidearten geringen Wert von  $0,520 \text{ osmol} \cdot \text{kgPS}^{-1}$ . Bis ÖT 48 erhöhte sich die Osmolalität in beiden Varianten kontinuierlich ohne ausgeprägte Anstiege. Die Werte von ÖT 48 und 96 unterschieden sich nicht signifikant. Bis ÖT 6 bestehen zwischen den Varianten nur tendenzielle Unterschiede in der Osmolalität. Ab ÖT 48 sind die Osmolalitätswerte der Kontrollsilagen gegenüber den MSB-Varianten leicht erhöht. Dieser Unterschied zeigt sich in der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  trockensubstanzbedingt jedoch nur zu ÖT 96. Die Berechnung der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  führt wie in allen Silierexperimenten zu der Schlussfolgerung, dass aufgrund einer im Vergleich zu den MSB-behandelten Silagen übermäßigen Osmolalitätserhöhung in den unbehandelten Silagen Letztere eine schlechtere Silagequalität aufweisen.

Der pH-Wert sinkt mit steigenden Milchsäuregehalten bereits zu ÖT 1 deutlich ab. Im Vergleich zu den anderen Getreidearten ist bemerkenswert, dass die Silagen ohne MSB-Zusatz eine sehr hohe Milchsäureproduktion aufweisen, was sich jedoch nicht in den pH-Werten der Varianten widerspiegelt. Die Gehalte an Gärparametern und Ammoniak liegen in der Kontrolle erwartungsgemäß höher als in den MSB-Varianten, jedoch im Einzelnen nicht in einem kritischen Bereich. Buttersäure wurde bis auf eine Einzelprobe (vgl. Tab. A16) nicht gebildet.

In Silierversuchen mit Gräsern und Getreideganzpflanzen konnte gezeigt werden, dass die Osmolalitätserhöhung in den ersten Tagen der Silierung besonders ausgeprägt ist. Der Anstieg der Osmolalität während der Fermentation war zwar zeitlich degressiv, jedoch kein zum Stagnieren kommender Prozess. Bis zu einer Silierdauer von 96 Tagen scheint sich die Osmolalität einem Grenzwert anzunähern, der je nach Siliergut, TS-Gehalt und damit Osmolalität im Ausgangsmaterial verschieden ist.

Die osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  der Silagen spiegelt im Wesentlichen die Osmolalitätswerte wider und ermöglicht eine trockensubstanzabhängige Einschätzung des osmotischen Wertes der Silagen. Anhand des MS-korrigierten Parameters jedoch, der eine getrennte Betrachtung der als negativ zu bewertenden Osmolalitätserhöhung erlaubt, ist es möglich, Aussagen zur Silagequalität zu treffen. Dabei ist zu erwarten, dass schlecht fermentierte Silagen aufgrund geringerer MS-Gehalte und vermehrter Nebengärungen einen höheren MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  aufweisen als gärbiologisch gute Silagen.

## 5 Diskussion

### 5.1 Anwendbarkeit der Methode zur Osmolalitätsmessung in Presssaft, Auszug und Extrakt von Pflanzen und Silagen

#### *Bestimmung der Osmolalität über die Wasseraktivität*

Da die Beziehung zwischen Wasseraktivität und Osmolalität aus den Gesetzen der physikalischen Chemie ableitbar und zumindest im Bereich idealer Lösungen uneingeschränkt gültig ist, kann mit Anwendung der Methode der Gefrierpunktniedrigung die Wasseraktivität ( $a_w$ ) hinreichend genau bestimmt werden (TROLLER & CHRISTIAN, 1978; WEISSER *et al.*, 1985). Zwar wird unter anderem von AYERST (1965) ein Nachteil im Arbeitstemperaturbereich der Gefrierpunktniedrigung gesehen, der mit dem Wirkungstemperaturbereich von  $a_w$  auf das mikrobielle Wachstum nicht übereinstimmt und somit die Vergleichbarkeit beider Messgrößen in Frage gestellt wird. Prinzipiell muss jedoch eine Ermittlung der Osmolalität aus  $a_w$  ebenso möglich sein. Die durchgeführten Untersuchungen zur Bestimmung von  $a_w$  stellten sich jedoch als nicht praktikabel heraus, da sie sich sehr zeitaufwändig und störanfällig zeigten. Weiterhin muss Kenntnis darüber herrschen, welche Aussagen von den verschiedenen Messgrößen definitionsgemäß erwartet werden können. Während die Osmolalität die Gesamtheit der osmotisch wirksamen Teile pro Gewichtseinheit Lösungsmittel angibt, werden über  $a_w$  Angaben zum freien, nicht gebundenen Wasser erhalten. Die Wasseraktivität kann daher nur Vorhersagen über das potentielle Wachstum von Mikroorganismen aus Sicht des verfügbaren Wassers treffen. Sie vermag jedoch nicht direkt Stoffwechsel- oder Fermentationsprozesse und deren Produkte zu beurteilen. Zur Bewertung dieser biochemischen Vorgänge ist die Osmolalität die wesentlich sensitivere Messgröße, da bereits kleinste molale Konzentrationsänderungen mit dem *Osmomat 030* messbar sind. Dies wird durch eine beispielhafte Berechnung von  $a_w$  aus der Osmolalität über Gleichung [10] (S. 16) deutlich, da einem  $a_w$ -Wert eine breite Spanne der Osmolalität entspricht:

$$\begin{aligned} a_w = 1 & \quad \text{entspricht} \quad 0,000 - 0,027 \text{ osmol} \cdot \text{kg}^{-1}, \\ a_w = 0,965 & \quad \text{entspricht} \quad 1,950 - 2,006 \text{ osmol} \cdot \text{kg}^{-1}, \\ a_w = 0,930 & \quad \text{entspricht} \quad 4,000 - 4,059 \text{ osmol} \cdot \text{kg}^{-1}. \end{aligned}$$

Für die Beurteilung der osmotischen Zustände und Vorgänge in Grünpflanzen und daraus hergestellten Silagen wurde daher die Bestimmung der Osmolalität als aussagekräftige Methode der Wahl angesehen. Dennoch ist die Bestimmung der Wasseraktivität im Hinblick auf eine mögliche Einführung der Untersuchung der osmotischen Wirkung in die Praxis aufgrund der technischen Möglichkeiten weiterhin interessant. Es sind portable  $a_w$ -Messgeräte erhältlich, die in Kombination

mit einem Stechfühler direkte Messungen im Silostock erlauben, was hinsichtlich der Reduzierung eines Analyseaufwandes besonders positiv zu werten wäre. Allerdings bleibt die Übertragbarkeit der in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse zur Osmolalität auf die Wasseraktivität weiter fragwürdig.

#### *Einflussgrößen auf die Osmolalität von Pflanzen und Silagen*

Gemäß der Definition, dass 1 mol eines Stoffes einer Osmolalität von  $1 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  entspricht, ist es möglich, bei gegebener Konzentration einer Lösung sowie bei dissoziierenden Stoffen unter Einbeziehung des jeweiligen osmotischen Koeffizienten, die Osmolalität einer Lösung zu berechnen. Die Überprüfung dieses Sachverhaltes stellte eine wichtige Voraussetzung für das Verständnis der zu erwartenden Einflussgrößen auf die Osmolalität und damit für die Verwendung dieser Größe in der vorliegenden Arbeit dar. Von einem Elektrolyt (KCl) mit einem osmotischen Koeffizienten von  $\phi = 1,85$  und einem Zucker (Saccharose) wurden 1-osmolale Lösungen hergestellt und mehrfach verdünnt. In Tab. 5.1 sind die berechneten Sollwerte den ermittelten Istwerten der Lösungen gegenübergestellt.

**Tab. 5.1: Soll- und Istwerte einer 1-osmolalen KCl- und Saccharoselösung verschiedener Verdünnungen (n=3)**

Verdünnung	Sollwert	KCl-Lösung (1-osmolal)	Saccharose-Lösung (1-osmolal)
1 :	[osmol·kg <sup>-1</sup> ]	[osmol·kg <sup>-1</sup> ]	[osmol·kg <sup>-1</sup> ]
0	1,000	0,985 ±0,001	1,715 ±0,063
1	0,500	0,493 ±0,000	0,630 ±0,034
2	0,333	0,331 ±0,001	0,370 ±0,008
3	0,250	0,251 ±0,001	0,264 ±0,019
5	0,167	0,166 ±0,001	0,171 ±0,004
10	0,091	0,092 ±0,001	0,094 ±0,003
20	0,048	0,050 ±0,000	0,048 ±0,001
50	0,020	0,026 ±0,004	0,021 ±0,000
100	0,010	0,011 ±0,001	0,011 ±0,001
200	0,005	0,004 ±0,001	0,006 ±0,001

Während die gemessenen Osmolalitätswerte der verdünnten KCl-Lösung sehr gut mit den berechneten theoretischen und der Molalität entsprechenden Werten übereinstimmen, ist bei den Verdünnungen der Saccharose-Lösung eine Diskrepanz zwischen Ist- und Sollwerten festzustellen. Dieser Unterschied ist besonders in der unverdünnten und einfach verdünnten Lösung ausgeprägt. BONE & SHANNON (1991) stellten in ihren Untersuchungen mit Zucker und Salzlösungen fest, dass Zucker in hochkonzentrierten Lösungen ein unterschiedliches Vermögen zur  $a_w$ -Absenkung

bzw. Osmolalitätserhöhung der Lösung aufweisen. Für 1,77-molare Zuckerlösungen mit theoretischen Osmolalitäten von jeweils  $1,77 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  ermittelten die Autoren für Dextrose resp. Fructose Werte von 2,09 resp.  $2,61 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Die größte Abweichung konnte bei Saccharose mit  $2,79 \text{ osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  festgestellt werden. Diese Effekte traten in sehr konzentrierten Salzlösungen nicht auf. SWEENEY & BEUCHAT (1993) bestimmten für hochmolare Saccharoselösungen ebenfalls Abweichungen zu den theoretischen Werten. Die Ursachen, dass die aus der Gefrierpunktdepression berechnete Osmolalität signifikant vom wahren Wert differieren kann, sehen die Autoren in der Missachtung thermodynamischer Annahmen, der Temperaturabhängigkeit der Löslichkeit eines Stoffes und in den mathematischen Vereinfachungen bei der Berechnung der Osmolalität. Für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Proben war das dargestellte Problem jedoch nicht relevant, da selbst in zuckerreichen Gräsern keine Gehalte analysiert wurden, die der Osmolalität der unverdünnten oder einfach verdünnten Saccharoselösung entsprachen.

Um den Einfluss einzelner sowie der Gesamtheit der analysierten Parameter auf die Osmolalität von Pflanzen und Silagen abschätzen zu können, wurden weitere relevante Stoffe untersucht (Tab. 5.2). Die im Probenmaterial bestimmten Gehalte von Milchsäure, Ethanol und Glucose liegen, nach Berechnung ihrer Osmolalität, innerhalb der Reihe der verschiedenen konzentrierten Lösungen.

**Tab. 5.2 : Soll- und Istwerte verschieden konzentrierter Milchsäure-, Ethanol- und Glucoselösungen (n=3)**

<b>Milchsäure</b>		<b>Ethanol</b>		<b>Glucose</b>	
%ige Lösung	[osmol·kg <sup>-1</sup> ]	%ige Lösung	[osmol·kg <sup>-1</sup> ]	%ige Lösung	[osmol·kg <sup>-1</sup> ]
0,5	<b><i>0,056</i></b> * 0,054 ±0,001	0,1	<b><i>0,021</i></b> 0,023 ±0,006	1	<b><i>0,056</i></b> 0,057 ±0,001
1	<b><i>0,111</i></b> 0,102 ±0,001	0,5	<b><i>0,107</i></b> 0,083 ±0,001	2,5	<b><i>0,139</i></b> 0,146 ±0,002
2,5	<b><i>0,278</i></b> 0,249 ±0,002	1	<b><i>0,213</i></b> 0,160 ±0,000	5	<b><i>0,277</i></b> 0,290 ±0,010
5	<b><i>0,555</i></b> 0,503 ±0,001	1,5	<b><i>0,320</i></b> 0,250 ±0,002	7,5	<b><i>0,416</i></b> 0,446 ±0,000
10	<b><i>1,110</i></b> 1,053 ±0,004	2	<b><i>0,426</i></b> 0,347 ±0,001	10	<b><i>0,555</i></b> 0,579 ±0,023

\* *kursiv*: berechnete Sollwerte

Bei der Milchsäure wurde zur Vereinfachung der Berechnungen davon ausgegangen, dass sie in undissoziierter Form vorliegt. Die Osmolalität des für die Lösungen verwendeten 96 %igen Ethanols wurde bei den Verdünnungen korrigiert. Die ermittelten Osmolalitäten aus Tab. 5.2 stimmen weitestgehend mit den berechneten theoretischen Sollwerten überein, wobei die Differenzen bei Ethanol am größten sind.

Aufgrund dieser als orientierend zu wertenden Messung wurde es trotzdem als gerechtfertigt angesehen, exemplarische Berechnungen verschiedener Proben vorzunehmen, um die auf die Osmolalität wirkenden Einflussgrößen zu bestimmen. Von unsiliertem Pflanzenmaterial (vgl. Tab. 4.24, Tab. 4.25 und Tab. 4.26) war aus der Konzentration der wasserlöslichen Kohlenhydrate (WLK), als Summe von Glucose und Fructose, eine näherungsweise Kalkulation der den WLK entsprechenden Osmolalität möglich. Dafür wurde der absolute Gehalt an WLK, bezogen je kg wässrige Phase bzw. Presssaft, berechnet und mit Hilfe des Molgewichtes von Glucose bzw. Fructose (180,15 g/Mol) in  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$  umgerechnet (Tab. 5.3). Aufgrund einer Verrechnung der Mittelwerte werden keine Streuungen ausgewiesen.

**Tab. 5.3: Einfluss des Gehaltes wasserlöslicher Kohlenhydrate (WLK) auf die Gesamtosmolalität von Presssäften verschiedener Pflanzenmaterialien**

Pflanzenmaterial	TS [%]	WLK- Gehalt [% d. TS]	Osmolalität Pflanzenmaterial [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	Anteil WLK an Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	Anteil WLK an Osmolalität [%]
<i>Gerste</i>					
BBCH 41	19,5	15,5	0,683	0,208	30,4
BBCH 55	20,9	13,9	0,697	0,204	29,3
BBCH 63	30,3	13,9	0,906	0,335	37,0
BBCH 73	33,4	9,0	0,826	0,251	30,4
<i>Dt. Weidelgras</i>					
Grünfutterstadium	16,9	9,3	0,425	0,105	24,7
Ende Ährenschieben	20,8	12,7	0,562	0,185	32,9
Samenreife	27,3	11,0	0,711	0,229	32,2
<i>Welsches Weidelgras</i>					
Frisch	24,2	9,6	0,738	0,170	23,0
Anwelk 1	31,1	9,0	1,004	0,226	22,5
Anwelk 2	46,7	9,3	2,208	0,452	20,5

Unter der Voraussetzung, dass bei der Bestimmung des WLK-Gehaltes im Kaltwasserextrakt (s. 4.1.2) keine Monomere erfasst werden, die von Oligo- und Polysacchariden mit kaum messbarer osmotischer Wirkung stammen, sind die Berechnungen gerechtfertigt. Wie aus Tab. 5.3 hervorgeht, können rund 30 % der Osmolalität des Presssaftes des unsilierten Pflanzenmaterials auf die Fraktion der WLK zurückgeführt werden. Dieser Wert darf jedoch nicht generalisiert werden und kann nur als Schätzwert Verwendung finden. Eine hohe lineare Abhängigkeit der Osmolalität (y) vom WLK-Gehalt (x), welche bei Dt. Weidelgras zweier Vegetationsstadien und verschiedener Anwelkstufen ermittelt wurde, spricht jedoch dafür, dass die WLK einen großen Anteil an der Gesamtosmolalität des Presssaftes aufweisen:

$$y = 0,24x - 1,87 \quad R^2 = 0,87 \quad s = 0,13 \quad p < 0,001 \quad (n=18)$$

Ein weiterer beträchtlicher Anteil an der Gesamtosmolalität von Pflanzen- und Silagematerial ist den anorganischen Bestandteilen der Pflanze zuzuweisen, die in großem Maße auch im Presssaft zu finden sind. Nach SCHAAF (2007) werden durch die Fraktionierung von Pflanzenmaterial beim Pressvorgang bis zu 90 % der Mineralstoffe in den Presssaft überführt.

Ausgehend von derselben Vorgehensweise zur Berechnung der Osmolalität einzelner Parameter lässt sich näherungsweise der Anteil der Gärprodukte an der Osmolalität von Silagen berechnen. Als Beispiel für eine exemplarische Rechnung dienen die Werte von Silagen von Dt. Weidelgras aus Tab. 4.30 bzw. Tab. A5. Neben der Osmolalität von Milchsäure (MS), Essigsäure (ES), Buttersäure (BS) und Ethanol ist ebenfalls die Summe der analysierten Gärparameter ( $\Sigma$  GP) dargestellt, welche zusätzlich die Osmolalitäten von Propionsäure, i-Valeriansäure, Valeriansäure, Propanol, Butanol und  $\text{NH}_3$  einbezieht (Tab. 5.4).

**Tab. 5.4: Berechnung des Anteils der Osmolalität der Gärprodukte an der Osmolalitätserhöhung während der Fermentation von Silagen von Deutschem Weidelgras**

MSB	TS	Osmolalität [ $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ]							Anteil $\Sigma$ GP an EP-AM	
		AM	EP	MS	ES	BS	Ethanol	$\Sigma$ GP	[%]	
ohne	13,1	0,425	1,119	0,078	0,085	0,115	0,134	0,492	79	
mit	15,7	0,425	1,045	0,363	0,035	0	0,058	0,471	82	
ohne	20,7	0,637	1,533	0,286	0,046	0,064	0,096	0,557	57	
mit	21,4	0,637	1,458	0,493	0,041	0	0,164	0,715	96	
ohne	33,4	1,214	2,558	0,372	0,122	0,022	0,107	0,705	38	
mit	33,9	1,214	2,439	0,680	0,066	0	0,131	0,911	60	

MSB-Milchsäurebakterien; AM-Ausgangsmaterial vor Silierung; EP-Endprodukt Silage; MS-Milchsäure; ES-Essigsäure; BS-Buttersäure;  $\Sigma$  GP- Summe der erfassten Gärparameter (MS, ES, PrS, BS, i-VS, VS, Ethanol, Propanol, Butanol,  $\text{NH}_3$ )

Für die Berechnung der den Gärparametergehalten entsprechenden Osmolalitäten wurden ebenfalls Mittelwerte verwendet, weshalb keine Streuungen angegeben werden. Wie bereits anhand der Daten des unsilierten Pflanzenmaterials durchgeführt, erfolgte zunächst eine Ermittlung des absoluten Gehaltes jedes einzelnen Gärproduktes je kg wässrige Phase bzw. Presssaft und mittels Molgewicht des jeweiligen Gärparameters die Umrechnung auf  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}\text{PS}$ . Milchsäure, Essigsäure, Buttersäure und Ethanol wiesen in den Silagen die höchsten Gehalte der analysierten Fermentationsprodukte und damit erwartungsgemäß auch den größten Einfluss auf die Osmolalitätserhöhung auf. Der prozentuale Anteil der auf die Summe der Gärparameter zurückzuführenden Osmolalität an der Osmolalitätserhöhung der Silage ( $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}_{\text{Silage}} - \text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}_{\text{Ausgangsmaterial}}$ ) zeigt, dass besonders in den Silagen mit MSB-Zusatz die analysierten Fermentationsprodukte, dabei vor allem Milchsäure, für weit mehr als die Hälfte der Osmolalitäts-



erhöhung verantwortlich sind. Dass dieser Anteil in den unbehandelten und als qualitativ schlecht einzustufenden Silagen geringer ist, kann durch unerwünschte Fermentationsprozesse erklärt werden, deren Produkte nicht erfasst wurden und somit nicht berechnet werden konnten. Dazu sind vermutlich neben nicht quantifizierten Abbauvorgängen, wie z.B. Hydrolysen, vor allem Proteolyse und Desmolyse zu zählen. THANG *et al.* (2004) bestimmten die Zusammensetzung von Presssaft einer nicht näher definierten Grassilage. Bei einem TS-Gehalt von 13,6 % des Presssaftes analysierten die Autoren einen Aminosäuregehalt von 26,1 g/l Presssaft. Weiterhin enthielt der Presssaft hohe Gehalte anorganischer Ionen (34,8 g/l), wobei  $K^+$  (15,6 g/l) und  $Cl^-$  (6,4 g/l) die Hauptanteile bildeten. Erwartungsgemäß wies der Presssaft mit 37,5 g/l eine hohe Konzentration an Milchsäure auf.

Die Frage nach dem Einfluss der in Pflanzen und Silagen enthaltenen Inhaltsstoffe, die Auswirkungen auf die Höhe der Osmolalität haben, konnte anhand beispielhafter Berechnungen weitestgehend beantwortet werden. Die ermittelten Werte der Tabellen 5.3 und 5.4 können jedoch nur als theoretische Näherungswerte gesehen werden und erheben daher keinen Anspruch auf die exakte Widerspiegelung der tatsächlich vorherrschenden Bedingungen. Pflanzen und Silagen sowie deren Presssäfte sind komplexe Systeme aufgrund einer nicht bestimmbar vielen Anzahl von Inhaltsstoffen und deren Interaktionen miteinander. Allerdings ist davon auszugehen, dass die dargestellten Verhältnisse in der aufgezeigten Größenordnung zutreffend sind.

#### *Osmolalitätsmessung in verdünnten Presssäften von Pflanzen und Silagen*

Der auf  $3 \text{ osmol} \cdot \text{kg}^{-1}$  begrenzte Messbereich des *Osmomat 030* machte eine Verdünnung von Presssäften mit hohen Osmolalitäten notwendig. Nach einer Korrektur dieser gemessenen Werte mit dem jeweils der Verdünnung entsprechenden Faktor war es jedoch nicht möglich, den originalen Wert des Presssaftes zu bestimmen. Die Messung einer verdünnten komplexen Lösung, wie es die Presssäfte von Pflanzen und Silagen sind, beschreibt WOLF (1966) als problematisch. Nach ADAM *et al.* (2003) kann man im Gegensatz zu Lösungen, die nur einen gelösten Stoff enthalten, bei Lösungen mit komplexer Zusammensetzung die Wechselwirkung der gelösten Moleküle nicht mehr vernachlässigen. Für den Anschluss an die Grenzgesetze verdünnter Lösungen muss daher eine Funktion beschrieben werden, die den Aktivitätskoeffizienten einer gelösten Substanz beinhaltet (ADAM *et al.*, 2003; HARNED & OWEN, 1963; WEAST, 1985). Das Problem der Messung von verdünnten Lösungen mit variabler Zusammensetzung, wie z.B. Presssäften, beruht somit auf dem Unvermögen der Vorhersage des für jeden gelösten Stoff charakteristischen Aktivitätskoeffizienten. Demnach sind die bei der Messung verdünnter Presssäfte aufgetretenen

Abweichungen zur tatsächlichen Osmolalität durch die Gesetze der physikalischen Chemie erklärbar und zu erwarten gewesen.

Eine mögliche Korrektur dieser bei der Osmolalitätsmessung auftretenden Abweichungen könnte durch Ermittlung eines Faktors oder einer Gleichung erfolgen. GELUSO & STUDIER (1979) untersuchten Verdünnungen des Urins von Fledermäusen und berechneten aufgrund von Abweichungen der korrigierten Werte eine Kurve, um die ermittelten Differenzen auszugleichen. Da aber nach SWEENEY & BEUCHAT (1993) die Berechnung einer allgemeinen Korrekturkurve gleiche Zusammensetzungen der Probe und des Standards voraussetzt, wurde diese Methode für das heterogene Probenspektrum der Presssäfte als nicht geeignet angesehen, weshalb generell auf eine Korrektur der Osmolalitäten verzichtet wurde.

Aufgrund der Tatsache, dass grundsätzlich alle zu untersuchenden Presssäfte verdünnt wurden und sowohl die verdünnte und korrigierte Presssaftosmolalität (vgl. Abb. 4.3) als auch die Osmolalitäten von verdünnten Presssäften und Auszügen (vgl. Tab. 4.4) um nicht mehr als 4 bis 7 % voneinander abweichen, wird der Methode ein systematischer Fehler unterstellt. Diese als nur gering zu wertenden Abweichungen traten generell bei der Analyse des gesamten Probenmaterials auf und stellen deshalb die dargelegten Ergebnisse, im Verhältnis zueinander betrachtet, nicht in Frage.

#### *Presssaft und Auszug als Medium zur Quantifizierung der Osmolalität*

Für die Gewinnung einer repräsentativen Probe der wässrigen Phase mit jedem Pressvorgang ist es von entscheidender Bedeutung, dass die Höhe des Abpressdruckes keinen Einfluss auf die im Presssaft vorhandenen Inhaltsstoffe hat. Dies konnte im Vergleich der Druckstufen 60 und 120  $\text{kp}\cdot\text{cm}^{-2}$  nachgewiesen werden. Die Gehalte von TS und XA sowie die Osmolalität von Presssaft und Presskuchen des Dt. Weidelgrases der beiden Druckstufen unterschieden sich in keiner TS-Stufe voneinander. Die Ergebnisse stimmen mit Aussagen von GREENHILL (1964b) überein, der bei acht verschiedenen Druckstufen zwischen 35 und 280  $\text{kp}\cdot\text{cm}^{-2}$  keine Veränderungen der kolligativen Eigenschaften des Presssaftes von Weidelgras, Weißklee oder Luzerne feststellen konnte.

