

## Vergleich von Methoden zur Bestimmung der Gärfutterqualität

A. Steinwider und R. Leitgeb

### 1. Einleitung

Die Gärfutterbereitung stellt eine wichtige Alternative zur Heubereitung dar. Bei einem Konservierungsverfahren mit so großer Bedeutung kommt der Abschätzung des Futterwertes ein großes Gewicht zu. Für die Bestimmung der Silagequalität wurden mehrere Methoden ausgearbeitet, deren Ergebnisse vielfach auffällige Differenzen aufweisen. In der vorliegenden Arbeit werden fünf verschiedene Methoden zur Qualitätsbestimmung von Gärfutterproben auf ihre Übereinstimmung untersucht.

### 2. Literatur

Zum Nachweis von Milch- (MS), Essig- (ES) und Buttersäure (BS) hat die Destillationsmethode von LEPPER (1938) und FLIEG (1938) große Verbreitung gefunden. FLIEG (1938) stellte fest, daß Zucker und Mannite als vorgetäuschte MS in Erscheinung treten können und schlägt zur Entfernung sämtlicher löslicher Kohlenhydrate (auch Stärke) eine Entzuckerung des Silageauszuges vor. Die Entzuckerung des Silageauszuges nimmt im Routinebetrieb viel Zeit in Anspruch und wird deshalb nicht immer durchgeführt. LAUBE und WEISSBACH (1963) stellten trotz dieser Entzuckerung Restzucker im Filtrat fest und empfehlen die doppelte Reagenzmenge für die Entzuckerung. Auf die Fehlermöglichkeit bei der Säurebestimmung nach LEPPER (1938) und FLIEG (1938) bei Auftreten von Propion- (PS), Ameisen- (AS) sowie Karbon- und Isosäuren weisen STERNKOPF (1967), LAUBE und WEISSBACH (1963), DANIEL (1971) sowie KUBADINOW (1982) hin. An der Bundesanstalt-GUMPENSTEIN (unveröffentlicht) wurde eine GC-Methode entwickelt, die den Nachweis der flüchtigen Fettsäuren (IFS) und der MS nacheinander mit derselben Trennsäule ermöglicht. KOVATSITS (1985) schlägt eine abschnittsweise Titration des Silageauszuges zur Qualitätsbestimmung vor. GROSS (1963) konnte eine Beziehung zwischen dem pH-Wert und dem TM-Gehalt zu den Flieg-Punkten feststellen und entwickelte daraus eine Regressionsgleichung zur Schätzung der Flieg-Punkte. Von HALUSCHAN und Ma. (1983) wurden Preßschnitzelsilagen nach verschiedenen Methoden untersucht und dabei wurden

große Unterschiede bei der Qualitätseinstufung festgestellt. Für Preßschnitzsilagen wurde deshalb ein eigenes Bewertungsverfahren entwickelt.

### 3. Versuchsdurchführung

#### 3.1 Beschreibung der Silageproben

5 Methoden zur Bestimmung der Silagequalität (Tabelle 1) wurden an denselben Gärfutterproben im Hinblick auf ihre Qualitätseinstufung untersucht. Die Lagerung der Silageproben erfolgte bis zur Versuchsdurchführung in luftdicht verschlossenen Plastiksäcken in der Tiefkühltruhe bei  $-18^{\circ}\text{C}$ .

**Tabelle 1: Methoden zur Bestimmung der Gärfutterqualität**

Methode	
"L & F nicht entzu.":	Destillationsmethode nach Lepper und Flieg mit nicht entzuckertem Silageauszug
"L & F entzu.":	Destillationsmethode nach Lepper und Flieg mit entzuckertem Silageauszug
"TM/pH":	Bewertung mittels TM-Gehalt und pH-Wert nach Groß
"GC":	Gaschromatographische Methode der BA-Gumpenstein
"Mh":	Abschnittsweise Titration nach Kovatsits

#### 3.2 Herstellung des Silageauszuges

Zur Herstellung des Silageauszuges wurden ca. 70 g Gärfutter mit genau zehn Gewichtsteilen aqua dest. gemischt und nach 12 h Lagerung bei ca.  $16^{\circ}\text{C}$  durch einen trockenen Faltenfilter filtriert.

