

METHAANREDUCTIE MELKVEE

Een onderzoeksproject naar de inschatting van de methaanproductie vanuit de voeding en naar de reductiemogelijkheden via de voeding van melkkoeien

METHAANREDUCTIE MELKVEE

Een onderzoeksproject naar de inschatting van de methaanproductie vanuit de voeding en naar de reductiemogelijkheden via de voeding van melkkoeien

Aan dit project is in het kader van het Besluit milieusubsidies, regeling milieugerichte technologie een subsidie verleend uit het programma Reductie Overige Broeikasgassen 2001 dat gefinancierd wordt door het Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer. Novem beheert dit programma.

Projectnummer 375102/0030

Uitgevoerd door:

Feed Innovation Services (FIS) bv
www.fisbv.nl Aarle-Rixtel (tel: 0492 388855)
Ir. W. Sminck (sminck@fisbv.nl)
Dr. K.D. Bos
Ir. A.F. Fitié
Ir. L.J. van der Kolk
Ing. W.K.J. Rijnm

Gebr. Fuite bv, Genemuiden
Ir. G. Roelofs

Selko bv, Tilburg
Ir. G.A.M. van den Broek

In opdracht van:

Novem, Utrecht

Datum: december, 2003

Externe betrokkenen:

Dr. W.A.G. Veen

WUR Leerstoelgroep Diervoeding
Dr. Ir. J. Dijkstra (modellering/ advisering)
Dr. B.A. Williams (in vitro onderzoek)
Dr. Ir. H. Boer (in vitro onderzoek)

VERKORTE SAMENVATTING

De doelen van het project zijn om (1) inzicht te verschaffen in de mogelijkheid van de methaanproductie in te schatten vanuit de voeding en aan te sluiten met de voeroptimalisering in de praktijk en (2) inzicht verschaffen welke voermaatregelen een bijdrage kunnen leveren aan de reductie van de methaanvorming door melkkoeien.

Een mechanistisch rekenmodel werd ontwikkeld om de productie van methaan in de pens te berekenen vanuit de vluchtige vetzuren. Met dit model werd de methaanvorming uit individuele ruwvoerders en krachtvoergrondstoffen berekend. Voor de schatting van de methaanproductie dient een correctie gemaakt te worden voor onverzadigde vetzuren.

De berekende methaanproductie per eenheid VEM voor graskuil is ongeveer 30% hoger dan die van snijmais- of graansilage. In de praktijk is er een groot verschil in de berekende methaanproductie tussen de verschillende mengvoerdersoorten. Verschillen kunnen meer dan 25% bedragen. Formulering van rantsoenen en mengvoerders met als doel de methaanproductie te verlagen leiden tot een hogere voerprijs maar met additionele voordelen voor productie en gezondheid van melkvee.

Vetbronnen, bietenpulp, zouten van organische zuren, gisten, een fermentatiebevorderaar van silages, tannine en een kruidenextract zijn onderzocht. De gehalten aan vluchtige vetzuren en methaan werden bepaald. Diverse voeradditieven lijken bij te kunnen dragen aan de vermindering van de methaanvorming.

Voor het bereiken van een gewenste reductie van de methaanemissie via de voeding van melkkoeien is een combinatie van maatregelen essentieel. Deze maatregelen betreffen zowel het ruwvoer, het krachtvoer als ook het gebruik van (natuurlijke) additieven.

Trefwoorden:

Methaan, melkkoeien, voeding, ruwvoer, mengvoer, additieven

ABSTRACT

The project is aimed at giving insight into (1) which possibilities exist to estimate the methane production from feed and to fit in with the feed optimisation in practice and (2) which nutritional aspects may contribute to the reduction of methanogenesis by dairy cows.

A mechanistic calculation model has been developed in order to calculate the production of volatile fatty acids and methane in the rumen. With this model, the methanogenesis from individual roughages and concentrate feedstuffs was calculated. For the estimation of the methane production an adjustment needs to be made for unsaturated fat.

The estimated methane production per unit of energy for grass silage is around 30% higher than for corn or grain silage. In practice there is a big difference between the different kind of concentrates regarding the calculated methane production. Differences can amount to more than 25%. Formulation of rations and concentrates aiming at the reduction of methane result in a higher feed price but lead to additional advantages for the production and health of dairy cattle.

Unsaturated fat, beet pulp, organic acids, yeasts, fermentation stimulator of silages, tannin and herbs have been investigated in vitro. The contents of volatile fatty acids and methane were determined. Various feed additives seem to contribute to the reduction of methanogenesis.

In order to achieve the desired reduction of the methane emission through the feed of dairy cows a combination of measures is essential. These measures concern roughage and feed concentrate as well as the use of (natural) additives.

Keywords:

Methane, dairy cows, nutrition, roughage, concentrates, additives

SAMENVATTING

De doelen van het project zijn om (1) inzicht te verschaffen in de mogelijkheid van de methaanproductie in te schatten vanuit de voeding en aan te sluiten met de voeroptimalisering in de praktijk en (2) inzicht verschaffen welke voermaatregelen een bijdrage kunnen leveren aan de reductie van de methaanvorming door melkkoeien.

Belangrijke afbraakproducten in de pens zijn vluchtige vetzuren. Bij de vorming van azijnzuur en boterzuur wordt waterstof gevormd. Bij de vorming van propionzuur en valeriaanzuur wordt waterstof gebruikt. Uit het overschot aan waterstof wordt vooral methaan gevormd.

Voor de inschatting van de methaanproductie vanuit de voeding van de koe kan onderscheid gemaakt worden tussen een empirische en een mechanistische berekening. Bij de empirische berekening richt men zich op rekenkundige verbanden tussen nutriënten en de methaanproductie. Bij de mechanistische berekening wordt de methaanproductie berekend vanuit de productie van vluchtige vetzuren. Van de empirische modellen is die van Moe en Tyrrell (1979) het beste gewaardeerd om een inschatting te geven van de methaanproductie. Voor een waardering van de methaanproductie van individuele grondstoffen en het gebruik in de voeroptimalisering blijkt het empirische model van Moe en Tyrrell (1979) niet bruikbaar. Het mechanistische model van Dijkstra biedt goede mogelijkheden om de methaanproductie te voorspellen. Basiswaarden vanuit dit model worden gebruikt om de productie van methaan te berekenen van individuele ruwvoerders en krachtvoedergrondstoffen. Het is goed mogelijk gebleken om voor een groot aantal individuele ruwvoerders en krachtvoedergrondstoffen de methaanproductie te schatten vanuit de vluchtige vetzuren.

Onverzadigde vetzuren fungeren als waterstofacceptor en kunnen de methaanproductie verlagen. Voor de schatting van de methaanproductie dient een correctie gemaakt te worden voor onverzadigde vetzuren. Voor een betrouwbare waardering van de productie van methaan bij opname van individuele grondstoffen is het van belang om de mate methaanverlaging te differentiëren naar vetsoort.

De berekende methaanproductie per eenheid VEM voor graskuil is ongeveer 30% hoger dan die van snijmais- of graansilage. In de praktijk is er een groot verschil in de berekende methaanproductie tussen de verschillende mengvoedersoorten. Verschillen kunnen meer dan 25% bedragen. Gebruik van melkeiwitstimulerende voeders resulteert in meer eiwitproductie, maar ook in een verlaging van de methaanemissie door melkkoeien.

Formulering van rantsoenen en mengvoerders met als doel de methaanproductie te verlagen leiden tot een hogere voerprijs per kg, die naar verwachting gecompenseerd wordt door additionele voordelen voor productie en gezondheid van lacterend melkvee.

Uit literatuuronderzoek blijkt dat diverse (natuurlijke) additieven een mogelijk effect hebben op de azijnzuur/propionzuurverhouding en de vorming van methaan in de pens. In het in vitro systeem is onderzoek verricht naar de invloed van vetbronnen, bietenpulp, zouten van organische zuren, gisten en gistcultuur, een fermentatiebevorderaar van silages, tannine en een kruidenextract. De gehalten aan vluchtige vetzuren en aan methaan werden bepaald.

Fermentatiebevordering van silages leidt bij een verstrekking aan herkauwers tot een verlaging van de azijnzuur/propionzuurverhouding in de pens. In vitro onderzoek in dit

project bevestigde deze waarneming en toonde eveneens een significante verlaging van de berekende methaanproductie en een numerieke verlaging van het geanalyseerde gehalte aan methaan.

Fermentatie van bietenpulp in pensvloeistof geeft, zoals verwacht een hoge azijnzuurproductie. De berekende methaanproductie is als gevolg daarvan relatief hoog. In het in vitro onderzoek bleek dat de geanalyseerde productie van methaan bij bietenpulp lager was. Vooralsnog nemen wij aan dat er bij de afbraak van pectines tot azijnzuur minder waterstof gevormd zodat de methaanproductie minder is dan op grond van de productie aan vluchtige vetzuren wordt ingeschat.

Voor het bereiken van een gewenste reductie van de methaanemissie via de voeding van melkkoeien is een combinatie van maatregelen essentieel. Deze maatregelen betreffen zowel het ruwvoer, het krachtvoer als ook het gebruik van (natuurlijke) additieven.

AFKORTINGEN EN OMREKENINGSFACTOREN

Afkortingen

Hac=	azijnzuur
Hpr =	propionzuur
Hbr =	boterzuur
Hval =	valeriaanzuur
Hibr =	iso-boterzuur
Hival =	iso-valeriaanzuur
VVZ =	vluchtige vetzuren
CO ₂ =	kooldioxide
CH ₄ =	methaan
NH ₃ =	ammoniak
S (fractie) =	oplosbare (fractie)
U (fractie) =	onverteerbare (fractie)
kd =	afbraaksnelheid (in de pens)
kp =	passagesnelheid (door de pens)
Hexose =	kleinste koolhydraat eenheid (6 C-atomen) uit zetmeel of cellulose
Pentose =	kleinste koolhydraat eenheid (5 C-atomen) uit hemicellulose en andere polysacchariden
ADF =	acid detergent fibre
NDF =	neutral detergent fibre
ADL =	acid detergent lignin
HC =	hemicellulose
CE =	cellulose
RE =	ruw eiwit
RV =	ruw vet
VEM =	voedereenheid melk (energiewaarde die gebruikt wordt bij rundvee)
NGR =	non glucogenic acid ratio (Hac + Hibr + Hbr + Hival + Hval)/(Hpr + Hival + Hval)
ds =	droge stof
os =	organische stof

Omrekeningen genomen:

- 1 liter methaan = 0,716 g (Holter en Young, 1992)
- de bruto verbrandingswarmte van 1 kg methaan is 55,65 MJoule (IPCC, 1996)
- 1 mol methaan = 16 g
- Global Warming Potential (GWP) op gewichtsbasis: 1 g methaan = 21 g CO₂-equivalenten

INHOUDSOPGAVE

	VERKORTE SAMENVATTING	3
	ABSTRACT	4
	SAMENVATTING	5
	AFKORTINGEN EN OMREKENINGSFACTOREN	7
1	INLEIDING	10
2	METHAANPRODUCTIE	11
3	BEREKENING METHAANPRODUCTIE VIA DE VOEDING	13
3.1	Methaan en waterstof in modellering	13
3.2	Huidige formulering rantsoenen	15
3.3	Gebruik van regressieformules in voerformulering	16
3.4	Gebruik model inschatting vluchtige vetzuren	18
3.4.1	Mengvoergrondstoffen en natte krachtvoerders	18
3.4.2	Ruwvoerders	23
3.5	Correctie voor vet	24
3.6	Vergelijking berekening van methaaninschattingen	26
4	IN VITRO ONDERZOEK	27
4.1	Afbakening desk- en in vitro studie	27
4.2	Materialen en methoden in vitro onderzoeken	28
4.3	Algemene resultaten	30
5	RUWVOER EN MENGVOERGRONDSTOFFEN	32
5.1	Mengvoer	32
5.2	Ruwvoer en rantsoen	34
5.3	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	36
6	VET	39
6.1	Deskstudie	39
6.2	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	40
6.3	Implicaties	41
7	ZOUTEN VAN ORGANISCHE ZUREN	44
7.1	Deskstudie	44
7.2	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	46
8	VERBETERING VAN DE SILAGEFERMENTATIE	51
8.1	Deskstudie	51
8.2	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	54
8.3	Implicaties	57

9	LEVENDE GIST	58
9.1	Deskstudie	58
9.2	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	58
10	GISTCULTUUR	61
10.1	Deskstudie	61
10.2	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	62
11	TANNINEN	65
11.1	Deskstudie	65
11.2	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	66
11.3	Gevolgen voor de praktijk	67
12	KRUIDEN	68
12.1	Deskstudie	68
12.2	Resultaten en discussie in vitro onderzoek	69
13	METHAAN REDUCERENDE MOGELIJKHEDEN IN DE PRAKTIJK	71
13.1	De inschatting van de methaanproductie	71
13.2	Reductie van methaan via de voeding	73
14	CONCLUSIES	75
	LITERATUURLIJST	77
Bijlage I	OVERZICHT PRESENTATIES EN RAPPORTAGES	81

1 INLEIDING

Tijdens de klimaatconferentie in Kyoto in december 1997 is men overeengekomen de uitstoot van zes broeikasgassen te reduceren. Dit zijn CO₂, methaan, lachgas en drie fluorverbindingen. Nederland heeft zich tot doel gesteld om te komen tot een reductie met 6% over het gemiddelde per jaar in de periode van 2008 – 2012 ten opzichte van het gemiddelde van 1990 – 1995. In deze doelstelling ligt besloten dat ook een reductiebeleid zal moeten worden uitgevoerd voor de andere broeikasgassen dan CO₂ (Reductieplan “Overige Broeikasgassen”). Het broeikasgaseffect van de overige broeikasgassen wordt uitgedrukt in CO₂ equivalenten. Voor methaan is dit 21 equivalenten. De methaanproductie in Nederland wordt ingeschat op 27 Mton per jaar (voor het referentiejaar 1990). Hiervan is 10 Mton afkomstig van de landbouw en 80% van deze 10 Mton ten gevolge van pensfermentatie. De belangrijkste producenten hierin zijn koeien.

Verschillende veevoedermaatregelen kunnen invloed hebben op de productie van methaan door herkauwers. In de formulering van voeders en rantsoenen wordt momenteel geen rekening gehouden met de productie van methaan.

Doelen van het onderzoeksproject zijn:

- Inzicht verschaffen in de mogelijkheid om de methaanproductie in te schatten via de voeding van de koe en aan te sluiten bij de voeroptimalisering in de praktijk
- Inzicht verschaffen omtrent voedermaatregelen die een bijdrage kunnen leveren aan de reductie van de methaanvorming.

In hoofdstuk 2 wordt een korte beschrijving gegeven van de inschatting van de methaanproductie van koeien. In hoofdstuk 3 is ingegaan op de inschatting van de methaanproductie van een individuele grondstof uit het rantsoen van een koe. Hoofdstuk 4 is een afbakening van de in vitro studie, een beschrijving van de materialen en methoden van het in vitro onderzoek en geeft algemene resultaten van het in vitro onderzoek. In hoofdstuk 5 wordt een overzicht gegeven van de effecten van het optimaliseren van melkveerantsoenen in relatie tot de productie van methaan. Optimalisatie is uitgevoerd richting het mengvoer, het ruwvoer en het totale rantsoen. Tevens zijn de resultaten van in vitro onderzoek van twee mengvoergrondstoffen beschreven. In hoofdstuk 6 is literatuur, in vitro onderzoek en een implementatie beschreven over de rol van vet in relatie tot de methaanproductie. In hoofdstuk 7 is literatuurstudie over de rol van zouten van organische zuren beschreven. Daarnaast is in vitro onderzoek van verschillende zouten van organische zuren in verschillende concentraties weergegeven. In hoofdstuk 8 wordt een literatuuronderzoek naar de mogelijke effecten van kuilfermentatieverbeteraars in relatie tot vluchtige vetzuur- en methaanproductie in de pens beschreven. Tevens worden de resultaten van het in vitro onderzoek weergegeven. In de hoofdstukken 9-12 wordt literatuur- en in vitro onderzoek beschreven over de invloed van gisten, tanninen en kruiden op de fermentatieproducten van de pens en het effect op de methaanproductie. In hoofdstuk 13 wordt een kort overzicht gegeven van de methaanreducerende mogelijkheden in de praktijk. In hoofdstuk 14 zijn de conclusies puntsgewijs weergegeven.

In het laatste gedeelte van de projectperiode zijn er een groot aantal presentaties geweest. In veel gevallen werden deze gedaan door FIS-medewerkers voor vertegenwoordigers van grondstoffenindustrie en handel. In Bijlage I is een overzicht van presentaties en rapportages weergegeven.

2 METHAANPRODUCTIE

Er wordt vanuit gegaan dat ongeveer 80% van de methaanproductie in de Nederlandse landbouw wordt veroorzaakt door pensfermentatie bij herkauwers. De rundveestapel telt op dit moment ongeveer 4.000.000 stuks waarvan 1.500.000 melk- en kalfskoeien. Enige cijfers vanuit de CBS tabel 2002 zijn in de onderstaande tabel weergegeven.

Tabel 2.1 Samenstelling van de rundveestapel (x 1000) in Nederland in 1990-2000 (bron: CBS, 2002).

	1990	1995	2000
Jongvee < 1 jaar	806	740	600
Jongvee > 1 jaar	880	808	699
Melk- en kalfskoeien	1878	1708	1504
Stieren 1 jaar en ouder	43	42	37
Vleeskalveren	602	669	783
Ander jongvee voor de mesterij	598	541	285
Vlees-, weide- en zoogkoeien	120	146	163
Totaal	4926	4654	4070

Zowel het aantal melk- en kalfskoeien als de totale rundveestapel is afgenomen met ongeveer 20% tussen 1990 en 2000. Als gevolg van de toename van de melkproductie per koe is de melkproductie in Nederland vrijwel gelijk gebleven.

De methaanproductie per melkkoe wordt wel ingeschat rond de 100 kg per jaar (o.a. Van Amstel et al., 1993). In de referentieraming (Beker en Peek, 2002) wordt een vaste waarde voor methaanemissie per dier in de periode van 1990-2000 genomen. Vanuit een dergelijke benadering zou de methaanproductie in het afgelopen decennium afgenomen zijn met 20%.

De hoogte van de methaanproductie kan beïnvloed worden door verschillende factoren. De twee hoofdaspecten lijken:

- de voeding
- het melkproductieniveau

De voeding komt in dit rapport uitgebreid aan de orde.

In onderzoek in de VS bleek dat tussen 1960 en 1990 de melkproductie steeg van 3200 naar 7000 kg per koe per jaar. De totale methaanproductie per koe nam toe van 76 naar 114 kg per jaar (Veen, 2000). De methaanproductie per liter geproduceerde melk is met 30% afgenomen.

Howden en Reyenga (1999) publiceerden Australische gegevens. In de periode 1988-1990 was de totale methaanproductie ± 290 g /koe /dag. Dit komt neer op een methaanproductie van ± 105 kg /koe /jaar. In 1994-1996 was dit 120 kg. Per kg geproduceerde hoeveelheid melk was de methaanproductie echter afgenomen in 1996 in vergelijking tot 1988.