Die in der Methode vorgeschriebene Pressdauer von 2 min ist hinsichtlich einer maximalen Presssaftausbeute ausreichend. HEIER (1983) zeigte in Untersuchungen zur Fraktionierung von Gras, dass bei variierender Pressdauer der größte Teil des Presssaftes bereits zu Beginn des Pressens gewonnen wird. Der zeitliche Verlauf der Höhe des Abpressgrades war degressiv, wodurch es bereits nach 2 min Pressung sogar bei Erhöhung des Pressdruckes zu einem Erliegen des Saftaustritts aus dem Gras kam.

Der Abpressgrad selbst ist in hohem Maße von der TS des zu pressenden Materials abhängig (HEIER, 1983). Je höher die Trockensubstanz des Pressgutes, desto geringer ist die abpressbare Saftmenge, was anhand der Untersuchungen an Dt. Weidelgras gezeigt werden konnte. Die Beziehung zwischen der Presssaftmenge in g je 1000 g gepresste Frischmasse (y) und dem TS-Gehalt in g je 1000 g gepresste Frischmasse (x) kann folgendermaßen formuliert werden:

unsiliertes Pflanzenmaterial	$y = -1,69x + 886,23$	$R^2=0,99$ ;	$s=18$	$p < 0,001$	(n=21)
siliertes Pflanzenmaterial	$y = -2,17x + 1063,60$	$R^2=0,99$	$s=19$	$p < 0,001$	(n=21)

Entgegen den Ergebnissen von HEIER (1983), der bei zunehmender TS des Pflanzenmaterials eine Abnahme der TS und Inhaltsstoffe im Presssaft feststellte, bestand in den eigenen Untersuchungen eine hohe Abhängigkeit der TS in % im Presssaft (y) von der TS in % des gepressten Materials (x), wobei der TS-Gehalt des Presssaftes mit steigendem TS-Gehalt des abgepressten Materials in gleichem Maße anstieg:

unsiliertes Pflanzenmaterial	$y = 0,47x - 2,44$	$R^2=0,98$ ;	$s=0,74$	$p < 0,001$	(n=21)
siliertes Pflanzenmaterial	$y = 0,49x - 1,77$	$R^2=0,99$	$s=0,62$	$p < 0,001$	(n=21)

Dieser Sachverhalt legt die Vermutung nahe, dass im Presssaft, zumindest in Bezug auf die Trockensubstanz, die Verhältnisse des originalen Pflanzen- bzw. Silagematerials widergespiegelt werden. Dafür sprechen auch Ergebnisse von KROMUS *et al.* (2004), die Presssäfte von Luzerne und Weidelgras untersuchten. Während im Presssaft der Luzerne zwar Rohprotein von 29 % der Presssaft-TS, aber nur 12 % an wasserlöslichen Kohlenhydraten (WLK) der Presssaft-TS analysiert wurden, konnten im Presssaft des Weidelgrases 44 % WLK, jedoch lediglich 17 % Rohprotein der Presssaft-TS ermittelt werden. Die Verhältnisse von WLK zu Rohprotein entsprechen dem pflanzentypischen Verhältnis der beiden Parameter bei Leguminosen und Gräsern. An Rohasche ermittelten die Autoren bei Luzerne resp. Weidelgras 25 resp. 24 % der Presssaft-TS, was durch die eigenen Untersuchungen bestätigt werden kann, da im unsilierten Weidelgras durchschnittlich 29 % Rohasche der Presssaft-TS analysiert wurden (vgl. Tab. 4.15).

Um mit der Methode zur Osmolalitätsmessung hinsichtlich der TS ein breites Probenspektrum untersuchen zu können, war ein alternatives Verfahren zur Presssaftgewinnung bei sehr TS-reichem Material unerlässlich. Mit der Herstellung von Auszügen ist die Osmolalitätsmessung in jedem TS-Bereich > 40 % TS möglich und mit der Messung von verdünnten Presssäften vergleichbar (s. Kapitel 4.2.1.1.2). Selbiges zeigten auch die Untersuchungen am Dt. Weidelgras (s. Tab. 4.17), bei denen sich die Osmolalitäten von Presssaft und Presskuchen (Auszug) nur in A1 und A3 voneinander unterschieden. Dies unterstützt die These, dass der Presssaft eine repräsentative Probe der wässrigen Phase darstellt. Obwohl der Presskuchen bereits um den Anteil der wässrigen Phase,

der den Presssaft ausmacht, verringert wurde, führt bei der Auszugherstellung eine Wiedervernässung und Korrektur auf den originalen TS-Wert zur selben Konzentration osmotisch wirksamer Teilchen wie im Presssaft.

Neben den in der Methodenentwicklung und im Ergebnisteil dargestellten Experimenten wurden orientierend auch extrem trockensubstanzreiche Probematerialien untersucht. Die über einen Auszug ermittelten Osmolalitäten sowie die daraus berechnete  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  und die Wasseraktivität  $a_w$  sind in Tab. 5.5 dargestellt.

**Tab. 5.5: Osmolalität,  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  und Wasseraktivität ( $a_w$ ) von Heu, Stroh und Haferkörnern (n=3)**

	Heu	Stroh	Haferkörner
TS [%]	87,3	78,6	81,9
Osmolalität [ $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ]	11,040 $\pm$ 0,239	3,830 $\pm$ 0,100	2,233 $\pm$ 0,041
$\text{osmol}_{\text{TS}}$ [ $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ]	1,60 $\pm$ 0,03	1,04 $\pm$ 0,03	0,49 $\pm$ 0,01
$a_w$ [-]*	0,820 $\pm$ 0,004	0,933 $\pm$ 0,002	0,961 $\pm$ 0,001

\* aus Osmolalität berechnet

Die von Heu gemessene Osmolalität erscheint im Vergleich zu dem sehr hohen TS-Gehalt zu niedrig. Vergleichswerte in der Literatur wurden lediglich bei MÜLLER & ÚDEN (2007) gefunden. Sie ermittelten für Heu mit einer TS von 88,4 % eine  $a_w$  von 0,62 (entspricht ca. 26,5  $\text{osmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), was deutlich unter den analysierten Werten aus Tab. 5.5 liegt. Für Stroh konnten dem Schrifttum keine Referenzwerte entnommen werden, so dass die Einordnung der Ergebnisse nicht möglich ist. Bei der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  von 0,49  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  der Haferkörner können Parallelen zu den Körnern der großsamigen Leguminosen gezogen werden, deren Werte ebenfalls in diesem Bereich lagen (vgl. Tab. 4.21), weshalb die ermittelte Osmolalität hier als realistisch eingeschätzt wird. Diese eigenen Untersuchungen und fehlende Literaturwerte machen deutlich, dass weiterer Forschungsbedarf auf dem Gebiet der Osmolalitätsbestimmung trockensubstanzreicher Materialien besteht, um die aus der vorliegenden Arbeit gezogenen Schlussfolgerungen zur Osmolalität in Pflanzen und Silagen zu stützen.

Die Extrakterstellung, die bis auf die Menge des zugesetzten Wassers der Auszugherstellung gleich ist, resultierte in überwiegend signifikant verschiedenen Osmolalitätswerten gegenüber Presssaft und Auszug (vgl. Tab. 4.17). Grundsätzlich ist jedoch davon auszugehen, dass die Osmolalität in allen drei Medien zu vergleichbaren Aussagen führt. Sofern für die Osmolalitätsmessung keine Presse zur Presssaftgewinnung zur Verfügung steht, stellt alternativ die Extrakterstellung eine einfach durchzuführende Methode dar, um die Osmolalität eines Pflanzen- oder Silagematerials zu bestimmen.

Der Vergleich der pH-Werte von Presssaft (y) und Extrakt (x) von Pflanzen- und Silagematerial führte zu folgender linearer Abhängigkeit:

$$y = 0,99x \quad R^2 = 0,96 \quad s = 0,17 \quad p < 0,001 \quad (n = 402)$$

Aufgrund der äußerst hohen Korrelation kann der pH-Wert folglich direkt im Presssaft bestimmt werden, falls keine Extrakterstellung zur Bestimmung der Osmolalität erforderlich ist.

## 5.2 Beziehungen zwischen Osmolalität, Trockensubstanzgehalt und weiterer Parameter im zu silierenden Grüngut und in Silagen

An den in der gängigen Silierpraxis getroffenen Aussagen zur Silierbarkeit von Pflanzenmaterial hinsichtlich eines ausreichend hohen osmotischen Wertes ist dahingehend Kritik zu üben, dass keine direkte Bestimmung, sondern lediglich eine Schätzung der Osmolalität erfolgt. Dabei wird entweder die Wasseraktivität über die in Kapitel 2.4 vorgestellte Gleichung [11] von GREENHILL (1964d) ermittelt, oder es wird davon ausgegangen, dass ab einem bestimmten TS-Gehalt eine ausreichende osmotische Hemmung von Gärschädlingen gegeben ist.

Die Berechnung der Osmolalität konnte bereits aufgrund der für die verschiedenen Pflanzenmaterialien schwer zu definierenden Konzentration  $c$  der osmotisch wirksamen Teile als eine zu ungenaue Arbeitsmethode herausgestellt werden (vgl. Tab. 2.7). Allerdings ergeben sich aus der Herleitung von  $c$  erste Hinweise darauf, dass pflanzentypische osmotische Unterschiede zwischen Pflanzenfamilien bestehen, da GREENHILL (1964d) für Leguminosen und Gras verschiedene Konstanten ausweist. Die in der Literatur zu findenden Beispiele einer Buttersäuregärung bei hohen TS-Gehalten in der Silage (vgl. Kapitel 2.1.2) konnten durch eigene Untersuchungen an Praxissilagen bestätigt werden, so dass weiterhin die Frage gestellt werden muss, ob eine indirekte Bestimmung der Osmolalität zu Fehleinschätzungen der Silierbarkeit führen kann.

Um die Beziehung zwischen der Osmolalität des Presssaftes (y) und der Trockensubstanz (x) zu prüfen, wurde das Pflanzenmaterial des Screenings statistisch untersucht. Die Regressionsgleichung bezieht neben Leguminosen, Getreideganzpflanzen und Gräsern weitere Probematerialien ein, die Tab. A3 im Anhang zu entnehmen sind:

$$y = 0,009x + 0,332 \quad R^2 = 0,42 \quad s = 0,085 \quad p < 0,001 \quad (n = 48)$$

Aus dem Bestimmtheitsmaß kann geschlussfolgert werden, dass die Abhängigkeit der Presssaft-osmolalität von der TS weit geringer ist, als allgemein angenommen wird. Dies ist nachzuvollziehen, da die Trockensubstanz bei den verschiedenen Pflanzenmaterialien eine unterschiedliche

Zusammensetzung aufweist und jeweils durch die pflanzentypischen Parameter charakterisiert wird. Um die Osmolalität von Grünfutter besser beurteilen zu können, erwies sich die Formulierung der trockensubstanzabhängigen osmotischen Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (s. Gl. 12, S. 59) als geeignete Größe. Dabei wird die Osmolalität in Beziehung zum jeweiligen Trockensubstanzgehalt (in kg TS je kg  $\text{H}_2\text{O}$ ) des Pflanzenmaterials gesetzt. Die Berechnung dieses Parameters weist Neuheitscharakter auf und ermöglicht den universellen Vergleich der osmotischen Wirkung verschiedener Pflanzenmaterialien. Es konnte dadurch gezeigt werden, dass bei gleicher TS Getreideganzpflanzen mit durchschnittlich  $1,14 \text{ osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  wesentlich geringere osmotische Wirkungen aufweisen als Gräser bzw. Leguminosen mit  $2,44$  bzw.  $2,52 \text{ osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  (vgl. Tab. 4.19). Eine deutlich unter  $1 \text{ osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  liegende osmotische Wirkung konnte in den Samen von Pflanzen in Untersuchungen mit Leguminosen- und Haferkörnern festgestellt werden (vgl. Tab. 4.21 und Tab. 5.5). Die Berechnung der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  dient als Hilfe zur Beurteilung der osmotischen Verhältnisse in Pflanzen. Das entscheidende Kriterium für die Vorhersage der Siliereigenschaften ist jedoch die Osmolalität des Presssaftes, da eine hemmende Wirkung auf Gärschädlinge vom osmotischen Wert der wässrigen Phase der Futterpflanzen ausgeht. In Tab. 5.6 sind Beispiele verschiedener Pflanzengruppen aufgeführt, bei denen über  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  die im Presssaft vorliegende Osmolalität modellhaft für verschiedene TS-Stufen berechnet wurde.

**Tab. 5.6: Modellrechnung zur Ermittlung der Osmolalität des Presssaftes verschiedener Pflanzenarten über  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  für unterschiedliche TS-Stufen**

Pflanze	$\text{osmol}_{\text{TS}}$ [ $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ]	berechnete Osmolalität [ $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ] bei TS [%]				
		20	30	40	60	80
<i>Getreideganzpflanzen</i>						
Mais	0,90	0,225	0,386	0,600	1,350	3,600
Weizen	1,39	0,348	0,596	0,927	2,085	5,560
Hafer	1,70	0,425	0,729	1,133	2,550	6,800
<i>Leguminosen</i>						
So-Wicke „Ina“	1,76	0,440	0,754	1,173	2,640	7,040
Rotklee „Mars 2001“	2,36	0,590	1,011	1,573	3,540	9,440
Weißklee	3,14	0,785	1,346	2,093	4,710	12,560
<i>Gräser</i>						
Dt. WG „Livrée“	1,73	0,433	0,741	1,153	2,595	6,920
Welsches Weidelgras	2,31	0,578	0,990	1,540	3,465	9,240
Dt. WG „Lacerta“	2,95	0,738	1,264	1,967	4,425	11,800

In den Pflanzengruppen Getreide, Leguminosen und Gräser wurden anhand der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  jeweils Extrembeispiele und Durchschnittswerte gewählt. Weizen, Hafer und Welsches Weidelgras sind

Werte des Ausgangsmaterials der Modellsilagen (s. Tab. 4.32, 4.37 und 4.43), das außerdem dargestellte Pflanzenmaterial ist Bestandteil des Screenings (Tab. A3 im Anhang). Die berechneten Osmolalitäten, die die Werte eines modellhaften Anwelkens wiedergeben, können als realistisch eingeschätzt werden, da sich die Osmolalitätswerte der Anwelkstufen des Welschen Weidelgrases mit dieser Verfahrensweise nahezu exakt kalkulieren lassen (vgl. Tab. 4.26).

Aus den Hochrechnungen wird deutlich, dass in einer TS-Stufe die Werte nicht nur zwischen, sondern auch innerhalb der Pflanzengruppen hohe Schwankungsbreiten aufweisen. Generell bestätigt sich jedoch die bereits nach Auswertung der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  gezogene Schlussfolgerung, dass in Getreideganzpflanzen relativ niedrige osmotische Werte vorliegen. Während die Osmolalität der Gräser und Leguminosen bei z.B. 30 % TS durchschnittlich  $1 \text{ osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$  beträgt, liegt bei Getreide ein bis um die Hälfte geringerer Wert vor, bei dem eine osmotische Hemmung von Gärschädlingen nicht ausgeschlossen werden kann. Insbesondere bei einer geringen Osmolalität im Ausgangsmaterial zur Silierung kommt im Hinblick auf eine zuverlässige Hemmung von gärschädigenden Mikroorganismen einer schnellen pH-Wert-Absenkung große Bedeutung zu, so dass der Einsatz eines Silierhilfsmittels empfehlenswert ist. Ein Zusatz von MSB-Präparaten ist vermutlich bei einer Silierung der Leguminosenkörner erforderlich (vgl. Tab. 4.21), welche selbst bei einem TS-Gehalt von 70 % eine Osmolalität aufweisen, die von den meisten Gärschädlingen toleriert wird (LINDGREN, 1991). Wenn bereits im Ausgangsmaterial eine hohe Osmolalität vorliegt, ist davon auszugehen, dass gute Vergärbarkeitseigenschaften des Pflanzenmaterials vorliegen, so dass auf einen Silierzusatz verzichtet werden kann.

Die Osmolalität des Presssaftes kann jedoch nicht als alleiniges Kriterium zur Schätzung der Silierbarkeit verwendet werden. Vielmehr ist eine Reihe weiterer Faktoren für den Siliererfolg verantwortlich. Mais weist beispielsweise einen hohen Zuckergehalt und aufgrund des relativ geringen Proteingehaltes eine geringe Pufferkapazität auf, so dass er trotz einer sehr niedrigen  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  von  $0,90 \text{ osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  (s. Tab. 5.6) als problemlos silierbar einzustufen ist.

Der Literatur konnten im Hinblick auf den Einfluss der Osmolalität auf die Silierbarkeit keine Vergleichswerte entnommen werden. Die dargelegten Ergebnisse stellen jedoch einen Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen dar, um mittels Bestimmung der Osmolalität bzw. der trockensubstanzabhängigen osmotischen Wirkung unter Beachtung weiterer Silierparameter Aussagen zu Siliereigenschaften zu treffen.

Es war anzunehmen, dass die Veränderung der Osmolalität im Presssaft des Pflanzenmaterials auch während des Vegetationsverlaufs maßgeblich von der Trockensubstanz abhängt. Bei Betrachtung der Nährstoff- und Silierparameter Rohasche, wasserlösliche Kohlenhydrate und Pufferkapazität,

die aufgrund ihrer chemischen Struktur einen Einfluss auf die Osmolalität ausüben könnten, wurde keine positive Beziehung während des Wachstums festgestellt, da die genannten Parameter mit steigender Osmolalität sinken (vgl. Tab. 4.23 bis 4.25). Anhand der trockensubstanzabhängigen osmotischen Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  konnte jedoch gezeigt werden, dass die Osmolalitätserhöhung nur scheinbar mit einem TS-Anstieg korreliert. Im Verlauf der Vegetation kann daher bei steigender TS (x) ein Absinken der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (y) verzeichnet werden:

$$\text{Getreideganzpflanzen: } y = -0,07x + 4,20 \quad R^2=0,91 \quad s=0,14 \quad p < 0,001 \quad (n=24)$$

$$\text{Dt. Weidelgras: } y = -0,02x + 2,49 \quad R^2=0,55 \quad s=0,09 \quad p < 0,05 \quad (n=9)$$

Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse aus den Anwelkversuchen (Tab. 4.26 und 4.27). Während beim Welschen Weidelgras zwar zu A2 ein leichter Anstieg der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  zu verzeichnen war, konnten beim Dt. Weidelgras keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten der verschiedenen TS-Stufen festgestellt werden. Aufgrund der Beziehung zwischen  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (y) und TS (x) kann festgestellt werden, dass die beiden Parameter nahezu nicht korrelieren:

$$y = 0,01x + 1,89 \quad R^2=0,33 \quad s=0,15 \quad p < 0,01 \quad (n=27)$$

Diese Tendenz kann durch Ergebnisse von GREENHILL (1964d) bestätigt werden. Er bestimmte die Wasseraktivität von Weidelgras im Grünfütterstadium (15 % TS) und stellte durch Anwelken mehrere TS-Stufen bis 49 % her. Mit der aus den Daten von GREENHILL (1964d) berechneten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (y) in Abhängigkeit der TS (x) wird folgende Regression bestimmt:

$$y = -0,001x + 2,037 \quad R^2=0,06 \quad s=0,04 \quad p > 0,05 \quad (n=8)$$

Aus der Gleichung wird deutlich, dass auch hier kein Zusammenhang zwischen  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  und TS-Gehalt besteht. Die osmotische Wirkung des Weidelgrases weist über alle TS-Stufen hinweg denselben Wert von durchschnittlich  $2,01 \text{ osmol} \cdot \text{kgTS}^{-1}$  ( $s=0,04$ ) auf.

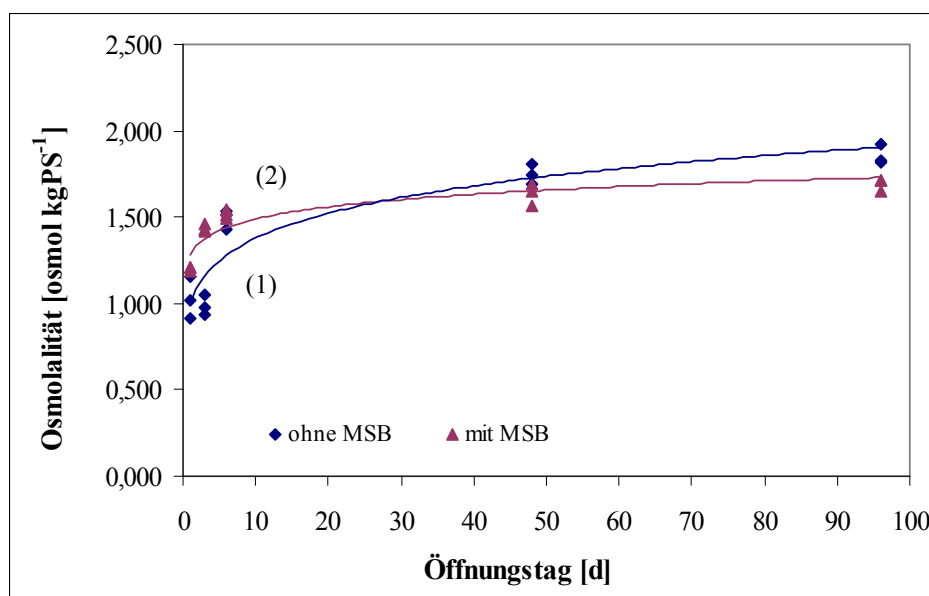
Über die Osmolalitätswerte der Extrakte von Leguminosenkörnern erfolgte mittels Einengungsverhältnis eine Hochrechnung auf verschiedene TS-Gehalte (Tab. 4.21). Entsprechend wurde zu jeder TS-Stufe die osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  berechnet. Die ermittelten Werte aller Pflanzenarten, welche sich über alle TS-Stufen hinweg nicht voneinander unterschieden, stützen die Schlussfolgerungen, die aus den Werten der angewelkten Gräser getroffen wurden.

Es konnte somit eindeutig nachgewiesen werden, dass die Osmolalitätserhöhung während des Anwelkens nahezu vollständig auf eine Erhöhung der TS zurückzuführen ist. Im Gegensatz dazu wurde anhand der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  gezeigt, dass im Vegetationsverlauf kein der TS-Erhöpfung entsprechender Osmolalitätsanstieg erfolgt. Die Ursachen dafür liegen in den jeweils pflanzenspezifischen anabolen und katabolen Stoffwechselprozessen begründet. Im Hinblick auf die in der Silierpraxis geforderte Erhöhung des osmotischen Wertes zur Hemmung von



osmointoleranten Schadorganismen ist die Osmolalitätserhöhung über das Anwelken wesentlich effektiver als der im Zuge des Pflanzenwachstums erzielte Anstieg.

Die bei der Silierung einsetzenden anaeroben Bedingungen führen zu einer Autolyse der Pflanzenzellen und damit zur Freisetzung von Pflanzensaft (GREENHILL, 1964b; PITT *et al.*, 1985). Außerdem ist davon auszugehen, dass die für die Silierung charakteristischen Fermentationsprozesse bereits zu Beginn des Gärvorganges zu relevanten Osmolalitätserhöhungen führen. Diese Vermutungen konnten in den eigenen Untersuchungen anhand von Silagen bestätigt werden, die zu unterschiedlichen Öffnungstagen (1, 3, 6, 48 und 96 d) untersucht wurden. Dabei zeigten sowohl Gras- als auch Getreideganzpflanzsilagen einen ähnlichen charakteristischen Verlauf, weshalb im Folgenden exemplarisch die Silagen der ersten Anwelkstufe des Welschen Weidelgrases (vgl. Tab. 4.33) dargestellt werden (Abb. 5.1).



**Abb. 5.1:** Osmolalität in Abhängigkeit der Lagerdauer und eines MSB-Zusatzes bei Silagen von angewelktem Welschem Weidelgras (n=15 je Behandlungsvariante)

$$(1) y = 0,99x^{0,14} \quad R^2=0,82 \quad s=0,12 \quad p<0,001 \quad (2) y = 1,28x^{0,07} \quad R^2=0,86 \quad s=0,05 \quad p<0,001$$

Der Anstieg der Osmolalität im Silierverlauf lässt sich über eine Exponentialfunktion mit hohem Bestimmtheitsmaß darstellen. Die Streuung ist erwartungsgemäß in der unbehandelten Variante größer als in den MSB-Silagen. Aus einem Versuch von WEISSBACH (1968) mit Luzernesilage ohne Zusatz (ca. 30 % TS), von welcher zu 15 Terminen zwischen 1 und 336 Tagen die Osmolalität bestimmt wurde, konnte ein ähnlicher Kurvenverlauf abgeleitet werden:

$$y = 1,22x^{0,08} \quad R^2=0,93 \quad s=0,03 \quad p < 0,001 \quad (n=15)$$

Aus Abb. 5.1 geht deutlich hervor, dass der größte und zeitlich schnellste Osmolalitätsanstieg innerhalb der ersten drei Tage (Öffnungstag 1 und 3) erfolgt, was nach Untersuchungen von GREENHILL (1964d) als realistisch einzustufen ist. Er silierte verschiedene TS-Stufen und Vegetationsstadien von Weidelgras, Luzerne und Weißklee und bestimmte sowohl die Zeit bis zum Zusammenbruch der Zellen als auch nach 0 und 72 h die Wasseraktivität und den pH-Wert. In allen Materialien und TS-Stufen konnte nach drei Tagen eine deutliche Verringerung der Wasseraktivität und des pH-Wertes festgestellt werden. Neben der Bildung von Fermentationsprodukten war für die Erhöhung des osmotischen Wertes (entspricht einer Verringerung der Wasseraktivität) vor allem auch die Freisetzung des Pflanzenzellsaftes verantwortlich, da bereits 2 bis 3 h nach Beginn des Luftabschlusses ein signifikanter Zusammenbruch der Zellen beobachtet wurde. WINTERS *et al.* (1987) untersuchten ebenfalls die Auswirkungen der Silierung auf zellulärer Ebene bei Welschem Weidelgras. An den Tagen 1, 2, 3 und 4 nach Beginn der Silierung stellten sie eine starke Verringerung des Protoplast-Zell-Verhältnisses bei gleichzeitigem Anstieg der Zellsaftfreisetzung fest. Milchsäure wurde ab dem zweiten Siliertag in signifikanten Konzentrationen gebildet.