#### 3.3 Silageuntersuchungsverfahren

##### 3.3.1 Destillationsmethode nach Lepper und Flieg ohne Entzuckerung des Silageauszuges ("L & F nicht entzu".)

200 ml des klaren Filtrates wurden in einem 500 ml Rundkolben mit 5 ml verd.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1:1 mit aqua dest. verdünnt) und Glasperlen versetzt, kurz geschüttelt und sofort an das Lepper-Gerät angeschlossen. Innerhalb von 20 min wurden 100 ml (D1) und während weiterer 10 min, ohne Unterbrechung der Destillation, weitere 50 ml (D2) überdestilliert. Der im Destillierkolben verbliebene Rückstand wurde mit je 55 ml

Chromschwefelsäurelösung (45,5 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 45,5 g Chrom (VI)oxid in aqua dest. gelöst und auf 1 l aufgefüllt) versetzt und am Rückflußkühler 5 min gekocht. Anschließend wurden durch den Kühler 100 ml aqua dest. zugesetzt und der Kolben wieder an das Lepper-Gerät angeschlossen. Innerhalb von 10 min wurden wieder 50 ml (D3) überdestilliert. Die 3 Destillate wurden mit 0,05 n NaOH gegen Phenolphthalein bis zur schwachen nicht anhaltenden Rotfärbung titriert. Die Gehalte an Gärssäuren wurden mit folgenden Gleichungen ermittelt.

$$\text{ES ml } 0,05 \text{ n} = 6,41 \cdot \text{D2} - 1,42 \cdot \text{D1}$$

$$\text{BS ml } 0,05 \text{ n} = 1,96 \cdot \text{D1} - 3,09 \cdot \text{D2}$$

$$\text{MS ml } 0,05 \text{ n} = 5,47 \cdot \text{D3} - (0,38 \cdot \text{ES} + 0,13 \cdot \text{BS})$$

$$\% \text{ ES} = \text{ES} \cdot 0,015$$

$$\% \text{ BS} = \text{BS} \cdot 0,022$$

$$\% \text{ MS} = \text{MS} \cdot 0,0225$$

Die Beurteilung der Silagen erfolgte nach dem Flieg'schen-Schlüssel, in der Neufassung nach ZIMMER (1966).

### 3.3.2 Destillationsmethode nach Lepper und Flieg mit Entzuckerung des Silageauszuges ("L & F entzu".)

Für die Entzuckerung des Silageextraktes wurden in einem 250 ml Meßkolben 100 ml Filtrat mit 20 ml Kalkmilch (200 g CaO/1H<sub>2</sub>O) und 10 ml Kupfersulfatlösung (200 g CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O p. a. mit aqua dest. auf 1000 ml aufgefüllt), versetzt. Dies entspricht der halben, üblichen angewendeten Filtratmenge, um eine größtmögliche Entzuckerung zu erreichen. Nach 1 h wurde mit aqua dest. auf 250 ml aufgefüllt, geschüttelt und durch einen trockenen Faltenfilter filtriert. Das Filtrat wurde weiter, wie unter 3.3.1 beschrieben, behandelt.