Veen (2000) heeft op grond van onderzoek met lacterende koeien in respiratiecellen in het verleden een formule afgeleid om de methaanproductie in te schatten vanuit de melkproductie en het gewicht van de koe. Deze formule luidt:

Methaan in g /kg melk/koe/dag =

$$51,64 - 14,65 \times \text{Ln}(\text{kg melk/dag}) + 0,014 \text{ LG} (R^2 = 0,76)$$

Waarbij Ln = natuurlijk logaritme en LG = lichaamsgewicht

Bovenstaande formule was bestemd voor de lactatieperiode. Om tot een goede schatting van de dagproductie te komen op basis van de uitkomst van de bovenstaande formule en de gemiddelde melkproductie per dag bleek nog een correctie nodig van + 50 g methaan per koe per dag. Voor de droogstand werd op grond van de droge stof opname van 11 kg per dag een methaanemissie van 260 g/dag ingeschat. De productie van methaan kan op grond van het bovenstaande op ongeveer 134 kg per koe per jaar ingeschat worden bij een gemiddelde dagproductie van 25 l melk en een lichaamsgewicht van 650 kg ($\pm 103 \text{ kg} + 0,05 \text{ kg} \times 305 \text{ dgn} + 0,26 \text{ kg} \times 61 \text{ dgn}$). De gehanteerde melkproductie ($25 \text{ kg} \times 305 \text{ dagen} = 7625 \text{ kg melk/ jaar}$) en het gehanteerde lichaamsgewicht is echter hoger dan het gemiddelde van alle melk- en kalfskoeien. De melkproductie per jaar ligt rond de 7300 kg per koe (11 miljoen ton melk / 1,5 miljoen koeien). De berekende gemiddelde methaanproductie per melkkoe wordt dan lager. Tevens zijn de hier gebruikte experimenten enkele tientallen jaren oud. Door efficiëntieverbetering zal de huidige methaanproductie vermoedelijk eveneens beduidend lager zijn.

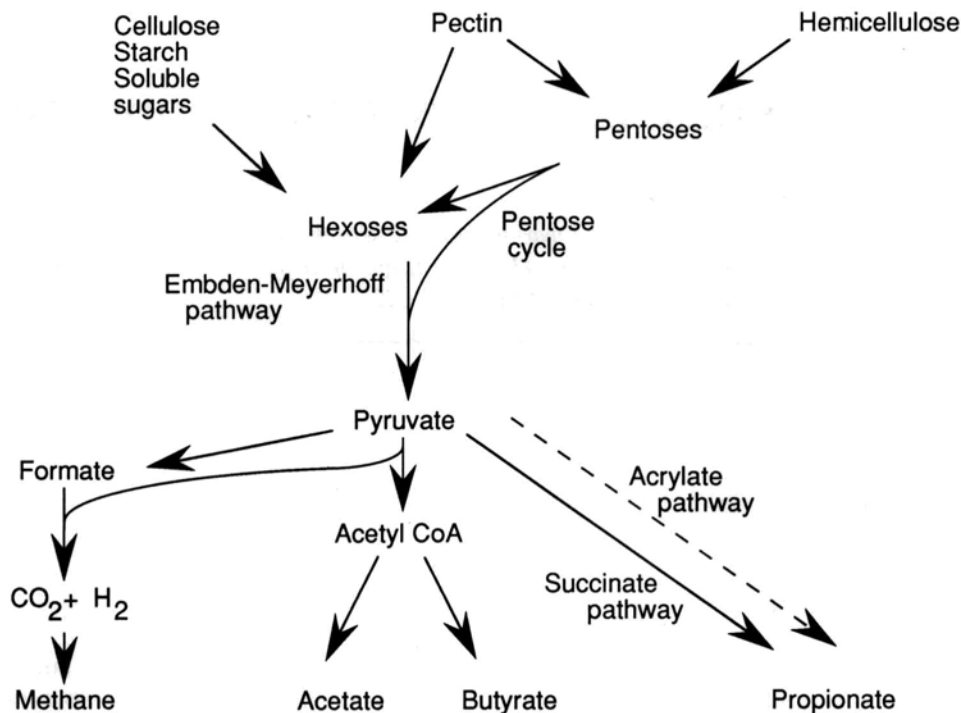
3 BEREKENING VAN DE METHAANPRODUCTIE VIA DE VOEDING

In dit hoofdstuk wordt kort aandacht besteed aan de achtergrond van de methaanproductie en uitgebreider aan mogelijkheden van de inschatting van de methaanproductie vanuit de voeding. In 3.1 wordt de methaanmodule van Mills et al. (2001) beschreven die in het computermodel van Dijkstra in 2001 is ingebouwd. In 3.2 wordt kort ingegaan op de huidige voerformulering en het ontbreken van de rol van methaanvorming daarin. In 3.3 worden berekeningen gegeven om de methaanproductie in te schatten via de voeding met empirische formules. In 3.4 wordt uitgebreid ingegaan op een mechanistische berekening van de methaanproductie. Dit is een model waarbij de methaanproductie wordt ingeschat op basis de productie van vluchtige vetzuren. Vervolgens wordt in paragraaf 3.5 het effect van hydrogenering door vetten opgenomen. Afsluitend wordt in 3.6 een evaluatie beschreven.

3.1 Methaan en waterstof in modellering

De pens van de koe is een anaëroob fermentatievat waarin een gecompliceerde populatie van bacteriën, protozoën en schimmels plantaardig materiaal omzetten tot vluchtige vetzuren en andere producten. In de onderstaande figuur is de afbraak van koolhydraten tot vluchtige vetzuren schematisch weergegeven.

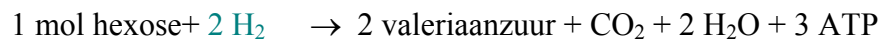
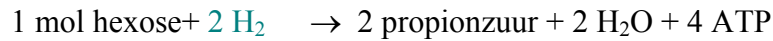
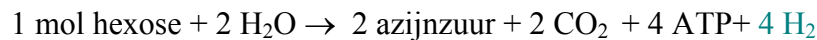
Een schema van de belangrijkste wegen van de koolhydraatstofwisseling



Figuur 3.1 Belangrijkste wegen van de koolhydraatstofwisseling in de pens (France en Siddons, 1993).

De methaanvorming is een gevolg van de noodzaak van het wegvangen van waterstof in de pens. Waterstof wordt geproduceerd tijdens de fermentatie in de pens. Bij de productie van azijnzuur en boterzuur wordt waterstof gevormd. Bij de vorming van propionzuur (en valeriaanzuur) wordt dit benut. De belangrijkste reactievergelijkingen uitgaande van de

afbraak van een hexose molecule in de pens waarbij waterstof gevormd en gebruikt wordt zijn hieronder weergegeven (Volgens Counotte, 1981).



In navolging van het pensmodel dat beschreven is door Dijkstra (1993) is recentelijk onderzoek verricht ten behoeve van een uitbreiding met een methaanmodule. De achtergronden zijn beschreven door Mills et al. (2001). Door Mills is de methaanmodule geëvalueerd met behulp van in vivo proeven met lacterende melkkoeien. In het kort komt de methaanmodule neer op de volgende punten:

Productie van waterstof.

Er zijn verschillende processen die ten grondslag liggen van de productie van waterstof. Deze zijn:

1. Fermentatie substraat tot Hac en Hbr

Tijdens de fermentatie van koolhydraten en eiwit worden vluchtige vetzuren gevormd. In formulevorm is dit:

$$\text{Hprod ferm (mol H}_2\text{/d)} = \text{Hac (mol/d)} * 2 + \text{Hbr (mol/d)} * 2$$

2. Microbiële groei

De microben gebruiken onder meer NPN (niet eiwit stikstof) voor hun eigen groei. Voor een deel wordt gebruik gemaakt van aminozuren. Bij het gebruik van aminozuren is er een netto productie van 0,58 mol waterstof per kg microben. In formulevorm:

$$\text{HprodMg (mol H}_2\text{/d)} = \text{MgAA (kg DM/d)} * 0,58$$

MgAA = microbiële groei waarbij gebruik is gemaakt van aminozuren

Benutting van waterstof

De volgende processen in de pens waarbij waterstof benut wordt zijn opgenomen in de methaanmodule van het pensmodel.

1. Fermentatie substraat tot Hpr en Hval

Tijdens de fermentatie van koolhydraten en eiwit worden vluchtige vetzuren gevormd. In formule is dit:

$$\text{Hbenut ferm (mol H}_2\text{/d)} = \text{Hpr (mol/d)} + \text{Hval (mol/d)}$$

2. Microbiële groei

De microben gebruiken onder meer NPN (niet eiwit stikstof) voor hun eigen groei. De benutting van waterstof bij de productie van microbiële massa met NPN als substraat heeft waterstof nodig. Bij het gebruik van NPN is er een netto productie van 0,41 mol waterstof per kg microben. In formulevorm:

$$H_{benutMg} \text{ (mol H}_2\text{/d)} = Mg_{NPN} \text{ (kg DM/d)} * 0,41$$

Mg_{NPN} = microbiële groei waarbij gebruik is gemaakt van NPN

3. Biohydrogenering

Tijdens de fermentatie in de pens kan hydrogenatie plaatsvinden van onverzadigde vetzuren. De formule die gehanteerd wordt in het pensmodel is de volgende:

$$H_{benutLi} \text{ (mol H}_2\text{/d)} = P_{li} \text{ (mol/d)} * L_{ferm} * 1,805 * 2,0$$

P_{li} is de opname van zuiver vet (triglyceriden/vetzuren) via de voeding. L_{ferm} is het aandeel dat afgebroken wordt tot vrije vetzuren. Doorgaans wordt een factor 0,9 aangehouden. Bij een hypothetische situatie met alleen vrije vetzuren is dit 1,0. De factor 1,805 is een inschatting van de hoeveelheid mol waterstof, omgerekend tot tweevoudig onverzadigd vetzuur per mol triglyceride. De factor 2,0 is het aantal molen waterstof dat benut wordt per mol tweevoudig onverzadigd vetzuur.

De berekening van het overschot aan waterstof en de productie van methaan is in formulevorm de volgende:

$$\begin{aligned} \text{Overschot H}_2 \text{ (mol H}_2\text{/d)} &= H_{prod\ ferm} + H_{prodMg} - H_{benut\ ferm} \\ &\quad - H_{benutMg} - H_{benutLi} \end{aligned}$$

$$\text{Methaanproductie (mol/d)} = \text{Overschot H}_2 \text{ (mol H}_2\text{/d)} / 4$$

Op grond van enkele onderzoeken berekende Mills et al. (2001) de benutting van waterstof. Zij vonden dat 78,2 % omgezet werd in methaan, 18,5% via de productie H_{pr} en H_{val} , 2,6% door hydrogenering van vet en 0,6% door de benutting bij de groei van microben.

3.2 Huidige formulering rantsoenen

Voeders en rantsoenen worden veelal berekend met behulp van computerprogramma's. De in Nederland meest toegepaste programma's zijn Micromix van Koerhuis automatisering en Bestmix van Adifo. Beide programma's passen de wiskundige methode "Lineaire Programmering" toe. In plaats van Lineaire Programmering (LP) wordt ook vaak de (verklarende) Engelse term "least costing" gebruikt.

In te geven data bij LP-programma's:

- grondstoffen
 - per grondstof de betreffende nutriënten (analyse + voederwaarde; dus bijvoorbeeld resp. ruw eiwit en darmverteerbaar eiwit en aminozuren)
 - per grondstof de prijs

- voeders
 - per voeder de toegestane grondstoffen (welke opgenomen mogen worden) met hun eventuele minimum- of maximumgrenzen
 - nutriënt eisen (minimum- en/of maximumeisen aan de analyse; per kg voeder of in geval van een rantsoen berekening de eis per koe per dag)

Door middel van Lineaire Programmering worden de (bijna ontelbare) mogelijke combinaties “geoptimaliseerd”. Het resultaat, het geoptimaliseerde voeder, is het mengsel wat aan alle gestelde eisen (grondstoffen + nutriënten) voldoet en de laagste kostprijs heeft.

3.3 Gebruik van regressieformules in de voerformulering

In het verleden zijn op grond van in vivo waarnemingen regressieformules ontwikkeld die een voorspelling van de methaanproductie bij melkkoeien geven. Door Veen (2000) zijn deze op een rij gezet. Door Veen en in diverse overzichtsartikelen wordt aangegeven dat de formule van Moe en Tyrrell (1979) de beste voorspelling geeft van de methaanproductie vanuit de voeding van de koe. De formules van Moe en Tyrrell (1979) zijn:

$$\text{Methaanproductie (g/d)} = 61,741 + 9,253 \times \text{oplosbare koolhydraten (OS-NDF-RE-RV) (kg/d)} + 31,477 \times \text{hemicellulose (kg/d)} + 48,012 \times \text{cellulose (kg/d)}$$

$$\text{Methaanproductie (g/d)} = 33,298 + 20,707 \times \text{vert. oplosb. koolhydraten} + 38,835 \times \text{vert. hemicellulose (kg/d)} + 105,658 \times \text{vert. cellulose (kg/d)}$$

Doordat de verteerbaarheid van de individuele nutriënten niet altijd bekend is, kan door ons alleen de bovenste formule gehanteerd worden. De fracties oplosbare koolhydraten, hemicellulose en cellulose zijn wel te berekenen. Hiervoor zijn de gehalten aan NDF (neutral detergent fibre), ADF (acid detergent fibre) en ADL (acid detergent lignin) nodig. Hemicellulose wordt berekend door NDF minus ADF. Cellulose wordt berekend door ADF minus ADL.

Indien ADF, NDF en ADL bekend zijn is het mogelijk om voor elke grondstof de methaanproductie te berekenen volgens de formule van Moe en Tyrrell. De gegevens van NDF, ADF en ADL zijn afkomstig van de CVB veevoedertabel 2001 voor wat betreft de mengvoedergrondstoffen en natte krachtvoerders. Enkele ontbrekende gegevens zijn ingeschat (deels VVM tabel). De analyses van ruwvoerders zijn afkomstig van BLGG (Bedrijfslaboratorium voor grond en gewasonderzoek in Oosterbeek) gegevens.

Bij de praktische voeroptimalisering worden nutriëntgehalten gehanteerd voor individuele grondstoffen. In de onderstaande tabel zijn de resultaten van de methaanproductie volgens het model Moe en Tyrrel ingeschat voor mengvoedergrondstoffen. In Tabel 3.2 zijn de resultaten van natte krachtvoerders en ruwvoerders weergegeven

Tabel 3.1. Resultaten van de methaaninschatting vanuit de mengvoergrondstoffen via de formule van Moe en Tyrrel (1979).

Grondstof	Methaan (g/kg ds)
Bietenpulp, <100 sui	23,38
Bietenpulp, 150-200 sui	22,36
Citruspulp	17,33
Erwten	14,82
Gerst	14,15
Grondnotenschilfers, ontdopt	9,82
Haver	17,32
Katoenzaadschroot, ontdopt	15,16
Kokosschilfers	22,23
Lijnzaadschilfers	13,75
Lupinen	17,99
Mais	13,86
Maisglutenvoer	17,81
Melasse, biet	9,95
Melasse, riet	10,07
Vinasse	6,62
Millet (gierst)	14,91
Paardebonen	14,17
Palmpitschilfers, RC>200	25,70
Raapzaadschroot	14,33
Rijstevoermeel, ras<90	13,65
Sojabonen, verhit	10,64
Sojaschillen, rc320-360	31,22
Sojaschroot, rc50-70	10,71
Sojabestendig, Mervo	10,20
Sojabestendig Rumi	9,20
Sojabestendig Soypass	9,36
Tapioca	13,57
Tarwe	13,30
Tarwegries	19,67
Tarwezemelgrint	21,33
Zonneblzschroot, ged ontdopt	18,02

Tabel 3.2. Resultaten van de methaaninschatting vanuit enkele kracht- en ruwvoerders via de formule van Moe en Tyrrel (1979).

Grondstof	Methaan (g/kg ds)
Bierbostel	20,21
Bietenperspulp	24,01
Maisglutenvoer	19,31
Graskuil (97-02)	23,24
Graskuil, voorjaar (97-02)	23,25
Graskuil, zomer (97-02)	23,36
Graskuil, najaar (97-02)	22,90
Snijmaiskuil (97-02)	22,27
Graansilage (2002)	22,80

3.4 Gebruik modelinschatting vluchtige vetzuren

In 3.3 is een beschrijving gegeven van empirische voorspellingen van de methaanproductie. Een dergelijke voorspelling geeft geen direct oorzakelijk verband tussen de voeding, de productie van vluchtige vetzuren en de methaanproductie in de pens van de koe.

In 3.1 zijn de processen van de methaanproductie in de pens beschreven die opgenomen zijn in het model van Dijkstra. In deze paragraaf wordt de methaanproductie per grondstof via een productie aan vluchtige vetzuren uitgelegd en zijn de resultaten van de potentiële methaanproductie beschreven. Doordat de methaanproductie berekend wordt vanuit de fermentatieproducten die ontstaan in de pens, wordt in feite de methaanproductie vanuit de pens ingeschat. In het vervolg wordt gesproken over methaanproductie van een koe zonder de specificatie dat de inschatting vanuit de pens is.

3.4.1 Mengvoergrondstoffen en natte krachtvoerders

In deze paragraaf zal een beschrijving worden gegeven van de methode van de berekening van vluchtige vetzuren productie in de pens. Het vormt een basis voor de berekening die in dit project wordt gehanteerd. Voor een voorspelling van de vluchtige vetzurenproductie vanuit grondstoffen zijn de volgende gegevensgroepen nodig.

1. Chemische analyses inclusief NDF, ADF en ADL

De gegevens van het Centraal Veevoederbureau (CVB tabel 2001) zijn als uitgangspunt genomen voor de mengvoedergrondstoffen en enkele natte krachtvoedergrondstoffen. Bij het ontbreken van de NDF, ADF en/ of ADL zijn deze gegevens ingeschat aan de hand van andere tabellen.

2. Afbraakarakteristieken van nutriënten in grondstoffen

De voorspelling van de nutriëntenafbraak in de pens is een essentieel onderdeel in de berekening van de VVZ-productie in de pens. Voor iedere fermenteerbare substantie zijn de volgende gegevens nodig:

- oplosbaarheid (fractie S)
- onverteerbare fractie (U)
- de afbraaksnelheid in percentage per uur (kd).

Het gehalte aan fermenteerbaar substraat wordt berekend met behulp van de volgende formule

$$\text{Fermenteerbaar substraat} = \left(\frac{kd}{kd+kp} \right) * ((100-U-S) * 0,01 * \text{gehalte substraat}) + S \text{ (g/kg ds)}$$

De kd en kp zijn respectievelijk de afbraaksnelheid en de passagesnelheid (uitgedrukt in % per uur). De U fractie is weergegeven als percentage. De S fractie als %, tenzij anders vermeld.

De drie hoofdgroepen aan fermenteerbare substraten cq nutriënten zijn:

- zetmeel + suiker
- ruw eiwit (RE)
- NDF (neutral detergent fibre)

De afbraakarakteristieken van deze nutriënten in de mengvoergrondstoffen zijn gebaseerd op in vivo onderzoek en gepubliceerd door Tamminga et al. (1990).

3. Vluchtige vetzurencoëfficiënten

Vanuit te fermenteren nutriënten worden VVZ (vluchtige vetzuren) geproduceerd. De productie aan de individuele VVZ is afhankelijk van het substraat in de pens. Een aanbod van celluloserijk materiaal geeft bijvoorbeeld een hogere azijnzuurproductie in vergelijking met zetmeel of eiwit. Zetmeel als substraat geeft een relatief hoge productie aan propionzuur. Bannink et al. (2000) hebben op grond van een groot aantal onderzoeken die gedaan zijn met melkgevend rundvee, de coëfficiënten bepaald die de voorspelling geven van de productie aan individuele VVZ in de pens bij de verschillende fermenteerbare substraten. Voor de bepaling van de VVZ waarden is de dataset beperkt tot met name melkkoeien in het eerste deel van de lactatie. In het onderhavige onderzoek is ook de nadruk gelegd op de melkgevende koe. De coëfficiënten zijn weergegeven in Tabel 3.3.

Tabel 3.3. Voorspelde VVZ productie (in mol/ mol gefermenteerd substraat) in de pens bij de vijf verschillende nutriënten uit krachtvoer (Bannink et al., 2000).