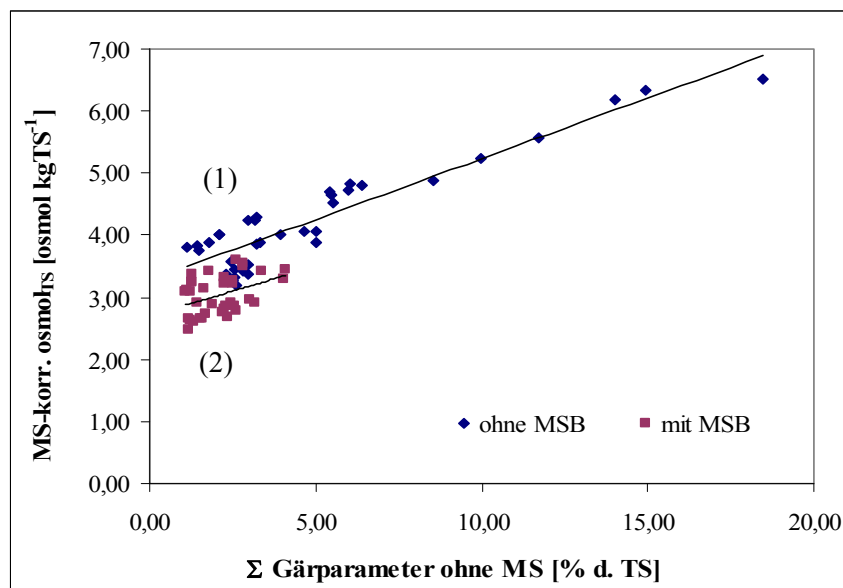
Die aus der Osmolalität und TS berechnete osmotische Wirkung  $osmol_{TS}$  führte bei der Beurteilung der Silagen zu ähnlichen Aussagen wie die Osmolalität. Bei der Untersuchung des Einflusses von MSB auf die Silierung konnte festgestellt werden, dass Silagen ohne Silierzusatz signifikant höhere  $osmol_{TS}$ -Werte aufwiesen als solche mit Zusatz. In den Versuchen zum Silierverlauf der Osmolalität zeigte sich ein differenzierteres Bild. Während in den ersten 6 Tagen der Silierung überwiegend die MSB-Varianten höhere osmotische Werte als die Kontrollsilagen aufwiesen, kehrte sich dieses Verhältnis ab dem 48. Tag um. Es wurde vermutet, dass die Milchsäureproduktion in den mit MSB-Präparaten versetzten Silagen maßgeblich die Ursache der hohen Osmolalität zu Beginn der Silierung war, während die unbehandelten Silagen zu Silierende ihre Osmolalität durch Nebenfermentationen steigerten. Daraus schlussfolgernd war es notwendig, die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $osmol_{TS}$  zu modifizieren. Die Korrektur dieses Parameters um den durch die Bildung der Milchsäure (MS) verursachten Anteil ermöglicht aufgrund folgender Überlegungen bessere Aussagen zur Qualität von Silagen:

1. Die mit der Silierung einsetzenden Fermentationsprozesse führen zu einer Erhöhung der Osmolalität in den Presssäften von Silagen.
2. Von den die Osmolalität erhöhenden Fermentationsprodukten ist im Sinne einer anaeroben Stabilität der Silage ausschließlich Milchsäure als positiv zu werten, da sie neben einer starken Ansäuerung vor allem durch Erhöhung des osmotischen Wertes zu einer Hemmung von Gärschädlingen führt.

3. Durch die Korrektur der osmotischen Wirkung um den durch die Milchsäurebildung verursachten Wert kann die über das notwendige Maß hinaus erhöhte Osmolalität von Silagen beurteilt werden.

Die Formulierung einer MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  führte zu logischen Schlussfolgerungen bei den Versuchen zum Silierverlauf. Die ohne die positiv zu bewertende Milchsäure berechnete osmotische Wirkung lag in allen Versuchen ab dem dritten Öffnungstag in den Kontrollvarianten über den MSB-Silagen. Am ersten Öffnungstag blieb weiterhin das umgekehrte Verhältnis bestehen. Dies ist zunächst nicht erklärbar, da zu diesem frühen Stadium der Fermentation der Gehalt an der Summe aller erfassten Gärparameter in beiden Varianten nahezu gleich war. Daher können für die Unterschiede lediglich Fermentations- oder Stoffwechselprozesse verantwortlich sein, die nicht analytisch bestimmt wurden.

Unter der Annahme, dass die Osmolalitätserhöhung nach Korrektur des MS-Anteils überwiegend auf die als negativ zu bewertenden Fermentationsprodukte zurückzuführen ist, muss zwischen der MS-korrigierten osmotischen Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  und der Summe der Gärparameter ohne Milchsäure eine hohe Abhängigkeit vermutet werden. Für die Ableitung einer Korrelation zwischen diesen beiden Parametern wurden die Ergebnisse der Grassilagen von Öffnungstag 48 und 96 zur Erhöhung der Datendichte zusammengefasst, da bei dieser Lagerzeit von einer ausgereiften Silage auszugehen ist (Abb. 5.2).



**Abb. 5.2:** MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  in Abhängigkeit der Summe ( $\Sigma$ ) der Gärparameter ohne Milchsäure (MS) bei Grassilagen ohne und mit MSB-Zusatz (n=36 je Behandlungsvariante)

$$(1) \quad y = 0,20x + 3,28 \quad R^2=0,89 \quad s=0,32 \quad p<0,001 \quad (2) \quad y = 0,16x + 2,70 \quad R^2=0,17 \quad s=0,29 \quad p<0,05$$

Aus Abb. 5.2 ergibt sich bei unbehandelten Grassilagen im Gegensatz zu den MSB-Varianten eine sehr hohe Abhängigkeit zwischen MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  und der Summe der Gärparameter ohne MS. Dies erscheint realistisch, da bei Silagen ohne Silierzusatz mit einer schlechteren Fermentationsqualität und deshalb mit einer geringen MS-Bildung sowie einem erhöhten Gehalt an Nebengärprodukten zu rechnen ist. Zu ähnlichen Aussagen führen Berechnungen des gleichen Datenmaterials, wenn die  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  des Ausgangsmaterials zur Silierung von der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  subtrahiert wird. Durch die folgenden Regressionen wird somit nur der durch die Silierung verursachte Osmolalitätsanstieg ausgedrückt:

$$\text{ohne MSB: } y=0,22x + 0,91 \quad R^2=0,89 \quad s=0,31 \quad p < 0,001 \quad (n=36)$$

$$\text{mit MSB: } y=0,27x + 0,22 \quad R^2=0,42 \quad s=0,26 \quad p < 0,001 \quad (n=36)$$

Die Gleichung für die unbehandelten Silagen weist wiederholt eine höhere Korrelation auf als die Regression der Silagen mit MSB-Zusatz, was aus den bereits dargestellten Gründen zu erwarten war. Letztlich wird jedoch im Hinblick auf eine praktische Anwendung der osmotischen Wirkung für die Beurteilung der Silagequalität nur der Endwert der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  der Silage relevant sein, da die Bestimmung des Ausgangswertes vor der Silierung meist nicht erfolgen wird.

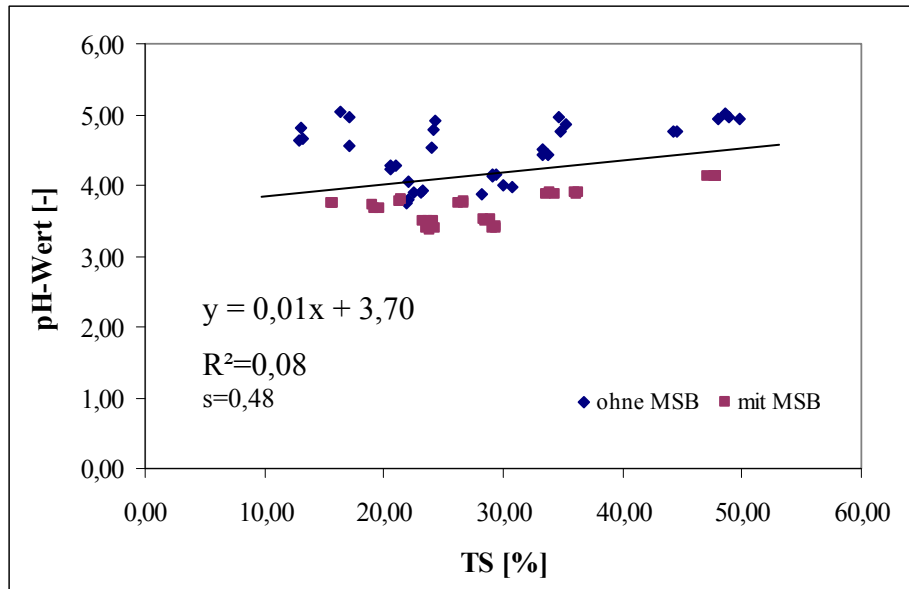
Die Abhängigkeit der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (y) vom Gehalt der Gärprodukte (x) wurde ebenfalls bei den Getreideganzpflanzensilagen ermittelt (Öffnungstage 48 und 96 zusammengefasst):

$$\text{ohne MSB: } y=0,48x + 1,40 \quad R^2=0,67 \quad s=0,37 \quad p < 0,001 \quad (n=24)$$

$$\text{mit MSB: } y=0,36x + 1,49 \quad R^2=0,97 \quad s=0,13 \quad p < 0,001 \quad (n=24)$$

Unerwartet zeigte sich hier, anders als bei den Grassilagen, eine höhere Abhängigkeit der untersuchten Parameter bei den Silagen mit MSB-Zusatz. Eine mögliche Erklärung könnte zum einen die vergleichsweise hohe Reststreuung der Gleichung der unbehandelten Silagen sein. Zum anderen konnten bei den Getreideganzpflanzensilagen sowohl bei der Osmolalität als auch bei den Gehalten von Milchsäure und der Summe der Gärparameter generell geringere Unterschiede zwischen unbehandelten und behandelten Silagen festgestellt werden als bei den Gräsern. Der Effekt eines MSB-Zusatzes wurde somit bei diesem Pflanzenmaterial weniger deutlich. Aus Untersuchungen von ZAHIRODDINI *et al.* (2004) geht dies ebenfalls hervor. Die Autoren untersuchten den Einfluss eines MSB-Zusatzes auf Gersteganzpflanzensilage und konnten außer einer signifikant erhöhten Essigsäureproduktion in den Kontrollvarianten keine Unterschiede im Milchsäure-, Propionsäure- und Buttersäuregehalt zwischen den Behandlungen feststellen.

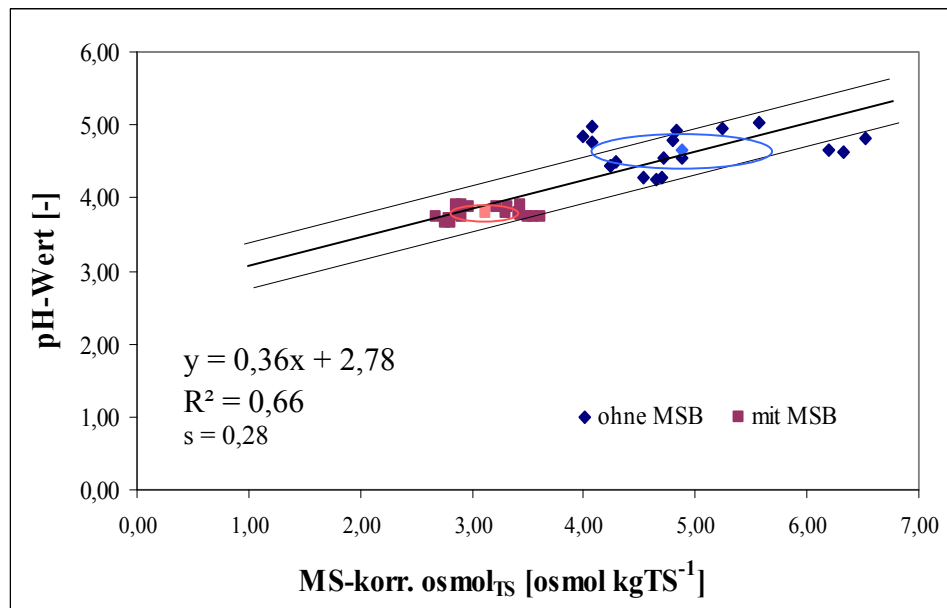
Eine üblicherweise vorgenommene Einschätzung der Silagequalität aufgrund des erzielten pH-Wertes in Abhängigkeit des TS-Gehaltes (WEISSBACH *et al.*, 1974) der Silagen führte zu wenig befriedigenden Aussagen (Abb. 5.3).



**Abb. 5.3:** pH-Wert in Abhängigkeit der Trockensubstanz (TS) bei Grassilagen ohne und mit Zusatz von MSB (n=72)

Aus Abb. 5.3 wird ersichtlich, dass eine Abhängigkeit des pH-Wertes vom TS-Gehalt trotz Signifikanz der Regressionsgleichung ( $p < 0,05$ ) nur sehr gering ausgeprägt war. Silagen mit und ohne MSB-Zusatz unterschieden sich über den gesamten untersuchten TS-Bereich lediglich aufgrund des pH-Wert-Niveaus. Generell lag dabei die Grenze zwischen den unbehandelten Silagen und der MSB-Variante bei ungefähr pH 4,00.

Als weitaus besser geeigneter Parameter zur Qualitätsbeurteilung von Silagen eignet sich die MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ , die in ihrer grundsätzlichen Anwendbarkeit bereits bestätigt wurde. Aufgrund vermehrter Nebengärungen in weniger gut siliertem Grüngut erfolgt ein über das notwendige Maß erhöhter Osmolalitätsanstieg im Gegensatz zu Silagen, bei denen Milchsäuregärung vorherrschend ist. In qualitativ guten Silagen mit einer hohen Milchsäureproduktion kann daher ein niedriger pH-Wert bei einer geringen MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  erwartet werden. Im Gegensatz dazu führt eine geringe Milchsäurebildung in weniger guten Silagen zu hohen pH-Werten und einer hohen MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ . Anhand dieser Größen ist es folglich möglich, die Qualität von Silagen abzuleiten. Abbildung 5.4 stellt dafür die Beziehung zwischen pH-Wert und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  von Silagen von Dt. Weidelgras nach 48 Tagen Lagerung dar (vgl. Tab. 4.30 und 4.31).



**Abb. 5.4:** pH-Wert in Abhängigkeit der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  bei Silagen von Deutschem Weidelgras ohne und mit Zusatz von MSB (n=36)

Die Abhängigkeit zwischen pH-Wert und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  kann über eine lineare Regression mit relativ hohem Bestimmtheitsmaß beschrieben werden ( $p < 0,001$ ). Die in Abb. 5.4 ausgewiesenen Geraden stellen die Regressionsgerade mit der jeweiligen Streuung in der Vertikalverschiebung dar. In allen unbehandelten Silagen konnte eine zum Teil beträchtliche Buttersäurebildung nachgewiesen werden. Silagen mit MSB-Zusatz waren dagegen buttersäurefrei (vgl. Tab. A5 und A6 im Anhang), so dass aufgrund der Behandlungsvariante eine Abgrenzung der Silagequalität erfolgen kann. Die in Abb. 5.4 hervorgehobenen Mittelwerte und Streuungen des pH-Wertes und MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  der Zusätze weisen einen hoch signifikanten Unterschied auf (Tab. 5.7).

**Tab. 5.7:** Vergleich der Mittelwerte von pH-Wert und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  der Silagen des Deutschen Weidelgrases ohne und mit Zusatz von MSB

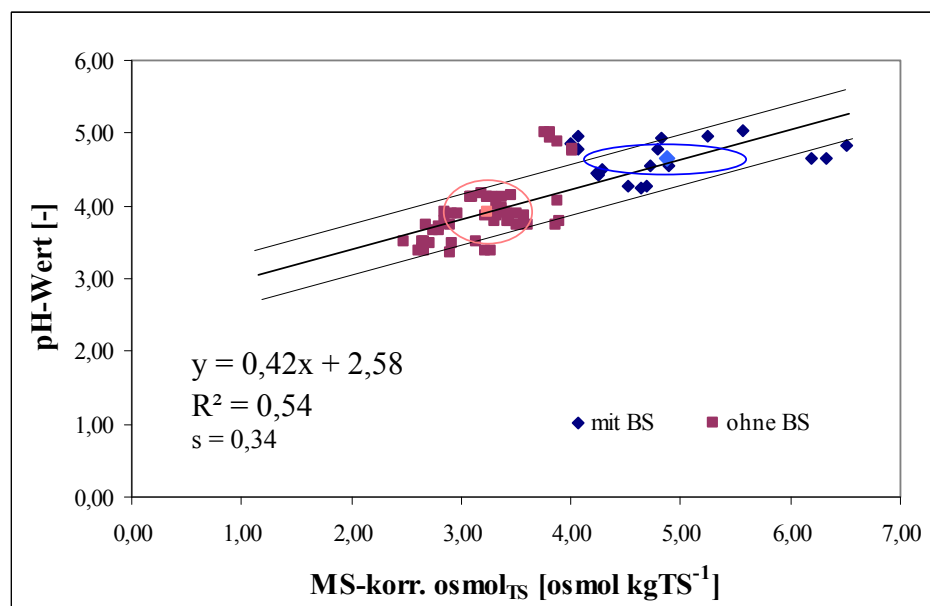
	ohne MSB (n=18)	mit MSB (n=18)	p
pH-Wert [-]	4,65 <sup>b</sup> ±0,25	3,79 <sup>a</sup> ±0,08	0,000
MS-korr. $\text{osmol}_{\text{TS}}$ [ $\text{osmol} \cdot \text{kgTS}^{-1}$ ]	4,88 <sup>b</sup> ±0,79	3,13 <sup>a</sup> ±0,32	0,000

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede.

Die Streuung der Parameter in den unbehandelten Silagen liegt höher als in den MSB-Varianten, jedoch noch nahezu vollständig innerhalb der Streuung der Regression (vgl. Abb. 5.4). Es kann somit eindeutig nachgewiesen werden, dass neben dem pH-Wert die MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  eine geeignete Größe ist, die Qualität von Silagen zu beurteilen. Je höher die um die Milchsäure

korrigierte osmotische Wirkung und der pH-Wert der Silage sind, desto wahrscheinlicher ist das Vorhandensein von unerwünschten Nebengärungen.

In Abb. 5.5 werden zusätzlich zu den Silagen des Dt. Weidelgrases die Silagen des 48. und 96. Öffnungstages des Welschen Weidelgrases zur Berechnung der Abhängigkeit von pH-Wert und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  dargestellt (vgl. Tab. 4.32 bis 4.34). Da in den Modellsilagen des Welschen Weidelgrases keine nennenswerten Buttersäuregehalte festgestellt werden konnten, waren die unbehandelten Silagen gleich den Silagen mit MSB-Zusatz als gärbioologisch gut einzustufen. Deshalb erfolgte in der graphischen Darstellung und der Berechnung der Mittelwerte von pH und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  die Unterscheidung der Silagen nicht hinsichtlich des Zusatzes, sondern nach dem Auftreten von Buttersäure.



**Abb. 5.5:** pH-Wert in Abhängigkeit der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  bei Grassilagen mit und ohne Bildung von Buttersäure (BS) (n=72)

Aus der Gesamtheit der untersuchten Grassilagen können trotz eines geringeren Bestimmtheitsmaßes die gleichen Schlussfolgerungen hinsichtlich der Differenzierung von qualitativ gut und schlecht zu bewertenden Silagen gezogen werden ( $p < 0,001$ ). Die Mittelwerte von pH-Wert und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  weisen zwar höhere Streuungen auf, unterscheiden sich jedoch zwischen den Merkmalen ohne und mit Buttersäurebildung wiederholt signifikant (Tab. 5.8).

**Tab. 5.8: Vergleich der Mittelwerte von pH-Wert und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  von Grassilagen mit und ohne Bildung von Buttersäure (BS)**

	mit BS-Bildung (n=18)	ohne BS-Bildung (n=54)	p
pH-Wert [-]	4,65 <sup>b</sup> ±0,25	3,91 <sup>a</sup> ±0,42	0,000
MS-korr. $\text{osmol}_{\text{TS}}$ [ $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ]	4,88 <sup>b</sup> ±0,79	3,24 <sup>a</sup> ±0,41	0,000

<sup>a,b</sup> Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile bedeuten signifikante Unterschiede.

Aufgrund der dargestellten Untersuchungen ist es gerechtfertigt, eine Abschätzung zur Qualität von Silagen anhand der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  in Verbindung mit dem pH-Wert vorzunehmen.

Generell konnten Silagen mit einem  $\text{pH} < 4,00$  und einer MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}} < 4,00 \text{ osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  gute, Silagen mit höheren pH- und MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ -Werten schlechte gärbiologische Eigenschaften zugesprochen werden. Die Abgrenzung der Silagequalität über die Beziehung zwischen den beiden Parametern konnte durch Ergebnisse von KOFAHL (bisher unveröffentlicht) im Ansatz bestätigt werden. Es besteht jedoch weiterer Forschungsbedarf zur Überprüfung dieser These. Da in der vorliegenden Arbeit vor allem Modellsilagen ohne Buttersäuregärung zu finden waren, sollte das Auftreten von gärbiologisch schlechten Silagen durch mangelnden Luftabschluss oder Beimpfung mit Stresskeimen bewusst provoziert werden, um die Unterschiede der Silierqualität deutlich zu quantifizieren.



## 6 Schlussfolgerungen

Aus den methodischen Untersuchungen zur Quantifizierung der Osmolalität in Pflanzen und Silagen sowie den durch Anwendung der entwickelten Messmethodik erhaltenen Ergebnisse lassen sich wesentliche Aussagen ableiten, die für die weitere Nutzung der Methode der Osmolalitätsmessung von Bedeutung sind.

1. Für die Beurteilung der Stoffwechsel- bzw. Fermentationsprozesse in Pflanzen bzw. Silagen ist die direkte Bestimmung der Osmolalität einer Umrechnung über die Wasseraktivität vorzuziehen. Die Messungen der Wasseraktivität stellten sich als zeitaufwändig dar und waren darüber hinaus sehr störanfällig, was die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen anzweifeln lässt. Die Osmolalität ist außerdem für die Bewertung biochemischer Vorgänge als wesentlich sensitivere Messgröße anzusehen, da die Wasseraktivität lediglich Ausdruck des für die Mikroorganismen verfügbaren Wassers ist.
2. Das Prinzip der Gefrierpunktdepression ermöglicht eine Quantifizierung der Osmolalität bei einem geringen Probevolumen, einer schnellen Messergebnisbestimmung und einer hohen Reproduzierbarkeit der gemessenen Werte. Damit ist die entwickelte Methode der Osmolalitätsmessung für die Anwendung in der Praxis als geeignet anzusehen.
3. Presssaft ist als repräsentative Probe der wässrigen Phase von Pflanzen und Silagen mit Hilfe einer Tinkturenprese schnell und einfach zu gewinnen. Wo der Presssaftgewinnung technische Grenzen gesetzt sind ( $TS > 40\%$ ), erweist sich die Herstellung von Auszügen durch definierte Wasserzugabe (auf  $20\%$  TS) als Alternative.

Da mit der Herstellung eines Auszuges ein Verdünnen der wässrigen Phase vorgenommen wird, sind die Presssäfte aus methodischer Sicht aufgrund einer Gleichbehandlung der Proben ebenfalls zu verdünnen. Mit Hilfe des Verdünnungsfaktors bzw. des Einengungsverhältnisses können die gemessenen Osmolalitäten der Presssäfte und Auszüge auf den Originalwert umgerechnet werden. Die ermittelten Abweichungen der gemessenen Osmolalitäten bei den verdünnten Presssäften und Auszügen zu den Osmolalitätswerten unverdünnten Probenmaterials sind mit durchschnittlich 4 bis 5 % als gering anzusehen und systematischer Natur, so dass die mit der Methode gewonnenen Ergebnisse und die daraus gezogenen Schlussfolgerungen nicht in Frage zu stellen sind.