### 3.3.3 Gaschromatographische Methode der BA-Gumpenstein ("GC")

20 ml des klaren Silageauszuges wurden mit 1 ml gesättigter CaOH-Lösung vermischt und nach dem Klären wurden 10 ml des Überstandes entnommen und in einem Zentrifugenröhrchen mit 0,5 ml 10 %iger CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O-Lösung versetzt. Anschließend erfolgte eine 8 minütige Zentrifugation bei 900 U/min. Zur Bestimmung der fFS wurde 1 ml Filtrat mit 1 ml verdünnter H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/1000 ml Lösung) vermischt und in den Gaschromatographen (Perkin-Elmer, Modell F11), injiziert. Zur Bestimmung der MS wurde 1 ml Silagefiltrat mit 1 ml verdünnter Chromschwefelsäure (70 g Kaliumdichromat und 50 ml konz. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> auf 1000 ml mit aqua dest. aufgefüllt) in einem Röhrchen zwei Stunden mit Hilfe einer Schüttelmaschine gemischt und nach dem Erkalten injiziert. Aus dem erhöhten ES-Peak nach der Chromschwefelsäurebehandlung, wurde nach Abzug des ersten ES-Peaks, die ES errechnet, die aus der MS entstanden ist und mit dem Faktor 1,5 auf die MS umgerechnet. Die fFS erschienen in der Reihenfolge ES, PS, BS, n-BS, VS und n-VS. Die Auswertung der Peakflächen erfolgte mit Hilfe eines Perkin Elmer GP-100 Graphik Printers, mit eingebautem DIS-Integrator. Die Herstellung der Standardlösungen erfolgte im Konzentrationsbereich von 0,01 % bis 0,1 %, da der Verdünnungsfaktor von 11,025 zu berücksichtigen war.

Gaschromatographbedingungen:

Trennsäule: 2 m Stahlsäule, 4 mm Durchmesser, 20 % Neopentylglycol-succinat und 2 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> auf Chromsorb W (60 - 80 mesh)  
Injektionsmenge: 5 Mikroliter  
Injektortemperatur: 230° C  
Ofentemperatur: 150° C  
Gasstrom: 35 ml N<sub>2</sub>/min

Die Laufzeit eines Chromatogrammes betrug für den Nachweis der fFS 16 min. Für den MS-Nachweis konnte die Laufzeit auf 10 Minuten verkürzt werden, sofern keine VS und Capronsäure zuvor nachgewiesen wurden.

Die Retentionszeiten betragen: ES 4,4, PS 6,6, BS 7,2, n-BS 9,7, VS 11,0, n-VS 14,2 min.

### 3.3.4 Bewertung mittels TM-Gehalt und pH-Wert nach Groß ("TM/pH")

Der TM-Gehalt wurde durch Vor- und Nachtrocknung ermittelt. Der pH-Wert des Silageextraktes wurde mit dem pH-Meter ermittelt. Die Berechnung der Flieg-Punkte aus TM und pH-Wert erfolgt mit Hilfe der Regressionsgleichung nach GROSS (1963).

Flieg-Punkte =  $220 + 2 \cdot (\text{TM \%} - 15) - \text{pH-Wert} \cdot 40$

Aus den errechneten Flieg-Punkten wird die Qualitätsklasse abgelesen.

### 3.3.5 Abschnittsweise Titration nach Kovatsits ("Mh")

100 ml des nichtentzuckerten, wässrigen Auszuges, wurden in ein 150 ml Becherglas übergeführt. Nach dem Einschalten des Magnetrührers wurde der pH-Wert mittels pH-Meter festgestellt. Lag der pH-Wert bei 5 oder darüber, wurde die Silage ohne weitere Untersuchung als schlecht (Klasse 5) eingestuft. Lag der pH-Wert des Auszuges dagegen unter 5, so erfolgte die Titration mit 0,25 n NaOH-Lösung zuerst bis zum pH-Wert 5 (a) und anschließend bis zum pH-Wert 6 (b).

Die Errechnung des Quotienten ("Mh") erfolgte mit Hilfe der Formel:

$$\text{Mh} = a/b$$

a = Verbrauch an 0,25 n NaOH in ml bis pH 5

b = Verbrauch an 0,25 n NaOH in ml bis pH 6

Die Einstufung des Qualität erfolgte mit Hilfe des Quotienten direkt aus der von Kovatsits vorgeschlagenen Tabelle (Tabelle 2).

**Tabelle 2: Qualitätseinstufung nach Kovatsits ("Mh")**

Quotient	Qualitätsstufe
über 0,75	sehr gut
0,61 - 0,75	gut
0,36 - 0,60	befriedigend
0,01 - 0,35	mäßig
unter 0,01	schlecht

### 3.4 Auswertung der Ergebnisse

Die Hypothesentestung wurde mit dem Wilcoxon-Test durchgeführt (ESSL 1987).