Substraat	Hac	Hpr	Hbr	Hva
Oplosbare suikers	1,06	0,31	0,26	0,06
Zetmeel	0,97	0,62	0,15	0,05
Hemicellulose	1,02	0,24	0,32	0,32
Cellulose	1,37	0,23	0,20	0,00
Eiwit	0,49	0,20	0,19	0,23

Voorbeeldberekening van VVZ en methaan bij de aanbod van mais in het mengvoer

1. Gehalte in g per kg ds mais

RE	98
NDF	128
ADF (acid detergent fibre)	33
ADL (acid detergent lignin)	3
Cellulose (CE)	30 (ADF-ADL)
Hemicellulose (HC)	95 (NDF-ADF)
Zetmeel (ewers)	719
Suiker	15

2. Berekening gefermenteerd substraat

$$\text{Fermenteerbaar substraat} = (\text{kd}/(\text{kd}+\text{kp})) * ((100-\text{U}-\text{S}) * 0,01 * \text{gehalte substraat}) + \text{S}$$

Zetmeel + suikers in mais

$$\text{U}=0, \text{S}=27,6\%, \text{kd} = 4 \text{ en } \text{kp} = 6$$

$$\text{Fermenteerbare zetmeel + suikers (g/ kg ds)} = (4/(4+6)) * ((100-0-27,6) * 0,01 * (719 +15) + (0,276 * 734))$$

$$=415 \text{ g/ kg ds}$$

$$=15 \text{ g suiker (0,093 mol/ kg ds) en } 400 \text{ g zetmeel (2,47 mol/ kg ds)}$$

Ruw eiwit:

$$\text{U}=5\%, \text{S}= 15\%, \text{kd}=3,5 \text{ en } \text{kp}=6$$

$$\text{Fermenteerbaar RE (g/ kg ds)} = (3,5/(3,5+6)) * ((100-5-15) * 0,01 * 98 + (0,15 * 98))$$

$$=43,8 \text{ g/ kg ds (0,398 mol/ kg ds)}$$

NDF (en HC en CE)

$$\text{U}=10\%, \text{S}=0, \text{kd} = 5,1 \text{ en } \text{kp}=6$$

$$\text{Fermenteerbaar NDF (g/ kg ds)} = (5,1/(5,1+6)) * ((100-0-10) * 0,01 * 128 + (0 * 128))$$

$$=53,1 \text{ g/ kg ds (0,398 mol/ kg ds)}$$

$$=40,3 \text{ g/ kg ds voor HC en } 12,8 \text{ g/kg ds voor CE}$$

$$=0,249 \text{ en } 0,079 \text{ mol / kg ds.}$$

3. Productie VVZ en methaan van fermenteerbaar substraat

Een vermenigvuldiging van de VVZ coëfficiënten uit Tabel 3.3 met de gehalten aan fermenteerbaar substraat levert de onderstaande waarden voor mais. De productie van Hac vanuit bijvoorbeeld oplosbare suikers is te berekenen door 0,093 mol suikers/ kg ds * 1,06 Hac/mol gefermenteerd substraat.

Tabel 3.4 VVZ productie (in mol/ kg ds) bij de vijf verschillende substraten in mais.

Substraat	Hac	Hpr	Hbr	Hva
Oplosbare suikers	0,098	0,029	0,024	0,006
Zetmeel	2,395	1,531	0,370	0,123
Hemicellulose	0,254	0,060	0,080	0,012
Cellulose	0,108	0,018	0,016	0,000
Eiwit	0,195	0,080	0,076	0,091
Totaal	3,050	1,717	0,566	0,233

Een deel van deze potentieel te produceren VVZ wordt gebruikt voor microbiële eiwitgroei. De mate waarin gebruik gemaakt wordt van VVZ hangt af van de efficiëntie. In het algemeen wordt uitgegaan dat 20% gebruikt wordt voor de microbiële eiwitsynthese.

Methaanberekening is als volgt:

$$=((3,050+ 0,566) * 0,5 - (1,717+0,233) * 0,25) * 80\%$$

$$=1,056 \text{ mol methaan/ kg ds mais}$$

$$=16,90 \text{ g/ kg ds}$$

$$=23,61 \text{ l methaan/ kg ds}$$

In het bovenstaande is gerekend met de zetmeel, suiker, RE en NDF. Naast deze vier nutriënten bevatten een aantal mengvoedergrondstoffen nog andere grote hoeveelheden fermenteerbaar materiaal, zoals pectines, fermenteerbare suikers en glucanen. Voor deze zogenaamde restfractie is een inschatting gemaakt op de volgende manieren:

- a. Bietenpulp en citruspulp; er is een restfractie (met name pectines) van ongeveer 300 g/kg.
De inschatting is als volgt:
 - 50% als suiker
 - 50% als NDF (waarvan de helft hemicellulose en de helft cellulose)
- b. Melasses/vinasse
 - als suiker
- c. Overige grondstoffen
 - als NDF (waarvan de helft hemicellulose en de helft cellulose)

De resultaten van de methaanproductie per grondstof vanuit deze benadering is weergegeven in Tabel 3.5

Tabel 3.5. Resultaten van de methaaninschatting vanuit de krachtvoergrondstoffen.

Mengvoedergrondstof / natte krachvoerders	Methaan (mol/kg ds)	Methaan (l/kg ds)	Methaan (g/kg ds)	Methaan (g/kg)
Bierbostel (nat)	0,932	20,83	14,92	3,28
Bietenperspulp (nat)	1,724	38,54	27,59	6,02
Maisglutenvoer (nat)	1,309	29,24	20,94	9,19
Bietenpulp, <100 sui	1,741	38,92	27,86	25,08
Bietenpulp, 150-200 sui	1,764	39,43	28,23	25,52
Citruspulp	2,072	46,31	33,15	30,17
Erwten	1,569	35,07	25,11	21,77
Gerst	1,671	37,33	26,73	23,25
Grondnotenschilfers, ontdopt	1,268	28,33	20,28	18,84
Haver	1,345	30,06	21,52	19,05
Katoenzaadschroot, ontdopt	1,029	22,99	16,46	14,87
Kokosschilfers	1,268	28,34	20,29	18,47
Lijnzaadschilfers	1,126	25,17	18,02	16,22
Lupinen	1,556	34,77	24,89	22,73
Mais	1,056	23,61	16,90	14,60
Maisglutenvoer	1,279	28,59	20,47	18,24
Melasse, biet	2,429	54,28	38,87	28,10
Melasse, riet	2,392	53,44	38,26	28,32
Vinasse	1,877	41,95	30,03	19,91
Millet (gierst)	1,190	26,59	19,04	16,87
Paardebonen	1,526	34,09	24,41	21,09
Palmpitschilfers, RC>200	0,934	20,88	14,95	13,57
Raapzaadschroot	1,458	32,57	23,32	20,36
Rijstevoermeel, ras<90	0,884	19,76	14,15	12,68
Sojabonen, verhit	0,869	19,42	13,90	12,26
Sojaschillen, rc320-360	1,318	29,45	21,08	18,62
Sojaschroot, rc50-70	1,087	24,30	17,40	15,24
Sojabestendig, Mervo	0,798	17,82	12,76	11,08
Sojabestendig Rumi	0,763	17,05	12,21	10,55
Sojabestendig Soypass	0,783	17,50	12,53	10,98
Tapioca	1,570	35,08	25,12	21,95
Tarwe	1,642	36,69	26,27	22,67
Tarwegries	1,349	30,15	21,59	18,68
Tarwezemelgrint	1,385	30,94	22,15	19,25
Zonneblzschroot, ged ontdopt	1,076	24,04	17,22	15,37

3.4.2 Ruwvoer

De berekening van de vluchtige vetzuren en de methaanproductie voor ruwvoeder is via hetzelfde principe als beschreven in paragraaf 3.4.1. De uitgangspunten zijn:

1. Chemische analyse

Uitgangspunt zijn de gegevens over graskuil, maiskuil en graansilages zoals die weergegeven zijn door BLGG in Oosterbeek. Voor graskuil en maiskuil zijn de gemiddelden over de periode 1997-2002 genomen. Voor graansilages zijn de waarden van 2002 genomen.

2. Afbraakarakteristieken

Voor de berekening van fermentatief substraat zijn onder meer de U, S en kd waarden nodig van RE, Zetmeel + suiker en NDF. Deze waarden zijn afgeleid van proeven en berekeningen van Tamminga et al. (1991), Valk (1996) en Van Vuuren (1993); uit Reijs (2000).

Voor de kp waarde van ruwvoerders wordt 4,5 %/uur genomen (Bannink et al., 2000).

3. Vluchtige vetzuren coëfficiënten

Voor de fermenteerbare nutriënten zijn door Bannink et al. (2000) coëfficiënten bepaald die dienen voor de berekening van de vluchtige vetzuren voor ruwvoerders.

Op een vergelijkbare manier als bij het voorbeeld van mais zijn de berekeningen gemaakt voor ruwvoerders. De resultaten van de berekende methaanproductie zijn vermeld in Tabel 3.6.

Tabel 3.6 Berekende methaanproductie van een aantal ruwvoerders.

Grondstof	Methaan mol/kg ds	Methaan l/ kg ds	Methaan g/kg ds	Methaan g/ kg	VEM per kg ds	Methaan g /1000 VEM
Graskuil Jaar 1997-2002	1,237	27,64	19,79	9,16	873	22,7
Graskuil; voorjaar 97-02	1,286	28,74	20,58	9,20	884	23,3
Graskuil; zomer 97-02	1,234	27,57	19,74	9,58	857	23,0
Graskuil; najaar 97-02	1,212	27,08	19,39	9,83	852	22,8
Snijmaiskuil gem 97-02	1,024	22,89	16,39	5,44	953	17,2
Graanplantsilage 2002	0,893	19,95	14,28	5,33	819	17,4

Uit de tabel blijkt dat snijmaiskuil en graanplantsilage een lage methaanproductie per eenheid energie (VEM) geeft.

Het verschil in samenstelling van de graskuilen in de periode 1997-2002 was beperkt. Het is te verwachten dat veranderingen van de samenstelling van ruwvoer invloed heeft op de methaanproductie. Een verlaging van het eiwitgehalte door een lagere N-bemesting geeft een lagere afbraaksnelheid van het eiwit. Het aandeel eiwit dat in de pens wordt gefermenteerd bij dezelfde passagesnelheid wordt dan lager en resulteert in een lagere methaanvorming vanuit de eiwitfractie. Een hoger aandeel NDF kan enerzijds leiden tot een hogere methaanproductie. Anderzijds leidt bijvoorbeeld een hoger aandeel lignine (ADL) tot een slechtere verteerbaarheid en daarmee tot een lagere methaanproductie per kg ruwvoer. Vers gras is een

zeer variabel product en zal daardoor ook een sterk variabele methaanproductie veroorzaken. Binnen dit project vindt geen uitdieping plaats van de kwaliteit van ruwvoer en de opname van gras.

3.5 Correctie voor vet

In 3.1 is een beschrijving gegeven van de productie en consumptie van waterstof in de pens. Vet als waterstofacceptor is tevens daarin opgenomen. Voor vet in het rantsoen wordt een gemiddelde genomen van het aantal H-atomen dat wordt benut per mol vet. De factor 1,805 is de inschatting van de hoeveelheid mol tweevoudig onverzadigd vetzuur per mol triglyceride. In paragraaf 3.4 is een inschatting gemaakt van de methaanproductie per grondstof. In principe zou van elke grondstof de formule uit paragraaf 3.1 met de factor 1,805 verrekend moeten worden. Echter een gelijke factor per grondstof impliceert dezelfde mate van hydrogenering van het aanwezige vet. Het aanwezige vet in de grondstoffen varieert van weinig onverzadigde bindingen, waardoor nauwelijks effect op de methaanproductie zal worden verkregen (bijvoorbeeld vet uit kokos- of palmpitschilfers) tot grondstoffen met veel onverzadigde verbindingen (bijvoorbeeld vet uit lijnzaadschilfers). Op grond van de deskstudie en het onderzoek in dit project dat is beschreven in hoofdstuk 6, is gekozen voor een differentiatie van de factor 1,805. De waarde varieert van 0,5 tot 2,5. In Tabel 3.7 zijn van de mengvoedergrondstoffen en enkele vetten de voorgestelde correcties aangegeven. Voor ruwvoerders kan de factor 1,805 gehanteerd worden. In principe heeft vet in zowel gras-, graan- als maissilage veel onverzadigde verbindingen.

De mogelijkheden om de methaanproductie te reduceren via meng/krachtvoergrondstoffen en het gehele rantsoen alsmede de effecten op de kostprijs zijn weergegeven in hoofdstuk 5.1 en 5.2. De gegevens van de methaanproductie van mengvoedergrondstoffen die vermeld zijn in Tabel 3.7 vormen de basis.

Tabel 3.7 Het verlagend effect van vet op de methaanproductie via de functie van waterstofacceptor (hydrogenering) per krachtvoergrondstof en de uiteindelijke methaanproductie-inschatting per grondstof na correctie voor het aanwezige vet .

	Vet mol/ kg ds	Trigly- ceride %/100	Factor Hydro- genering	Methaan mol/kg ds	Methaan g/ kg ds	Methaan g/kg	Effect hydro- genering %
Natte krachtvoergrondstoffen							
Bierbostel	0,10	0,70	1,80	0,88	14,02	3,08	6,0
Bietenperspulp	0,01	0,70	1,80	1,72	27,52	6,00	0,3
Maisglutenvoer	0,02	0,70	1,80	1,30	20,75	9,11	0,9
Droge mengvoedergrondstoffen							
Bietenpulp, <100 sui	0,01	0,70	1,80	1,74	27,76	24,99	0,4
Bietenp, 150-200 sui	0,01	0,70	1,80	1,76	28,13	25,43	0,4
Citruspulp	0,03	0,60	1,80	2,06	32,96	29,99	0,6
Erwten	0,01	0,80	1,80	1,56	24,98	21,66	0,5
Gerst	0,02	0,75	1,80	1,66	26,52	23,07	0,8
Grondnotenschilfers, ontd	0,10	0,80	1,80	1,20	19,28	17,91	5,0
Haver	0,06	0,95	1,80	1,30	20,77	18,38	3,5
Katoenzaadschroot, ontd.	0,04	0,80	1,80	1,00	16,07	14,51	2,4
Kokosschilfers	0,10	0,80	0,50	1,25	20,00	18,20	1,4
Lijnzaadschilfers	0,10	0,80	2,50	1,04	16,56	14,91	8,1
Lupinen	0,06	0,90	1,80	1,51	24,16	22,05	3,0
Mais	0,05	0,95	1,80	1,02	16,30	14,08	3,6
Maisglutenvoer	0,05	0,85	1,80	1,25	19,96	17,78	2,5
Melasse, biet	0,00	0,70	1,80	2,43	38,84	28,08	0,1
Melasse, riet	0,00	0,70	1,80	2,39	38,25	28,31	0,0
Vinasse	0,00	0,70	1,80	1,88	30,03	19,91	0,0
Millet (gierst)	0,05	0,70	1,80	1,16	18,58	16,47	2,4
Paardebonen	0,02	0,80	1,80	1,51	24,20	20,90	0,9
Palmpitschilfers, RC>200	0,10	0,80	0,50	0,92	14,67	13,32	1,9
Raapzaadschroot	0,03	0,70	1,80	1,44	23,05	20,12	1,2
Rijstevoermeel, ras<90	0,17	0,70	1,80	0,79	12,57	11,27	11,1
Sojabonen, verhit	0,24	0,85	1,80	0,70	11,28	9,95	18,9
Sojaschillen, rc320-360	0,02	1,00	1,80	1,25	20,07	17,72	1,5
Sojaschroot, rc50-70	0,02	0,80	1,80	1,07	17,16	15,03	1,4
Sojabestendig, Mervo	0,02	0,80	1,80	0,78	12,52	10,87	1,9
Sojabestendig Rumi	0,02	0,80	1,80	0,75	12,01	10,37	1,6
Sojabestendig Soypass	0,02	0,80	1,80	0,77	12,37	10,84	1,3
Tapioca	0,01	0,75	1,80	1,57	25,07	21,91	0,2
Tarwe	0,02	0,75	1,80	1,63	26,09	22,52	0,7
Tarwegries	0,04	0,75	1,80	1,32	21,17	18,31	2,0
Tarwezemelgrint	0,04	0,75	1,80	1,36	21,72	18,87	2,0
Zonneblzshr., ged ontd.	0,02	0,80	1,80	1,06	16,97	15,16	1,4
Sojaolie	1,11	1,00	1,80	-0,90	-14,40	-14,40	
Lijnolie	1,11	1,00	2,50	-1,25	-20,00	-20,00	
Palmpitolie	1,11	1,00	0,50	-0,25	-4,00	-4,00	
Visolie	1,11	1,00	3,00	-1,50	-24,00	-24,00	

3.6 Vergelijking berekening van methaaninschattingen

De uiteindelijke gegevens waarmee gerekend zal worden in dit rapport zijn de waarden die in Tabel 3.7 weergegeven zijn. Er is een voorkeur voor de berekening van methaan via de productie van vluchtige vetzuren, aangevuld met een correctie voor waterstof.

Volgens onderzoekers is de inschatting van de methaanproductie van Moe en Tyrrel (1979) de beste empirische formule. In paragraaf 3.3 is een toepassing van de formule op individuele grondstoffen gehanteerd. Een waarde voor de individuele grondstoffen is nodig voor de praktische voeroptimalisering. Vanuit die gegevens blijken er veel onwaarschijnlijke uitkomsten. De nadelen van de inschatting via de formule van Moe & Tyrrell (1979) zijn in vergelijking met het gekozen mechanistisch model:

- Geen directe oorzakelijke relatie (empirisch model)
- Er wordt geen onderscheid gemaakt met betrekking tot de plaats waar nutriënten vrijkomen (pens of darm). Zetmeel die vrijkomt in de pens heeft invloed op de methaanproductie. Bestendig zetmeel niet. De methaanproductie van bijvoorbeeld tarwe met veel onbestendig zetmeel wordt volgens de formule van Moe en Tyrrell op vrijwel dezelfde methaanproductie ingeschat als die van mais met veel bestendig zetmeel. Mais levert in werkelijkheid minder methaan dan tarwe.
- Er wordt geen onderscheid gemaakt in de mate van fermenteerbaarheid van de celwandfractie.
- Er wordt geen onderscheid gemaakt in pensbestendigheid van het eiwit
- Suikers, zetmeel, maar ook pectines en β -glucanen worden op dezelfde wijze beoordeeld.

De gekozen variant van de mechanistische benadering van Dijkstra heeft als voordeel dat wel rekening wordt gehouden met bovenstaande factoren. De pensbestendigheid en de mate van fermentatie van nutriënten in individuele grondstoffen zijn ingeschat middels pensfistelkoeien. Door de berekening van de individuele vluchtige vetzuren productie uit nutriënten is indirect rekening gehouden met de pH in de pens. Het onderscheid tussen het directe effect van de pH en het substraat is heel moeilijk te maken. Een lagere pH zorgt voor minder activiteit van azijnzuurvormende bacteriën en voor meer activiteit van propionzuur- en boterzuurvormende bacteriën. Anderzijds heeft het aanwezige substraat een invloed op de pH.

4 IN VITRO ONDERZOEK

4.1 Afbakening desk- en in vitro studie

In de eerste plaats is de deskstudie van Veen (2000) als uitgangspunt genomen. In deze deskstudie zijn onder andere de volgende punten aan de orde gekomen:

- het voerniveau
- de verteerbaarheid van celwanden en ruwvoerders
- het type en de kwaliteit van ruwvoer
- verhouding ruw- en krachtvoer
- vetten
- eiwitgehalte en -waardering

Daarnaast is door Veen ingegaan op enkele additieven zoals ionofore antibiotica en biotechnologische ingrepen.

In ons literatuuronderzoek wordt aandacht besteed aan voerfactoren die met name:

1. Niet behandeld of alleen kort genoemd zijn in de studie van Veen (2000). Ten dele is dit een gevolg van het beschikbaar komen van informatie in de periode 2000-2002.
2. Niet vanuit de berekening van het mechanistisch model Dijkstra ter voorspelling van de methaanproductie opgenomen is of opgenomen kan worden
3. Vanuit een ander gezichtspunt dan methaanreductie interessant kunnen zijn en daardoor ook voor een deel al worden ingezet in de praktijk.