4. Gegenwärtig wird von einer hohen Korrelation zwischen Osmolalität und Trockensubstanz ausgegangen. Die Quantifizierung der Osmolalität verschiedener Pflanzenarten und -sorten bei gleichem Trockensubstanzgehalt bzw. bei über das Einengungsverhältnis berechneten vergleichbaren TS-Gehalten zeigte große Unterschiede zwischen Leguminosen und Gräsern

einerseits und Getreideganzpflanzen andererseits. Ursachen für die bei gleichen TS-Gehalten divergierenden Osmolalitäten sind in den pflanzenspezifischen Stoffwechselfvorgängen zu sehen.

Als universeller Parameter drückt die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  ( $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ) die Abhängigkeit zwischen Osmolalität und Trockensubstanz aus. Dieses Kriterium kann herangezogen werden, um Einschätzungen zum Siliererfolg vorzunehmen. Über die berechnete  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  lässt sich die Osmolalität des Presssaftes beliebiger TS-Stufen abschätzen. Die Osmolalität in der wässrigen Phase beeinflusst in Abhängigkeit von der Höhe des Wertes durch ihre selektiv hemmende Wirkung auf Mikroorganismen in Verbindung mit weiteren Silierparametern wie pH-Wert, Pufferkapazität und Menge an vergärbarem Substrat die Siliereigenschaften jedes Pflanzenmaterials. Deshalb können schlussfolgernd Empfehlungen zu notwendigen Zusätzen von Silierhilfsmitteln ausgesprochen werden. Für verlässliche Vorhersagen sind jedoch Folgeuntersuchungen notwendig.

Die mit der TS ansteigende Osmolalität verhält sich im Vegetationsverlauf anders als während des Anwelkens. Dies kann durch Berechnung der trockensubstanzabhängigen osmotischen Wirkung verdeutlicht werden. Während  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  im Verlauf der Vegetation signifikant abnimmt, bleibt sie im Anwelkprozess nahezu konstant. Der Osmolalitätsanstieg bei beiden Vorgängen hat verschiedene Ursachen. Im Wachstum der Pflanze nimmt die Osmolalität aufgrund des anabolen und katabolen Stoffwechselgeschehens nicht in gleichem Maße zu wie während des Anwelkens, bei dem die Osmolalitätserhöhung nahezu ausschließlich auf einen Wasserentzug zurückzuführen ist. Dieser Sachverhalt ist bei der Abschätzung der osmotischen Wirkung des Pflanzenmaterials zu berücksichtigen.

5. Der Zusatz von MSB beeinflusst die Silierung positiv. Die vermehrte Bildung von Milchsäure hemmt aufgrund ihres Säuerungspotentials und ihrer osmotischen Wirkung säure- und osmointolerante Gärschädlinge. Dadurch weisen zu Beginn des Silierprozesses Silagen mit MSB-Zusatz eine erhöhte Osmolalität im Presssaft gegenüber unbehandelten Silagen auf. Der konservierungswirksame Effekt tritt im Silierverlauf in MSB-behandelten Silagen früher ein. Deshalb neigen Silagen ohne MSB-Zusatz im weiteren Fermentationsprozess vermehrt zu Nebengärungen, so dass in der ausgereiften Silage die Osmolalität in diesen Silagen stets höher ist.
6. Da ein Anstieg der Osmolalität aufgrund der Milchsäurebildung im Fermentationsprozess erwünscht ist, ist eine positive von einer negativen Osmolalitätserhöhung abzugrenzen. Nach Abzug des durch die Milchsäure verursachten osmotischen Wertes lässt sich die MS-korrigierte trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung berechnen, die Aussagen über unerwünschte

Nebengärungen zulässt. Aufgrund einer hohen Abhängigkeit der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  von der Summe des Gehaltes der als negativ zu bewertenden Gärprodukte (ohne Milchsäure) ist eine stark erhöhte Osmolalität des Presssaftes von Silagen auf Fermentationsprodukte zurückzuführen, die nicht zu einer anaerob stabilen Konservierung führen. Die Begrenzung der Osmolalitätserhöhung während der Silierung auf das konservierungswirksame notwendige Maß ist daher besonders wichtig.

7. Die Methode der Osmolalitätsmessung und die daraus entwickelten osmotischen Parameter können einen Beitrag zur Beurteilung der Gärqualität leisten. Im Allgemeinen wird der erzielte pH-Wert der Silagen in Beziehung zum TS-Gehalt gesetzt, um den Siliererfolg zu bewerten. Diese Vorgehensweise führte jedoch in den vorliegenden Untersuchungen zu unbefriedigenden Aussagen. Durch Betrachtung des pH-Wertes in Abhängigkeit der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  konnten sowohl die Silagen mit und ohne MSB-Zusatz als auch mit und ohne Buttersäurebildung voneinander abgegrenzt werden. Je höher die pH- und MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ -Werte in Silagen liegen, desto wahrscheinlicher ist die Bildung von Buttersäure oder das Auftreten von unerwünschten Nebengärungen, die die Osmolalität im Presssaft über das notwendige Maß hinaus erhöhen. Für die Ableitung präziser Einschätzungen besteht jedoch zu diesem Komplex weiterer Forschungsbedarf.

## 7 Zusammenfassung

Die hohen Anforderungen an die Futterqualität für Hochleistungsmilchkühe machen eine im Sinne der Gärung optimal verlaufende und damit nahezu verlustfreie Fermentation von Grünfütter unerlässlich, um eine anaerob stabile Silage bester Futterwerteigenschaften herzustellen. Der osmotische Wert hat aufgrund seiner selektiv hemmenden Wirkung gegenüber Mikroorganismen neben dem Gehalt an vergärbaren Kohlenhydraten einen maßgeblichen Einfluss auf die Siliereigenschaften von Pflanzenmaterial. Gegenwärtig wird in der Silierpraxis die Osmolalität von Pflanzen und Silagen nicht direkt bestimmt, sondern über den Trockensubstanzgehalt geschätzt, was als kritisch zu betrachten ist. Aufgrund des Auftretens von Buttersäure in trockenstanzreichen Silagen musste die Frage gestellt werden, ob der Trockensubstanzgehalt im Hinblick auf die Vorhersage des Siliererfolges die von ihm erwarteten Aussagen treffen kann, oder ob der Trockensubstanzgehalt erst in Verbindung mit der Osmolalität zu aussagefähigeren Prognosen führen würde. Gegenstand der vorliegenden Arbeit war deshalb die Entwicklung einer einfach durchzuführenden Messmethode mit gut reproduzierbaren Ergebnissen, um den Kenntnisstand zur osmotischen Wirkung in Grünpflanzen und daraus hergestellten Silagen zu erweitern und die Eignung der Osmolalität als ergänzenden Parameter zur Beurteilung der Siliereignung und -qualität zu prüfen. Dazu wurden im unsilierten Pflanzenmaterial der Einfluss der Pflanzenart und -sorte, des Vegetationsverlaufs und des Anwelkens auf die Osmolalität an verschiedenen Leguminosen, Deutschem und Welschem Weidelgras sowie Getreideganzpflanzen untersucht. Für die Bewertung der Auswirkungen eines Silierzusatzes (ohne und mit Milchsäurebakterien) und des Silierverlaufs (fünf Öffnungstage: 1, 3, 6, 48 und 96 Tage) auf die Osmolalität wurden von Deutschem und Welschem Weidelgras sowie von Getreideganzpflanzen (Weizen, Gerste, Triticale und Hafer) Modellsilagen angefertigt.

Die Untersuchungen führten zusammenfassend zu folgenden wesentlichen Ergebnissen:

1. Die Osmolalität von Pflanzen und Silagen kann einfach, schnell und gut reproduzierbar mit Hilfe des Gefrierpunktsmometers *Osmomat 030* bestimmt werden. Als Medium zur Quantifizierung der Osmolalität dient der über eine Tinkturenpresse gewonnene Presssaft des Pflanzen- oder Silagematerials.
2. Ab einem TS-Gehalt von 40 % ist aus technischen Gründen keine Presssaftgewinnung möglich. Alternativ werden durch definierte Wasserzugabe (auf 20 % TS) Auszüge hergestellt und die Osmolalität über das Einengungsverhältnis auf die Original-TS umgerechnet. Presssäfte werden ebenfalls verdünnt gemessen. Die Osmolalitäten der verdünnten Presssäfte und Auszüge

unterscheiden sich von wenigen Einzelmessungen abgesehen nicht signifikant voneinander. Zwischen verdünnten Presssäften und Auszügen einerseits und dem originalen Wert des unverdünnten Presssaftes andererseits bestehen Abweichungen von durchschnittlich 4 bis 5 %. Diese Differenzen sind jedoch systematischer Natur und schränken daher die getroffenen Aussagen nicht ein.

3. Aufgrund spezifischer Stoffwechselforgänge der Pflanzen unterscheidet sich die Osmolalität des Presssaftes verschiedener Pflanzengruppen bei gleichem TS-Gehalt, so dass die hohe vermutete Korrelation zwischen Osmolalität und TS-Gehalt in Frage gestellt wird. Die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  ( $\text{osmol} \cdot \text{kgTS}^{-1}$ ) drückt die Differenzen zwischen Pflanzenmaterial bei gleichem TS-Gehalt als universelles Kriterium aus und ermöglicht es, Einschätzungen zur Silierbarkeit des Pflanzenmaterials zu treffen.
4. Im Vegetationsverlauf nimmt die Osmolalität im Presssaft ( $\text{osmol} \cdot \text{kgPS}^{-1}$ ) als Folge der anabolen und katabolen Stoffwechselprozesse nicht in gleichem Maße zu wie der TS-Gehalt. Während des Anwelkens bleibt die Osmolalität des Presssaftes bezogen auf den TS-Gehalt gleich, da durch einen Wasserentzug nur eine Erhöhung der Konzentration osmotisch wirksamer Teilchen erfolgt. Beide Vorgänge können über den Parameter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  erklärt werden.
5. Der Zusatz von MSB beeinflusst die Konservierung bereits in der frühen Silierphase durch eine starke Ansäuerung und Erhöhung der Osmolalität im Presssaft aufgrund einer vermehrten Milchsäurebildung positiv. Silagen ohne MSB-Zusatz zeigen dagegen eine verringerte Osmolalität zu Beginn der Silierung, während in der ausgereiften Silage aufgrund von unerwünschten Fermentationsprozessen die Osmolalität höher als in MSB-behandelten Varianten liegt.
6. Im Verlauf der Silierung kommt es in den ersten Tagen der Konservierung aufgrund von Zelllysis und einsetzender Fermentationsprozesse zu einem sprunghaften Anstieg der Osmolalität im Presssaft. Die Erhöhung ist zeitlich degressiv und nähert sich bis zum 96. Tag einem Grenzwert an, der bei Silagen mit MSB-Zusatz geringer liegt als bei unbehandelten Silagen.
7. Bei der Silierung muss zwischen positiven und negativen Osmolalitätserhöhungen unterschieden werden. Zur Abgrenzung eines negativ zu bewertenden Osmolitätsanstiegs durch unerwünschte Fermentationsprozesse wird die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  um den durch die Milchsäure verursachten positiv zu beurteilenden osmotischen Wert korrigiert. Die hohe Abhängigkeit der MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  von der Summe des Gehaltes der als negativ zu bewertenden Gärprodukte bestätigt, dass eine

Osmolalitätserhöhung über das notwendige konservierungswirksame Maß hinaus auf unerwünschte Fermentationsprodukte zurückzuführen ist.

8. Wird der pH-Wert ins Verhältnis zur MS-korrigierten  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  gesetzt, kann eine Qualitätsbeurteilung der Silagen erfolgen. Generell ist das Auftreten von Buttersäure oder einer geringen Silagequalität aufgrund unerwünschter Nebengärprodukte wahrscheinlicher, je höher der pH-Wert und die MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  liegen.

**8 Literaturverzeichnis**

- ADAM, G., P. LÄUGER und G. STARK (2003): Physikalische Chemie und Biophysik. Springer Verlag, Berlin
- ANDERSON, K. J. (1956): Microbiology of silage. *Nature* **177**, 96-97
- ATKINS, P. W. (1993): Einführung in die physikalische Chemie. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim
- AYERST, G. (1965): Water activity - its measurement and significance in biology. *International biodeterioration bulletin* **1**, 13-24
- BAIRD-PARKER, A. C. und B. FREAME (1967): Combined effect of water activity, pH and temperature on the growth of *Clostridium botulinum* from spore and vegetative cell inocula. *Journal of Applied Bacteriology* **30** (3), 420-429
- BASSIT, N., N. COCHET und J. M. LEBEAULT (1993): Influence of water activity on *Streptococcus diacetylactis* metabolism. *Applied Microbiology and Biotechnology* **40** (2-3), 399-401
- BAUER, J. (2004): Mikrobiologie der Silierung. Schriftenreihe der H. Wilhelm Schaumann Stiftung, 20. Hülsenberger Gespräche, 9.-11. Juni 2004, 65-75
- BEKER, M. E., A. K. VIGANT, M. K. MARAUSKA und A. A. KLINTSARE (1998): Osmotic sensitivity of the bacterium *Lactobacillus casei* var. *alactosus*. *Applied Biochemistry and Microbiology* **34** (2), 146-148
- BLOCK, H. J. und F. WEISSBACH (1982): Zur gaschromatographischen Bestimmung flüchtiger Fettsäuren in Silagen mit innerem Standard. *Archiv für Tierernährung* **32** (9), 693-702
- BONE, D. P. und E. L. SHANNON (1991): Effects of order of mixing and solute interactions on the water activity of concentrated solutions. In: H. LEVINE und L. SLADE [Hrsg.]: *Water relationships in food*. Plenum Press, New York, 315-336
- BREIREM, K. und O. ULVESLI (1960): Ensiling methods. *Herbage Abstracts* **30** (1), 1-8
- BROWN, A. D. (1976): Microbial water stress. *Bacteriological Reviews* **40** (4), 803-846
- CAI, Y., S. OHMOMO, M. OGAWA und S. KUMAI (1997): Effect of NaCl-tolerant lactic acid bacteria and NaCl on the fermentation characteristics and aerobic stability of silage. *Journal of Applied Microbiology* **83** (3), 307-313
- CHRISTIAN, J. H. B. (1980): Reduced water activity. In: J. H. SILLIKER, R. P. ELLIOTT, A. C. BAIRD-PARKER, F. L. BRYAN, J. H. B. CHRISTIAN, D. S. CLARK, J. C. OLSON und T. A. ROBERTS [Hrsg.]: *Microbiology ecology of food. Factors affecting life and death of microorganisms*. Academic Press, New York, **1**, 70-91
- CLAUS, H. G. (1985): Saftabpressen - für die Praxis interessant? *Landtechnik* **4**, 158

- COOK, J. D., M. W. HANNON, T. VO und Y. H. CAPLAN (2002): Evaluation of freezing point depression osmolality for classifying random urine specimens defined as substituted under HHS/DOT criteria. *Journal of Analytical Toxicology* **26** (7), 424-429
- COURTENAY, E. S., M. W. CAPP, C. F. ANDERSON und M. T. RECORD (2000): Vapor pressure osmometry studies of osmolyte-protein interactions: Implications for the action of osmoprotectants in vivo and for the interpretation of "osmotic stress" experiments in vitro. *Biochemistry* **39** (15), 4455-4471
- DANNER, H., M. HOLZER, E. MAYRHUBER und R. BRAUN (2003): Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology* **69** (1), 562-567
- DAVIES, O. D. und P. A. HALL (1999): The effect of applying an inoculant containing *L. buchneri* to high dry matter ryegrass swards ensiled in wrapped round bales. Proceedings of the XII<sup>th</sup> International Silage Conference, Swedish University of Agricultural Science, Uppsala, 262-263
- DE MAN, J. C. (1952): Influence of crushing on the pH of grass silage. *Nature* **169**, 246-247
- DICK, D. A. T. (1959): Osmotic properties of living cells. In: G. H. BOURNE und J. F. DANIELLI [Hrsg.]: International review of cytology. Academic Press, New York und London, **8**, 393-395
- DLG (1997): DLG-Futterwerttabellen Wiederkäuer. DLG-Verlag, Frankfurt
- DLG (2004): Grobfutterbewertung, Teil A - DLG-Schlüssel zur Bewertung von Grünfutter, Silage und Heu mit Hilfe der Sinnenprüfung. DLG-Verlag, Frankfurt
- DRIEHUIS, F. und S. J. W. H. OUDE ELFERINK (2000): The impact of the quality of silage on animal health and food safety: A review. *Veterinary Quarterly* **22** (4), 212-216
- DRIEHUIS, F. und P. G. VAN WIKSELAAR (1996): The occurrence of alcoholic fermentation in high dry matter grass silages. Proceedings of the XI<sup>th</sup> International Silage Conference, University of Wales, Aberystwyth, 254-255
- DÜRRSCHMID, K. (1999): Osmolalität funktioneller Getränke. *Lebensmittel- und Biotechnologie* **4**, 139-144
- ENGLAND, C. W. und M. NEFF (1963): Accuracy of cryoscope methods. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists* **46** (6), 1043-1049
- ERSTAD, B. L. (2003): Osmolality and osmolarity: Narrowing the terminology gap. *Pharmacotherapy* **23** (9), 1085-1086
- FENLON, D. R., A. R. HENDERSON und J. A. ROOKE (1995): The fermentative preservation of grasses and forage crops. *Journal of Applied Bacteriology* **79**, S118-S131
- FRIEDEL, K., S. BREMER und M. GABEL: Die Charakterisierung der Kohlenhydratfraktion von Futtermitteln - Vorschlag für die Anwendung von unterschiedlichen enzymatischen Hydrolysen (bisher unveröffentlichtes Manuskript)



- GELUSO, K. N. und E. H. STUDIER (1979): Diurnal fluctuation in urine concentration in the little brown bat, *Myotis lucifugus*, in a natural roost. *Comparative Biochemistry and Physiology, A-Physiology* **62** (2), 471-473
- GIBSON, T., A. C. STIRLING, R. F. ROSENBERGER und R. M. KEDDIE (1961): Bacteriological changes in silage as affected by laceration of fresh grass. *Journal of Applied Bacteriology* **24** (1), 60-70
- GLAASKER, E., E. H. M. L. HEUBERGER, W. N. KONINGS und B. POOLMAN (1998): Mechanism of osmotic activation of the quaternary ammonium compound transporter (QacT) of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology* **180** (21), 5540-5546
- GLAASKER, E., W. N. KONINGS und B. POOLMAN (1996): Osmotic regulation of intracellular solute pools in *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bacteriology* **178** (3), 575-582
- GOERING, H. K. und P. J. VAN SOEST (1970): Forage fibre analysis. ARS, USDA, Washington, USA
- GRANT, W. D., M. J. DANSON, D. J. SCOTT, P. J. HALLING, J. B. F. N. ENGBERTS, M. W. HO und H. J. C. BERENDSEN (2004): Life at low water activity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B - Biological Sciences* **359** (1448), 1249-1267
- GREENHILL, W. L. (1964a): Buffering capacity of pasture plants with special reference to ensilage. *Australian Journal of Agricultural Research*, 511-519
- GREENHILL, W. L. (1964b): Plant juices in relation to silage fermentation. I. The role of the juice. *Journal of the British Grassland Society* **19**, 30-37
- GREENHILL, W. L. (1964c): Plant juices in relation to silage fermentation. II. Factors affecting the release of juices. *Journal of the British Grassland Society* **19**, 231-236
- GREENHILL, W. L. (1964d): Plant juices in relation to silage fermentation. III. Effect of water activity of the juice. *Journal of the British Grassland Society* **19**, 336-339
- GROSS, F. und K. RIEBE (1974): Gärfutter. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- HAIGH, P. M. (1990): Effect of herbage water-soluble carbohydrate content and weather conditions at ensilage on the fermentation of grass silages made on commercial farms. *Grass and Forage Science* **45** (3), 263-271
- HAIGH, P. M. und J. W. G. PARKER (1985): Effect of silage additives and wilting on silage fermentation, digestability and intake, and on liveweight change of young cattle. *Grass and Forage Science* **40**, 429-436
- HANG, Y. D., E. E. WOODAMS und L. E. HANG (2003): Utilization of corn silage juice by *Kluyveromyces marxianus*. *Bioresource Technology* **86** (3), 305-307

- HARNED, H. S. und B. B. OWEN (1963): The physical chemistry of electrolytic solutions. Reinhold, New York
- HEIER, W. (1983): Das Fraktionieren von Gras. Grundlagen der Landtechnik **33** (2), 45-56
- HOLZER, M., E. MAYRHUBER, H. DANNER und R. BRAUN (2003): The role of *Lactobacillus buchneri* in forage preservation. Trends in Biotechnology **21** (6), 282-287
- HONIG, H. und G. PAHLOW (1986): Wirkungsweise und Einsatzgrenzen von Silage-Impfkulturen aus Milchsäurebakterien. 2. Mitteilung: Wirkung von Anwelkgrad, Felddauer und Zuckerzusatz auf das Konservierungsergebnis bei Gras. Das wirtschaftseigene Futter **32** (3), 205-228
- HUTKINS, R. W., W. L. ELLEFSON und E. R. KASHKET (1987): Betaine transport imparts osmotolerance on a strain of *Lactobacillus acidophilus*. Applied and Environmental Microbiology **53** (10), 2275-2281
- JENSEN, C. R. (1979): Decreases in osmotic potential in soil water during desiccation. Acta Agriculturae Scandinavica **29**, 374-378
- JENSEN, C. R., M. N. ANDERSEN und R. LOSCH (1992): Leaf water relations characteristics of differently potassium fertilized and watered field-grown barley plants. Plant and Soil **140** (2), 225-239
- JONES, D. I. H. (1970): The ensiling characteristics of different herbage species and varieties. Journal of Agricultural Science **75**, 293-300
- KAISER, E. und K. WEISS (1997): Zum Gärungsverlauf bei der Silierung von nitratarmem Grünfutter. 2. Mitteilung: Gärungsverlauf bei Zusatz von Nitrat, Nitrit, Milchsäurebakterien und Ameisensäure. Archives of Animal Nutrition **50** (2), 187-200
- KASHKET, E. R. (1987): Bioenergetics of lactic acid bacteria - cytoplasmic pH and osmotolerance. FEMS Microbiology Reviews **46** (3), 233-244
- KEMPF, B. und E. BREMER (1998): Uptake and synthesis of compatible solutes as microbial stress responses to high-osmolality environments. Archives of Microbiology **170** (5), 319-330
- KIRSTEIN, K. (1963): Historical survey of the ensiling of green fodder. Das wirtschaftseigene Futter **9**, 54-65
- KIYOSAWA, K. (1988): Precise expression of freezing point depression in aqueous solutions. In: P. LÄUGER, L. PACKER und V. VASILESCU [Hrsg.]: Water and ions in biological systems. Birkhäuser Verlag, Basel, 425-432
- KIYOSAWA, K. (2003): Theoretical and experimental studies on freezing point depression and vapor pressure deficit as methods to measure osmotic pressure of aqueous polyethylene glycol and bovine serum albumin solutions. Biophysical Chemistry **104** (1), 171-188

- KNABE, O., M. FECHNER und G. WEISE (1986): Verfahren der Silageproduktion. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin
- KOFAHL, A.: Die Silierung eiweißreicher Grünfütterleguminosen - Untersuchungen zur Proteolyse und deren Beeinflussbarkeit (bisher unveröffentlicht)
- KOROLEVA, O. A., A. D. TOMOS, J. FARRAR und C. J. POLLOCK (2002): Changes in osmotic and turgor pressure in response to sugar accumulation in barley source leaves. *Planta* **215** (2), 210-219
- KRAMER, W. (2002): Neue Entwicklungen und Strategien im Bereich der Silierzusätze. Alpenländisches Expertenforum, Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft, Gumpenstein, 27-30
- KROMUS, S., B. WACHTER, W. KOSCHUH, M. MANDL, C. KROTSCHECK und M. NARODOSLWSKY (2004): The green biorefinery Austria - development of an integrated system for green biomass utilization. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* **18** (1), 7-12
- LANCASHIRE, P. D., H. BLEIHOLDER, P. LANGELÜDDECKE, R. STRAUSS, T. V. D. BOOM, E. WEBER und A. WITZENBERGER (1991): A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals of Applied Biology* **119**, 561-601
- LANIGAN, G. W. (1963): Silage bacteriology. 1. Water activity and temperature relationships of silage strains of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* and *Pediococcus cerevisiae*. *Australian Journal of Biological Sciences* **16** (3), 606-615
- LEIBENSPERGER, R. Y. und R. E. PITT (1987): A model of clostridial dominance in ensilage. *Grass and Forage Science* **42** (3), 297-317
- LEIGH, R. A., N. AHMAD und R. G. WYN JONES (1981): Assessment of glycinebetaine and proline compartmentation by analysis of isolated beet vacuoles. *Planta* **153**, 34-41
- LEVINE, I. N. (2002): Physical chemistry. McGraw-Hill, New York
- LIBBERT, E. (1993): Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena
- LINDGREN, S. (1991): Hygienic problems in conserved forage. Forage conservation towards 2000, Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft **123**, 177-190
- LÖSCH, R. (2001): Wasserhaushalt der Pflanzen. Quelle & Meyer Verlag, Wiebelsheim
- MADRID, J., A. MARTÍNEZ-TERUEL, F. HERNÁNDEZ und M. D. MEGÍAS (1999): A comparative study on the determination of lactic acid in silage juice by colorimetric, high-performance liquid chromatography and enzymatic methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79** (12), 1722-1726