## 4. Versuchsergebnisse

Die Ergebnisse der Untersuchung sind in den Tabellen 3 bis 5 angeführt. In der Grassilage lagen die Gehalte an MS bei den Untersuchungsmethoden "L & F nicht entzu", "L & F entz." und bei "GC" bei 3,11, 1,50 und 1,31 %. Die tatsächlichen Gehalte an MS waren in den Silagen weit niedriger als mit "L & F nicht entzu" nachgewiesen wurde.

Die ES- und BS-Gehalte waren bei der "GC"-Methode am niedrigsten. Die ES und BS-Gehalte wurden durch die Entzuckerung nicht beeinflusst. Die untersuchten Grassilagen wiesen mit 0,6 % hohe Gehalte an BS auf. Die hohen BS- und unterschiedlichen MS- und ES-Gehalte führten zu merklichen Differenzen bei den Flieg-Punkten, so daß bei Gärsäureuntersuchungen ohne Entzuckerung des Silageauszuges eine Fehleinschätzung der Silagequalität erfolgt.

Die festgestellten Gärsäuremittelwerte der vergleichbaren Proben ergaben vor allem zwischen den MS-Werten der Methode "L & F nicht entzu." einerseits und "L & F entzu." und "GC" andererseits, große Differenzen. Bei der Gärsäureanalyse nach "L & F nicht entzu." erfolgt durch den hohen MS-Gehalt eine systematische Überbewertung der Gärfutterqualität. Die mit dem "GC" ermittelten ES- und BS- Gehalte lagen niedriger als nach den beiden anderen Verfahren. Die beiden L & F-Methoden stimmen bei den ES- und BS-Gehalten gut überein.

Die in der Tabelle 5 angegebenen P-Werte der Hypothesentestung beziehen sich auf die ermittelten Flieg-Punkte (1 bis 100 nach ZIMMER, 1966), mit Ausnahme der "Mh"-Methode nach KOVATSITS (1985), da hier die Einstufung nur nach Güteklassen (1 bis 5) erfolgt.

Tabelle 3: Gärsäuregehalte sowie Flieg-Punktebewertung der Silagen

Silage	Methode	n	Milch- säure %	Essig- säure %	Butter- säure %	Flieg- punkte 1)
Gras- silage	"L & F nicht entzu."	6	3,11	0,25	0,59	53
	"L & F entzu."	6	1,50	0,24	0,64	39
	"GC"	6	1,31	0,15	0,53	43
	"TM/pH"	6	—	—	—	74
Mais Korn- silage	"L & F nicht entzu."	3	2,37	0,23	0,00	100
	"L & F entzu."	3	1,29	0,24	0,00	99
	"GC"	3	1,11	0,13	0,00	100
	"TM/pH"	3	—	—	—	100
Sojabohnen- Mais Korn- silage	"L & F nicht entzu."	6	1,89	0,28	0,02	99
	"L & F entzu."	6	0,88	0,29	0,00	87
	"GC"	6	1,00	0,14	0,01	93
	"TM/pH"	6	—	—	—	100
Sojaganz- pflanzen- silage	"L & F nicht entzu."	1	3,88	0,86	0,00	98
	"L & F entzu."	1	3,21	0,85	0,00	97
	"GC"	1	2,45	0,56	0,00	98
	"TM/pH"	1	—	—	—	67
Soja-Mais- silage	"L & F nicht entzu."	1	3,73	0,84	0,00	98
	"L & F entzu."	1	2,43	0,86	0,00	92
	"GC"	1	1,67	0,70	0,00	86
	"TM/pH"	1	—	—	—	81
Mais-Gras- silage	"L & F nicht entzu."	1	3,53	0,41	0,00	100
	"L & F entzu."	1	2,12	0,52	0,00	100
	"GC"	1	1,65	0,46	0,00	97
	"TM/pH"	1	—	—	—	84

1) Flieg-Punkte: 1 - 100

Die Hypothesentestung erbrachte eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen der "GC" und "L & F entzu." Methode sowie zwischen den Methoden "TM/pH" und "L & F nicht entzu."