In de literatuurstudie zijn diverse voerfactoren beschreven. Deze hebben betrekking op de samenstelling van mengvoer (o.a. lipiden), toevoeging van zouten van organische zuren, gisten, fermentatiebeïnvloeding kuilen, tanninen en kruiden. Van een aantal mogelijkheden binnen deze voedingsmaatregelen is een in vitro studie verricht naar het effect op de vluchtige vetzuren productie, de berekende en geanalyseerde methaanproductie. De voedingsmaatregelen inclusief de resultaten van het in vitro onderzoek zijn de volgende:

- a. Ruwvoer en mengvoergrondstoffen (hoofdstuk 5)
- b. Lipiden (hoofdstuk 6)
- c. Zouten van organische zuren (hoofdstuk 7)
- d. Fermentatieverbetering kuil (hoofdstuk 8)
- e. Levende gist (hoofdstuk 9)
- f. Gistcultuur (hoofdstuk 10)
- g. Tanninen (hoofdstuk 11)
- h. Kruiden (hoofdstuk 12)

4.2 Materialen en methoden in vitro onderzoeken

Het basisrantsoen

De helft van het gebruikte basisrantsoen in de experimenten bestond uit een mengsel van graskuil en snijmaiskuil in een verhouding van 3:1. De andere helft was mengvoer. Het mengvoer bestond uit met name maisglutenvoermeel (33%), palmpitschilfers (25%), citruspulp (18%) en soja bestendig (7%). Bij het testen van de invloed van mengvoergrondstoffen, vetten of additieven is gekozen om een deel van het mengvoer te vervangen door de grondstof of het additief. De chemische analyse van het controlemengvoer en het mengsel van graskuil en snijmaiskuil is weergegeven in Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Chemische analyse (g/ kg ds) van het basisrantsoen bestaande uit een mengsel van graskuil/maiskuil en het controlemengvoer.

Component	Graskuil: snijmaiskuil (3:1)	Controle mengvoer
Droge stof (g/kg)*	904,4	939,7
As	80,1	89,1
Ruw vet	29,3	36,5
N	19,9	29,1
NDF	410,4	269,3
Zetmeel	102,2	65,4

* Gevriesdroogde en bewerkte monsters.

Vorbereiding monsters

De monsters van de graskuil, de snijmaiskuil, het mengvoer en de individuele mengvoedergrondstoffen zijn gevriesdroogd en vervolgens gemalen op 1mm. De testvetten en -oliën zijn grondig gemengd met het mengvoer. De menging werd verricht in een vloeibare vorm. De verzadigde vetten zijn, evenals het mengvoer verwarmd tot 50°C zodat een vloeibare menging mogelijk was. De additieven (kruiden, zouten van organische zuren, gisten) zijn gemengd met het mengvoer. Vanuit een hoge dosering werden verdunningen gemaakt. Tanninen als additief werden vermengd met de sojaschroot en water. Vervolgens zijn de behandelde sojaschroten gevriesdroogd.

Het medium

In het onderzoek is het zogenaamde medium B gebruikt. Dit is een medium dat in principe de micro-organismen in de pens voorziet in de behoefte, met uitzondering van energie (Williams, 2000). De energie is verstrekt via het geïncubeerde substraat. Medium B is bedoeld voor strikt anaërobe bacteriën.

De serumflesjes van 100 ml waarin reeds 0,5 g ±0,0001 g substraat is ingewogen, zijn gevuld onder CO₂ met 82 ml medium B. De 82 ml medium B bestaat uit:

- 76 ml basale oplossing
- 1 ml vitamine/fosfaat oplossing
- 1 ml reduceervloeistof (verwijdering van eventuele aanwezige zuurstof). Indien na koeling geen kleuromslag werd gevonden is nogmaals reduceervloeistof toegediend.
- 4 ml bicarbonaat buffer

Het inoculum

Pensvloeistof is verzameld van drie droogstaande pensfistelkoeien. De koeien werden ad lib gevoerd met hooi en één kg krachtvoer per dag. De pensvloeistof is vervoerd in thermosflessen en gevuld met CO₂ om anaërobe condities te verkrijgen. De pensvloeistof is gefilterd door kaasdoek in een groot bekerglas en is gehouden onder anaërobe condities. De serumflesjes zijn gevuld met 5 ml pensvloeistof.

Metingen en meetpunten

Voor de analyse van vluchtige vetzuren en ammoniak zijn de serumflesjes op verschillende tijdstippen geautoclaveerd. Tijdens de proefserie A was dit op zeven tijdstippen. Tijdens de proefserie B was dit op vier tijdstippen. In de Tabellen 4.2 en 4.3 zijn schema's met de meetpunten van de metingen in respectievelijk proefserie A en B aangegeven

Tabel 4.2 Meetpunten op de verschillende tijdstippen na incubatie in proefserie A.

Tijd (uur)	0	2	4	6	9	12	15	18	21	24	28	32	36	42	48	54	60	66	72
VVZ/NH ₃ analyse	√			√		√		√		√			√		√				√
Gas-samenstelling	√			√		√		√		√			√		√				√
Druk en volume meting	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√

Tabel 4.3 Meetpunten op de verschillende tijdstippen na incubatie in proefserie B.

Tijd (uur)	0	2	4	6	9	12	15	18	21	24	28	32	36	42	48	54	60	66	72
VVZ/NH ₃ analyse	√			√		√				√									√
Gas-samenstelling	√			√		√				√									√
Druk en volume meting	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√

In proefserie A zijn de metingen voor de vluchtige vetzuren en ammoniak in duplo bepaald. De gassamenstelling is in viervoud geanalyseerd. In proefserie B is de keuze gemaakt om de controlemonsters in vijfvoud en alle andere metingen in drievoud te onderzoeken.

De gasproductie en vluchtige vetzuren analyse is uitgevoerd bij de leerstoelgroep Diervoeding en de methaananalyse bij de leerstoelgroep Microbiologie van het WUR. De vluchtige vetzuren zijn geanalyseerd met gaschromatografie. Het gas voor de analyse van methaan is opgevangen met een gekalibreerde 2 ml spuit en vervolgens gespoten in een 5 ml vacutainer (367614 met HeerGard® safety closure). De analyses zijn verkregen in µl/ 2 ml gasvolume. Nadien zijn de getallen omgerekend naar g os.

Statistische analyse

De gegevens zijn geanalyseerd met het statistisch pakket SAS. De verschillen zijn getoetst met behulp van de Tukey-Kramer procedure. Verschillen met een $p < 0,05$ worden in het algemeen als significant beschouwd. Het gekozen model was het volgende:

$$Y_{ijk} = a_i + b_j + w_{ij} + e_{ijk}$$

a_i , effect van substraat $i = (1, \dots, n)$

b_j , effect van tijd $j = (1, \dots, n)$

w_{ij} , interactie tussen beide factoren

e_{ijk} , rest term

De afhankelijke variabelen (Y_{ijk}) zijn:

-Hac, Hpr, Hbr, Hibr, Hval, Hival per g organische stof

-Molaire percentages van Hac, Hpr en Hbr

-NGR Ratio: $(Hac + Hibr + Hbr + Hival + Hval)/(Hpr + Hival + Hval)$

-De azijnzuur/propionzuur ratio

-Berekende methaanproductie per g organische stof

$$CH_4 = 0,5 Hac - 0,25 Hpr + 0,5 (Hbr + Hibr) - 0,25 (Hval + Hival)$$

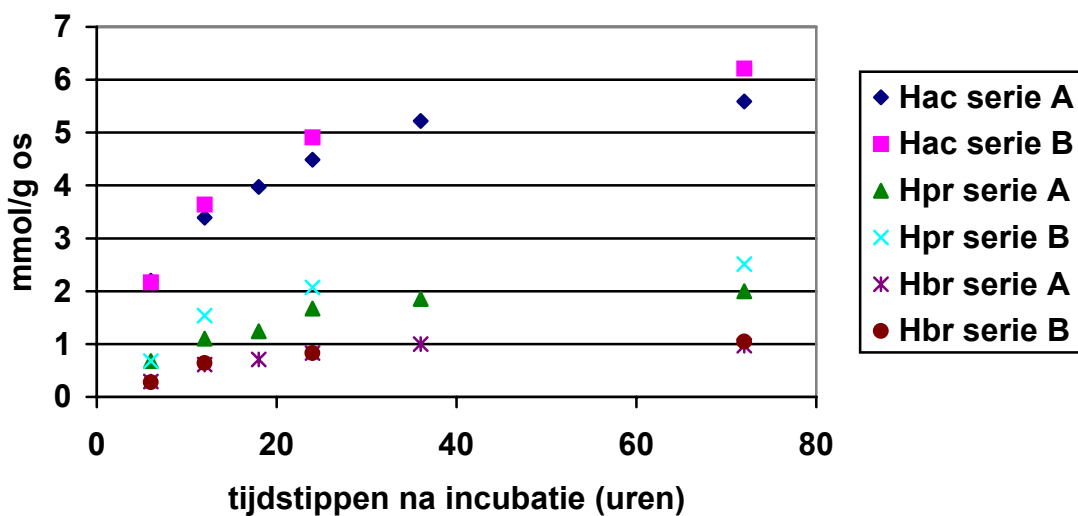
-Organische stof afbraak na 72 uur

-Ammoniak op 72 uur (alleen van relevante substraten)

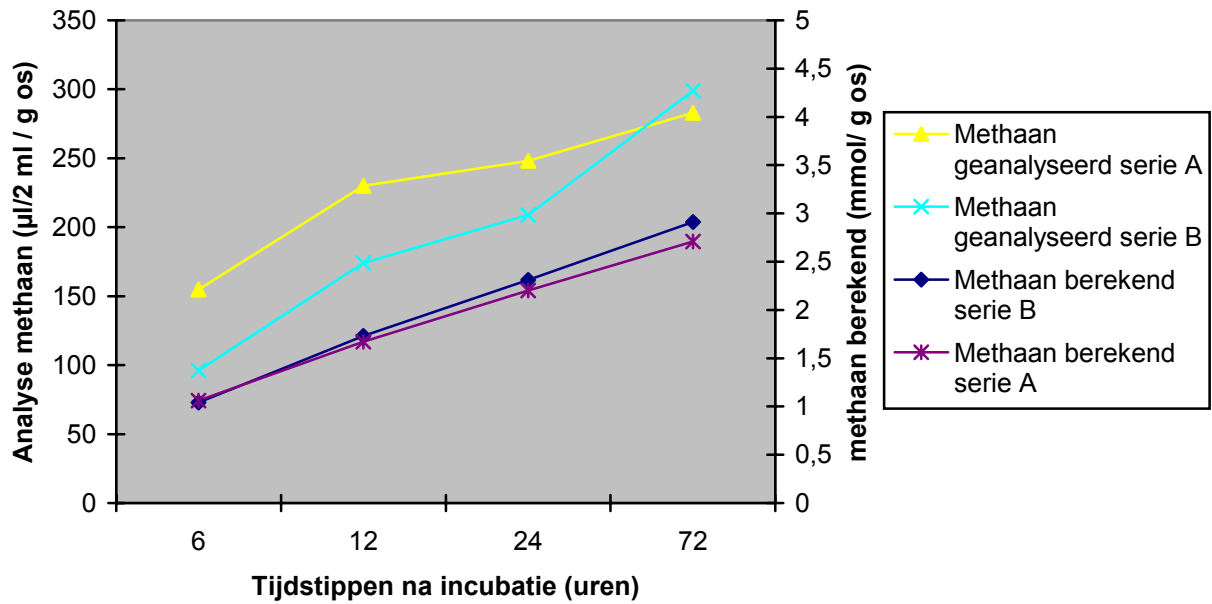
- H_2 , CO_2 , CH_4 en CH_4/CO_2

4.3 Algemene resultaten in vitro onderzoek

Er zijn twee proefseries (A en B) in vitro experimenten verricht. In beide series zijn ongeveer 15 substraten onderzocht. In de meeste gevallen bestond het basisrantsoen voor de helft uit ruwvoer en de helft uit mengvoer. In deze paragraaf zijn de gevonden gehalten van de resultaten van de belangrijkste vluchtige vetzuren en de methaanproductie in de loop van de tijd weergegeven over alle substraten heen (Figuur 4.1 en 4.2).



Figuur 4.1 Gemiddelde productie van azijnzuur, propionzuur en boterzuur over alle monsters heen tijdens 72 uur incubatie in de proefserie A en B.



Figuur 4.2 Gemiddelde geanalyseerde en berekende (vanuit de vluchtige vetzuren) methaanproductie over alle monsters heen tijdens 72 uur incubatie in de proefserie A en B.

De niveaus aan productie van vluchtige vetzuren voor het gemiddelde van proefserie A en B lijken goed overeen te komen. De berekende methaanproductie vanuit de productie van vluchtige vetzuren op verschillende tijdstippen na incubatie is in de proefserie A en B op ongeveer hetzelfde niveau. De gehalten aan geanalyseerd methaan vertonen iets meer variatie. In beide proefseries neemt de methaanproductie toe in de tijd. Er is echter wel verschil in niveau op met name de tijdstippen 6 en 12 uur na incubatie. De verschillen tussen de proefseries kunnen, naast een verschil in substraten, veroorzaakt worden door bijvoorbeeld de gebruikte pensvloeistof. Het toetsen van voedingsmaatregelen wordt altijd binnen een proefserie uitgevoerd.

5 RUWVOER EN MENGVOERGRONDSTOFFEN

In hoofdstuk 5.1 zijn berekeningen weergegeven die betrekking hebben op de mogelijkheden en effecten van veranderingen in de mengvoersamenstelling op de productie van methaan. De basis voor de berekening van de methaanproductie is weergegeven in hoofdstuk 3. In 5.2 zijn berekeningen uitgevoerd en mogelijkheden voor methaanreductie die betrekking hebben op het ruwvoer en het rantsoen weergegeven. In 5.3. worden de resultaten besproken van het in vitro experiment waarin twee mengvoergrondstoffen zijn onderzocht.

5.1 Mengvoer

Zoals weergegeven in 3.2 worden mengvoerders geformuleerd op basis van de minimum prijs gegeven de eisen van minima en maxima van nutriënten en grondstoffen. Een mengvoerfabrikant produceert verschillende mengvoerders. Van een aantal mengvoerders van Fuite is de methaanproductie berekend. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Berekende methaanproductie van verschillende mengvoerders bij Fuite

Naam mengvoeder	Methaanproductie inschatting (in g/kg brok)	Methaanproductie (in % tov A- standaard)
A-standaard	21,69	100
A-95 DVE	21,57	99
B-110	19,53	90
Pens stabiel	17,11	79
Actie-energie	19,81	91
Lacto-Stimulans	19,42	90
Bezetskern	15,86	73

Uit de bovenstaande tabel blijkt dat de potentiële methaanproductie vanuit de mengvoerders aanmerkelijk verschillend is. De prijzen van deze mengvoerders zijn ook verschillend. De keuze van de bovengenoemde mengvoerders door de melkveehouder hangt af van onder meer de volgende factoren:

- De veebezetting (koeien per ha)
- Het op het bedrijf beschikbare ruwvoer
- De keuze voor melkproductieverhoging cq kostprijsverlaging van het rantsoen
- De mogelijkheid van groepen koeien gescheiden te houden
- De mogelijkheid om meerdere mengvoerders aan te bieden aan de koeien.

Middels optimalisatie van het mengvoerprogramma zijn diverse berekeningen uitgevoerd naar de mogelijkheid tot het beperken van de methaanproductie via mengvoer. Hierbij zijn de uitkomsten van grondstoffen beschreven in hoofdstuk 3 als uitgangspunt genomen.

In de onderstaande tabel (Tabel 5.2) zijn de uitkomsten van lineaire programmering van de A-95 DVE brok van Fuite weergegeven. Hierbij is gekozen om het RE gehalte in een range van 150-155 g/kg te houden.

Tabel 5.2 Effect van restrictie methaanproductie op de grondstofkosten in een A95 DVE mengvoer.

Naam mengvoeder	Methaanproductie inschatting (in g/kg brok)	Grondstofkosten (€/100 kg)
A-95 DVE	21,57	9,71
A-95 DVE - 5% methaan	20,47	9,79
A-95 DVE - 10% methaan	19,40	10,04
A-95 DVE - 15% methaan	18,32	10,34
A-95 DVE - 20% methaan	17,26	10,62
A-95 DVE - 25% methaan	16,16	11,12
A-95 DVE - 30% methaan	15,09	12,22
A-95 DVE - 35% methaan	14,00	13,66

Een methaanreductie van 25% houdt in dat de methaanproductie als gevolg van de opname van een kg mengvoer door de koe, met 25% verlaagd wordt. In de eerste helft van de lactatie zal een derde tot de helft van het rantsoen uit meng(of kracht)voer bestaan. In de eerste helft van de lactatie wordt op deze manier ongeveer 10% minder methaan geproduceerd. De grondstofkosten van het mengvoer worden echter verhoogd met 15%.

Echter vanuit de samenstelling van het mengvoer A95 DVE-25% methaan kan worden voorspeld dat een mengvoer wordt verkregen die de onderstaande voordelen kan bieden:

1. Een hogere melkproductie van de koe
2. Een hogere melkeiwitproductie
3. Verbetering dierwelzijn
4. Betere vruchtbaarheid
5. Minder ureum in de melk

Ad 1 - 2.

Er zijn verschillende onderzoeken uitgevoerd naar een toepassing van zetmeel en bestendig zetmeel in hoogproductieve melkveerantsoenen. Het bleek dat extra (bestendig) zetmeel in het rantsoen een verhoging gaf van de melkproductie en een verhoging van de melkeiwitproductie (o.a. De Visser et al., 1990).

Ad 3.

Dierwelzijn kan verbeterd worden door een gelijkmatiger conditieverloop na afkalven. Een hoge conditieafbraak na afkalven gaat gepaard met vetafbraak in het lichaam en vervetting van de lever. Bij dit proces worden zogenaamde non esterified fatty acids gevormd. Deze stoffen zorgen voor bloedvatverwijding in de ondervoet van de koe. Daardoor ontstaan problemen met beenwerk. Uit diverse epidemiologische studies blijkt dat de ernst en de duur van een negatieve energiebalans geassocieerd is met metabole stoornissen zoals lebmaagdislocatie, ketose, kreupelheid en voortplantingsstoornissen (o.a. Suriyasathaporn et al., 1998).

Ad 4.

Een verslechterde energievoorziening van de koeien als gevolg van bijvoorbeeld pootproblemen heeft een nadelig effect op de vruchtbaarheid. De nieuwmelkte koeien komen moeilijker in de cyclus en hebben slechtere drachtigheidsresultaten. Mengvoer gericht op de verbetering van de energievoorziening kan bijdragen tot een betere benutting van voedingseiwit. Een gebruik van aminozuren voor de levering van glucogene doeleinden wordt

vermeden. Bij het gebruik van aminozuren voor glucogene doeleinden komt ureum vrij. Hoge ureumgehalten in het bloed zijn bewezen negatief voor de voortplanting bij het rund (Butler, 1998). Hierbij is het niet van belang of de ureum afkomstig is van de omzetting van ammoniak of van deaminering van een overmaat aan aminozuren.

Ad 5.

Door minder vorming van ureum in de pens komt er minder in het bloed terecht en ook in de melk.

5.2 Ruwvoer en rantsoen

In deze paragraaf is aan de hand van een voorbeeld de berekening uitgevoerd van de methaanproductie van een koe die ongeveer 100 dagen in lactatie is. Het bedrijfsniveau is 7740 kg melk/koe/jaar. De productie van de koe is 34 kg melk per dag. De melk bevat 4,24% vet en 3,33% eiwit.

In onderstaande tabel zijn praktische rantsoenen samengevat die verschillen in het aandeel graskuil en snijmaiskuil. De behoefte van de, enkele aspecten van de chemische samenstelling, de berekening van de methaanvorming volgens de formules van Moe en Tyrrell, de berekening van de methaanproductie via de pens van de koe en de molaire percentages aan vluchtige vetzuren volgens de berekeningen van het model van Dijkstra aangevuld met methaanmodule van Mills.