- MARAUSKA, M., A. VIGANTS, A. KLINCARE, D. UPITE, E. KAMINSKA und M. BEKERS (1996): Influence of water activity and medium osmolality on the growth and acid production of *Lb. casei var. alactosus*. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences **50** (3), 144-146
- McDONALD, P., A. R. HENDERSON und S. J. E. HERON (1991): The biochemistry of silage. Chalcombe Publications, Marlow
- MENGEL, K. (1991): Ernährung und Stoffwechsel der Pflanze. Gustav Fischer Verlag, Jena
- MIEBS, A. (1993): Die Bestimmung des Gefrierpunktes nach dem Thermistor-Kryoskop-Verfahren. Deutsche Milchwirtschaft **44** (15), 727-734
- MORGAN, J. M. (1984): Osmoregulation and water stress in higher plants. Annual Review of Plant Physiology **35**, 299-319
- MUCK, R. E., L. E. MOSER und R. E. PITT (2003): Postharvest factors affecting ensiling. In: D. R. BUXTON, R. E. MUCK und J. H. HARRISON [Hrsg.]: Silage science and technology. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, **42**, 251-304
- MÜLLER, C. E. und P. UDÉN (2007): Preference of horses for grass conserved as hay, haylage or silage. Animal Feed Science and Technology **132** (1-2), 66-78
- MURDOCH, J. C., D. A. BALCH, M. C. HOLDSWORTH und M. WOOD (1955): The effect of chopping, lacerating and wilting of herbage on the chemical composition of silage. Journal of the British Grassland Society **10**, 181-188
- NAUMANN, C. und R. BASSLER (1976): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- NEHRING, K. (1949): Lehrbuch der Tierernährung und Futtermittelkunde. Neumann Verlag, Radebeul und Berlin
- NISHINO, N., K. MIYASE, M. OHSHIMA und H. O. YOKOTA (1997): Effects of extraction and reconstitution of ryegrass juice on fermentation, digestion and *in situ* degradation of pressed cake silage. Journal of the Science of Food and Agriculture **75** (2), 161-166
- NISHINO, N. und S. UCHIDA (1999): Laboratory evaluation of previously fermented juice as a fermentation stimulant for lucerne silage. Journal of the Science of Food and Agriculture **79** (10), 1285-1288
- NOBEL, P. S. (1991): Physicochemical and environmental plant physiology. Academic Press, San Diego
- NOTERMANS, S., S. KOZAKI und M. VAN SCHOTHORST (1979): Toxin production by *Clostridium botulinum* in grass. Applied and Environmental Microbiology **38** (5), 767-771
- NOUT, M. J. R. (1992): Accelerated natural lactic fermentation of cereal-based formulas at reduced water activity. International Journal of Food Microbiology **16** (4), 313-322

- OBIS, D., A. GUILLOT und M. Y. MISTOU (2001): Tolerance to high osmolality of *Lactococcus lactis subsp. lactis* and *cremoris* is related to the activity of a betaine transport system. *FEMS Microbiology Letters* **202** (1), 39-44
- OFFER, N. W. (1997): A comparison of the effects on voluntary intake by sheep of dietary addition of either silage juices or lactic acid solutions of the same neutralizing value. *Animal Science* **64**, 331-337
- OUDE-ELFERINK, S. J. W. H., J. KROONEMAN, J. C. GOTTSCHAL, S. F. SPOELSTRA, F. FABER und F. DRIEHUIS (2001): Anaerobic conversion of lactic acid to acetic acid and 1,2-propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied and Environmental Microbiology* **67** (1), 125-132
- PAHLICH, E., R. KERRES und H. J. JAGER (1983): Influence of water-stress on the vacuole extravacuole distribution of proline in protoplasts of *nicotiana-rustica*. *Plant Physiology* **72** (2), 590-591
- PAHLOW, G. (2003): Gärbiologische Grundlagen der Silagebereitung und ihre Auswirkungen auf die Silierpraxis. In: C. HANSEN [Hrsg.]: *Bemerkungen über das Silieren*, Hørsholm, Dänemark, 29-41
- PAHLOW, G. und H. HONIG (1986): Wirkungsweise und Einsatzgrenzen von Silage-Impfkulturen aus Milchsäurebakterien. 1. Mitteilung. *Das wirtschaftseigene Futter* **32** (1), 20-35
- PAHLOW, G., R. E. MUCK, F. DRIEHUIS, S. J. W. H. OUDE ELFERINK und S. F. SPOELSTRA (2003): Microbiology of ensiling. In: D. R. BUXTON, R. E. MUCK und J. H. HARRISON [Hrsg.]: *Silage science and technology*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, **42**, 31-93
- PITT, R. E., R. E. MUCK und R. Y. LEIBENSPERGER (1985): A quantitative model of the ensilage process in lactate silages. *Grass and Forage Science* **40** (3), 279-303
- PLAYNE, M. J. und P. McDONALD (1966): The buffering constituents of herbage and of silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **17** (6), 264-268
- POOLMAN, B. und E. GLAASKER (1998): Regulation of compatible solute accumulation in bacteria. *Molecular Microbiology* **29** (2), 397-407
- REHACEK, J., T. SOZZI und P. STUDER (1982): Effect of water activity on the development of lactic-acid bacteria and yeast utilized in the food-industry. *Milchwissenschaft* **37** (3), 151-154
- ROBINSON, R. A. und R. H. STOKES (1965): *Electrolyte solutions*. Butterworth, London
- ROESSLER, M. und V. MÜLLER (2001): Osmoadaptation in bacteria and archaea: Common principles and differences. *Environmental Microbiology* **3** (12), 743-754
- RÖMPP (1991): *Chemie Lexikon*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart

- ROOKE, J. A. und R. D. HATFIELD (2003): Biochemistry of ensiling. In: D. R. BUXTON, R. E. MUCK und J. H. HARRISON [Hrsg.]: Silage science and technology. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, **42**, 95-139
- RÜEGG, M., J. O. BOSSET und A. WITWER (1981): Eignung verschiedener Kryoskope und Osmometer für die Messung des Gefrierpunktes von Milch und Rahm. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene **72**, 345-358
- SCHAAF, H. (2007): Alternative Energiequellen - Biogas aus pflanzlichen Presssäften - Alternative Energiequelle aus Hessen? Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung **19** (1), 63-68
- SCHÄFER, K. (1986): Einige wichtige Fehlereinflüsse bei der Gefrierpunktmessung mit Thermistorkryoskopen. Deutsche Milchwirtschaft **37** (25), 796
- SCHMIDT, L., F. WEISSBACH, K. D. WERNECKE und E. HEIN (1971): Erarbeitung von Parametern für die Vorhersage und Steuerung des Gärverlaufes bei der Grünfuttersilierung. Bericht des Oskar-Kellner-Institutes, Rostock
- SCHUKKING, I. S. (1976): The history of silage making. Stikstof **19**, 2-11
- SCHUSTER, M., M. MORWARID und H. SATTES (1991): Verbrennungsmethode nach Dumas zur Bestimmung des Proteingehaltes in Futtermitteln. VDLUFA-Schriftenreihe **33**, 526-531
- SCOTT, W. J. (1957): Water Relations of food spoilage microorganisms. In: E. M. MRAK [Hrsg.]: Advances in food research. Academic Press, New York, **7**, 83-127
- SHOCKEY, W. L. und D. C. BORGER (1991): Effect of salt on fermentation of alfalfa. 2. Treatment with sodium-chloride, *Clostridium butyricum*, and lactic-acid bacteria. Journal of Dairy Science **74** (1), 160-166
- SIGGAARD-ANDERSEN, O., R. A. DURST und A. H. J. MAAS (1984): Physicochemical quantities and units in clinical chemistry with special emphasis on activities and activity coefficients. Pure and Applied Chemistry **56** (5), 567-594
- SIMMELSGAARD, S. E. (1976): Adaptation to water stress in wheat. Physiologia Plantarum **37** (3), 167-174
- SITTE, P., H. ZIEGLER, F. EHRENDORFER und A. BRESINSKY (1991): Strasburger Lehrbuch der Botanik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- SLATYER, R. O. (1962): Internal water relations of higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology **13**, 351-378
- SMITH, D. (1973): The nonstructural carbohydrates. In: G. W. BUTLER und R. W. BAILEY [Hrsg.]: Chemistry and biochemistry of herbage. Academic Press, New York, **1**, 106-155
- SPOELSTRA, S. F. (1985): Nitrate in silage. Grass and Forage Science **40** (1), 1-11

- STRAUB, R. J., G. P. BARRINGTON, R. G. KOEGEL und H. D. BRUHN (1983): Heating effects on plant juice protein recovery. *Transactions of the ASAE* **26** (3), 673-677
- STREIT, K., M. RÜEGG und B. BLANC (1979): Beeinflussung des Wachstums von Milchsäure- und Propionsäure-Bakterien durch die Wasseraktivität in Abhängigkeit des Zusatzes zum Nährmedium. *Milchwissenschaft* **34** (8), 459-462
- STRONG, D. H., E. F. FOSTER und C. L. DUNCAN (1970): Influence of water activity on the growth of *Clostridium perfringens*. *Applied Microbiology* **19** (6), 980-987
- SWEENEY, T. E. und C. A. BEUCHAT (1993): Limitations of methods of osmometry: Measuring the osmolality of biological fluids. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology* **264** (3), R469-R480
- TAIZ, L. und E. ZEIGER (2002): *Plant physiology*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts
- TALBOTT, L. D. und E. ZEIGER (1998): The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *Journal of Experimental Botany* **49**, 329-337
- THALMANN, A. und W. WOLF (1980): Das Wasserdampfsorptionsverhalten verschiedener Handelsfuttermittel pflanzlicher und tierischer Herkunft. *Landwirtschaftliche Forschung* **33** (4), 349-360
- THANG, V. H., W. KOSCHUH, K. D. KULBE, S. KROMUS, C. KROTSCHECK und S. NOVALIN (2004): Desalination of high salt content mixture by two-stage electro dialysis as the first step of separating valuable substances from grass silage. *Desalination* **162** (1-3), 343-353
- THOMAS, H. (1986): Effect of rate of dehydration on leaf water status and osmotic adjustment in *Dactylis glomerata L.*, *Lolium perenne L.* and *Lolium multiflorum Lam.* *Annals of Botany* **57** (2), 225-235
- THOMAS, J. W., L. D. BROWN, R. S. EMERY, E. J. BENNE und J. T. HUBER (1968): Comparisons between alfalfa and hay. *Journal of Dairy Science* **52**, 195-204
- TOMBS, M. P. und A. R. PEACOCKE (1974): *The osmotic pressure of biological macromolecules*. Clarendon Press, Oxford
- TROLLER, J. A. und J. H. B. CHRISTIAN (1978): *Water activity and food*. Academic Press, New York
- TYMCZYSZYN, E. E., A. GÓMEZ-ZAVAGLIA und E. A. DISALVO (2005): Influence of the growth at high osmolality on the lipid composition, water permeability and osmotic response of *Lactobacillus bulgaricus*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **443** (1-2), 66-73
- VOIGT, J. und H. STEGER (1967): Zur quantitativen Bestimmung von Ammoniak, Harnstoff und Ketokörpern in biologischem Material mit Hilfe eines modifizierten Mikrodiffusionsgefäßes. *Archiv für Tierernährung* **17**, 289-293

- WALDO, D. R. (1977): Potential of chemical preservation and improvement of forages. *Journal of Dairy Science* **60** (2), 306-326
- WEAST, R. C. (1985): *CRC Handbook of chemistry and physics*. CRC Press, Cleveland
- WEINBERG, Z. G. und R. E. MUCK (1996): New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews* **19** (1), 53-68
- WEISSBACH, F. (1967): Die Bestimmung der Pufferkapazität der Futterpflanzen und ihre Bedeutung für die Beurteilung der Vergärbarkeit. Tagungsbericht, Akademie der Landwirtschaftswissenschaften der DDR **92**, 211-220
- WEISSBACH, F. (1968): Beziehungen zwischen Ausgangsmaterial und Gärungsverlauf bei der Grünfuttersilierung. Habilitationsschrift, Universität Rostock
- WEISSBACH, F. (1996): New developments in crop conservation. Proceedings of the XI<sup>th</sup> International Silage Conference, University of Wales, Aberystwyth, 11-25
- WEISSBACH, F. und K. HAACKER (1988): Über die Ursachen der Buttersäuregärung in Silagen aus Getreideganzpflanzen. *Das wirtschaftseigene Futter* **34** (2), 88-99
- WEISSBACH, F. und S. KUHLA (1995): Stoffverluste bei der Bestimmung des Trockenmassegehaltes von Silagen und Grünfutter: Entstehende Fehler und Möglichkeiten der Korrektur. *Übersichten Tierernährung* **23**, 189-214
- WEISSBACH, F., L. SCHMIDT und E. HEIN (1974): Method for anticipation of the run of fermentation silage making, based on the chemical composition of green fodder. Proceedings of the XII<sup>th</sup> International Grassland Congress, Moskau, 663-673
- WEISSER, H., T. ROTH und H. P. HARZ (1985): Spezielle Methoden zum Bestimmen der Wasseraktivität. *Internationale Zeitschrift für Lebensmitteltechnik* **36** (3), 170-179
- WHITER, A. G. und L. KUNG (2001): The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of Dairy Science* **84** (10), 2195-2202
- WIERINGA, G. W. (1958): The effect of wilting on butyric acid fermentation. *Netherlands Journal of Agricultural Science* **6**, 204-210
- WILHELM, H. und K. WURM (1999): *Futterkonservierung und -qualität*. Leopold Stocker Verlag, Graz
- WILKINSON, J. M., K. K. BOLSEN und C. J. LIN (2003): History of silage. In: D. R. BUXTON, R. E. MUCK und J. H. HARRISON [Hrsg.]: *Silage science and technology*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, **42**, 1-30
- WILKINSON, R. F. und M. I. TOIVONEN (2003): *World Silage*. Chalcombe Publications, Lincoln, UK



- WILLIAMS, R. J. und H. J. HOPE (1981): The relationship between cell injury and osmotic volume reduction. III. Freezing injury and frost resistance in winter wheat. *Cryobiology* **18** (2), 133-145
- WILSON, R. F. und R. J. WILKINS (1972): An evaluation of laboratory ensiling techniques. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **23** (3), 377-385
- WINTERS, A. L., P. A. WHITTAKER und R. K. WILSON (1987): Microscopic and chemical changes during the first 22 days in Italian ryegrass and cocksfoot silages made in laboratory silos. *Grass and Forage Science* **42** (2), 191-196
- WOLF, A. V. (1966): Aqueous solutions and body fluids. Their concentrative properties and conversion tables. Harper and Row, New York und London
- WOOLFORD, M. K. (1984): The silage fermentation. Marcel Dekker, New York
- WOOLFORD, M. K. und M. K. SAWCZYK (1984): An investigation into the effect of cultures of lactic acid bacteria on fermentation in silage. 1. Strain selection. *Grass and Forage Science* **39** (2), 139-148
- WYN JONES, R. G. und J. GORHAM (1983): Osmoregulation. In: O. L. LANGE, P. S. NOBEL, C. B. OSMOND und H. ZIEGLER [Hrsg.]: *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Ser. 12 C. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 35-38
- WYSS, U. (1999): Influence of inoculation and prewilting of extensively used grass on silage quality. Proceedings of the XI<sup>th</sup> International Silage Conference, University of Sweden, Uppsala, 125-126
- ZAHIRODDINI, H., J. BAAH, T. A. McALLISTER und W. ABSALOM (2004): Effect of an inoculant and hydrolytic enzymes on fermentation and nutritive value of whole crop barley silage. *Animal Feed Science and Technology* **117** (3-4), 317-330
- ZIMMER, E. (1967): Der Einfluss der mechanischen Aufbereitung auf die Silierfähigkeit von Halmfutter. *Grundlagen der Landtechnik* **17** (6), 197-232
- ZIMMER, E. (1980): Efficient silage systems. In: C. THOMAS [Hrsg.]: Proceedings on a conference on "Forage conservation in the 80s". 11<sup>th</sup> British Grassland Society, Reading, 186-197

**9            Abbildungsverzeichnis**

Abb. 2.1: Druck-Temperatur-Diagramm (nach MIEBS, 1993).....	11
Abb. 4.1: Messprinzip des Gefrierpunktsmometers Osmomat 030 .....	38
Abb. 4.2: Berechnete (nach WEISSBACH, 1968) und nach ROBINSON & STOKES (1965) angegebene Wasseraktivitäten ( $a_w$ ) von NaCl-Lösungen in Abhängigkeit ihrer Osmolalität (n=18) .....	41
Abb. 4.3: Osmolalität eines verdünnten Silagepresssaftes in Abhängigkeit der Konzentration.....	42
Abb. 4.4: Vergleich von Ist- und Sollwerten selbst hergestellter NaCl-Lösungen zur Kalibrierung (n=3).....	47
Abb. 5.1: Osmolalität in Abhängigkeit der Lagerdauer und eines MSB-Zusatzes bei Silagen von angewelktem Welschem Weidelgras (n=15 je Behandlungsvariante) .....	98
Abb. 5.2: MS-korrigierte $osmol_{TS}$ in Abhängigkeit der Summe ( $\Sigma$ ) der Gärparameter ohne Milchsäure (MS) bei Grassilagen ohne und mit MSB-Zusatz (n=36 je Behandlungsvariante) .....	100
Abb. 5.3: pH-Wert in Abhängigkeit der Trockensubstanz (TS) bei Grassilagen ohne und mit Zusatz von MSB (n=72) .....	102
Abb. 5.4: pH-Wert in Abhängigkeit der MS-korrigierten $osmol_{TS}$ bei Silagen von Deutschem Weidelgras ohne und mit Zusatz von MSB (n=36).....	103
Abb. 5.5: pH-Wert in Abhängigkeit der MS-korrigierten $osmol_{TS}$ bei Grassilagen mit und ohne Bildung von Buttersäure (BS) (n=72) .....	104

## 10 Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1: Fermentationsprodukte sowie Trockensubstanz- und Energieausbeuten der Hauptgärungsvorgänge von Silagemikroorganismen (nach ROOKE & HATFIELD, 2003).....	5
Tab. 2.2: Kritischer pH-Wert in Abhängigkeit der Trockensubstanz (WEISSBACH, 1968) .....	7
Tab. 2.3: Verlauf der Wasseraktivität bzw. Osmolalität im Presssaft von Weidelgras und Luzerne zu verschiedenen Vegetationsstadien (nach GREENHILL, 1964d) .....	18
Tab. 2.4: Verlauf der Wasseraktivität bzw. Osmolalität im Presssaft von Weidelgras- und Luzernesilage während der Lagerung (nach GREENHILL, 1964b).....	19
Tab. 2.5: TS-Gehalt, pH-Wert und Osmolalität im Presssaft von Silagen von Deutschem Weidelgras während der Lagerung (nach OFFER, 1997).....	20
Tab. 2.6: TS-Gehalt, pH-Wert und Osmolalität im Presssaft von Silage einer nicht angewelkten Luzerne während der Lagerung (nach WEISSBACH, 1968) .....	21
Tab. 2.7: Beziehung zwischen TS-Gehalt, Wasseraktivität, Osmolalität und Konzentration einer NaCl-Lösung – berechnet.....	23
Tab. 2.8: Einfluss der Wasseraktivität (Osmolalität berechnet) auf das Wachstum von für die Silierung relevanten Mikroorganismen (nach LINDGREN, 1991) .....	24
Tab. 2.9: Osmotoleranzgrenzen verschiedener bei der Silierung relevanter Mikroorganismen.....	25
Tab. 4.1: Übersicht zu Entwicklungsstadium und Trockensubstanz (TS) von Gräsern und Getreideganzpflanzen.....	31
Tab. 4.2: Analysebedingungen der Bestimmung der Fermentationsprodukte .....	35
Tab. 4.3: Osmolalitäten unterschiedlich konzentrierter NaCl-Lösungen und daraus berechnete $a_w$ -Werte (nach WEISSBACH, 1968) im Vergleich zu $a_w$ -Werten nach ROBINSON & STOKES (1965) .....	40
Tab. 4.4: Vergleich der Osmolalitätswerte der Verdünnungen von Presssaft und der wässrigen Phase (Auszug) von Silagen bzw. Pflanzenmaterial im Verhältnis 1:1 (n=3).....	43
Tab. 4.5: Einstellen definierter TS-Gehalte einer Luzernesilage (31 % TS) durch Zugabe von Wasser (Auszug) und Vergleich der Osmolalitäten durch Berechnung über das Einengungsverhältnis (EV).....	44
Tab. 4.6: Einfluss der Temperatur auf die Osmolalitätsmessung bei der Presssaftaufbereitung (n=3) .....	48
Tab. 4.7: Einfluss der Dauer des Erhitzens auf die Osmolalität (n=4) .....	48
Tab. 4.8: Fehlereinfluss unterschiedlicher Faktoren bei der Osmolalitätsbestimmung von Kleegrassilagen.....	49

---

Tab. 4.9: Osmolalitätsbestimmung von Presssaft (PS), Auszug und Extrakt zu verschiedenen Messtagen (n=10).....	49
Tab. 4.10: Chemische Charakterisierung des für die Modelluntersuchungen verwendeten frischen Deutschen Weidelgrases.....	51
Tab. 4.11: Trockensubstanzgehalte der TS-Stufen von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras (n=3) .....	51
Tab. 4.12: Anteile an Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) je 1000 g Frischmasse (FM) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3) .....	52
Tab. 4.13: TS-Gehalte von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3) ....	53
Tab. 4.14: Absolute Mengen an Trockensubstanz (TS) [ $\text{g}\cdot\text{kgFM}^{-1}$ ] von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken .....	54
Tab. 4.15: XA-Gehalte von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3) ....	55
Tab. 4.16: Absolute Mengen an Rohasche (XA) [ $\text{g}\cdot\text{kgFM}^{-1}$ ] von Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken .....	55
Tab. 4.17: Osmolalität von Extrakt, Presssaft (PS) und Presskuchen (PKu) von unsiliertem und siliertem Deutschem Weidelgras verschiedener TS-Stufen bei unterschiedlichen Drücken (n=3).....	56
Tab. 4.18: Trockensubstanz (TS), Osmolalität und $\text{osmol}_{\text{TS}}$ ausgewählter Pflanzenarten bzw. -sorten .....	58
Tab. 4.19: Vergleich von Trockensubstanz (TS), Osmolalität sowie $\text{osmol}_{\text{TS}}$ der Screening-Pflanzenmaterialien .....	59
Tab. 4.20: Chemische Charakterisierung der Körner von großsamigen Leguminosen.....	60
Tab. 4.21: Osmolalität in Extrakten von Leguminosenkörnern in Abhängigkeit von Art und TS-Gehalt und Vergleich mit Deutschem Weidelgras gleichen TS-Gehaltes ( $\text{osmol}_{\text{TS}}$ [ $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ] kursiv in Klammern) .....	61
Tab. 4.22: Osmolalitäten in Extrakten aus Körnern der blauen Lupine in Abhängigkeit von der Sorte.....	62
Tab. 4.23: Veränderung der Osmolalität und weiterer Nährstoff- und Silierparameter im Vegetationsverlauf von Weizenganzpflanzen (n=3) .....	63

---

Tab. 4.24: Veränderung der Osmolalität und weiterer Nährstoff- und Silierparameter im Vegetationsverlauf von Gersteganzpflanzen (n=3).....	64
Tab. 4.25: Veränderung der Osmolalität und weiterer Nährstoff- und Silierparameter im Vegetationsverlauf von Deutschem Weidelgras (n=3).....	65
Tab. 4.26: Veränderung der Osmolalität und weiterer ausgewählter Parameter während des Anwelkens von Welschem Weidelgras (n=3).....	67
Tab. 4.27: Veränderung der Osmolalität und weiterer Parameter während des Anwelkens von Deutschem Weidelgras (DWG) zu zwei Vegetationsstadien (n=3).....	68
Tab. 4.28: Gärparameter und osmotische Werte verschiedener Wiesengrassilagen ohne und mit Zusatz von MSB-Präparaten (n=3).....	69
Tab. 4.29: Gärparameter und osmotische Werte von Wiesengrassilagen ohne und mit Zusatz von granuliert oder flüssig applizierten MSB-Präparaten.....	71
Tab. 4.30: Gärparameter und osmotische Werte von Silagen aus frischem und angewelktem Deutschem Weidelgras (Grünfutterstadium) ohne und mit Zusatz von MSB (n=3).....	71
Tab. 4.31: Gärparameter und osmotische Werte von Silagen aus frischem und angewelktem Deutschem Weidelgras (Ende Ährenschieben) ohne und mit Zusatz von MSB (n=3).....	72
Tab. 4.32: Gärparameter und osmotische Werte von siliertem frischem Welschem Weidelgras ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3).....	73
Tab. 4.33: Gärparameter und osmotische Werte von siliertem Welschem Weidelgras der ersten Anwelkstufe ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3).....	75
Tab. 4.34: Gärparameter und osmotische Werte von siliertem Welschem Weidelgras der zweiten Anwelkstufe ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3).....	76
Tab. 4.35: Gärparameter und osmotische Werte von Silagen von Deutschem Weidelgras (DWG) mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Vegetationsstadien (V) und Öffnungsterminen (n=3).....	77
Tab. 4.36: Chemische Charakterisierung von Weizenganzpflanzen zur Silierung.....	78
Tab. 4.37: Gärparameter und osmotische Werte von Weizenganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3).....	79
Tab. 4.38: Chemische Charakterisierung von Gersteganzpflanzen zur Silierung.....	80
Tab. 4.39: Gärparameter und osmotische Werte von Gersteganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3).....	80
Tab. 4.40: Chemische Charakterisierung von Triticaleganzpflanzen zur Silierung.....	81