**Tabelle 4: Gärssäuremittelwerte sowie Flieg-Punkte und Güteklassenbewertung aller Silagen**

Methode	n	Milch- säure %	Essig- säure %	Butter- säure %	Flieg- Punkte	Güte- klasse 1)
"L & F nicht entzu."	18	2,68	0,33	0,20	84	1,7
"L & F entzu."	18	1,44	0,34	0,21	75	2,0
"GC"	18	1,28	0,21	0,18	78	1,9
"TM/pH"	18	—	—	—	87	1,3
"Mh"	18	—	—	—	—	3,1

1) Güteklassen von 1 - 5 (1 = sehr gut, 5 = verdorben)

**Tabelle 5: P-Werte der Hypothesentestung zwischen den Flieg-Punkten bzw. Silagequalitätsklassen**

Methode	"L & F entzu."	"TM/pH"	"Mh"	"GC"
"L & F nicht entzu."	< 0,01	0,31	< 0,01	0,03
"GC"	0,23	0,06	< 0,01	
"Mh"	< 0,01	< 0,01		
"TM/pH"	0,04			

## 5. Diskussion

Die überhöhten Gehalte an MS nach "L & F" in nicht entzuckerten Silageauszügen, auf die FLIEG (1938), sowie LAUBE und WEISSBACH (1963) hinwiesen, können bestätigt werden. Dies führt zu einer systematischen Überbewertung der Gärfutterqualität. Die mit dem "GC" ermittelten ES- und BS-Gehalte waren fast bei allen Analysen niedriger als die Gehalte nach den Destillationsmethoden. Dies ist auf Spuren von PS und höheren Karbonsäuren, welche mit dem "GC"-Verfahren identifiziert werden konnten, zurückzuführen (STERNKOPF 1967). Die von GROSS (1963) aufgestellte Regressionsgleichung erbrachte in der Beurteilung der Silagen nur eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit der Methode "L & F nicht entzu". Auf methodische Unterschiede weisen HALUSCHAN und Ma. (1983) hin. Die von KOVATSITS (1985) vorgeschlagene Titrationsmethode erbrachte keine Übereinstimmung mit den Ergebnissen der anderen Methoden. Als zuverlässige Methoden zur Ermittlung der Gärfutterqualität erwiesen sich die "L & F entzu." und die von der BA-Gumpenstein entwickelte "GC"-Methode.

## 6. Zusammenfassung

5 Methoden zur Bestimmung der Gärfutterqualität wurden an denselben Silageproben angewandt und deren Beurteilungsergebnisse auf ihre Vergleichbarkeit überprüft. Die Methoden waren die Destillationsmethode nach Lepper und Flieg mit ("L & F entzu.") und ohne entzuckertem Silageauszug ("L & F nicht entzu."), die gaschromatische Methode entwickelt in der BA-Gumpenstein ("GC"), die TM/pH-Regressionsgleichungsmethode nach Groß ("TM/pH") sowie die Titrationsmethode nach Kovatsits ("Mh").

Die absoluten Gärsäuregehalte (in %) weisen auf große Schwankungen vor allem im MS-Gehalt zwischen "GC" (1,28) und "L & F entzu." (1,44) einerseits und "L & F nicht entzu." (2,68) andererseits hin. Die ES-Gehalte lagen für die Methoden "GC", "L & F entzu." und "L & F nicht entzu." bei 0,21, 0,34 bzw. 0,33, die BS-Gehalte bei 0,18, 0,21 bzw. 0,20. Mit der "GC"-Methode konnten Spuren (< 0,05 %) von Propionsäure, Buttersäure und Valeriansäure bei einigen Silagen nachgewiesen werden.

Die Hypothesentestung erbrachte P-Werte > 0,10 nur zwischen den Methoden "GC" und "L & F entzu." (0,23) sowie zwischen "TM/pH" und "L & F nicht entzu." (0,31). Unter Berücksichtigung der ermittelten Gärsäuregehalte und der Hypothesentestung, erwies sich nur die "L & F mit entzu." sowie die "GC" Methode als geeignet, die Gärfutterqualität zu ermitteln.