Tabel 5.3 Effect van vervanging van graskuil door maiskuil in een melkveerantsoen op methaanproductie. Methaanberekening via Moe & Tyrrell, 1979; Model Dijkstra en vanuit grondstoffen zoals aangegeven in hoofdstuk 3.

Parameter	Eenheid	Graskuil	Graskuil/maiskuil	
			80/20	60/40
Voeropname	kg ds/koe/d	22,3	22,2	22,2
Ruwvoer	kg ds/koe/d	11,5	11,6	11,5
VEM	g/kg ds	970	973	973
DVE	g/kg ds	90	93	97
OEB	g/kg ds	19	50	31
RE	g/kg ds	171	175	180
NDF	g/kg ds	404	392	382
Zetmeel	g/kg ds	35	68	107
Suiker	g/kg ds	116	104	86
Methaan Moe & Tyrrell, 1979	l/koe/d	690	677	661
Berekeningen model Dijkstra				
Hac	%	66,4	65,8	65,2
Hpr	%	16,4	17,0	17,7
Hbu	%	13,0	12,8	12,6
Methaanproductie	l/koe/d	632	618	598
Berekeningen vanuit ontwikkelde inschattingen hoofdstuk 3.5				
Methaanproductie	l/koe/d	660	638	608

In Tabel 5.4 zijn de resultaten van de optimalisatie van het gehele rantsoen verricht voor een koe met een behoefte van 22000 VEM en 2200 g DVE per dag. De prijzen van graskuil en snijmaiskuil zijn ingezet op de handelsprijzen van respectievelijk €5,50 en €4,25 per 100 kg. Vanuit het voeroptimalisatieprogramma Micromix zijn berekeningen gemaakt.

Tabel 5.4 Enkele resultaten van rantsoenoptimalisatie ten behoeve van een reductie van methaan.

Parameter	Eenheid	Standaard	Standaard-5% methaan	Standaard-10% methaan
Voeropname	kg ds/koe/d	22,3	22,3	22,0
VEM	VEM/dag	22000	22000	22000
DVE	g/koe/dag	2200	2200	2351
OEB	g/koe/dag	424	427	400
RVET	g/koe/dag	937	1000	1000
Zetmeel	g/kg ds	2634	2984	3381
Voerprijs	€/koe/dag	3,18	3,20	3,32
Methaanproductie	l/koe/d	599	569	539

Een verlaging van de methaanproductie met 5% is een gevolg van het opnemen van (onverzadigd) vet en een hoger aandeel (bestendig) zetmeel. De kosten zijn 2 eurocent per koe per dag. Het bovengenoemd effect is te verwachten in de eerste helft van de lactatie. Een berekende reductie van 10% is een gevolg van met name een verhoging van het aandeel snijmais en het opnemen van een bestendiger eiwit. De extra kosten zijn 14 eurocent per koe per dag.

Er dienen in ieder geval twee kanttekeningen geplaatst te worden bij het resultaat dat weergegeven is in Tabel 5.4. In de berekeningen is rekening gehouden met handelsprijzen van ruw- en krachtvoerders. In specifieke situaties van melkveehouders kan dit anders liggen. Anderzijds dient opgemerkt te worden dat een verhoging van een voerprijs met 14 eurocent per koe, ook andere voordelen biedt dan een berekende 10% vermindering van de methaanproductie. Het rantsoen met 10% minder methaan levert de koe meer glucogene energie. Dit heeft een verwacht voordeel voor onder andere:

- dierwelzijn
- melkproductie, melkeiwitproductie
- vruchtbaarheid
- kwaliteit van de melk

In de huidige situatie is de hoeveelheid VEM doorgaans een beperkende factor. Echter voor een hoge melkproductie is eigenlijk de voorziening van propionzuur en glucose als bouwstof voor lactose belangrijker. Op grond van rantsoenen voor een nieuwmelkte koe met een melkproductie van 34 kg per dag zijn theoretische berekeningen uitgevoerd naar de nutritionele beperkingen. Afhankelijk van het rantsoen was de berekende maximale melkproductie op basis van nutriënten het volgende:

- Geabsorbeerde energie: 33-35 kg
- Langketenige vetzuren: 50-60 kg
- Geabsorbeerde aminozuren: 40-42 kg
- Geabsorbeerd propionzuur + glucose: 21-28 kg

Een sterke beperkte voorziening van propionzuur + glucose (oftewel glucogene nutriënten) heeft tot gevolg dat de melkeiwitproductie onder druk staat en aminozuren benut worden voor de lactosevorming.

5.3 Resultaten en discussie in vitro onderzoek mengvoergrondstoffen

Er zijn twee mengvoergrondstoffen onderzocht; bietenpulp en sojaschroot. Het basisrantsoen bestond uit 50% mengvoer en 50% ruwvoer. In het in vitro experiment is 60% van het mengvoer vervangen door het testsubstraat (bietenpulp of sojaschroot). Er is gekozen om een deel van het mengvoer te vervangen door de testgrondstof en het aandeel ruwvoer te handhaven. Hiermee wordt nog een redelijk rantsoen cq substraat (voor in vitro onderzoek) behouden.

De chemische analyse van het controle mengvoer en de testsubstraten is weergegeven in Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Resultaten chemische analyse van het controle mengvoer, de bietenpulp en de sojaschroot (g/kg ds).

Component	Controle mengvoer	Bietenpulp	Sojaschroot
Droge stof (g/kg)	939,7	957,6	949,8
Ruw as	89,1	82,3	66,3
Ruw vet	36,5	4,2	14,0
N	29,1	14,2	84,9
NDF	269,3	378,6	75,4
Zetmeel	65,4	1,9	3,6

Een samenvatting van de resultaten van het in vitro onderzoek zijn weergegeven in Tabel 5.6 en 5.7.

Tabel 5.6 Effect van bietenpulp en sojaschroot op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie B).

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen 50% ruwvoer en 50% mengvoer	Vervanging 60% van mengvoer door	
			Bietenpulp	Sojaschroot
Hac	mmol/ g os	3,77 ab	3,95 b	3,71 a
Hpr	mmol/ g os	1,50	1,49	1,48
Hibr	mmol/ g os	0,064 ab	0,050 a	0,083 b
Hbr	mmol/ g os	0,61	0,61	0,64
Hival	mmol/ g os	0,13 b	0,11 a	0,18 c
Hval	mmol/ g os	0,15 b	0,14 a	0,17 c
Hac	%	61,7 b	63,5 c	60,9 a
Hpr	%	23,7	23,1	23,0
Hbr	%	9,7 ab	9,3 a	10,2 b
Hac/Hpr		2,63 a	2,78 b	2,70 a
OS afbraak na 72 uur	%	79 a	83 b	83 b
NH ₃	mg/l	394 a	374 a	525 b
NGR		3,18	3,32	3,25
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,78 ab	1,87 b	1,76 a

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

Tabel 5.7 Effect van bietenpulp en sojaschroot op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per g geïncubeerde (inc) en g afgebroken (deg) organische stof.

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen 50% ruwvoer en 50% mengvoer	Vervanging 60% mengvoer door	
			Bietenpulp	Sojaschroot
H ₂	μl/ 2 ml/ g os inc	25,0 a	22,4 a	29,6 b
H ₂	μl/ 2 ml/ g os deg	31,8 ab	26,9 a	35,2 b
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os inc	3929 b	3805 ab	3759 a
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os deg	5001 b	4566 a	4480 a
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os inc	478	454	453
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os deg	609 b	544 a	541 a
CH ₄ /CO ₂	%	10,9	10,7	10,8

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

De productie van Hibr en Hival was lager bij het substraat met 30% bietenpulp en verhoogd bij 30% sojaschroot. Hibr en Hival zijn afbraakproducten van leucine, isoleucine en valine. De verhoging van Hibr en Hival bij het substraat met sojaschroot komt goed overeen met de

effecten op de ammoniakproductie. Bij sojaschroot is deze significant verhoogd. Bij bietenpulp is een numerieke verlaging waargenomen.

De effecten van sojaschroot kwamen overeen met de verwachtingen. Een vervanging van een deel van het mengvoer resulteerde in een, deels significant, lagere berekende en geanalyseerde methaanproductie.

Het substraat met bietenpulp gaf een significant hoger percentage azijnzuur en een numeriek hogere berekende methaanproductie (Tabel 5.6). Op basis van de ingeschatte productie aan azijnzuur en methaan waren de resultaten naar verwachting. Met behulp van de individuele methaanproductie inschattingen uit hoofdstuk 3 zou een verhoging van 7-8% methaan verwacht mogen worden. De significante verhoging van de berekende methaanproductie in het in vitro systeem was $\pm 5\%$. Echter uit onderzoek naar de geanalyseerde methaanconcentratie in de gasfase blijkt dat het rantsoen met bietenpulp een gelijk of lagere methaanproductie geeft. De verlaging van de methaanproductie is zowel bij de vakgroep Microbiologie (weergegeven in Tabel 5.7) als bij steekproeven van dezelfde monsters bij de vakgroep Diervoeding (niet weergegeven) gevonden.

Van alle krachtvoergrondstoffen neemt bietenpulp (en citruspulp) een speciale plaats in. Het gehalte aan pectines is ongeveer 30%. Deze fractie is goed fermenteerbaar tot met name azijnzuur. De reden voor een discrepantie in de hoge azijnzuurproductie enerzijds en lage methaanproductie anderzijds heeft vermoedelijk te maken de waterstofvorming tijdens de afbraak van speciale pectines. De belangrijkste bouwstenen van suikers in de bietenpulppectine is galacturonzuur. Galacturonzuur is een geoxideerde galactose. Dit molecuul bevat onder meer twee H-atomen minder dan een glucose. De vorming van azijnzuur vanuit galacturonzuur levert daardoor geen waterstof, terwijl in de gangbare reactievergelijking vier waterstofmoleculen wordt geproduceerd. Op deze manier wordt weliswaar meer azijnzuur gevormd, maar is mogelijk de productie van waterstof en daarmee methaan, niet verhoogd.

6 VET

In paragraaf 6.1 wordt een korte samenvatting van de deskstudie gegeven. In paragraaf 6.2 worden de resultaten van het in vitro onderzoek beschreven. In paragraaf 6.3 wordt ingegaan op de rol van vet als waterstofacceptor. Deze voorstellen tot differentiatie van de rol van waterstofacceptor naar vetbron is reeds verwerkt in de grondstoffen en berekeningen die weergegeven zijn in hoofdstuk 3.5, 3.6 en 5.

6.1 Deskstudie

In het overzichtsrapport van Veen (2000) is ingegaan op vet als factor in de methaanproductie bij de melkkoe. Vet wordt zelf niet gefermenteerd door bacteriën in de pens. Vet kan echter op verschillende manieren wel een rol spelen in de methaanvorming. Genoemd zijn:

- Vermindering van de celwandafbraak door een mogelijke coating door vet
- Toxiciteit van vetzuren ten opzichte van de flora in de pens en daardoor een lagere afbraak van celwandmateriaal
- Onverzadigde vetzuren kunnen als waterstofacceptor dienen via een hydrogenering van deze vetzuren in de pens.

Recentelijk zijn er diverse in vitro onderzoeken verricht naar de invloed van de vetbron op VVZ- en methaanproductie door de pensflora. In feite kan een onderscheid worden gemaakt naar vettypes:

- a. Pensbeschermd vet
- b. Middenlangketenig vet (kokosvet, palmpitvet)
- c. Langketenig overwegend verzadigd en enkelvoudig onverzadigd vet (palmolie, reuzel)
- d. Langketenig meervoudig onverzadigd vet (sojaolie; C18:2, gras, lijnzaadolie; C18:3)
- e. Poly-onverzadigd vet (visoliën).

Vanuit onderzoeken beschreven door Veen (2000) en recent in vitro onderzoek, maar ook het in vivo onderzoek met koeien en schapen (Dohme et al., 2000; Eastridge & Firkins, 2000; Machmüller et al., 2000, 2001) kunnen de effecten van de bovengenoemde groepen aan vetten als volgt samengevat worden:

- a. Pensbeschermd vet

Er is (vrijwel) geen effect op de fermentatie en afbraak van NDF. De productie van methaan wordt tevens niet verlaagd door een functie als waterstofacceptor

- b. Middenlangketenig vet

Geen functie als waterstofacceptor. In de onderzoeken wordt een verlaging van methaanproductie waargenomen. Dit is onder meer een gevolg van een doorgaans lagere afbraak van organische stof. Met name de afbraak van de celwandfractie wordt verlaagd. Tegelijkertijd (vermoedelijk als gevolg van een toxische werking) is ook gemeten dat middenlangketenige vetzuren of vetten een verlaging geven van de aantallen protozoën en methaanvormende bacteriën in de pensvloeistof.

- c. Langketenig enkelvoudig onverzadigd en verzadigd vet

Het effect op de methaanproductie is relatief gering. De functie als waterstofacceptor is beperkt door de hoge verzadigdheid van het vet. De toxiciteit is gering en de verlaging van de afbraak van NDF is beperkt.

d. Langketenig meervoudig onverzadigd

In vergelijking tot meer verzadigde vetzuren wordt er in totaal en per hoeveelheid afgebroken organische stof een verlaging van de methaanproductie gevonden. Het percentage propionzuur dat gevormd wordt is hoger. Dit is een gevolg van een verlaging van de afbraak van met name de NDF fractie. De afbraak van celwandbestanddelen levert in verhouding meer azijnzuur. Daarnaast zijn de meervoudig onverzadigde bindingen geschikt als waterstofacceptor.

e. Poly-onverzadigde vetzuren

Onder poly-onverzadigde vetzuren worden met name visoliën volstaan. Visolie is echter voor een deel verzadigd. Een ander deel bestaat uit vetzuren met een ketenlengte van 20 of 22 C-atomen en 4, 5 of 6 onverzadigde bindingen.

Visolie is een goede waterstofacceptor en zal daardoor een verlaging kunnen geven van de methaanproductie.

Door Veen (2000) wordt genoemd dat visolie een speciale plaats inneemt. Via in vivo experimenten bleek de faecale NDF vertering niet negatief beïnvloed te worden door visolie. De totale VVZ productie werd niet verlaagd door visolie. Echter in verhouding nam de productie van propionzuur toe (Fievez, 2001).

6.2 Resultaten en discussie in vitro onderzoek

Er is gekozen om een viertal soorten vet, en deze in een concentratie van 7% toe te voegen aan een mengvoer. Het toegevoegde vet in het gehele rantsoen is daarmee 3,5% en het totale vetgehalte in het mengvoer is ruim 10%. In vergelijking met de experimenten in de literatuur is de toevoeging betrekkelijk gering. Het is echter wenselijk om niet extreme toevoegingen te testen omdat daarmee de hele pensflora mogelijk stil gelegd wordt. De effecten kunnen bij een te hoge concentratie slechter geïnterpreteerd worden naar een praktische situatie.

De analyse van het N- en vetgehalte in het mengvoer is weergegeven in Tabel 6.1.

Tabel 6.1 Resultaten van de analyse van het N- en vetgehalte in het mengvoer waaraan vet is toegevoegd (g/kg ds).

Naamgeving	Vet toevoeging (%)	Vetgehalte mengvoer (g/kg)	N-gehalte mengvoer (g/kg)
Controle	0	38	29,9
Lijnolie 1	2	72	28,5
Lijnolie 3.5	7	106	27,5
Visolie 3.5	7	106	27,2
C8-C12 vetzuren 3.5	7	103	27,8
Langk verz vet 3.5	7	106	-

De resultaten van het in vitro onderzoek zijn samengevat in Tabel 6.2 en 6.3.

Tabel 6.2 Effect van vetten op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Controle- rantsoen	Toevoeging van olie of vet				
			1% lijnolie	3,5% lijnolie	3,5% visolie	3,5% C8-C12 vetzuren	3,5% Verzadigd langk. vet
Hac	mmol/ g os	4,07	3,91	3,83	3,77	3,86	3,75
Hpr	mmol/ g os	1,41	1,28	1,27	1,33	1,21	1,27
Hibr	mmol/ g os	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06
Hbr	mmol/ g os	0,69 ab	0,66 ab	0,63 ab	0,68 ab	0,70 b	0,62 a
Hval	mmol/ g os	0,15	0,16	0,14	0,14	0,14	0,14
Hac	%	64,3 ab	64,6 ab	64,8 ab	63,8 a	65,1 b	64,5 ab
Hpr	%	20,9 b	20,1 ab	20,3 ab	20,9 b	19,4 a	20,5 ab
Hbr	%	10,0 a	10,1 a	10,0 a	10,5 ab	10,9 b	10,0 a
Hac/Hpr		3,16 a	3,31 ab	3,30 ab	3,18 a	3,44 b	3,25 ab
NGR		3,26 a	3,36 a	3,37 a	3,29 a	3,55 b	3,33a
NH ₃	ml/l	396	nd	397	379	392	Nd
CH ₄	mmol/ g os	1,98	1,92	1,87	1,85	1,94	1,83
berekend							

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

Tabel 6.2 Effect van vetten op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per monster in 2 ml gas en uitgedrukt per g geïncubeerde organische stof (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Controle- rantsoen	Toevoeging van olie of vet				
			1% lijnolie	3,5% lijnolie	3,5% visolie	3,5% C8-C12 vetzuren	3,5% Verzadigd langk. vet
H ₂	μl/ 2 ml gas	0,93	1,22	0,81	1,15	1,16	1,48
H ₂	μl/ 2 ml/ g os	2,22	2,89	1,93	2,73	2,82	3,50
CO ₂	μl/ 2 ml gas	1441 ab	1460 ab	1489 b	1463 ab	1426 a	1470 ab
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os	3444	3474	3537	3472	3479	3485
CH ₄	μl/ 2 ml/ gas	244 c	245 c	222 b	205 a	247 c	255 c
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os	584 c	583 c	528 b	486 a	603 c	603 c
CH ₄ /CO ₂	%	14,4c	14,3 c	12,9 b	12,2 a	14,7 c	14,8 c

a-c: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

De productie aan individuele vluchtige vetzuren bij het controlesubstraat is numeriek hoger als bij de vettoevoegingen. Deze numerieke verlaging zal een gevolg zijn van een lager gehalte aan koolhydraten en eiwit (een verdunning met 3,5% vet) en een effect op de fermentatie. De concentratie aan ammoniak na 72 uur is niet significant verschillend tussen de

behandelingen. Bij de visolie-groep is het laagste ammoniakgehalte gevonden. In een overzichtsartikel van Doreau & Ferlay (1995) is aangegeven dat vettoevoeging in vrijwel alle gevallen een verlaging of geen invloed op het ammoniakgehalte in pensvloeistof geeft.

De berekende methaanproductie vanuit de gemeten VVZ productie was niet wezenlijk verschillend tussen de behandelingen. Via gasanalyse (Tabel 6.3) is gevonden dat zowel lijnolie als visolie een verlaging geeft van de methaanproductie. De verlaging van methaan is het grootst bij het substraat met de visolie. De rol van vet als waterstofacceptor lijkt in dit onderzoek het meest duidelijk. De toevoeging van middenlangketenig vet en langketenig verzadigd vet heeft namelijk geen invloed op de methaanproductie. Indien hogere gehalten opgenomen worden in het onderzoek dan zal wellicht de verlaging van de methaanproductie door een toxische werking van vetzuren en/of een verlaging op de NDF vertering gevonden worden. In dit onderzoek is getracht de toxische werking via te hoge vetniveaus te vermijden.

6.3 Implicaties

In de methaanmodule van Mills et al. (2001) wordt vet als waterstofacceptor opgenomen. De reductie van methaan door vet in deze module is alleen een gevolg van hydrogenering. Een eventueel toxisch effect op bijvoorbeeld celwandafbrekende bacteriën wordt niet voor gecorrigeerd. Men gaat er vanuit dat er tot een bepaald niveau aan vet (<5%) geen of weinig verstoring optreedt van de pensfermentatie.

Er wordt uitgegaan van een standaard hydrogenering van 1,805 mol waterstof per vetzuur van een zuiver triglyceride. Vanuit de literatuur en het eigen in vitro onderzoek is gebleken dat er een duidelijk effect van de vetbron op de hydrogenering en daarmee de reductie van methaan bestaat.