---

Tab. 4.41: Gärparameter und osmotische Werte von Triticaleganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3).....	82
Tab. 4.42: Chemische Charakterisierung von Haferganzpflanzen zur Silierung .....	83
Tab. 4.43: Gärparameter und osmotische Werte von Haferganzpflanzensilagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen (n=3).....	83
Tab. 5.1: Soll- und Istwerte einer 1-osmolalen KCl- und Saccharoselösung verschiedener Verdünnungen (n=3) .....	86
Tab. 5.2: Soll- und Istwerte verschieden konzentrierter Milchsäure-, Ethanol- und Glucoselösungen (n=3).....	87
Tab. 5.3: Einfluss des Gehaltes wasserlöslicher Kohlenhydrate (WLK) auf die Gesamtosmolalität von Presssäften verschiedener Pflanzenmaterialien.....	88
Tab. 5.4: Berechnung des Anteils der Osmolalität der Gärprodukte an der Osmolalitäts-erhöhung während der Fermentation von Silagen von Deutschem Weidelgras.....	89
Tab. 5.5: Osmolalität, $\text{osmol}_{\text{TS}}$ und Wasseraktivität ( $a_w$ ) von Heu, Stroh und Haferkörnern (n=3).....	93
Tab. 5.6: Modellrechnung zur Ermittlung der Osmolalität des Presssaftes verschiedener Pflanzenarten über $\text{osmol}_{\text{TS}}$ für unterschiedliche TS-Stufen.....	95
Tab. 5.7: Vergleich der Mittelwerte von pH-Wert und MS-korrigierter $\text{osmol}_{\text{TS}}$ der Silagen des Deutschen Weidelgrases ohne und mit Zusatz von MSB .....	103
Tab. 5.8: Vergleich der Mittelwerte von pH-Wert und MS-korrigierter $\text{osmol}_{\text{TS}}$ von Grassilagen mit und ohne Bildung von Buttersäure (BS) .....	105

## **11 Anhang**

**Tab. A1: Pflanzenart, Sorte, Vegetationsstadium, Herkunft und Erntezeitpunkt des im Rahmen des Screenings verwendeten Pflanzenmaterials**

<b>Pflanzenart</b>	<b>Sorte</b>	<b>Vegetationsstadium</b>	<b>Herkunft</b>	<b>Ernte</b>	
<b>Rotklee</b>	SLM 3.441	in der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
	Maro 2000	in der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
	SLM 3.442	in der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
	Maro 2001	in der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
	Pirat 2000	in der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
	SLM 3.420	in der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
	Mars 2000	vor der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
	Mars 2001	vor der Knospe	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
<b>weitere Leguminosen</b>					
kleiner Klee	k. A. *)	Blüte	Saatzucht Lembke/Poel	23.05.2002	
Weißklee	k. A.	Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
Inkarnatklee	Poppelsdorf	Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
Luzerne frisch	k. A.	Beginn Blüte	Buchholz	29.05.2002	
Futtererbse	k. A.	vor Blüte	Buchholz	29.05.2002	
weiße Lupine	k. A.	gelbl. Schoten, nach Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
gelbe Lupine	k. A.	grüne Schoten, nach Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
blaue Lupine	k. A.	grüne Schoten, nach Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
Ackerbohne	Limbo	grüne Schoten	Versuchsgarten	15.07.2002	
	Music	grüne Schoten	Versuchsgarten	15.07.2002	
Puffbohne	k. A.	grüne Schoten, nach Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
Sommer-Wicke	Ina	grüne Schoten nach Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
	k. A.	grüne Schoten nach Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
Seradella	k. A.	Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
<b>Getreideganzpflanzen</b>					
Sommer-Roggen	Sorom	späte Milchreife	Versuchsgarten	15.07.2002	
Sommer-Triticale	Abaco	späte Milchreife	Versuchsgarten	15.07.2002	
Sommer-Weizen	Thasos	späte Milchreife	Versuchsgarten	15.07.2002	
	Triso	späte Milchreife	Versuchsgarten	15.07.2002	
Hafer	Aragon	späte Milchreife	Versuchsgarten	15.07.2002	
Einkorn	k. A.	späte Milchreife	Versuchsgarten	15.07.2002	
Emmer	k. A.	späte Milchreife	Versuchsgarten	15.07.2002	
Mais	k. A.	Teigreife	Kavelstorf	15.07.2002	
<b>Gräser</b>					
Dt. Weidelgras	Livrée	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Tivoli	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Gemma	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Sirius	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Gladio	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Pastoral	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Orion	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Sambin	vor Siloreife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Lacerta	vor Siloreife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Delfin	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Citadel	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Respect	Weidereife	Saatzucht Lembke/Poel	01.08.2002	
	Quecke	k. A.	Beginn Ährenschieben	Praxisbetrieb	1999
	Kleegras	k. A.	Siloreife	Dummerstorf	27.08.2002
<b>sonstige</b>					
Phacelia	Angelia	Ende Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
Buchweizen	Lifago	Ende Blüte	Versuchsgarten	15.07.2002	
Topinambur	k. A.	vor Blüte	Rostock	17.06.2002	
Brennessel	k. A.	vor Blüte	Rostock	06.05.2002	

\*) keine Angabe



Tab. A2: BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von Getreide (LANCASHIRE *et al.*, 1991)

<i>Code</i>	<i>Beschreibung</i>
<b>Makrostadium 0: Keimung</b>	
00	Trockener Samen
01	Beginn der Samenquellung
03	Ende der Samenquellung
05	Keimwurzel aus dem Samen ausgetreten
06	Keimwurzel streckt sich, Wurzelhaare und/oder Seitenwurzeln sichtbar
07	Keimscheide (Koleoptile) aus dem Samen ausgetreten
09	Auflaufen: Keimscheide durchbricht Bodenoberfläche; Blatt an der Spitze der Koleoptile gerade sichtbar
<b>Makrostadium 1: Blattentwicklung</b>	
10	Erstes Blatt aus der Koleoptile ausgetreten <sup>1,2</sup>
11	1-Blatt-Stadium: 1. Laubblatt entfaltet, Spitze des 2. Blattes sichtbar
12	2-Blatt-Stadium: 2. Laubblatt entfaltet, Spitze des 3. Blattes sichtbar
13	3-Blatt-Stadium: 3. Laubblatt entfaltet, Spitze des 4. Blattes sichtbar
1 .	Stadien fortlaufend bis ...
19	9 und mehr Laubblätter entfaltet
<b>Makrostadium 2: Bestockung</b> <sup>3</sup>	
20	Keine Bestockung
21	Erster Bestockungstrieb sichtbar: Beginn der Bestockung
22	2 Bestockungstriebe sichtbar
23	3 Bestockungstriebe sichtbar
2 .	Stadien fortlaufend bis ...
29	Ende der Bestockung: Maximale Anzahl der Bestockungstriebe erreicht
<b>Makrostadium 3: Schossen (Haupttrieb)</b>	
30	Beginn des Schosses: Haupttrieb und Bestockungstriebe stark aufgerichtet, beginnen sich zu strecken. Ährenspitzen mind. 1 cm vom Bestockungsknoten entfernt
31	1-Knoten-Stadium: 1. Knoten dicht über der Bodenoberfläche wahrnehmbar, mind. 1 cm vom Bestockungsknoten entfernt
32	2-Knoten-Stadium: 2. Knoten wahrnehmbar, mind. 2 cm vom 1. Knoten entfernt
33	3-Knoten-Stadium: 3. Knoten mind. 2 cm vom 2. Knoten entfernt
3 .	Stadien fortlaufend bis ...
37	Erscheinen des letzten Blattes (Fahnenblatt); letztes Blatt noch eingerollt
39	Ligula (Blatthäutchen)-Stadium: Blatthäutchen des Fahnenblattes gerade sichtbar, Fahnenblatt voll entwickelt
<b>Makrostadium 4: Ähren- / Rispenwellen</b>	
41	Blattscheide des Fahnenblattes verlängert sich
43	Ähre/Rispe ist im Halm aufwärts geschoben. Blattscheide des Fahnenblattes beginnt anzuschwellen
45	Blattscheide des Fahnenblattes geschwollen
47	Blattscheide des Fahnenblattes öffnet sich
49	Grannenspitzen: Grannen werden über der Ligula des Fahnenblattes sichtbar

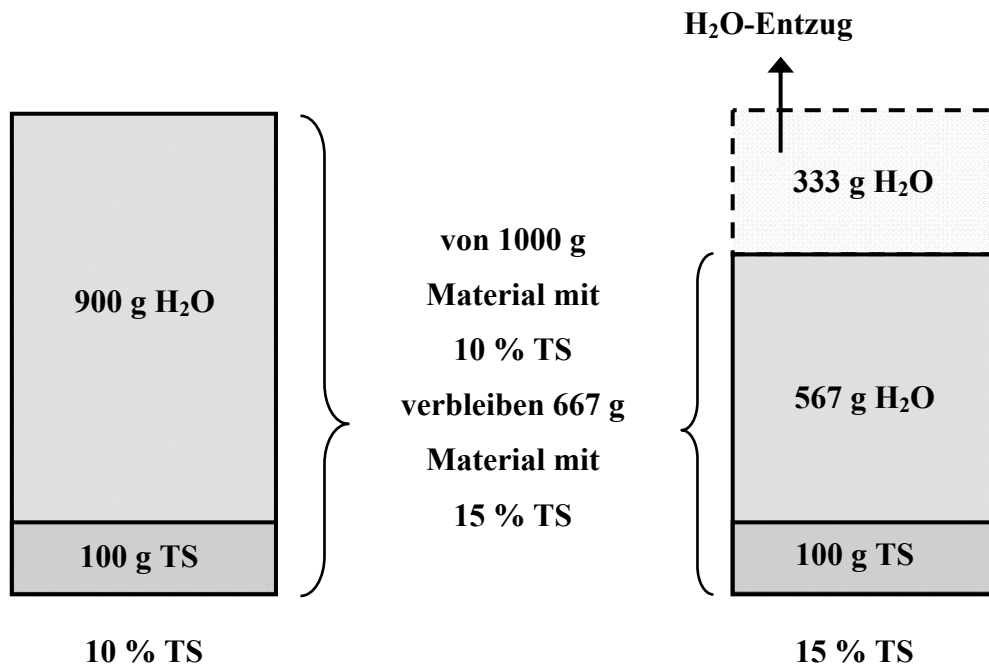
**Tab. A2 (Fortsetzung): BBCH-Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien von Getreide**  
(LANCASHIRE *et al.*, 1991)

<i>Code</i>	<i>Beschreibung</i>
<b>Makrostadium 5: Ähren- / Rispschieben</b>	
51	Beginn des Ähren-/Rispschiebens: Die Spitze der Ähre/Rispe tritt heraus oder drängt seitlich aus der Blattscheide
52	20% der Ähre/Rispe ausgetreten
53	30% der Ähre/Rispe ausgetreten
54	40% der Ähre/Rispe ausgetreten
55	Mitte des Ähren-/Rispschiebens: Basis noch in der Blattscheide
56	60% der Ähre/Rispe ausgetreten
57	70% der Ähre/Rispe ausgetreten
58	80% der Ähre/Rispe ausgetreten
59	Ende des Ähren-/Rispschiebens: Ähre/Rispe vollständig sichtbar
<b>Makrostadium 6: Blüte</b>	
61	Beginn der Blüte: Erste Staubgefäße werden sichtbar
65	Mitte der Blüte: 50% reife Staubgefäße
69	Ende der Blüte
<b>Makrostadium 7: Fruchtentwicklung</b>	
71	Erste Körner haben die Hälfte ihrer endgültigen Größe erreicht. Korninhalt wässrig
73	Frühe Milchreife
75	Mitte Milchreife: Alle Körner haben ihre endgültige Größe erreicht. Korninhalt milchig, Körner noch grün
77	Späte Milchreife
<b>Makrostadium 8: Frucht- und Samenreife</b>	
83	Frühe Teigreife
85	Teigreife: Korninhalt noch weich aber trocken. Fingernageleindruck reversibel
87	Gelbreife: Fingernageleindruck irreversibel
89	Vollreife: Korn ist hart, kann nur schwer mit dem Daumennagel gebrochen werden
<b>Makrostadium 9: Absterben</b>	
92	Totreife: Korn kann nicht mehr mit dem Daumennagel eingedrückt bzw. nicht mehr gebrochen werden
93	Körner lockern sich tagsüber
97	Pflanze abgestorben, Halme brechen zusammen
99	Erntegut

<sup>1</sup> Ein Blatt gilt als entfaltet, wenn seine Ligula oder die Spitze des nächsten Blattes sichtbar ist

<sup>2</sup> Bestockung kann ab Stadium 13 erfolgen; in diesem Fall ist auf Stadium 21 überzugehen

<sup>3</sup> Das Schossen kann schon vor Ende der Bestockung einsetzen; in diesem Fall ist auf Stadium 30 überzugehen



**Abb. A1:** Ursprünglich vorhandenes und nach dem Anwelken verbleibendes Wasser (von 1000 g Ausgangsmaterial) bei einem modellhaften Anwelken von 10 auf 15 % TS zur Berechnung des Einengungsverhältnisses

Anmerkung:

Um 1000 g Pflanzenmaterial mit einer TS von 10 % auf 15 % anzuwelken, müssen von 900 g Wasser 333 g entzogen werden. Die Berechnung des Wasserentzuges erfolgt mittels Formel unter Kapitel 4.1.5. Da die TS-Menge von 100 g erhalten bleibt, haben die insgesamt verbleibenden 667 g Material bei 567 g Wassergehalt eine Trockensubstanz von 15 %. Der Quotient aus dem ursprünglich vorhandenem (900 g) zu dem verbliebenem (567 g) Wasser bildet das Einengungsverhältnis (in diesem Beispiel 1,59 : 1).

Tab. A3: Trockensubstanz (TS), Rohasche (XA), pH-Wert und osmotische Werte (n=4) des Screeningmaterials

Pflanzenart	Sorte * (keine Angabe)	TS [%]	XA [% d. TS]	pH-Wert [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	osmol <sub>TS</sub> [osmol·kgTS <sup>-1</sup> ]
<b>Leguminosen</b>						
Weißklee	k. A.*	9,9	14,8	5,69	0,345 ±0,001	3,14 ±0,01
Futtererbse	k. A.	12,1	9,6	5,67	0,375 ±0,001	2,72 ±0,01
gelbe Lupine	k. A.	13,4	6,1	5,16	0,442 ±0,001	2,86 ±0,01
weiße Lupine	k. A.	14,2	6,8	5,61	0,421 ±0,001	2,55 ±0,01
Inkarnatklee	Poppelsdorf	14,6	10,6	5,81	0,454 ±0,002	2,66 ±0,01
Ackerbohne	Music	15,3	7,5	5,54	0,467 ±0,003	2,58 ±0,02
blaue Lupine	k. A.	15,4	7,5	5,54	0,485 ±0,001	2,66 ±0,01
Puffbohne	k. A.	15,7	7,5	5,68	0,561 ±0,003	3,01 ±0,01
Ackerbohne	Limbo	16,1	7,5	5,43	0,446 ±0,003	2,33 ±0,01
Seradella	k. A.	16,4	9,0	5,91	0,398 ±0,002	2,03 ±0,01
kleiner Klee	k. A.	17,1	8,1	5,39	0,442 ±0,001	2,14 ±0,01
Luzerne	k. A.	19,4	8,2	5,64	0,480 ±0,007	2,00 ±0,03
So-Wicke	k. A.	20,5	8,9	5,71	0,628 ±0,010	2,43 ±0,04
So-Wicke	Ina	21,6	8,7	5,63	0,486 ±0,002	1,76 ±0,01
<i>Rotklee</i>	Mars 2001	12,2	9,5	5,84	0,328 ±0,003	2,36 ±0,02
	Maro 2001	12,8	10,5	5,96	0,458 ±0,001	3,12 ±0,01
	SLM 3.240	14,0	9,5	5,69	0,408 ±0,001	2,50 ±0,01
	Pirat 2000	15,2	8,8	5,91	0,488 ±0,001	2,72 ±0,01
	Mars 2000	15,3	9,3	5,89	0,381 ±0,001	2,11 ±0,00
	Maro 2000	16,1	8,1	5,85	0,439 ±0,001	2,29 ±0,00
	SLM 3.441	16,3	8,9	5,83	0,604 ±0,002	3,10 ±0,01
	SLM 3.442	17,5	10,5	5,88	0,489 ±0,001	2,30 ±0,00
<b>Getreide</b>						
Hafer	Aragon	34,3	6,4	5,73	0,550 ±0,002	1,05 ±0,00
Einkorn	k. A.	34,5	5,3	5,99	0,783 ±0,002	1,49 ±0,00
Emmer	k. A.	35,3	5,6	5,97	0,709 ±0,003	1,30 ±0,01
Mais	k. A.	35,4	3,5	5,45	0,493 ±0,003	0,90 ±0,00
So-Triticale	Abaco	36,8	5,8	5,78	0,616 ±0,003	1,06 ±0,00
So-Weizen	Triso	38,6	5,5	6,10	0,675 ±0,003	1,07 ±0,01
So-Roggen	Sorom	39,1	4,5	5,76	0,790 ±0,004	1,23 ±0,01
So-Weizen	Thasos	40,9	5,5	6,06	0,692 ±0,002	1,00 ±0,00
<b>Gräser</b>						
Quecke	k. A.	17,8	10,5	5,70	0,505 ±0,004	2,33 ±0,02
Klee gras	k. A.	19,0	12,4	5,64	0,605 ±0,001	2,58 ±0,00
<i>Dt. Weidelgras</i>	Lacerta	14,2	11,8	6,18	0,488 ±0,002	2,95 ±0,01
	Tivoli	17,2	11,4	6,05	0,519 ±0,004	2,50 ±0,02
	Orion	17,3	8,5	5,80	0,557 ±0,002	2,66 ±0,01
	Sirius	17,8	11,7	6,07	0,515 ±0,002	2,38 ±0,01
	Gemma	18,3	11,4	6,10	0,506 ±0,001	2,26 ±0,01
	Pastoral	18,5	11,3	5,92	0,571 ±0,002	2,51 ±0,01
	Sambin	18,5	10,8	6,21	0,596 ±0,001	2,62 ±0,01
	Citadel	18,9	8,6	6,02	0,550 ±0,002	2,36 ±0,01
	Delfin	19,0	11,3	6,01	0,581 ±0,002	2,48 ±0,01
	Respect	19,9	9,3	6,11	0,625 ±0,001	2,51 ±0,01
	Gladio	20,7	10,1	6,14	0,581 ±0,001	2,23 ±0,00
	Livrée	23,6	9,6	6,05	0,533 ±0,001	1,73 ±0,00
<b>Sonstige</b>						
Brennessel	k. A.	13,4	13,4	8,01	0,362 ±0,001	2,34 ±0,01
Topinambur	k. A.	18,2	18,3	7,61	0,357 ±0,002	1,60 ±0,01
Phacelia	Angelia	25,3	14,7	6,60	0,394 ±0,001	1,16 ±0,00
Buchweizen	Lifago	31,8	8,2	4,43	0,357 ±0,001	0,77 ±0,00

Tab. A4: Nährstoff- und Silierparameter der Körner großsamiger Leguminosen

Sorten	TS [%]	XA	XP [% d. TS]	XS	WLK	PK g MS/100 g TS
<b>blaue Lupine</b>						
Bordako	87,2	4,1	37,5	1,7	4,6	4,1
Borweta	88,5	4,0	36,4	1,5	4,5	4,5
Bora	89,0	3,6	39,2	1,5	4,4	4,1
Boruta	89,5	3,8	37,1	1,5	4,2	4,3
Bolivio	90,1	4,0	36,7	1,7	4,0	5,0
Borlu	89,3	3,8	39,5	1,6	4,2	4,9
Boltensia	88,5	3,9	38,3	1,6	4,4	4,7
Sonet	85,7	4,2	32,9	1,6	4,1	4,0
Azuro	88,9	3,8	39,5	1,5	4,0	4,2
Rubine	89,0	3,8	33,4	1,5	4,0	4,1
<b>weiße Lupine</b>						
Weibit	89,7	3,6	39,6	1,2	4,0	5,2
Amiga	89,5	4,4	39,3	1,5	5,0	6,0
Bardo	88,9	3,8	36,9	1,4	4,7	5,6
<b>Erbse</b>						
Lisa	88,2	3,5	24,0	48,9	2,3	4,7
Phönix	88,7	3,7	27,0	49,0	2,8	4,9
Santana	86,5	3,2	27,0	47,5	3,5	4,8
Sponsor	87,2	3,3	23,8	51,1	3,2	4,3
Laser	87,0	2,9	23,8	51,3	3,1	4,6
Catania	87,3	3,3	23,1	50,9	4,2	4,1
<b>Ackerbohne</b>						
Limbo	86,8	3,5	31,8	43,6	2,5	5,3
Scirocco I	88,3	3,5	28,9	41,5	2,0	4,6
Scirocco II	86,6	3,5	30,7	42,7	2,2	5,0

Tab. A5: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Silagen aus frischem und angewelktem Dt. Weidelgras (Grünfütterstadium) ohne und mit Zusatz von MSB

MSB	TS [%]	pH [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	MS	ES	PrS	BS	i-VS	VS [% d. TS]	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
F	12,8	4,64	1,113	6,29	2,79	0,16	6,55	0,02	0,00	4,11	0,55	0,11	0,66
	13,1	4,82	1,124	1,86	4,85	0,29	7,34	0,05	0,01	4,39	0,57	0,23	0,76
	13,3	4,66	1,119	5,83	2,51	0,15	6,27	0	0,00	3,87	0,53	0,10	0,63
x	15,7	3,74	1,044	17,62	1,16	0,02	0,02	0,01	0	1,47	0,02	0,00	0,14
x	15,7	3,74	1,034	17,58	1,09	0,02	0	0	0	1,54	0,03	0,00	0,12
x	15,8	3,74	1,057	17,42	1,17	0,02	0	0	0	1,27	0,02	0,00	0,11
A1	20,6	4,27	1,547	9,92	1,05	0,03	2,21	0	0	1,61	0,10	0,01	0,39
	20,9	4,28	1,523	9,70	0,99	0,04	2,14	0,01	0	1,85	0,10	0,01	0,38
	20,6	4,24	1,529	10,01	1,11	0,04	2,16	0,01	0	1,64	0,09	0,01	0,39
x	21,4	3,79	1,452	16,84	0,94	0,01	0,01	0	0	2,93	0,02	0,00	0,11
x	21,5	3,79	1,461	15,92	0,86	0,01	0	0	0	2,39	0,01	0,00	0,09
x	21,2	3,78	1,460	16,26	0,92	0,01	0	0	0	3,03	0,02	0,00	0,10
A2	33,2	4,50	2,550	6,61	1,37	0,01	0,47	0,02	0	1,06	0,01	0,00	0,27
	33,4	4,44	2,533	6,56	1,50	0,01	0,428	0,02	0	0,96	0,01	0,00	0,275
	33,7	4,43	2,591	6,84	1,51	0,02	0,26	0	0	0,91	0,02	0,00	0,26
x	33,6	3,87	2,439	12,60	0,78	0,01	0	0,01	0	1,33	0,02	0,00	0,10
x	34,3	3,87	2,438	12,03	0,81	0,01	0	0,01	0	1,29	0,02	0,00	0,10
x	33,9	3,89	2,441	11,15	0,72	0,01	0	0,01	0	0,92	0,02	0,00	0,09

F=frisch, A1=Anwelkstufe 1, A2=Anwelkstufe 2, MSB-Milchsäurebakterien, MS=Milchsäure, ES=Essigsäure, PrS=Propionsäure, BS=Buttersäure, i-VS=Isovaleriansäure, VS=Valeriansäure, NH<sub>3</sub>=Ammoniak

Tab. A6: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Silagen aus frischem und angewelktem Dt. Weidelgras (Ende Ährenschieben) ohne und mit Zusatz von MSB