## Summary

### Comparison of 5 methods for estimation silage quality

5 methods for the estimation of the silage quality were applied to the same silage material and the comparability of the findings was tested. The methods used were the distillation method of Lepper and Flieg with ("L & F entzu.") and without desugared ("L & F nicht entzu.") silage extract, the gas chromatic method developed by the BA-Gumpenstein ("GC"), the regression-equation-method of Groß ("TM/pH") as well as the titration method of Kovatsits ("Mh").

The average values of the ferment acids (in %) in different silages showed great variations, especially the percentage of lactic acid between "GC" (1.28) and "L & F entzu." (1.44) on the one hand and "L & F nicht entzu." (2.68) on the other hand. The acetic acid contents of the "GC", the "L & F entzu." and the "L & F nicht entzu." method were 0.21, 0.34, 0.33, respectively. The butyric acid 0.18, 0.21, 0.20, respectively. The testing of the hypothesis showed P-values > 0.10 between the methods "GC" and "L & F entzu." (0.23) as well as between "TM/pH" and "L & F nicht entzu." (0.31).

With regard to the content of the ferment acids, and the testing of the hypothesis, only the gas chromatic ("GC") and the distillation method with desugared silage extract ("L & F entzu."), are usefull methods for the determination of silage quality.

## Literaturverzeichnis

Bundesanstalt-Gumpenstein (unveröffentlicht): Gaschromatographisch Methode zur Gärsäurefeststellung. Bundesanstalt für alpenländische Landwirtschaft - Gumpenstein, Österreich.

DANIEL, P. (1971): Zur Methode der gaschromatographischen Bestimmung der Gärsäuren und der Vergleich mit der Destillationsmethode nach Lepper - Flieg. Wirtschaftseigenes Futter 17, 234 - 244.

ESSL, A. (1987): Statistische Methoden in der Tierproduktion. Verlagsunion Agrar, Wien.

FLIEG, O. (1938): Die Bestimmung der Milchsäure im Saftfutter mittels Chromschwefelsäure. Der Forschungsdienst, Sonderh. 7, 261 - 269, Verlag J. Neumann, Berlin.

GROSS, F. (1963): Grundlagen und Maßnahmen für die Erzeugung guten Gärfutters. Bayerisches landwirtschaftliches Jahrbuch 40, 445 - 462

HALUSCHAN, M. LEITGEB, R. und MÜLLER, H. J. (1983): Beurteilungsschema für die Qualität von Preßschnitzsilagen. Zuckerindustrie 108, 447 - 452.

KOVATSITS, N. (1982): Titrationsmethode zur Schnellbestimmung der Gärfutterqualität. Wirtschaftseigenes Futter 31, 228 - 233.

KUBADINOW, N. (1982): Zur Bestimmung organischer Säuren in Preßschnitzsilagen. Zuckerindustrie 107, 1107 - 1110.

LAUBE, W. und WEISSBACH, F. (1963): Beiträge zur Methodik der Gärfutteruntersuchung und zur Durchführung von Sillierversuchen. Landwirtschaftliches Versuchs- und Untersuchungswesen 10, 515 - 529.

LEPPER, W. (1938): Einheitlicher Apparat und einheitliche Gleichungen zur Bestimmung der Essigsäure, Buttersäure und der Milchsäure im Saftfutter. Tierernähr. und Futtermittelkde. 1, 187 - 190.

STERNKOPF, G. (1967): Untersuchungen zur Methodik der Fettsäurebestimmung in Silagen. Dt. Akad. Landwirtsch.-Wiss., Tag.-Bericht 92, 251 - 263, Berlin.

ZIMMER, E. (1966): Die Neufassung des Gärfutterschlüssels nach Flieg. Wirtschaftseigenes Futter 12, 299 - 303.

### Anschrift der Autoren:

Dipl. Ing. Andreas Steinwider und Univ. Dozent Dr. Rudolf Leitgeb  
Universität für Bodenkultur  
Institut für Nutztierwissenschaften  
Abt. Tierernährung  
Gregor Mendelstraße 33  
A-1180 Wien