Het zuivere vetgehalte in het basisrantsoen is vermoedelijk ongeveer 3%. Uitgaande van de formule van Mills is de reductie van methaan als volgt te berekenen:

Uitgedrukt per kg voer

$$H_{benutLi} \text{ (mol H}_2\text{)} = P_{li} \text{ (mol)} * L_{iferm} * 1,805 * 2,0$$

$$= 0,03 \text{ mol} * 90\% * 1,805 * 2,0$$

$$= 0,09747 \text{ mol H}_2$$

$$= 0,02437 \text{ mol CH}_4$$

$$= 0,3899 \text{ g CH}_4$$

Er van uitgaande dat een berekende productie van methaan ongeveer 17 g per kg voer is, wordt de methaanproductie via vet als waterstofacceptor met 2,3% gereduceerd.

In het in vitro onderzoek is 3,5% extra vet als substraat genomen. Dit zou volgens de bovengenoemde formule betekenen dat de methaanproductie van alle substraten met 3,5% vet ongeveer 2,5% lager dienen te zijn door de rol van waterstofacceptor. Daarnaast is er ook 3% minder substraat voor fermentatie aanwezig in het in vitro onderzoek.

Uit het in vitro onderzoek bleek dat de 3,5% toevoeging van verzadigde vetbronnen, zoals verwacht, geen duidelijke invloed had op de productie van methaan. Immers, er zijn geen of weinig onverzadigde verbindingen toegevoegd.

Toevoeging van lijnzaadolie en visolie gaf een verlaging van respectievelijk ongeveer 10 en 15% methaan. De mate van onverzadigdheid is sterk bepalend voor de mate van methaanreductie. Voor de invloed van de toegevoegde olie op de hydrogenering en de productie van methaan dient een differentiatie gemaakt te worden naar vetbron.

In hoofdstuk drie is een methaanproductie gekoppeld aan grondstoffen op grond van de koolhydraat en vetsamenstelling. Voor deze grondstoffen waarin tevens het vet onverzadigd is zou een correctie voor methaanvorming dienen plaats te vinden.

De meeste natte krachtvoerders en mengvoedergrondstoffen bevatten relatief weinig vet. Uitzonderingen zijn bierbostel, schilfers, sojabonen en in mindere mate lupinezaden en haver. Met uitzondering van schilfers afkomstig van palmpitten en kokos bevat het vet in deze grondstoffen relatief veel onverzadigde verbindingen.

7 ZOUTEN VAN ORGANISCHE ZUREN

7.1 Deskstudie

Methaanvorming kan gereduceerd worden door middel van de verlaging van de productie van waterstof of formiaat. Deze stoffen zijn belangrijke substraten voor de vorming van methaan. Zouten van organische zuren als aspartaat, appelzuur en fumaarzuur zijn intermediare stoffen in de succinaat route. Vanuit deze zouten van zuren kan propionzuur worden gevormd. De meeste studies over organische zuren in relatie tot methaanvorming zijn verricht met zouten van appelzuur en fumaarzuur. Daarnaast zijn er enkele experimenten verricht met aspartaat en propionaat. Lopez et al. (1999) onderzochten twee niveaus aan natriumfumaraat met behulp van een in vitro methode op onder meer de productie aan vluchtige vetzuren en de methaanvorming. De onderzoeksresultaten van Lopez et al. (1999) zijn samengevat in Tabel 7.1.

Tabel 7.1 Effect van natriumfumaraat op de pH, gasproductie, productie van vluchtige vetzuren en methaan (Lopez et al., 1999).

Parameter	Controle	250 $\mu\text{mol/l}$ fumaraat	500 $\mu\text{mol/l}$ fumaraat
PH	6,42 a	6,49 b	6,50 b
Gasproductie (μmol)	1412 a	1496 b	1544 b
Vluchtige vetzuren (μmol)	1228 a	1541 b	1820 c
Azijnzuur (μmol)	789 a	881 b	983 c
Propionzuur (μmol)	259 a	471 b	655 c
Boterzuur (μmol)	138	151	145
Methaan (μmol)	360 a	342 b	338 b

abc: Waarden binnen rijen zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($P < 0,05$).

Andere in vitro studies hebben eveneens aangetoond dat appelzuur en zouten van fumaarzuur, maar ook aspartaat en propionaat een verhoging geven van de propionzuurproductie en / of een verlaging van de verhouding van azijnzuur:propionzuur (Callaway en Martin, 1996; Asanuma et al., 1999; Carro et al., 1999). In het onderzoek van Lopez et al. (1999) werd naast een invloed op de productie aan vluchtige vetzuren, tevens een reductie van methaan gevonden. Dit komt overeen met de resultaten van het onderzoek van anderen die een reductie van totaal methaan of de productie aan methaan per hoeveelheid gefermenteerde ruwe celstof vonden (Asanuma et al., 1999; Carro et al., 1999).

Nisbet en Martin (1991) stelden de hypothese dat appelzuur mogelijk een elektronenacceptor is voor waterstof. In later onderzoek vond men een indicatie dat fumaarzuur en appelzuur reageren als elektronenacceptor. De vorming van propionzuur uit deze zuren houdt in dat er minder H_2 beschikbaar is voor andere biochemische processen, zoals voor de methaanvorming (Carro et al., 1999).

In vivo studies

De organische zuren malaat en fumaraat zijn in vivo onderzocht. Kung et al. (1982) onderzochten het effect van malaat in het rantsoen van melkkoeien en stieren. De dosering van malaat (appelzuur) liep op tot ongeveer 1%. De onderzoekers concludeerden dat de propionzuurproductie verhoogd wordt door de toevoeging van appelzuur in het voer.

Bayaru et al. (2001) onderzochten de toevoeging van een zout van fumaarzuur bij stieren van 570 kg die werden gehouden in respiratiecellen. De dieren werden gevoerd op onderhoudsniveau. Het rantsoen bestond uit een sorghumsilage en een premix. De toevoeging van fumaraat bedroeg 2%. Van de gefistuleerde dieren werd tevens de pH van de pensinhoud en de productie aan vluchtige vetzuren gemeten op 0, 2 en 5 uur na het voeren. De resultaten van de experimenten zijn samengevat in Tabel 7.2.

Tabel 7.2 Effect van 20 g natriumfumaraat per kg ds op de pH in de pens, de productie van vluchtige vetzuren, op 0, 2 en 5 uur na voeren, de productie van methaan en de verteerbaarheid van het voer (Bayaru et al., 2001).

Parameter	Controle	Fumaraat
PH		
0 uur	6,9	7,1
2 uur	6,8	6,9
5 uur	6,9	6,8
Totaal vluchtige vetzuren (mmol/100 ml)		
0 uur	5,2	5,7
2 uur	6,5	6,9
5 uur	6,2	7,0
Azijnzuur (molair %)		
0 uur	69,2	70,0
2 uur	60,5	61,5
5 uur	62,5	65,5
Propionzuur (molair %)		
0 uur	18,5	16,9
2 uur	23,5	28,4*
5 uur	22,9	25,4
Boterzuur (molair %)		
0 uur	8,5	6,4*
2 uur	10,7	6,8*
5 uur	9,8	7,0*
Verteerbaarheid (%)		
DS	57,4	57,6
NDF	71,2	69,8
RE	54,4	58,9*
Methaan (l/d)	180	139*

* Effect van fumaarzuur is significant ($P < 0,05$).

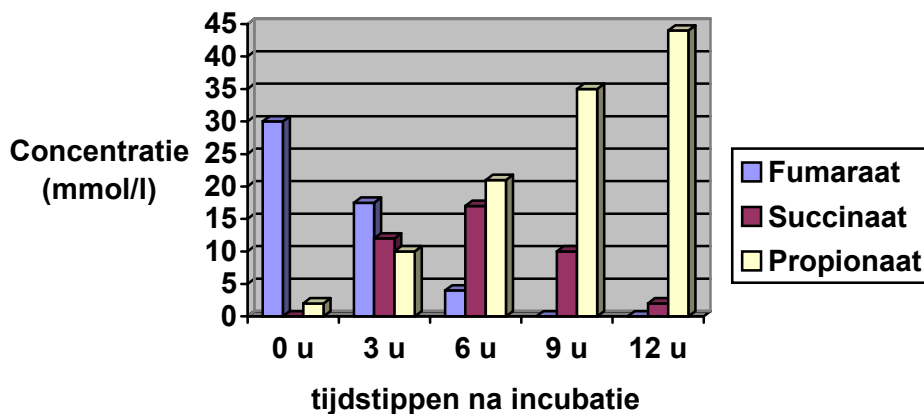
-In het onderzoek werd geen effect van fumaarzuur op de pH gevonden. Andere studies toonden aan dat door DL-appelzuur en fumaraat de pH verhoogd werd (Martin, 1998). Appelzuur gaf in in vitro studies een verminderde melkzuurophoping. De melkzuurvorming door *Streptococcus bovis* werd geremd en de benutting door *Selenomonas ruminantium* werd verhoogd. Het effect van de verhoging van de pH in veel studies kan niet helemaal verklaard worden uit een verlaging van het melkzuurgehalte in de pens of in vitro simulatie systeem. Er wordt verondersteld dat bicarbonaat de buffercapaciteit van pensvloeistof voor een deel zal verhogen via CO_2 (Martin, 1998). De productie van CO_2 is in de in vitro studies ook verhoogd

door zout van organisch zuur, vermoedelijk doordat CO₂ een eindproduct is van de melkzuurfermentatie tot propionzuur.

-De productie van vluchtige vetzuren werd door fumaarzuur niet wezenlijk verhoogd. In de in vitro studies was er echter vrijwel altijd een verhoging van de vluchtige vetzuren productie waargenomen. In overeenstemming met de in vitro studies werd er een verlaagde verhouding tussen azijnzuur en propionzuur gevonden als gevolg van een toename van de productie aan propionzuur.

-De totale verteerbaarheid van het voer was niet verschillend tussen de twee groepen. De meeste in vitro studies gaven een tendens tot een verbeterde fermentatie van een koolhydraatfractie (Carro et al., 1999) of in vitro droge stof vertering (Lopez et al., 1999).

-De significante verlaging van de methaanproductie per eenheid verteerde droge stof komt overeen met in vitro studies. In de in vitro studies was de verlaging van methaan ongeveer 5 tot 15%. In het bovengenoemde in vivo experiment was het effect 23%. De verlaging van de methaanproductie is waarschijnlijk een gevolg van een stimulering van de groei van fumarate benuttende bacteriën. Deze bacteriën gaan in competitie voor de benutting van waterstof en mierzuur (Asanuma et al., 1999). Daarnaast wordt extra propionzuur gevormd via de succinaat route (Figuur 7.1).



Figuur 7.1 Metabolisme van toegevoegd fumarate door een mengsel van micro-organismen met een substraat van hooi en mengvoer via metingen van het gehalte aan fumarate, succinaat en propionaat in mM (Asanuma et al., 1999).

7.2 Resultaten en discussie in vitro onderzoek

In enkele proefseries zijn verschillende zouten van organische zuren onderzocht. In proefserie A is gekozen voor natriumfumarate en DL-malaat in drie doseringen te onderzoeken. In proefserie B is de toevoeging van natriumfumarate en molair gelijke doseringen van mierzuur en propionzuur onderzocht. De chemische analyse van de substraten in serie B zijn weergegeven in Tabel 7.3.

De resultaten van de onderzoeken in twee series zijn samengevat in Tabel 7.4-7.7.

Tabel 7.3 Chemische analyse (g/kg ds) van het controle mengvoer en de mengvoeders met een toevoeging van mierzuur, natriumfumaraat en propionzuur (proefserie B).

Component	Controle mengvoer	Controle + mierzuur	Controle Nafumaraat	Controle + propionzuur
Droge stof (g/kg)	939,7	922,4	943,2	918,0
As	89,1	94,9	109,7	97,2
Ruw vet	36,5	35,7	34,9	33,2
N	29,1	30,2	28,1	30,1

Tabel 7.4 Effect van natriumfumaraat op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Controle-rantsoen	Natrium fumaraat dosering (%)		
			0,4	1,2	3,6
Hac	mmol/ g os	4,07 ab	4,13 b	4,14 a	4,09 b
Hpr	mmol/ g os	1,41	1,36	1,42	1,48
Hibr	mmol/ g os	0,07	0,08	0,07	0,07
Hbr	mmol/ g os	0,69	0,72	0,69	0,68
Hval	mmol/ g os	0,15	0,17	0,17	0,16
Hac	%	64,3	64,3	64,1	63,7
Hpr	%	20,9 ab	20,0 a	20,6 ab	21,2 b
Hbr	%	10,0	10,2	9,9	9,8
Hac/Hpr		3,16	3,31	3,21	3,22
NGR		3,26 ab	3,36 b	3,26 ab	3,19 a
NH ₃	mg/l	396	nd	nd	406
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,98	2,04	2,02	1,97

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

Tabel 7.5 Effect van natriumfumaraat op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per monster in 2 ml gas en uitgedrukt per g geïncubeerde organische stof (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Controle-rantsoen	Natrium fumaraat dosering (%)		
			0,4	1,2	3,6
H ₂	μl/ 2 ml gas	0,93	1,48	1,79	1,78
H ₂	μl/ 2 ml/ g os	2,22	3,54	4,30	4,35
CO ₂	μl/ 2 ml gas	1441	1463	1456	1488
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os	3444 a	3511 a	3504 a	3634 b
CH ₄	μl/ 2 ml/ gas	244	240	242	244
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os	584	577	582	598
CH ₄ /CO ₂	%	14,4	14,1	14,3	14,1

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

Tabel 7.6 Effect van malaat op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Controle- rantsoen	Malaat dosering (%)		
			0,4	1,2	3,6
Hac	mmol/ g os	4,07	3,99	4,02	3,70
Hpr	mmol/ g os	1,41	1,33	1,47	1,34
Hibr	mmol/ g os	0,07	0,06	0,06	0,06
Hbr	mmol/ g os	0,69	0,70	0,68	0,63
Hval	mmol/ g os	0,15	0,15	0,15	0,14
Hac	%	64,3	64,2	63,4	64,0
Hpr	%	20,9 ab	20,4 a	22,0 b	21,4 ab
Hbr	%	10,0	10,4	10,0	9,9
Hac/Hpr		3,16 ab	3,22 b	2,98 a	3,11 ab
NGR		3,26 ab	3,36 b	3,26 ab	3,19 a
NH ₃	mg/l	396	nd	nd	401
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,98	1,97	1,94	1,79

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

Tabel 7.7 Effect van malaat op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per monster in 2 ml gas en uitgedrukt per g geïncubeerde organische stof (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Controle- rantsoen	Malaat dosering (%)		
			0,4	1,2	3,6
H ₂	μl/ 2 ml gas	0,93	1,91	0,94	1,01
H ₂	μl/ 2 ml/ g os	2,22	4,57	2,25	2,46
CO ₂	μl/ 2 ml gas	1441	1474	1481	1496
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os	3444 a	3531 a	3559 #a	3638 b
CH ₄	μl/ 2 ml/ gas	244	248	245	243
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os	584	595	589	590
CH ₄ /CO ₂	%	14,4	14,4	14,2	14,0

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

#: Verschil met de controle ($p < 0,1$).

De productie van en concentratie aan VVZ tussen het controlevoer en de substraten met toevoeging van zouten van organische zuren verschillen niet significant. Echter een oplopende dosering aan natriumfumaraat is goed gecorreleerd met een oplopende propionzuurproductie en een verlaging van de NGR ratio en berekende methaanproductie (Tabel 7.4). Dit is in het algemeen goed in overeenstemming met de literatuur (zie 7.1). Het effect op de methaanproductie, gemeten via de gasanalyse was niet duidelijk. De toevoeging van 1,2% DL-malaat gaf een wezenlijke verhoging van de propionzuurconcentratie en een verlaagde Hac/Hpr verhouding. De berekende en gemeten methaanvorming was lager (numeriek), de verschillen waren echter niet significant.

Tabel 7.8 Effect van mierzuur, natriumfumaraat en propionzuur op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie B).

Parameter	Eenheid	Controle- rantsoen	Toevoeging		
			Mierzuur geneutraliseerd	Natrium- fumaraat	Propionzuur geneutraliseerd
Hac	mmol/ g os	3,77	3,68	3,68	3,71
Hpr	mmol/ g os	1,50	1,47	1,52	1,55
Hibr	mmol/ g os	0,064	0,055	0,054	0,062
Hbr	mmol/ g os	0,61	0,63	0,63	0,60
Hival	mmol/ g os	0,13	0,12	0,12	0,13
Hval	mmol/ g os	0,15	0,14	0,13	0,14
Hac	%	61,7	61,5	61,4	60,9
Hpr	%	23,7 a	23,9 ab	24,2 ab	24,9 b
Hbr	%	9,7	10,0	10,1	9,4
Hac/Hpr		2,63 b	2,59 ab	2,58 ab	2,46 a
NGR		3,18 b	3,16 b	3,18 b	2,98 a
OS afbraak	%	79	79	80	82
NH ₃	mg/l	394 a	427 b	408 ab	416 ab
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,78	1,75	1,74	1,73

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

Tabel 7.9 Effect van mierzuur, natriumfumaraat en propionzuur op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per g geïncubeerde (inc) en g afgebroken (deg) organische stof (proefserie B).

Parameter	Eenheid	Controle- rantsoen	Toevoeging		
			Mierzuur geneutraliseerd	Natrium- fumaraat	Propionzuur geneutraliseerd
H ₂	µl/ 2 ml/ g os inc	25,0	23,2	24,7	22,2
H ₂	µl/ 2 ml/ g os deg	31,8	28,8	31,2	27,3
CO ₂	µl/ 2 ml/ g os inc	3929 b	3702 a	3836 ab	3721 a
CO ₂	µl/ 2 ml/ g os deg	5001 b	4607 a	4843 b	4566 a
CH ₄	µl/ 2 ml/ g os inc	478 a	520 b	449 a	458 a
CH ₄	µl/ 2 ml/ g os deg	609 ab	647 b	567 a	562 a#
CH ₄ /CO ₂	%	10,9 a	12,3 b	10,5 a	10,9 a

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$)

#: Verschil met de controle ($p < 0,1$).

De toevoeging van mierzuur had geen effect op de VVZ productie in het in vitro onderzoek. De berekende methaanproductie (uit deze VVZ) was eveneens niet verschillend met het controlesubstraat van de proefserie B. Uit de gasanalyse bleek dat mierzuur een significante verhoging gaf van het gehalte aan methaan. Formiaat heeft vermoedelijk gediend als

waterstofdonor waardoor de methaanproductie verhoogd kon worden. Dit komt overeen met onderzoek van Asanuma et al. (1999) waaruit blijkt dat de methaanproductie in vitro vanuit formiaat als elektronendonor niet sterk afwijkt van waterstof als elektronendonor.

De toevoeging van propionzuur gaf een verhoging van de propionzuurconcentratie in de pensvloeistof. De toevoeging van 2% natriumfumaraat lijkt in dit in vitro experiment, evenals bij het voorgaande in vitro experiment, een tendens tot een verhoging van de propionzuurproductie te geven en een verlaging van de berekende en geanalyseerde methaanproductie.

Sommige leveranciers claimen dat hun producten op basis van dicarbonzuren zoals malaat en fumaraat een aantal effecten hebben, zoals:

- Preventie van een te lage pH doordat melkzuurproduct omgezet wordt in propionzuur.
- Een lager energieverlies in de vorm van methaan door een waterstofbenutting via de vorming van propionzuur vanuit fumaraat
- Een hogere afbraak van de NDF fractie in de pens

Vleesvee en ander vee dat gevoerd wordt met vezelarme ruwvoerders zijn de meest voor de hand liggende diergroepen waarbij de inzet van zouten van organische zuren zinvol zijn. Bij vleesvee wordt malaat onder de naam Rumalato® ingezet. Recent onderzoek heeft de in vitro vermindering van methaan bij vier soorten granen als substraat bevestigd (Carro en Ranilla, 2003).