	MSB	TS [%]	pH [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	MS	ES	PrS	BS	i-VS	[% d. TS]				NH <sub>3</sub>
										VS	Ethanol	Propanol	Butanol	
<b>F</b>		17,1	4,56	1,191	6,26	0,80	0,06	2,44	0,01	0,02	4,80	0,05	0,03	0,34
		17,1	4,95	1,204	3,118	0,57	0,07	4,22	0,04	0,01	4,61	0,06	0,02	0,39
		16,3	5,03	1,209	2,90	0,34	0,10	5,50	0,06	0,02	5,13	0,13	0,04	0,43
	x	19,1	3,72	1,079	14,96	0,88	0,03	0,16	0,00	0,00	1,43	0,03	0,00	0,08
<b>x</b>		19,6	3,67	1,102	14,82	0,67	0,03	0,04	0,01	0,00	1,38	0,01	0	0,06
	x	19,1	3,67	1,088	15,16	0,68	0,03	0,04	0,01	0	1,41	0,02	0	0,07
<b>AI</b>		24,0	4,54	1,749	6,48	0,54	0,03	0,76	0,01	0	3,97	0,30	0,01	0,35
		24,1	4,78	1,736	4,88	0,44	0,03	1,42	0,03	0,00	3,81	0,29	0,01	0,35
		24,3	4,92	1,739	4,64	0,49	0,04	0,75	0,01	0,00	4,01	0,35	0,01	0,35
	x	26,2	3,74	1,591	13,08	0,76	0,03	0,03	0,01	0	1,58	0,02	0	0,06
<b>x</b>		26,7	3,78	1,598	12,68	0,60	0,03	0,01	0,02	0	1,54	0,02	0,00	0,06
	x	26,7	3,75	1,537	12,86	0,76	0,03	0,01	0,02	0	1,44	0,02	0,00	0,06
<b>A2</b>		34,7	4,77	2,457	4,00	0,61	0,06	0,97	0,02	0	2,78	0	0,03	0,20
		35,2	4,85	2,429	3,41	0,68	0,04	0,77	0,03	0	2,21	0	0,03	0,18
		34,6	4,97	2,375	3,03	0,75	0,04	0,68	0,03	0	3,28	0	0,04	0,19
	x	36,0	3,90	2,347	9,88	0,83	0,04	0,03	0,03	0	2,14	0	0	0,07
<b>x</b>		36,1	3,88	2,390	9,80	0,87	0,04	0,01	0,03	0	2,02	0	0	0,07
	x	36,3	3,91	2,319	9,64	0,80	0,04	0,01	0,03	0	1,62	0	0	0,07

F–frisch, A1–Anwelkstufe 1, A2–Anwelkstufe 2, MSB–Milchsäurebakterien, MS–Milchsäure, ES–Essigsäure, PrS–Propionsäure, BS–Buttersäure, i-VS–Isovaleriansäure, VS–Valeriansäure, NH<sub>3</sub>–Ammoniak

Tab. A7: Urdaten zu den unsilberten Ausgangsmaterialien der frischen (F) und angewelkten (A1 und A2) TS-Stufen von Welschem Weidelgras

TS	pH	Osmolalität	MS	ES	PrS	BS	i-VS	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]										
							[% d. TS]					
<b>F</b>	24,4	0,737	0,11	0,41	0,03	0	0,03	0	0,08	0,04	0	0,04
	24,2	0,727	0,13	0,43	0,02	0	0,02	0	0,08	0,04	0	0,04
	24,1	0,751	0,14	0,45	0,04	0	0,02	0	0,10	0,03	0	0,04
<b>A1</b>	30,9	1,001	0,12	0,38	0,01	0	0	0	0,05	0,01	0	0,04
	31,2	1,031	0,13	0,42	0,02	0	0	0	0,05	0,01	0	0,05
	31,2	0,979	0,13	0,40	0,01	0	0	0	0,05	0,01	0	0,05
<b>A2</b>	46,7	2,293	0,14	0,41	0,01	0	0	0	0,04	0,01	0	0,04
	44,6	2,074	0,16	0,43	0,01	0	0	0	0,05	0,01	0	0,04
	48,7	2,257	0,18	0,44	0,03	0	0	0	0,10	0,01	0	0,05

F–frisch, A1–Anwelkstufe 1, A2–Anwelkstufe 2, MS–Milchsäure, ES–Essigsäure, PrS–Propionsäure, BS–Buttersäure, i-VS–Isovaleriansäure, VS–Valeriansäure, NH<sub>3</sub>–Ammoniak



Tab. A8: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Silagen aus frischem Welschem Weidelgras (F) ohne und mit Zusatz von MSB zu verschiedenen Öffnungsfermenten

ÖT	MSB	TS	pH	Osmolalität	MS	ES	PrS	BS	i-VS	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]						[% d. TS]				
<b>1</b>		23,8	5,74	0,879	1,52	0,61	0	0	0	0	0,02	0	0	0,07
		23,7	5,76	0,837	1,46	0,53	0	0	0	0	0,29	0,01	0	0,08
		23,1	5,90	0,850	1,48	0,54	0	0	0,01	0	0,24	0,01	0	0,09
	x	24,1	4,45	1,141	6,43	0,57	0,01	0	0	0	0,24	0,02	0	0,07
	x	25,4	4,66	1,084	5,16	0,62	0,02	0	0	0	0,21	0,02	0	0,07
<b>3</b>	x	23,9	4,55	1,207	6,12	0,57	0,02	0	0	0	0,23	0,02	0	0,07
		23,3	4,67	1,086	5,43	1,31	0,01	0	0,01	0	0,40	0,01	0	0,17
		23,6	4,49	1,029	5,83	1,53	0,01	0	0,01	0	0,35	0,01	0	0,16
		22,9	4,56	1,077	6,11	1,43	0	0	0	0	0,38	0,01	0	0,17
	x	25,3	3,58	1,166	12,26	0,64	0	0	0	0	0,20	0,02	0	0,06
<b>6</b>	x	24,3	3,57	1,242	13,01	0,66	0	0	0,01	0	0,21	0,02	0	0,08
	x	24,0	3,57	1,217	13,02	0,62	0	0	0,01	0	0,22	0,02	0	0,06
		22,6	4,36	1,111	6,59	1,49	0	0	0	0	0,31	0,01	0	0,20
		22,6	4,29	1,179	7,20	1,71	0,01	0	0	0	0,38	0,01	0	0,21
		22,7	4,29	1,189	7,00	1,67	0	0	0	0	0,37	0,02	0	0,22
<b>48</b>	x	24,0	3,52	1,488	15,11	0,79	0	0	0,01	0	0,23	0,02	0	0,08
	x	23,9	3,50	1,478	15,11	0,77	0	0	0,01	0	0,25	0,02	0	0,07
	x	24,1	3,51	1,451	14,78	0,70	0	0	0,01	0	0,22	0,02	0	0,07
		22,6	3,90	1,363	10,48	2,17	0,02	0	0,01	0	0,44	0,03	0	0,31
		23,1	3,91	1,393	11,05	1,97	0,02	0	0,01	0	0,44	0,04	0	0,34
<b>96</b>		23,3	3,92	1,377	10,46	2,17	0,01	0	0,01	0	0,49	0,03	0	0,28
	x	23,8	3,49	1,481	16,44	0,83	0	0	0,01	0	0,44	0,02	0	0,11
	x	24,1	3,49	1,435	16,13	0,90	0	0	0,01	0	0,64	0,02	0,01	0,11
	x	23,3	3,50	1,498	16,13	0,89	0	0	0,01	0	0,58	0,04	0	0,11
		21,8	3,75	1,427	11,19	2,32	0,01	0,01	0,01	0	0,44	0,07	0	0,38
<b>96</b>		22,1	3,80	1,459	11,33	2,33	0	0	0,01	0	0,51	0,05	0	0,38
		22,1	4,06	1,427	10,36	3,73	0	0	0,01	0	0,52	0,11	0	0,55
	x	23,6	3,38	1,505	14,87	0,82	0	0	0,01	0	1,50	0,04	0,01	0,11
	x	24,2	3,38	1,585	15,12	0,88	0	0	0,01	0	1,47	0,02	0	0,11
	x	23,8	3,36	1,414	14,68	0,76	0	0	0,01	0	0,95	0,02	0	0,11

F-frisch, ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak,

Tab. A9: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Silagen aus angewelktem Welschem Weidelgras (A1) ohne und mit Zusatz von MSB zu verschiedenen Öffnungsterminen

ÖT	MSB	TS [%]	pH [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	MS	ES	PrS	BS	i-VS [% d. TS]	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>	
<b>1</b>		31,4	6,08	1,155	0,44	0,59	0,01	0	0	0	0,24	0,02	0	0,09	
		31,3	6,15	1,024	0,36	0,69	0,02	0	0,01	0	0,23	0,02	0	0,08	
		31,6	6,13	0,912	0,44	0,68	0,02	0	0,01	0	0,22	0,02	0	0,09	
	x	30,5	5,40	1,188	2,62	0,57	0,02	0	0	0	0,23	0,01	0	0,08	
	x	31,2	5,35	1,205	2,97	0,62	0,01	0	0,01	0	0,21	0,01	0	0,07	
	x	30,8	5,57	1,208	2,28	0,55	0,01	0	0,02	0	0,20	0,01	0	0,07	
	<b>3</b>		29,7	5,71	0,938	2,06	0,89	0,02	0,01	0	0	0,28	0,03	0	0,13
			29,4	5,60	1,053	2,24	1,11	0,02	0	0,02	0	0,30	0,03	0	0,14
			29,3	5,55	0,975	2,24	0,95	0,01	0	0,01	0	0,31	0,01	0	0,13
		x	29,1	3,68	1,429	10,30	0,57	0,01	0	0,01	0	0,22	0,01	0	0,07
x		29,1	3,66	1,464	10,77	0,54	0,01	0	0,01	0	0,22	0,02	0	0,07	
x		28,8	3,69	1,418	10,49	0,59	0,01	0	0,01	0	0,24	0,01	0	0,07	
<b>6</b>			28,6	4,94	1,509	4,38	1,26	0,01	0	0,01	0	0,25	0,02	0	0,17
			28,3	4,92	1,533	4,51	1,40	0,02	0	0,01	0	0,23	0	0	0,16
			29,2	4,93	1,428	4,57	1,37	0,02	0	0,01	0	0,29	0,03	0	0,17
		x	29,1	3,51	1,489	12,73	0,57	0,01	0	0,01	0	0,28	0,01	0	0,07
	x	28,9	3,51	1,517	12,80	0,60	0,01	0	0,01	0	0,28	0,01	0	0,07	
	x	30,0	3,51	1,542	12,16	0,59	0,01	0	0	0	0,26	0,01	0	0,07	
	<b>48</b>		29,4	4,15	1,802	7,79	1,92	0,02	0	0,01	0	0,31	0,03	0	0,26
			29,1	4,16	1,687	8,34	1,93	0,03	0	0,01	0	0,31	0,03	0	0,29
			29,1	4,12	1,742	8,59	1,84	0,01	0	0,02	0	0,32	0,01	0	0,30
		x	28,9	3,51	1,693	13,45	0,70	0,01	0	0,01	0	0,32	0,01	0	0,11
x		28,3	3,51	1,569	13,49	0,66	0,01	0	0	0	0,38	0,01	0	0,10	
x		28,5	3,50	1,644	13,45	0,78	0,01	0	0	0	0,32	0,01	0	0,11	
<b>96</b>			30,0	4,01	1,823	8,33	1,83	0,02	0,01	0,02	0	0,36	0,04	0	0,29
			30,8	3,97	1,921	8,56	1,63	0,01	0	0,02	0	0,34	0,03	0	0,30
			28,3	3,87	1,817	9,28	1,77	0,01	0	0,02	0	0,37	0,01	0	0,30
		x	29,1	3,39	1,654	12,92	0,69	0,01	0	0	0	0,50	0,02	0	0,12
	x	29,4	3,38	1,713	13,13	0,68	0,02	0	0	0	0,76	0,02	0	0,11	
	x	29,5	3,41	1,712	13,04	0,58	0,01	0	0	0	0,79	0,02	0	0,12	

A1-Anwelkstufe 1, ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak,

Tab. A10: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Silagen aus angewelktem Welschem Weidelgras (A2) ohne und mit Zusatz von MSB zu verschiedenen Öffnungsterminen

ÖT	MSB	TS [%]	pH [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	MS	ES	PrS	BS	i-VS [% d. TS]	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
<b>1</b>		45,6	6,36	2,285	0,18	0,46	0,02	0	0	0	0,19	0,01	0	0,04
		45,4	6,37	2,218	0,19	0,52	0,02	0	0	0	0,19	0,01	0	0,04
		45,3	6,37	2,257	0,21	0,55	0,02	0	0	0	0,20	0,01	0	0,04
	x	48,4	6,28	2,640	0,18	0,26	0,01	0	0,01	0	0,24	0,01	0	0,04
	x	49,0	6,28	2,744	0,28	0,31	0,02	0	0	0	0,18	0,02	0	0,04
	x	49,6	6,28	2,745	0,26	0,33	0	0	0	0	0,14	0,02	0	0,04
<b>3</b>		46,4	6,11	2,592	0,32	0,49	0,01	0	0	0	0,27	0	0	0,07
		47,3	5,95	2,646	0,51	0,60	0,02	0	0	0	0,22	0,01	0	0,07
		44,9	5,88	2,504	0,70	0,62	0,01	0	0	0	0,23	0,01	0	0,07
	x	48,4	5,16	3,004	3,04	0,40	0,02	0	0,02	0	0,26	0,01	0	0,04
	x	48,5	5,32	2,983	2,20	0,39	0,01	0	0	0	0,28	0,01	0	0,04
	x	47,3	5,04	2,887	3,49	0,56	0,02	0	0,01	0	0,23	0,01	0	0,04
<b>6</b>		46,4	6,01	3,401	0,21	0,46	0	0	0	0	0,22	0	0	0,08
		47,1	5,86	2,918	0,84	0,77	0,03	0	0	0	0,26	0,01	0	0,09
		45,9	5,82	2,765	0,91	0,71	0,01	0	0	0	0,33	0,01	0	0,09
	x	47,6	4,33	3,355	6,26	0,57	0,02	0	0,02	0	0,26	0,01	0	0,04
	x	47,8	4,35	3,318	6,16	0,51	0,01	0	0,02	0	0,26	0,02	0	0,04
	x	47,3	4,32	3,326	6,07	0,56	0,02	0	0,01	0	0,26	0,01	0	0,04
<b>48</b>		44,3	4,77	3,428	2,68	1,52	0,02	0	0	0	0,39	0,01	0	0,13
		48,9	4,87	4,006	2,75	1,22	0,02	0	0,01	0	0,39	0,01	0	0,11
		46,5	4,94	4,422	2,10	1,01	0,02	0	0,01	0	0,28	0,01	0	0,09
	x	47,9	4,13	3,672	8,02	0,66	0,02	0	0,02	0	0,35	0,01	0	0,07
	x	47,9	4,13	3,680	8,31	0,67	0,02	0	0,01	0	0,41	0,02	0	0,07
	x	47,7	4,13	3,664	8,43	0,67	0,02	0	0,02	0	0,29	0,02	0	0,08
<b>96</b>		46,0	5,01	4,668	1,39	0,77	0,02	0	0,01	0	0,23	0,01	0	0,09
		44,6	4,76	3,539	3,43	1,31	0,02	0	0,02	0	0,59	0,01	0	0,13
		43,3	5,02	4,501	1,99	0,94	0,02	0	0,02	0	0,40	0,01	0	0,11
	x	47,7	4,13	3,752	7,84	0,74	0,02	0	0,02	0	0,38	0,02	0	0,08
	x	47,2	4,13	3,682	7,97	0,54	0,01	0	0,02	0	0,63	0,02	0	0,08
	x	47,8	4,13	3,828	7,17	0,62	0,02	0	0,02	0	0,53	0,02	0	0,08

A2-Anwelkstufe 2, ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak,

Tab. A11: Urdaten zu den unsiliierten Ausgangsmaterialien der verschiedenen Vegetationsstadien von Deutschem Weidelgras (DWG)

Veg. st.	TS [%]	pH [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	MS	ES	PrS	BS	i-VS	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>	[% d. TS]	
<b>1</b>	16,7	6,14	0,436	0	0,23	0	0	0,01	0	0,13	0,03	0	0,03		
	17,1	6,26	0,440	0	0,29	0	0	0,02	0	0,12	0,03	0	0,05		
	17,0	6,32	0,400	0	0,34	0,02	0	0,02	0	0,14	0,04	0	0,04		
<b>2</b>	20,6	6,21	0,563	0	0,11	0	0	0	0	0,22	0	0	0,04		
	20,8	6,28	0,566	0	0,07	0	0	0	0	0,28	0,01	0	0,02		
	21,1	6,19	0,557	0	0,05	0	0	0	0	0,24	0,01	0	0,02		
<b>3</b>	27,0	6,05	0,713	0	0,16	0,01	0	0,01	0	0,25	0,03	0	0,01		
	27,8	6,11	0,713	0	0,14	0,01	0	0,01	0	0,24	0,03	0	0,02		
	27,1	6,04	0,708	0	0,12	0	0	0,01	0	0,26	0,03	0	0,02		

Veg.st.-Vegetationsstadium, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak

**Tab. A12: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Silagen aus Deutschem Weidelgras (DWG) mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Vegetationsstadien und Öffnungsterminen**

<b>Veg. st.</b>	<b>ÖT</b>	<b>TS</b>	<b>pH</b>	<b>Osmolalität</b>	<b>MS</b>	<b>ES</b>	<b>PrS</b>	<b>BS</b>	<b>i-VS</b>	<b>VS</b>	<b>Ethanol</b>	<b>Propanol</b>	<b>Butanol</b>	<b>NH<sub>3</sub></b>	
		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]						[% d. TS]					
<b>1</b>	3	16,0	3,96	0,815	12,44	0,80	0,01	0	0	0	1,00	0,01	0	0,07	
		16,1	3,99	0,808	11,76	0,78	0,01	0	0,02	0	0,96	0,02	0	0,07	
		16,0	3,98	0,808	11,86	0,82	0,02	0	0,01	0	1,04	0,02	0	0,08	
	12	16,0	3,77	0,929	16,38	1,07	0,01	0	0,01	0	0,96	0,02	0	0,11	
		15,8	3,77	0,935	17,17	1,17	0,02	0	0,01	0	1,10	0,02	0	0,09	
		16,1	3,78	0,933	17,00	1,10	0,02	0	0,01	0	1,03	0,03	0	0,09	
	48	15,7	3,77	1,028	17,42	1,18	0,03	0	0	0	1,33	0,04	0	0,11	
		15,8	3,75	1,023	17,40	1,13	0,04	0	0,02	0	1,28	0,05	0	0,11	
		15,7	3,75	1,047	17,36	1,00	0,03	0	0,01	0	1,28	0,04	0	0,12	
	<b>2</b>	3	20,0	3,95	0,881	9,83	0,58	0	0	0,01	0	1,23	0,02	0	0,06
			20,2	3,94	0,843	10,46	0,57	0	0	0,01	0	1,04	0,03	0	0,06
			20,7	4,05	0,856	8,24	0,76	0	0	0,01	0	1,04	0,03	0	0,06
12		19,6	3,72	1,001	14,31	0,98	0,02	0	0,01	0	1,21	0,03	0	0,06	
		19,7	3,71	0,979	14,87	0,81	0,01	0	0,01	0	1,21	0,03	0	0,07	
		19,9	3,77	1,009	14,89	0,98	0,01	0	0,01	0	1,32	0,03	0	0,06	
48		19,9	3,72	1,095	15,09	1,00	0	0	0	0	1,54	0,02	0	0,07	
		19,9	3,77	1,098	14,85	0,91	0	0	0,01	0	1,44	0,03	0	0,07	
		19,9	3,76	1,102	15,35	0,95	0,02	0	0,02	0	1,68	0,03	0	0,07	
<b>3</b>		3	27,0	3,78	1,175	8,90	0,48	0,01	0	0,01	0	1,28	0,01	0	0,03
			25,5	3,80	1,177	9,64	0,49	0,01	0	0,01	0	1,31	0,02	0	0,04
			25,9	3,81	1,161	9,56	0,49	0,01	0	0,01	0	1,16	0,02	0	0,04
	12	26,1	3,76	1,227	11,19	0,74	0,01	0	0,01	0	1,34	0,02	0	0,04	
		25,0	3,70	1,215	11,68	0,74	0,01	0	0,01	0	1,53	0,02	0	0,04	
		25,4	3,78	1,183	11,12	0,71	0,01	0	0,01	0	1,41	0,02	0	0,04	
	48	26,9	3,83	1,273	10,57	0,69	0,01	0,02	0,01	0	2,03	0,02	0	0,05	
		27,2	3,80	1,286	10,78	0,68	0,01	0,01	0,01	0	1,74	0,01	0	0,05	
		26,4	3,88	1,267	11,02	0,83	0,01	0,01	0,01	0	1,78	0,02	0	0,05	

Veg.st.-Vegetationsstadium, ÖT-Öffnungstag, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak

Tab. A13: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Weizenganzpflanzenslagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen

ÖT	MSB	TS	pH	Osmolalität	MS	ES	PrS	BS	i-VS	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]						[% d. TS]				
<b>1</b>		32,6	5,44	0,807	0,43	0,50	0,01	0,01	0	0	0,55	0,01	0	0,05
		32,6	5,53	0,823	0,39	0,58	0	0	0,01	0	0,59	0,01	0	0,05
		32,9	5,62	0,793	0,36	0,53	0	0	0,01	0	0,64	0,01	0	0,05
	x	31,8	5,12	0,859	1,03	0,59	0,01	0	0,01	0	0,65	0,01	0	0,04
x	32,5	5,07	0,901	1,09	0,60	0,01	0	0,01	0	0,65	0,01	0	0,05	
x	32,0	5,10	0,869	1,07	0,61	0,01	0	0,01	0	0,64	0,02	0	0,04	
<b>3</b>		31,5	4,64	1,073	1,77	0,99	0	0	0,02	0	0,90	0,01	0	0,07
		31,9	4,55	1,111	2,29	1,40	0	0,01	0,02	0	1,25	0,01	0	0,08
		31,9	4,58	1,139	1,72	1,06	0	0	0,02	0	0,88	0,01	0	0,08
	x	31,3	4,29	1,134	2,93	0,67	0	0	0,02	0	0,88	0,01	0	0,05
x	31,6	4,23	1,117	2,94	0,73	0,01	0	0,01	0	0,88	0,02	0	0,07	
x	32,0	4,26	1,115	2,90	0,68	0,01	0	0,01	0	0,93	0,02	0	0,06	
<b>6</b>		30,8	4,28	1,337	2,73	1,73	0	0	0,02	0	0,88	0,02	0	0,09
		31,4	4,46	1,260	2,15	1,23	0	0	0,02	0	1,06	0,02	0	0,08
		31,1	4,29	1,326	3,05	1,74	0,01	0	0,02	0	1,26	0,02	0	0,09
	x	31,0	3,98	1,286	4,74	0,86	0,01	0	0,02	0	0,97	0,02	0	0,08
x	31,3	3,97	1,286	5,23	0,85	0,01	0	0,02	0	1,00	0,02	0	0,08	
x	31,0	3,98	1,277	5,01	0,84	0,01	0	0,02	0	1,16	0,02	0	0,07	
<b>48</b>		29,8	4,17	1,715	3,66	2,47	0,01	0	0,03	0	1,48	0,02	0	0,19
		30,4	4,20	1,718	3,04	2,25	0,01	0	0,04	0	1,51	0,02	0	0,17
		30,4	4,14	1,752	3,54	2,67	0	0,01	0,03	0	1,49	0,02	0	0,18
	x	29,6	3,79	1,665	7,04	1,09	0,02	0	0,04	0	3,36	0,02	0	0,13
x	29,1	3,80	1,707	6,34	1,01	0,01	0	0,03	0	4,27	0,03	0	0,14	
x	29,4	3,79	1,671	6,81	1,02	0,02	0	0,03	0	3,12	0,03	0	0,12	
<b>96</b>		29,4	4,04	1,897	3,56	4,80	0,01	0	0,04	0	1,59	0,07	0	0,21
		29,6	4,15	1,854	3,17	3,06	0,01	0,01	0,03	0	1,77	0,07	0	0,19
		29,4	4,12	1,913	3,31	3,18	0,02	0	0,03	0	1,26	0	0	0,18
	x	28,7	3,82	1,811	7,85	1,02	0,01	0	0,03	0	5,50	0,03	0	0,16
x	29,9	3,84	1,783	7,21	1,00	0,01	0	0,02	0	3,83	0	0	0,15	
x	31,1	3,81	1,804	7,84	0,99	0,01	0	0,02	0	5,32	0,03	0	0,15	

ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak

Tab. A14: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Gersteganzpflanzenslagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen

ÖT	MSB	TS [%]	pH [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	MS	ES	PrS	BS	i-VS [% d. TS]	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
<b>1</b>		27,3	6,00	0,680	0,29	0,30	0,01	0,01	0	0	0,30	0,01	0	0,04
		28,5	6,02	0,701	0,24	0,30	0,01	0	0,01	0	0,15	0,01	0	0,04
		27,8	5,88	0,671	0,31	0,30	0	0	0	0	0,25	0,01	0	0,04
	x	28,2	5,68	0,729	0,80	0,33	0,01	0	0	0	0,29	0,01	0	0,04
	x	27,4	5,95	0,723	0,50	0,25	0	0	0	0	0,21	0,01	0	0,04
	x	28,8	5,85	0,715	0,66	0,30	0	0	0	0	0,18	0,01	0	0,04
<b>3</b>		29,0	4,49	0,879	2,29	0,95	0	0	0	0	0,44	0,01	0	0,06
		27,7	4,42	0,925	2,69	1,18	0	0	0	0	0,41	0,01	0	0,07
		29,6	4,43	0,899	2,56	1,09	0	0	0	0	0,41	0,01	0	0,07
	x	29,1	4,21	0,952	4,45	0,69	0	0	0	0	0,42	0,01	0	0,05
	x	29,4	4,23	0,963	4,25	0,76	0,01	0	0	0	0,34	0,01	0	0,05
	x	29,3	4,17	0,963	4,91	0,68	0,01	0	0	0	0,39	0,02	0	0,06
<b>6</b>		27,4	4,39	0,967	3,38	1,45	0,01	0	0	0	0,60	0,01	0	0,09
		28,1	4,40	0,958	2,83	1,23	0,01	0	0	0	0,55	0,02	0	0,07
		30,6	4,44	0,959	2,22	0,95	0,01	0	0	0	0,56	0,01	0	0,06
	x	29,2	3,91	1,055	5,60	0,69	0,01	0	0	0	0,36	0,02	0	0,06
	x	29,1	4,02	1,051	5,13	0,76	0,01	0	0	0	0,51	0,02	0	0,06
	x	29,3	3,99	1,019	5,34	0,68	0,01	0	0	0	0,35	0,02	0	0,06
<b>48</b>		28,2	4,18	1,155	3,43	1,77	0,01	0	0	0	0,53	0,02	0	0,11
		28,7	4,17	1,143	3,63	1,84	0,01	0	0	0	0,55	0,02	0	0,11
		28,7	4,20	1,152	3,40	1,72	0,01	0	0	0	0,53	0,02	0	0,10
	x	28,8	3,77	1,182	6,94	0,88	0,01	0	0	0	0,42	0,02	0	0,08
	x	28,6	3,79	1,185	7,01	0,99	0,01	0	0	0	0,46	0,01	0	0,09
	x	28,0	3,76	1,101	6,41	0,86	0,01	0	0	0	0,50	0,01	0	0,08
<b>96</b>		25,9	4,16	1,219	3,89	1,97	0,02	0	0	0	0,65	0,01	0	0,14
		28,1	4,17	1,198	3,61	1,63	0,01	0,30	0	0	0,61	0,02	0	0,12
		30,7	4,19	1,227	3,56	1,27	0,01	0	0	0	0,62	0,01	0	0,12
	x	29,0	3,85	1,167	7,36	0,85	0,01	0	0,01	0	0,70	0,01	0	0,11
	x	27,4	3,83	1,191	8,00	0,91	0,01	0	0,01	0,01	0,63	0,02	0	0,11
	x	29,1	3,82	1,182	7,10	0,75	0,01	0	0	0	0,75	0,02	0	0,11

ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak

Tab. A15: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Triticaleganzpflanzenslagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungsterminen

ÖT	MSB	TS [%]	pH [-]	Osmolalität [osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]	MS	ES	PrS	BS	i-VS [% d. TS]	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
<b>1</b>		33,7	4,86	1,061	1,33	0,91	0,01	0	0	0	0,53	0	0	0,04
		33,7	4,85	1,059	1,26	0,87	0,02	0	0,01	0	0,50	0,01	0	0,04
		34,0	4,88	1,080	1,16	0,83	0,02	0	0,01	0	0,61	0,01	0	0,03
	x	33,3	4,70	1,090	1,65	0,75	0	0	0	0	0,55	0,01	0	0,04
	x	33,5	4,63	1,081	1,70	0,80	0,02	0	0	0	0,61	0,01	0	0,04
	x	33,6	4,75	1,114	1,42	0,68	0	0	0	0	0,55	0,01	0	0,04
<b>3</b>		33,0	4,39	1,289	2,28	1,27	0,02	0	0,01	0	0,81	0,01	0	0,06
		33,5	4,43	1,249	1,98	1,17	0,01	0	0,01	0	0,78	0,01	0	0,05
		33,1	4,38	1,313	2,36	1,49	0,02	0	0,01	0	0,64	0,01	0	0,06
	x	32,6	4,14	1,336	3,39	1,03	0,01	0	0,01	0	0,82	0,01	0	0,05
	x	32,7	4,12	1,293	3,77	1,10	0,01	0	0,02	0	0,81	0,01	0	0,05
	x	33,1	4,12	1,302	3,38	1,09	0,01	0	0,01	0	0,76	0,02	0	0,05
<b>6</b>		33,2	4,28	1,382	2,74	1,66	0	0	0,02	0	0,72	0,01	0	0,07
		32,9	4,25	1,446	2,99	1,75	0	0	0,02	0	0,65	0,01	0	0,07
		32,9	4,32	1,415	2,20	1,37	0	0	0,01	0	0,77	0,01	0	0,06
	x	32,2	3,92	1,419	4,16	1,19	0	0	0	0	0,73	0,01	0	0,06
	x	32,7	3,91	1,457	4,78	1,14	0,01	0	0,01	0	0,76	0,02	0	0,06
	x	32,8	3,99	1,447	4,00	1,22	0	0	0	0	0,84	0,02	0	0,05
<b>48</b>		31,3	4,06	1,783	3,92	2,07	0	0	0,02	0	1,40	0,02	0	0,13
		31,9	4,06	1,866	3,81	2,24	0	0	0,02	0	1,11	0,01	0	0,12
		32,1	4,08	1,855	3,75	2,35	0	0	0	0	1,36	0,02	0	0,11
	x	31,5	3,78	1,700	6,66	1,43	0,02	0	0,02	0	1,89	0,02	0	0,07
	x	32,2	3,80	1,721	5,52	1,37	0,01	0	0,02	0	2,69	0,02	0	0,07
	x	32,1	3,84	1,711	5,47	1,55	0,01	0	0,02	0	2,34	0,02	0	0,08
<b>96</b>		31,0	4,01	1,909	3,96	2,42	0	0	0,03	0	1,43	0,02	0	0,12
		31,7	3,96	1,912	4,25	2,43	0	0	0,03	0	1,10	0,02	0	0,12
		31,5	4,02	1,865	3,65	2,70	0,02	0	0,02	0	1,28	0,02	0	0,11
	x	30,1	3,86	1,847	5,83	1,83	0,01	0	0,03	0	3,78	0,02	0	0,10
	x	30,2	3,82	1,858	6,32	1,49	0,01	0	0	0	4,73	0,02	0	0,09
	x	30,6	3,82	1,827	5,60	1,56	0,01	0	0,02	0	4,05	0,02	0	0,10

ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, MS-Milchsäure, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak



Tab. A16: Urdaten der Osmolalität und Gärparameter von Haferganzpflanzenslagen ohne und mit Zusatz von MSB zu unterschiedlichen Öffnungssterminen

ÖT	MSB	TS	pH	Osmolalität	MS	ES	PrS	BS	i-VS	VS	Ethanol	Propanol	Butanol	NH <sub>3</sub>
		[%]	[-]	[osmol·kgPS <sup>-1</sup> ]						[% d. TS]				
<b>1</b>		23,2	5,13	0,637	1,54	0,62	0,01	0	0	0	0,55	0,02	0	0,05
		23,4	5,10	0,663	1,37	0,60	0,01	0	0,01	0	0,51	0,02	0	0,04
		22,9	5,12	0,662	1,28	0,58	0,01	0	0	0	0,61	0,02	0	0,05
	x	24,0	4,79	0,640	2,28	0,49	0	0	0	0	0,58	0,01	0	0,04
	x	23,4	4,84	0,646	2,43	0,63	0	0	0	0	0,62	0,01	0	0,04
	x	22,7	4,79	0,625	2,62	0,58	0,01	0	0	0	0,56	0,01	0	0,04
		22,0	4,60	0,726	2,95	0,86	0,01	0	0	0	0,83	0,02	0	0,08
		21,4	4,60	0,728	3,34	1,07	0,01	0	0	0	0,99	0,02	0	0,08
		22,8	4,59	0,729	3,39	0,99	0,01	0	0	0	0,91	0,02	0	0,08
	x	21,5	3,99	0,716	7,33	0,78	0,01	0	0	0	0,58	0,02	0	0,06
x	22,5	4,25	0,709	4,99	0,85	0,01	0	0	0	0,56	0,01	0	0,06	
x	23,8	4,05	0,746	6,11	0,61	0,01	0	0	0	0,72	0,02	0	0,06	
<b>6</b>		22,3	4,33	0,792	4,34	1,02	0,01	0	0	0	0,99	0,02	0	0,10
		24,3	4,44	0,895	4,14	1,00	0	0	0	0	1,30	0,02	0	0,11
		23,4	4,39	0,834	3,59	0,95	0,01	0	0	0	1,13	0,01	0	0,09
	x	22,6	3,88	0,795	8,06	0,72	0,01	0	0	0	0,67	0,02	0	0,06
	x	23,5	3,87	0,801	8,20	0,71	0,01	0	0	0	0,68	0,02	0	0,07
	x	23,9	3,94	0,817	7,37	0,65	0	0	0	0	0,69	0,02	0	0,07
		23,9	3,95	0,953	7,54	1,30	0,01	0	0,01	0	1,13	0,02	0	0,16
		23,6	4,00	1,121	6,68	1,27	0,02	0	0,01	0	1,66	0,02	0	0,16
		24,2	3,98	1,051	6,69	1,35	0,02	0	0,01	0	1,30	0,02	0	0,16
	x	23,5	3,82	0,896	9,39	0,87	0,01	0	0	0	0,69	0,02	0	0,11
x	23,2	3,84	0,894	9,87	1,01	0,01	0	0,01	0	0,69	0,02	0	0,12	
x	23,1	3,84	0,923	9,44	0,96	0,01	0	0,01	0	0,61	0,02	0	0,11	
<b>96</b>		21,5	3,94	1,025	8,49	2,12	0,01	0	0,02	0	1,23	0,09	0	0,21
		22,6	3,96	1,019	8,16	1,77	0,01	0	0,02	0	1,18	0,07	0	0,20
		22,2	4,14	1,210	4,72	2,96	0,02	0,01	0,02	0	1,62	0,14	0	0,19
	x	23,6	3,86	0,938	9,48	0,75	0,01	0	0,01	0	0,89	0,02	0	0,13
	x	22,6	3,83	0,917	9,90	0,95	0,01	0	0,01	0	0,72	0,03	0	0,12
	x	22,6	3,85	0,934	9,91	1,01	0,01	0	0,01	0	0,90	0,03	0	0,13

ÖT-Öffnungstag, MSB-Milchsäurebakterien, ES-Essigsäure, PrS-Propionsäure, BS-Buttersäure, i-VS-Isovaleriansäure, VS-Valeriansäure, NH<sub>3</sub>-Ammoniak

## **Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, nur die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt und die den verwendeten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Rostock, im September 2007

## Lebenslauf

**Name:** Sandra Hoedtke

**Geburtsdatum:** 14.09.1976

**Geburtsort:** Nürnberg

**Schulausbildung:** 1982-1986 Grundschule Sperberstraße Nürnberg  
1986-1995 Gymnasium der Wilhelm-Löhe-Schule Nürnberg

**Studium:** 1996-2002 an der Universität Rostock  
Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät  
Studiengang Agrarökologie  
Abschluss: Diplom-Agraringenieur

**Promotionsstudium:** 2002-2007 an der Universität Rostock  
Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät  
Institut für Nutztierwissenschaften und Technologie  
Lehrstuhl für Ernährungsphysiologie und Tierernährung

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. M. Gabel für die Überlassung des Themas sowie die stets freundliche und zu jeder Zeit gewährte Hilfe und Diskussionsbereitschaft. Des Weiteren danke ich Herrn Dr. K. Friedel sehr herzlich für wertvolle Anregungen und Diskussionen insbesondere in der Endphase der Arbeit.

Bei Herrn Dr. J. Thaysen von der Landwirtschaftskammer Schleswig-Holstein bedanke ich mich für die Überlassung von Probenmaterial.

Allen Mitarbeitern der Professur für Ernährungsphysiologie und Tierernährung danke ich für die herzliche Aufnahme am Institut. Frau Prof. Dr. A. Zeyner möchte ich danken, dass sie mir die Fertigstellung der Promotion an ihrem Lehrstuhl ermöglicht hat. Bei Frau E. Schröder, Frau S. Bremer, Frau M. Beck und Frau D. Gall bedanke ich mich im Besonderen für die Durchführung der Weender-Analyse und die Bestimmung der Fermentationsprodukte mittels HPLC und Gaschromatographie. Für die Einsatzbereitschaft und Unterstützung bei den Versuchen danke ich Stefanie Busch, Annett Gefrom, Johanna Bröcker, Jeannine Lutz und Ann-Marie Müller.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meiner Freundin Anja Kofahl für die vielen Jahre, in denen sie mir in allen Höhen und Tiefen beistand, für ihre aufbauenden Worte und nicht zuletzt für die schwierige Arbeit des Korrekturlesens. Des Weiteren danke ich allen meinen Freunden für ihr Verständnis und ihre Aufmunterungen während allen Phasen dieser Arbeit. Ich danke vor allem meinem Freund, der mir auch in der Ferne immer eine große Stütze war und mir den nötigen Antrieb gab.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mir stets zur Seite stehen und mich in allen Lebenslagen kompromisslos unterstützen.

Dem Land Mecklenburg-Vorpommern danke ich für die Gewährung eines Stipendiums auf Grundlage der Landesgraduiertenförderung.

Bei der H. Wilhelm Schaumann Stiftung bedanke ich mich für die Abschlussfinanzierung der Promotion.

**Thesen zur Dissertation:****„Die Quantifizierung der Osmolalität in Futterpflanzen und ihre Veränderung in verschiedenen Stadien der Silagebereitung und durch den Silierverlauf“**

vorgelegt von Dipl.-Ing. agr. Sandra Hoedtke

Der osmotische Wert hat aufgrund seiner selektiv hemmenden Wirkung gegenüber Mikroorganismen neben dem Gehalt an vergärbaren Kohlenhydraten einen maßgeblichen Einfluss auf die Siliereigenschaften von Pflanzenmaterial. Gegenwärtig wird in der Silierpraxis die Osmolalität von Pflanzen und Silagen nicht direkt bestimmt, sondern über den Trockensubstanzgehalt geschätzt, was angesichts von möglichen Fehlkalkulationen als kritisch zu betrachten ist. Aufgrund von Hinweisen aus der Literatur (DRIEHUIS & VAN WIKSELAAR, 1996; DAVIES & HALL, 1999 und WYSS, 1999) musste die Frage gestellt werden, ob der Trockensubstanzgehalt im Hinblick auf die Vorhersage des Siliererfolges die von ihm erwarteten Aussagen treffen kann, oder ob der Trockensubstanzgehalt erst in Verbindung mit der Osmolalität zu aussagefähigeren Prognosen führen würde. Gegenstand der vorliegenden Arbeit war deshalb die Entwicklung einer einfach durchzuführenden Messmethode mit gut reproduzierbaren Ergebnissen, um den Kenntnisstand zur osmotischen Wirkung in Grünpflanzen und daraus hergestellten Silagen zu erweitern und die Eignung der Osmolalität als ergänzenden Parameter zur Beurteilung der Siliereignung und -qualität zu prüfen. Dazu wurden im unsilierten Pflanzenmaterial der Einfluss der Pflanzenart und -sorte, des Vegetationsverlaufs und des Anwelkens auf die Osmolalität an verschiedenen Leguminosen, Deutschem und Welschem Weidelgras sowie Getreideganzpflanzen untersucht. Für die Bewertung der Auswirkungen eines Silierzusatzes (ohne und mit Milchsäurebakterien) und des Silierverlaufs (fünf Öffnungstage: 1, 3, 6, 48 und 96 Tage) auf die Osmolalität wurden von Deutschem und Welschem Weidelgras sowie von Getreideganzpflanzen (Weizen, Gerste, Triticale und Hafer) Modellsilagen angefertigt.

Aus den Ergebnissen und Schlussfolgerungen der vorgestellten Untersuchungen werden folgende Thesen abgeleitet:

1. Die Osmolalität kann im pflanzlichen Material auf Basis der Gefrierpunktniedrigung mit dem Osmometer *Osmomat 030* (Gonotec GmbH, Berlin) quantitativ bestimmt werden. Dazu ist die flüssige Phase des unsilierten oder silierten Pflanzenmaterials in Form von Presssaft unter Nutzung einer Tinkturenpresse von der festen Phase zu trennen.

2. Als Eichlösungen zur Kalibrierung des Gefrierpunktsmometers können unter Beachtung des osmotischen Koeffizienten unterschiedlich konzentrierte NaCl-Lösungen verwendet werden, die eine sehr hohe Eichgenauigkeit liefern. Grundsätzlich ist nahe des zu erwartenden Messbereiches zu kalibrieren. Für eine störungsfreie Osmolalitätsmessung ist das Probenmaterial zu Erhitzen und zu Zentrifugieren. Eine Beeinflussung der Osmolalitätswerte erfolgt dadurch nicht. Wiederholte Messungen ergaben eine hohe Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ( $s\% = 0,2$ ).
3. Die Anwendung der Methode ist über einen sehr großen Trockensubstanzbereich möglich. Bei TS-Gehalten bis zu 40 % in der Originalsubstanz kann Presssaft als unmittelbares Medium zur Quantifizierung der Osmolalität dienen. Von Probenmaterial mit einer TS > 40 % kann mit der Tinkturenpresse kein Presssaft gewonnen werden. Alternativ sind durch eine definierte Wasserzugabe Auszüge aus dem pflanzlichen Material herzustellen und an Stelle von Presssaft zu verwenden. Über das Einengungsverhältnis kann die Osmolalität des Auszuges auf die TS der Originalsubstanz umgerechnet werden. Die Messung von verdünnten Presssäften bzw. Auszügen weist Abweichungen von durchschnittlich 4 bis 5 % zu Ergebnissen unverdünnter bzw. originaler Proben auf. Diese Differenzen sind systematischer Natur und schränken die aus den Ergebnissen zu ziehenden Schlussfolgerungen nicht ein, wenn generell mit verdünnten Presssäften und Auszügen gearbeitet wird.
4. Die im Presssaft bzw. im Auszug gemessene Osmolalität ist repräsentativ für das gesamte Pflanzenmaterial. Die Summierung der TS des Presssaftes und der TS des Pressrückstandes (Presskuchen) ergibt mit mehr als 94 % die TS des pflanzlichen Ausgangsmaterials. Die Messung der Osmolalität im Presssaft und im Auszug des Presskuchens führt zu überwiegend nicht signifikant verschiedenen Ergebnissen, so dass beim Presssaft von einer repräsentativen Probe der wässrigen Phase des Pflanzenmaterials auszugehen ist. Die Höhe des Abpressdruckes bei der Gewinnung des Presssaftes bis  $120 \text{ kp}\cdot\text{cm}^{-2}$  hat keinen Einfluss auf die Osmolalitätswerte sowie die TS- und die Rohaschegehalte.
5. Zwischen Pflanzenarten und -sorten bestehen bei gleichem Trockensubstanzgehalt Unterschiede in der Osmolalität, die die allgemein angenommene hohe Abhängigkeit der Osmolalität vom Trockensubstanzgehalt in Frage stellen. Divergenzen zwischen Pflanzenmaterialien können durch die Formulierung der trockenstanzabhängigen osmotischen Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  mit der Einheit  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  generalisiert werden. Die

osmotische Wirkung von Leguminosen (1,76 bis 3,14  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ) und Gräsern (1,73 bis 2,95  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ) liegt dabei deutlich über den Werten von Getreide (0,90 bis 1,70  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ) und Leguminosenkörnern (0,46 bis 0,66  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ).

6. Die Osmolalität des Presssaftes ( $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ) ist ein wichtiger Parameter, da sich die selektiv hemmende osmotische Wirkung auf Gärschädlinge in der wässrigen Phase vollzieht. Über die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  ( $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$ ) kann für jede Trockensubstanzstufe die Osmolalität im Presssaft berechnet werden. Im Zusammenhang mit weiteren Silierparametern wie pH-Wert, Pufferkapazität und Gehalt an fermentierbarem Substrat ist es unter Berücksichtigung des Osmolalitätswertes möglich, die Notwendigkeit des Einsatzes von Silierhilfsmitteln einzuschätzen. Eine niedrige  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  schränkt die Silierbarkeit dabei nicht notwendigerweise ein. Trotz einer geringen trockensubstanzabhängigen osmotischen Wirkung von 0,66  $\text{osmol}\cdot\text{kgTS}^{-1}$  und darunter und eines geringen Z/PK-Quotienten weisen die Körner der großsamigen Leguminosen auch bei hohen TS-Gehalten gute Siliereigenschaften auf. Aus der Sicht der Osmolalität ist eine konservierungswirksame Milchsäuregärung bei diesem Material möglich. Für präzise Vorhersagen der Silierbarkeit sind jedoch weitere Untersuchungen notwendig.

7. Mit zunehmendem Vegetationsstadium bzw. TS-Anstieg (x) verringert sich bei Getreideganzpflanzen (Weizen, Gerste) und Deutschem Weidelgras die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (y):

$$\text{Getreideganzpflanzen: } y = -0,07x + 4,20 \quad R^2=0,91 \quad s=0,14 \quad p < 0,001 \quad (n=24)$$

$$\text{Dt. Weidelgras: } y = -0,02x + 2,49 \quad R^2=0,55 \quad s=0,09 \quad p < 0,05 \quad (n=9)$$

Die spezifischen anabolen und katabolen Stoffwechselprozesse im Vegetationsverlauf der Pflanzen verursachen eine nicht dem Trockensubstanzzanstieg entsprechende Osmolalitäts-erhöhung im Presssaft ( $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ). Während des Anwelkens von Deutschem und Welschem Weidelgras steigt die Osmolalität des Presssaftes entsprechend des TS-Gehaltes und bleibt dadurch auf den TS-Gehalt bezogen gleich. Eine Abhängigkeit der  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  vom Trockensubstanzgehalt war daher nicht nachzuweisen. Der Osmolalitätsanstieg während des Anwelkens ist fast ausschließlich durch einen Wasserentzug und damit durch eine Konzentrationserhöhung der osmotisch wirksamen Teilchen charakterisiert. Die trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  ist ein geeigneter Parameter, die unterschiedlichen Abhängigkeiten zwischen Trockensubstanz- und Osmolalitätsanstieg im Vegetationsverlauf und während des Anwelkens zu verdeutlichen.

8. Die größte Osmolalitätserhöhung im Silierverlauf erfolgt in den ersten drei Tagen der Silierung. Als Ursachen sind neben der Zelllyse vor allem die einsetzenden Fermentationsprozesse nach Einstellung anaerober Bedingungen zu nennen. Der Anstieg der Osmolalität im Presssaft ( $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ) ist zeitlich degressiv. Bis zum 96. Tag der Silierung nähert sich die Osmolalität im Presssaft einem Grenzwert an, der je nach Pflanzenart variiert und in Silagen mit MSB-Zusatz geringer ist als in unbehandelten Silagen.
9. Die in der wässrigen Phase von Silagen durch Milchsäurebildung verursachte Osmolalitätserhöhung ( $\text{osmol}\cdot\text{kgPS}^{-1}$ ) ist im Sinne einer anaerob stabilen Konservierung als positiv zu werten, da sowohl eine pH-Wert-Absenkung als auch eine Zunahme der osmotisch wirksamen Teilchen hemmend auf die in der Gärflora vorhandenen Mikroorganismen wirkt. Nicht durch eine Milchsäuregärung verursachte Osmolalitätserhöhungen während des Silierprozesses sind vor allem auf unerwünschte Fermentationsprodukte zurückzuführen.
10. Zur Beurteilung der Osmolalitätserhöhung während der Silierung ist die um den osmotischen Wert der Milchsäure korrigierte trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung (MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$ ) geeignet. Sie ist nach Abzug des durch die Milchsäure verursachten osmotischen Anteils Ausdruck des negativ zu wertenden Osmolitätsanstieges und in Silagen mit MSB-Zusatz geringer als in unbehandelten Silagen.
11. Die MS-korrigierte trockensubstanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (y) weist in unbehandelten Silagen eine hohe positive Korrelation mit der Summe des Gehaltes der als negativ zu beurteilenden Gärparameter (ohne Milchsäure) in % der TS (x) auf:  
 ohne MSB:  $y = 0,20x + 3,28$      $R^2=0,89$      $s=0,32$      $p<0,001$     (n=36)  
 In den Silagen mit MSB-Zusatz ist diese Abhängigkeit deutlich geringer ausgeprägt:  
 mit MSB:  $y = 0,16x + 2,70$      $R^2=0,17$      $s=0,29$      $p<0,05$     (n=36)  
 Die Höhe der Osmolalität des Presssaftes bei qualitativ schlechten Silagen wird damit in großem Maße durch unerwünschte Gärprodukte verursacht.
12. Zur Qualitätsbeurteilung von Silagen ist die Korrelation zwischen pH-Wert (y) und TS-Gehalt (x) nicht aussagefähig, da die pH-Werte über einen breiten TS-Bereich der Silagen auf nahezu gleichem Niveau liegen:  
 $y = 0,01x + 3,70$      $R^2=0,08$      $s=0,48$      $p<0,05$     (n=72)



Zu guten Einschätzungen des Siliererfolges führt dagegen die MS-korrigierte trocken-substanzabhängige osmotische Wirkung  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  (x) in Abhängigkeit des pH-Wertes (y):

$$y = 0,42x + 2,58 \quad R^2=0,54 \quad s=0,34 \quad p<0,001 \quad (n=72)$$

Die Mittelwerte von pH-Wert und MS-korrigierter  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  zwischen Silagen mit Buttersäurebildung (pH 4,65; MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  4,88) und ohne Buttersäurebildung (pH 3,91; MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  3,24) unterscheiden sich dabei signifikant voneinander ( $p<0,001$ ). Je höher MS-korrigierte  $\text{osmol}_{\text{TS}}$  und pH-Wert einer Silage sind, desto wahrscheinlicher ist das Auftreten von Buttersäure bzw. einer geringen Silagequalität aufgrund von unerwünschten Nebengärungen. Zu diesem Komplex besteht jedoch weiterer Forschungsbedarf.