8 VERBETERING VAN DE SILAGEFERMENTATIE

8.1 Deskstudie

In Europese landen als Nederland, Duitsland en Denemarken wordt meer dan 90% van het gewonnen ruwvoer opgeslagen als silage. Een goede microbiële fermentatie is hierbij noodzakelijk voor de vorming van kwalitatief goed ruwvoer. Met name de eerste fase van de fermentatie is belangrijk. De eerste uren is er nog vrij veel zuurstof aanwezig in de kuil, deze fase wordt aangeduid als aërobe fase. Als de kuil anaëroob begint te worden begint de fermentatie fase. Hierbij vermenigvuldigen de melkzuurbacteriën zich sterk waarbij wateroplosbare koolhydraten worden omgezet in melkzuur. De pH van de kuil daalt hierbij sterk. Door een gebrek aan melkzuurbacteriën en/of wateroplosbare koolhydraten is het mogelijk dat, ook bij een kwalitatief goed uitgangproduct, het fermentatieproces suboptimaal verloopt. Het gebruik van toevoegmiddelen kan hierbij behulpzaam zijn. De gebruikte toevoegmiddelen kunnen grofweg worden ingedeeld in bacteriemengsels, suikerhoudende producten, zuren en zouten. De werking van de verschillende toevoegmiddelen is wezenlijk verschillend. Bacteriemengsels en suikerhoudende producten bevorderen de kuilfermentatie, terwijl zure additieven de fermentatie juist beperken. In Nederland worden bacteriemengsels (melkzuurbacteriën) het meest gebruikt.

Keady et al. (2001) onderzochten in vivo de effecten van drie verschillende grassilages (met verschillende fermentatiegraad) in combinatie met twee types krachtvoer (hoog en laag zetmeel) op de pensfermentatie van lacterende melkkoeien. Geconcludeerd werd dat bij een verhouding van 50 % grassilage en 50 % krachtvoer op droge stof basis van het rantsoen het effect van de samenstelling van grassilage op de pensfermentatie veel groter is dan het effect van het krachtvoer.

Cushnahan et al. (1995) voerden in vivo onderzoek uit ter bepaling van het effect van grassilage fermentatie op de pensfermentatie. Hierbij werden twee toevoegingen met elkaar vergeleken, toevoeging van melkzuurbacteriën waardoor de kuilfermentatie bevorderd werd (E) en een mengsel organische zuren waardoor een beperkte kuilfermentatie werd verkregen (R). In de volgende tabel worden de samenstellingen van de uiteindelijke kuilen weergegeven.

Tabel 8.1 Effect van verschillende toevoegingen op de samenstelling van de uiteindelijke grassilage (Cushnahan et al., 1995).

	Toevoeging van fermentatie bevorderaar (E)	Toevoeging van fermentatie remmer (R)
Droge stof (g/kg)	169,0	173,6
Stikstof (N)	30,6	29,5
PH	3,78	4,07
Ammoniak N (g/kg N)	42,7	50,0
Buffer capaciteit (meq/kg ds)	928 a	587 b
Ethanol (g/kg ds)	12,2 a	32,0 b
Azijnzuur	14,1 a	7,6 b
Propionzuur	1,6 a	2,5 b
Boterzuur	0,3	0,3
Melkzuur	111 a	42 b
ADF	277	258
NDF	560	594
Hemicellulose	296	335
As	103	86
Wateroplosbare koolhydraten	35 a	100 b

a-c: Waarden binnen rijen zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$).

De effecten van de kuilen met verschillend fermentatiepatroon op de pensfermentatie worden in de volgende tabel weergegeven.

Tabel 8.2 Effect van kuilen met een beperkte en een uitgebreide fermentatie op de pensfermentatie karakteristieken (uitgedrukt in molaire verhoudingen, tenzij anders vermeld) (Cushnahan et al., 1995).

	Toevoeging van fermentatie bevorderaar (E)	Toevoeging van fermentatie remmer (R)
Droge stof opname (kg/dag)	10,5	12,1
pH	6,25	6,24
Ammoniak (mmol/l)	9,3	10,2
Azijnzuur (mol%)	63,6 a	66,6 b
Propionzuur (mol%)	22,0 a	19,6 b
i-Buterzuur (mol%)	2,1	2,0
Buterzuur (mol%)	8,7	8,6
i-Valeriaanzuur (mol%)	2,4 a	1,9 b
Valeriaanzuur (mol%)	1,4	1,3
Totaal VVZ productie (mmol/l)	115,1	119,1
Hac/Hpr	2,94 a	3,48 b
NGR	3,51 a	4,06 b

a-c: Waarden binnen rijen zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant ($p < 0,05$).

Opvallende zaken zijn de lagere droge stof opname en lagere azijnzuur/propionzuur verhouding van de kuil die een uitgebreide fermentatie heeft ondergaan. Deze resultaten

wijzen erop dat ook de methaanproductie bij een kuil die een uitgebreide fermentatie heeft ondergaan verlaagd wordt.

Huhtanen et al. (1997) onderzochten eveneens het effect van kuilfermentatie op pensfermentatie parameters en melkproductie. Een beperkt gefermenteerde kuil (FA) werd verkregen door toevoeging van mierzuur. Een kuil met uitgebreide fermentatie (LAB) werd verkregen door toevoeging van een bacteriële inoculant bestaande uit met name melkzuurbacteriën. De samenstelling van de verkregen grassilages staat weergegeven in de volgende tabel.

Tabel 8.3 De chemische samenstelling van de grassilages (Huhtanen et al., 1997).

	FA silage	LAB silage
Droge stof (g/kg)	297	293
Gehaltes in droge stof (g/kg ds)		
As	73	71
Totaal N	23,2	24,2
NDF	477	495
Water oplosbare koolhydraten	177	68
Melkzuur	32	147
Azijnzuur	13,0	8,1
Boterzuur	0,3	0,2
Ethanol	6,7	7,1
pH	4,29	3,88
In totaal N (g/kg)		
Ammoniak N	33	40
Oplosbaar N	645	693

De fermentatie bevordering middels toevoeging van het bacteriële inoculant leidde tot een duidelijk hoger melkzuur gehalte en een lager gehalte aan water oplosbare koolhydraten. Opvallend is het hogere NDF gehalte in de LAB kuil. De invloed op de pensfermentatie wordt in de volgende tabel weergegeven.

Tabel 8.4 Invloed van de verschillende kuilen op de pensfermentatie (Huhtanen et al., 1997).

	FA- kuil	LAB-kuil
pH	6,24	6,27
NH ₃ -N (mmol/l)	4,33	6,49
Totaal VVZ (mmol/l)	121,1	117,8
Azijnzuur (mol%)	64,2	61,1
Propionzuur (mol%)	17,5	21,3
Boterzuur (mol%)	15,2	14,3
Iso boterzuur	0,74	0,78
Iso valerianzuur	1,14	1,29
Valerianzuur	1,79	1,77

Een kuilfermentatie met toevoeging van melkzuurbacteriën heeft t.o.v. een kuil met een beperkte fermentatie a.g.v. het toevoegen van mierzuur een verlaging van de

azijnzuur/propionzuur verhouding tot gevolg. Dit is in overeenstemming met vele andere experimenten (Cushnahan et al, 1995, Keady et al., 1994, Keady et al., 2001, Sharp, 1994). Charmley (2001) concludeerde in een overzichtsartikel dat het zeer waarschijnlijk is dat melkzuur in de grassilage de propionzuur productie in de pens stimuleert.

De droge stof opname per dag van de LAB-kuil was lager dan de beperkt gefermenteerde kuil. De verteerbaarheid van droge stof, organische stof, stikstof en NDF was significant hoger bij de LAB kuil ten opzichte van de FA kuil. Een verhoging van de verteerbaarheid van NDF is verassend omdat melkzuurbacteriën niet celwandafbrekend zijn. Een hypothese voor de hogere verteerbaarheid van NDF is de hogere concentratie aan melkzuur in kuilen die uitgebreid gefermenteerd zijn. Via zure hydrolyse kunnen structurele koolhydraten worden omgezet in oplosbare suikers.

Voeding van de LAB-kuil leidde t.o.v. de beperkt gefermenteerde kuil tot een significant lagere microbiel eiwit productie in de pens. De lagere drogestof opname, verschuivingen in het vluchtige vetzuren patroon en de gevonden verminderde productie aan microbiel eiwit in de pens bij opname van de uitgebreid gefermenteerde kuil leidde in deze proef niet tot significante verschillen in melkproductie en productie aan grammen vet eiwit en lactose. Wel was er een duidelijke trend waarneembaar naar een lager vetgehalte in de melk en een lagere vetproductie per dag. In mindere mate werden eiwitgehalte en eiwitproductie per dag verlaagd. Dit is in overeenstemming met Van Vuuren et al. (1995), die concludeerde dat het vetgehalte van koeien die een beperkt gefermenteerde kuil verstrekt kregen hoger was in vergelijking met koeien die gevoerd werden met een uitgebreid gefermenteerde graskuil. Dat ondanks een hogere microbiële eiwitproductie van de beperkt gefermenteerde kuil, geen verschillen werden gevonden in eiwitproductie kan wellicht worden verklaard door de lagere propionzuurproductie in de pens bij opname van deze kuil. Hierdoor zal de bijdrage van aminozuren voor de gluconeogenese hoger zijn en worden de voordelen van de verhoogde productie aan microbiel eiwit afgevlakt (Huhtanen, 1997).

8.2 Resultaten en discussie in vitro onderzoek

In het jaar 2000 werd onderzoek uitgevoerd bij ID-Lelystad naar het gebruik van Effectieve Micro-organismen (EM) als graskuilverbeteraar. EM bevat een cocktail aan micro-organismen bestaande uit vijf groepen: melkzuurbacteriën, fotosynthetiserende bacteriën, gisten, actinomyceten en schimmels. EM wordt als kuilverbeteraar in twee vormen op de markt gebracht. EM-A dient zeven dagen voor gebruik aangemaakt te worden door melasse of suiker toe te voegen aan een EM-oplossing. EM-silage (EM-S) is een vergelijkbaar, maar kant en klaar product. In onderstaande tabel zijn de resultaten van het onderzoek over de graskuilkarakteristieken weergegeven.

Tabel 8.5 Effect van de toevoegmiddelen EM-A* en EM-S* op silagekarakteristieken van grassilages na 2 maanden incubatie (Wikselaar et al., 2000).

	Controle	EM-S	EM-A
Droge stof (g/kg)	451	440	436
Gew. Verlies (g/kg)	11,5	24,0	21,2
pH	5,11	4,42	4,36
Gisten (log kve / g)	2,15	< 2	< 2
Schimmels (log kve / g)	< 2	< 2	< 2
Melkzuur (g / kg ds)	41,9	79,3	85,2
Azijnzuur (g / kg ds)	7,6	36,2	39,2
Ethanol (g / kg ds)	11,2	17,7	11,7
1,2-Propaandiol (g / kg ds)	0	10,0	9,0
2,3-Butaandiol (g / kg ds)	0,3	0,3	0,3
Propionzuur (g / kg ds)	22	2,4	2,7
1-Propanol (g / kg ds)	0	2,3	2,9
Ammoniak (g / kg ds)	2,5	3,5	3,6

* EM-A is aan te maken product op basis van suikers en micro-organismen. EM-S is een kant en klaar aangeleverd product met dezelfde inhoud als EM-A.

Ten opzichte van de controle kuil vertoonden de met EM behandelde kuilen een hoger gewichtsverlies en hogere gehalten aan melkzuur en azijnzuur. De pH was hierdoor in de EM-kuilen duidelijk lager.

De uitkomst van de chemische analyse van de silages die verricht zijn door de WUR zijn weergegeven in de volgende tabel.

Tabel 8.6 Chemische analyse van de grassilages (weergegeven in g/kg ds)

	Controle	+ toevoeging EM
Droge stof (g/kg)	905.4	928
N	30.15	31.99
NDF	369	391
Ruw vet	29.1	36.6
As	86.9	93.0

Tabel 8.7 Effect van EM-silage op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie B).

Parameter	Eenheid	Grassilage	
		Controle	+ toevoeging
Hac	mmol/ g os	3,76	3,39 *
Hpr	mmol/ g os	1,40	1,48 *
Hibr	mmol/ g os	0,060	0,064
Hbr	mmol/ g os	0,52	0,57 *
Hival	mmol/ g os	0,13	0,11
Hval	mmol/ g os	0,12	0,10
Hac	%	64,3	60,9 *
Hpr	%	23,0	25,4 *
Hbr	%	8,5	9,7 *
Hac/Hpr		2,85	2,42 *
OS afbraak	%	87	85
NGR		3,33	3,02 *
NH ₃	mg/l	429	438
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,75	1,59 *

: verschil met het controlerantsoen is significant (: p<0,01).

Tabel 8.8 Effect van EM-silage op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per g geïncubeerde (inc) en g afgebroken (deg) organische stof.

Parameter	Eenheid	Grassilage	
		Controle	+ toevoeging
H ₂	μl/ 2 ml/ g os inc	22,7	28,2 #
H ₂	μl/ 2 ml/ g os deg	26,1	33,3
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os inc	3929	3803
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os deg	4464	4492
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os inc	444	406
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os deg	510	479
CH ₄ /CO ₂	%	10,2	9,6

#: verschil met het controlerantsoen is significant (#: p<0,1).

De gevonden verschuiving in de productie van verschillende vluchtige vetzuren in de pens bij vergelijking van beperkt en uitgebreid gefermenteerde grassilages komt overeen met de uitkomsten van verschillende experimenten die beschreven zijn in de literatuur.

8.3 Implicaties

Het gebruik van conserveringsmiddelen in gras- en maiskuil wordt op beperkte tot redelijke schaal toegepast in de rundveehouderij. Dit is afhankelijk van de weersomstandigheden. Bacteriemengsels zijn het meest gangbaar (ruim 60%). De argumentatie van de toepassing van een fermentatieverbeteraar zoals in het in vitro onderzoek is getest is de volgende:

- een verbeterde stabiliteit van de kuil
- vermindering groei
- verbeterde smaak en/ of opname van de kuil door de koe.

Een bepaalde extra zekerheid te creëren met betrekking tot de kwaliteit van de kuil lijkt ook goed te passen in het geheel van maatregelen op een melkveebedrijf om een zo gezond mogelijke veestapel te verkrijgen.

Een indicatie van de kosten van het product in het in vitro onderzoek is €17,70 per liter. De adviesdosering is 0,08 l/ton kuil. De extra kosten zijn daarmee €1,42 per ton kuil. Bij een ruwvoeropname van 24 kg geeft dit ruim 3 eurocent aan kosten per koe per dag.

In het licht van een betere en gegarandeerde kwaliteit van de productie lijkt een fermentatieverbeteraar een positieve rol te spelen. Vanuit oogpunt van de vermindering van methaan en een verhoging van de productie aan glucogene nutriënten zal een toepassing van een fermentatieverbeteraar van de kuil een positief effect kunnen hebben. Gezien de praktische omvang en mogelijkheden van de toepassing van een fermentatieverbeteraar is het belangrijk om meer inzicht te krijgen in de effecten.

9 LEVENDE GIST

9.1 Deskstudie

Vanuit melkproductiestudies werd gevonden dat gist een verhoging kan geven van de melk- en melkeiwitproductie bij koeien. De invloed op het vetgehalte was niet eenduidig. Er worden verschillende werkingsmechanismen genoemd in de literatuur. Deze zijn:

- Stimulering van het lactaatmetabolisme door bacteriën als *Selemonas ruminantium*
- Stabilisering van de pH in de pens
- Consumptie van zuurstof. Zuurstof kan onder meer in de pens komen via poreuze plantendelen. Door het consumeren van de zuurstof door de gistcellen worden vermoedelijk betere omstandigheden voor anaerobe cellulytische bacteriën gecreëerd.
- De ophoping van appelzuur in *Saccharomyces Cerevisiae* hetgeen mogelijk een rol speelt in de groei van melkzuurvormende bacteriën zoals *Selemonas ruminantium*.

Vanuit de literatuur zijn er aanwijzingen dat gist ook effecten geeft die direct of indirect een invloed heeft op de productie van methaan. In het onderstaande zijn deze aspecten samengevat:

- De totale productie aan vluchtige vetzuren is verhoogd (Arcos-Garcia et al., 2000).
- Bij substraten is via in vitro onderzoek een verlaging van de verhouding tussen azijnzuur en propionzuur waargenomen (Carro et al., 1992).
- Het gevormde malaat door gist (Newbold et al., 1996) geeft een verhoging van de propionzuurproductie (Carro et al., 1999).
- Een stimulering van levende gist om waterstof te gebruiken via reductieve acetogenese (Chaucheyras et al., 1995).

9.2 Resultaten en discussie in vitro onderzoek

De resultaten van de chemische analyses en het in vitro onderzoek zijn samengevat in de Tabellen 9.1-9.3.

Tabel 9.1 Chemische analyse van het controlemengvoer en het mengvoer gemengd met 0,4% levende gist (weergeven in g/kg ds).

	Controlemengvoer	Mengvoer met levende gist
Droge stof (g/kg)	939,7	939,4
Ruw as	89,1	89,2
Ruw vet	36,5	35,9
N	29,1	29,3

Tabel 9.2 Effect van levende gist op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie.

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen	0,2% geconcentreerde levende gist
Hac	mmol/ g os	3,77	3,72
Hpr	mmol/ g os	1,50	1,51
Hibr	mmol/ g os	0,064	0,065
Hbr	mmol/ g os	0,61	0,63
Hival	mmol/ g os	0,13	0,14
Hval	mmol/ g os	0,15	0,13
Hac	%	61,7	60,7 *
Hpr	%	23,7	24,3
Hbr	%	9,7	10,2
Hac/Hpr		2,63	2,54
OS afbraak	%	79	82 *
NH3		394	398
NGR		3,18	3,10 #
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,78	1,74

, #: verschil met het controlerantsoen is significant (: $p < 0,05$; #: $p < 0,1$).

Tabel 9.3 Effect van levende gist op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per g geïncubeerde (inc) en g afgebroken (deg) organische stof.

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen	0,2% geconcentreerde levende gist
H ₂	μl/ 2 mol/ g os inc	25,0	26,1
H ₂	μl/ 2 mol/ g os deg	31,8	31,8
CO ₂	μl/ 2 mol/ g os inc	3929	3805
CO ₂	μl/ 2 mol/ g os deg	5001	4627 *
CH ₄	μl/ 2 mol/ g os inc	478	424 *
CH ₄	μl/ 2 mol/ g os deg	609	515 *
CH ₄ /CO ₂	%	10,9	10,0 #

, #: verschil met het controlerantsoen is significant (: $p < 0,05$; #: $p < 0,1$).

De afbraak van organische stof na 72 uur was significant verhoogd na toevoeging van levende gist. Dit komt goed overeen met de verhoging van het aantal celwandafbrekende bacteriën zoals genoemd wordt in de literatuur (o.a. Newbold et al., 1996).

De toevoeging van levende gist resulteerde in een verlaging van het aandeel azijnzuur en een numerieke verlaging van de azijnzuur/propionzuurverhouding. De berekende methaanproductie was als gevolg daarvan lager. Een lagere methaanproductie is ook gevonden bij de analyse van methaan (Tabel 9.3).

Het gebruik van levende gist wordt op verschillende praktijkbedrijven toegepast. Er zijn een aantal experimenten verricht in en buiten Nederland naar het effect van de levende gist. De gebruikte dosering in het in vitro onderzoek was echter hoger dan de dosering die in de praktijk geadviseerd wordt. Samengevat kan het voordeel van de toevoeging van gist als volgt zijn:

- Hogere melk(eiwit)productie per koe van enkele procenten
- Een te verwachten lagere methaanproductie van enige procenten per koe
- Een sterkere verlaging van de methaan berekend per kg melk

10 GISTCULTUUR

10.1 Deskstudie

In de diervoeding worden gisten als additief toegevoegd aan voeders / rantsoenen. Deze variëren in de soort gist en het gebruik van bijvoorbeeld gistcellen en/ of metaboliëten daarvan. Gistculturen worden toegepast vanwege een potentieel gunstig effect op voeropname en melkproductie. Zom (2000) vond een significante verhoging van voeropname bij vaarzen en tweede kalfskoeien en tevens een significante verhoging van de melkproductie van tweede kalfskoeien als gevolg van het gebruik van gistcultuur. Dit onderzoek werd uitgevoerd in Nederland met 74 melkkoeien waarbij de toevoeging van 50 g gistcultuur gedurende 21 dagen prepartum tot 105 dagen postpartum werd geëvalueerd.

De achtergronden van het positieve effect van gistcultuur op melkproductie zijn niet geheel duidelijk. De meest genoemde hypothesen in de literatuur zijn:

- Stimulatie van de groei van pensbacteriën door verschillende groeifactoren, pro-vitamines en/of micro nutriënten in gefermenteerde gistcultuur
- Specifieke stimulatie van melkzuur benuttende bacteriën
- Verhoging van ammoniak opname in de pens waardoor de microbiële eiwitproductie verhoogd kan worden

Het effect van toevoeging van gistcultuur aan het rantsoen van melkkoeien op de vluchtige vetzuren en productie in de pens is door verschillende onderzoekers onderzocht. De resultaten van een in de literatuur vermeld in vitro onderzoek (Miller-Webster et al., 2002) staan weergegeven in de volgende tabel.

Tabel 10.1 Effect van gistcultuur (hoeveelheid equivalent aan 57 g/ koe/ dag) op de productie van vluchtige vetzuren in vitro (Miller-Webster et al., 2002).

	Controle	Gefermenteerde gistcultuur
Hac, mmol / dag	212	200
Hpr, mmol / dag	75	137
Hac, %	57,3	47,1
Hpr, %	20,4	32,0
Hibr, %	1,02	0,72
Hbr, %	18,1	16,0
Hival, %	0,62	0,53
Hval, %	2,60	3,70
Hac / Hpr	2,82	1,48
Totaal VVZ, mmol / dag	370	426

In dit onderzoek werd een significante verhoging van de propionzuurproductie gevonden bij toepassing van gefermenteerde gistcultuur. Tevens daalde het molaire percentage azijnzuur significant. De verhouding tussen azijnzuur en propionzuur daalde sterk. Aangenomen mag worden dat de productie van methaan aanzienlijk verminderd zal zijn.

In vivo experimenten toonden wisselende resultaten t.a.v. de invloed op vluchtige vetzurenproductie. Harrison et al. (1988) vond een verhoging van de propionzuur productie en een verlaging van de azijnzuurproductie als gevolg van de toepassing van gistcultuur. Geen of

zeer kleine veranderingen in productie van propionzuur en azijnzuur werden gevonden in onderzoek van Yoon et al. (1996) en Wiedmeier et al. (1987).

10.2 Resultaten en discussie in vitro onderzoek

Tabel 10.2 Chemische analyse van het controlemengvoer en het mengvoer gemengd met 0,5% gist (weergegeven in g/kg ds).

	Controlemengvoer	Mengvoer met gistcultuur
Droge stof (g/kg)	939,7	940,3
Ruw as	89,1	89,2
Ruw vet	36,5	36,1
N	29,1	29,1

In de volgende tabellen zijn de resultaten samengevat van het in vitro onderzoek in twee proefseries.

Tabel 10.3 Effect van gistcultuur op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie.

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen	Toevoeging gistcultuur	
			0,25% Adviesdosering	1% Hoge dosering
Hac	mmol/ g os	4,07	4,07	3,98
Hpr	mmol/ g os	1,41	1,34	1,34
Hibr	mmol/ g os	0,07	0,07	0,07
Hbr	mmol/ g os	0,69	0,70	0,70
Hval	mmol/ g os	0,15	0,15	0,15
Hac	%	64,3	64,6	64,3
Hpr	%	20,9	20,1	20,6
Hbr	%	10,0	10,3	10,3
Hac/Hpr		3,16	3,31	3,21
NH ₃		396	415*	405
NGR		3,26	3,39	3,32
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,98	2,07	1,97

: verschil met het controlerantsoen is significant (: $p < 0,05$).

Tabel 10.4 Effect van gistcultuur op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per monster in 2 ml gas en uitgedrukt per g geïncubeerde organische stof

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen	Toevoeging gistcultuur	
			0,25% Adviesdosering	1% Hoge dosering
H ₂	µl/ 2 ml gas	0,93 a	1,21 a	2,41 b
H ₂	µl/ 2 ml/ g os	2,22 a	2,89 a	5,76 b
CO ₂	µl/ 2 ml gas	1441	1446	1470
CO ₂	µl/ 2 ml/ g os	3444	3451	3509
CH ₄	µl/ 2 ml/ gas	244 ab	233 a	254 b
CH ₄	µl/ 2 ml/ g os	584 a	555 a	605 b
CH ₄	%	14,4 ab	13,9 a	14,7 b

a,b: Waarden binnen een rij zonder gemeenschappelijke letter verschillen significant (p<0,05)

Tabel 10.5 Effect van gistcultuur op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie B)

Parameter	Eenheid	Rantsoen	
		Controle	+ adviesdosering (0,25 %) gistcultuur
Hac	mmol/ g os	3,77	3,72
Hpr	mmol/ g os	1,50	1,52
Hibr	mmol/ g os	0,064	0,068
Hbr	mmol/ g os	0,61	0,64
Hival	mmol/ g os	0,13	0,12
Hval	mmol/ g os	0,15	0,15
Hac	%	61,7	60,9 #
Hpr	%	23,7	24,4
Hbr	%	9,7	10,1
Hac/Hpr		2,63	2,51
OS afbraak	%	79	82
NH ₃		394	410
NGR		3,18	3,11
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,78	1,77

#: verschil met het controlerantsoen is significant (#: p<0,1).

Tabel 10.6 Effect van gistcultuur op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per g geïncubeerde (inc) en g afgebroken (deg) organische stof (proefserie B).

Parameter	Eenheid	Rantsoen	
		Controle	+ adviesdosering (0,25 %) gistcultuur
H ₂	μl/ 2 mol/ g os inc	25,0	23,5
H ₂	μl/ 2 mol/ g os deg	31,8	28,9
CO ₂	μl/ 2 mol/ g os inc	3929	3924
CO ₂	μl/ 2 mol/ g os deg	5001	4815
CH ₄	μl/ 2 mol/ g os inc	478	480
CH ₄	μl/ 2 mol/ g os deg	609	589
CH ₄	%	10,9	11,0

In proefserie A waren de effecten van gistcultuur op de productie van propionzuur en azijnzuur gering. Wel werd een (niet significante) verlaging van de (gemeten) methaan productie gevonden bij de adviesdosering van 0,25%. In proefserie B werd het molaire percentage azijnzuur significant verlaagd en het molaire percentage propionzuur (niet significant) verhoogd. Geen significante verschillen werden gevonden in gemeten methaanproductie.

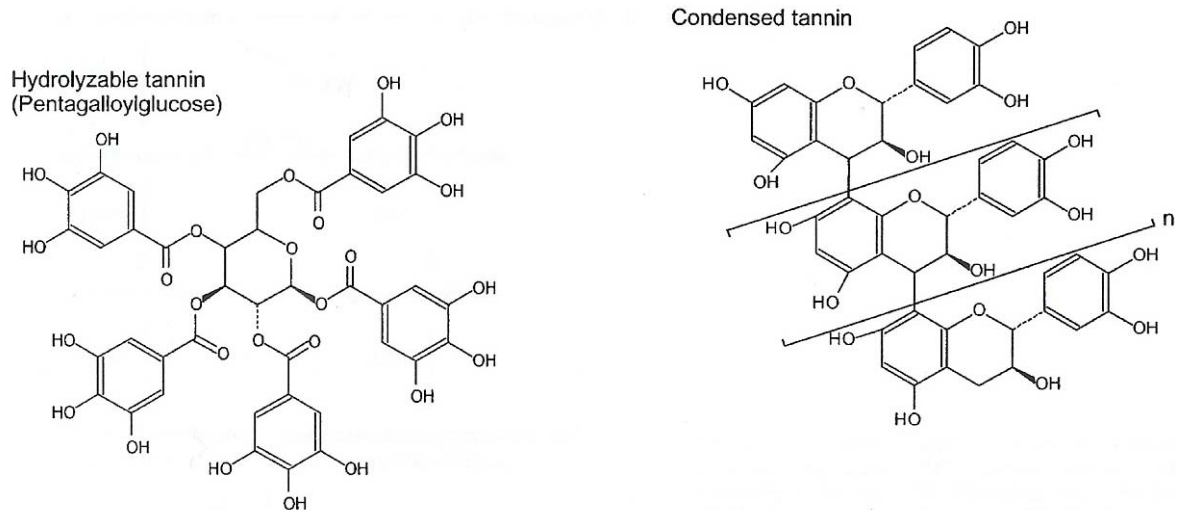
Gistculturen worden met name in de Verenigde Staten op grote schaal gebruikt in de voeding van melkkoeien. De belangrijkste redenen voor gebruik zijn met name vanwege effecten t.a.v. een stimulatie van de voeropname en een positief effect op de productie. Volgens de leverancier bedraagt de productieverhoging gemiddeld 1,3 kg melk per koe per dag bij toepassing van 50 gram per koe per dag gistcultuur (gemiddelde van Europese experimenten met in totaal meer dan 1000 melkkoeien). De kosten van het gebruik van gistcultuur bedragen ongeveer €34 per koe per jaar.

11 TANNINEN

11.1 Deskstudie

Tanninen zijn polyfenolische componenten en komen wijd verbreid in planten voor. Tanninen worden onderscheiden als hydrolyseerbare en gecondenseerde. Gecondenseerde tanninen zijn flavonoïde polymeren. Hydrolyseerbare tanninen zijn esters van galluszuur.

In de onderstaande figuur is een structuurformule van de twee groepen tanninen weergegeven.



Figuur 11.1 Structuurformules van hydrolyseerbare en gecondenseerde tanninen (uit McMohan et al., 2000).

In éénmagige dieren kunnen tanninen een verlaging geven van de verteerbaarheid van eiwit. Bij herkauwers worden in de literatuur een aantal voordelen genoemd van tanninen. Zij kunnen een rol spelen in de preventie van gasophoping in de pens. Tevens kunnen tanninen complexen met eiwit vormen zodat dit niet in de pens beschikbaar komt (zie overzichten van Hill en Tamminga, 1998; McMohan et al., 2000). Ook kunnen tanninen diverse enzymen remmen. Door een remming van proteases vindt er minder eiwitafbraak plaats. Hierdoor wordt er minder ammoniak gevormd.

Makkar en anderen (1995) onderzochten de invloed van tanninen en saponinen op de in vitro fermentatie van hooi door een pensflora. Door de tanninen daalde de hoeveelheid gevormde azijnzuur terwijl de hoeveelheid gevormde propionzuur toenam. De efficiëntie van de microbiële eiwitsynthese werd groter door de combinatie van tanninen en saponinen. De gecondenseerde tanninen werden niet afgebroken door de pensmicro-organismen in dit in vitro systeem. Roth et al. (2001) deden onderzoek naar de invloed van tanninenfenolen op de methaanproductie in vitro. Zij vonden een dosis respons relatie tussen de methaanproductie en de dosering van sojaschroot dat behandeld werd met hydrolyseerbare tanninen afkomstig van tamme kanstanje. Sliwinski et al. (2002) voerden in vivo onderzoek uit naar de methaanemissie bij schapen. Een verhoging van 1 naar 2 g tannine uit tamme kanstanje gaf een numerieke verlaging van de methaanemissie. In vergelijking met de negatieve controle was echter de methaanemissie verhoogd door de toevoeging van tanninen.

11.2 Resultaten en discussie in vitro onderzoek

Voor het in het in vitro onderzoek zijn twee concentraties tanninen (afkomstig van tamme kastanje) gemengd met sojaschroot en als grondstof op deze manier ingebracht. De chemische analyse van de sojaschroot is weergegeven in Tabel 11.1. De resultaten van het in vitro onderzoek zijn samengevat in Tabel 11.2 en 11.3.

Tabel 11.1 Chemische analyse van de sojaschroot zonder en met tannine (in g/kg ds).

	Sojaschroot	Sojaschroot + 1,3% tannine	Sojaschroot + 5,2% tannine
Droge stof (g/kg)	949,8	953,8	948,3
Ruw as	66,3	64,6	62,5
Ruw vet	14,0	14,0	12,8
N	84,9	84,1	80,3

Tabel 11.2 Effect van tannine op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie B)

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen met 30% sojaschroot	Dosering tannine (g/ kg soja)	
			Laag 13	Hoog 52
Hac	mmol/ g os	3,71	3,63	3,49 *
Hpr	mmol/ g os	1,48	1,45	1,40
Hibr	mmol/ g os	0,083	0,077	0,068 *
Hbr	mmol/ g os	0,64	0,57	0,63
Hival	mmol/ g os	0,18	0,19	0,15 *
Hval	mmol/ g os	0,17	0,15	0,15
Hac	%	60,9	60,2	60,8
Hpr	%	23,0	23,1	23,3
Hbr	%	10,2	10,7	10,5
Hac/Hpr		2,70	2,65	2,65
OS afbraak	%	83	84	83
Ammoniak	mg/l	525	521	501
NGR		3,25	3,21	3,23
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,76	1,73 #	1,66 *

, #: verschil met het controlerantsoen is significant (: $p < 0,05$; #: $p < 0,1$).

De productie van Hibr en Hival was significant lager bij de hoge dosering van tanninen. Hibr en Hival worden geproduceerd uit afbraakproducten van leucine, isoleucine en valine. De verlaging van Hibr en Hival bij het substraat met tanninen komt goed overeen met de numerieke effecten op de ammoniakproductie. Het is duidelijk dat de afbraak van eiwit in de pensvloei stof wordt verminderd met de toevoeging van tanninen. Het resultaat van ammoniakvorming komt goed overeen met de resultaten die weergegeven zijn in de literatuur.

Tabel 11.3 Effect van tannine op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per g geïncubeerde (inc) en g afgebroken (deg) organische stof (proefserie B).

Parameter	Eenheid	Controlerantsoen met 30% sojaschroot	Dosering tanninen (g/ kg soja)	
			Laag 13	Hoog 52
H ₂	µl/ 2 mol/ g os inc	29,6	27,3	31,4
H ₂	µl/ 2 mol/ g os deg	35,2	32,4	37,8
CO ₂	µl/ 2 mol/ g os inc	3759	3821	3783
CO ₂	µl/ 2 mol/ g os deg	4480	4534	4553
CH ₄	µl/ 2 mol/ g os inc	453	480	462
CH ₄	µl/ 2 mol/ g os deg	541	569	556
CH ₄	%	10,8	11,2	10,9

De totale productie van azijnzuur was significant verlaagd bij de hoge dosering aan tanninen. Als gevolg daarvan was de berekende methaanproductie ook verlaagd. De verlaagde vorming van azijnzuur is niet gepaard gegaan met een verlaagde organische stof afbraak op 72 uur. Er is geen effect gevonden van tanninen op de geanalyseerde gehalten van methaan. Voor zover ons bekend is er één studie gepubliceerd met sterke reducties van methaan in vitro (Roth et al., 2001).

11.3 Gevolgen voor de praktijk

Het is in het verleden bewezen dat tanninen een rol kunnen spelen in het N metabolisme in de pens. Vermindering van de vorming van ammoniak, maar ook van gasophoping zijn als voordelen te beschouwen.

In hoofdstuk 3 is een inschatting gemaakt van de afbraaksnelheid van bestendige sojaproducten. Het gebruik van behandelde soja levert in de praktijk een hogere DVE waarde. Op grond van de afbraaksnelheid van eiwit in de pens is tevens een verlagend effect op de methaanproductie te verwachten. Een bestendiger eiwit zou mogelijk bereikt kunnen worden via een behandeling met tanninen. Het effect op de vorming and Hibr en Hival in het in vitro onderzoek ondersteunt deze bevinding. De verwachting is dat het bestendiger maken van eiwit en de vermindering van de ammoniakvorming een gunstig voedings- en milieutechnisch effect met zich meebrengt.

12 KRUIDEN

12.1 Deskstudie

In de natuur eten herkauwers vele soorten planten. Niet alleen grassen, maar ook diverse kruiden en bladeren van bomen en struiken. In de hedendaagse weilanden in West-Europa groeien vooral veel soorten gras maar bijna geen kruiden meer. Het is bekend dat kruidachtige planten vaak een hoog gehalte aan mineralen en spoorelementen hebben (Kirchgesner, 1997). Soms hebben gewone onkruiden een hoog gehalte aan bijzondere spoorelementen. Zo bevat de wortel van de paardebloem een tamelijk hoog gehalte aan kobalt, vanadium en germanium. Volgens de fytotherapie, die in Duitsland veel aanhangers heeft, is de paardebloem een geneeskrachtige plant. Andere kruiden bevatten antimicrobiële stoffen. Voorbeelden van deze kruiden zijn: oregano, tijm, gulden roede, karwij en knoflook.

Uit onderzoek is gebleken dat door de toepassing van sommige antibiotica de pensflora op een gunstige wijze kan worden gewijzigd. Door de toepassing van Monensin kon het aantal protozoën in de pens sterk worden verlaagd. Hierdoor nam de vorming van propionzuur toe en nam de vorming van azijnzuur af. Tevens verminderde de vorming van methaan. Door deze veranderingen werd de efficiëntie van de pensfermentatie verbeterd.

Broudiscou et al. (2000) onderzochten de invloed van 13 plantenextracten op de fermentatie van pensvloeistof in een in vitro systeem. Het extract van de wortel van de akkerpaardestaart (*Equisetum arvense*) verlaagde het aantal protozoën en verminderde de methaanvorming, terwijl de azijnzuur/propionzuurverhouding werd verlaagd. Het extract van de bladeren van *Salvia officinalis* verminderde wel de vorming van methaan, maar het aantal protozoën werd nauwelijks verlaagd. Ook de azijnzuur/propionzuurverhouding veranderde nauwelijks. De extracten van de bloemen van lavendel (*Lavandula officinalis*) en van de gulden roede (*Solidago virgaurea*) hadden een stimulerende invloed op de fermentatie. In mindere mate was dit het geval met het extract van de bloemen van *Arnica chamissonis*. Deze drie extracten van de bloemen gaven alle een flinke toename van de methaanproductie te zien. Het extract van *Ginkgo biloba* remde de productie van methaan sterk. De productie van azijnzuur werd daarentegen sterk gestimuleerd. Het extract van duizendschoon (*Alchemilla millefolium*) remde de vorming van methaan in mindere mate. Maar het stimuleerde wel de azijnzuurvorming. Wang en anderen (1998) onderzochten het effect van een extract van yucca (*Yucca schidigera*) op een cultuur van pensmicro-organismen in vitro (Rusitec-systeem). Het extract van yucca bevat veel saponinen met een steroiden-structuur. Het aantal protozoën bleek sterk af te nemen. De concentratie van ammoniak, van isoboterzuur en van iso-valeriaanzuur was gedurende enkele dagen duidelijk verlaagd. Dit wijst er op dat de afbraak van eiwit verminderd was. De hoeveelheid gevormd methaangas leek niet te veranderen door de toevoeging van het extract van yucca. Het bleek dat de invloed van het yucca-extract na ongeveer twee weken verdwenen was. Vermoedelijk vond er een adaptatie van de microflora plaats. Newbold et al. (1997) onderzochten het effect van diverse extracten van bladeren van Afrikaanse boomsoorten op cultures van pensmicro-organismen in vitro en in vivo. Een extract van de bladeren van de acacia (*Acacia aneura*) gaf een sterke afname van het aantal bacteriën te zien. Het extract van de bladeren van *Sesbania sesban* bleek zeer toxisch voor de protozoën in vitro te zijn. Tevens werden experimenten met enkele schapen uitgevoerd. Ook nu bleek het extract van *Sesbania sesban* het aantal protozoën sterk te verminderen. Maar na ongeveer een week herstelde de pensflora zich.

Asiegbu et al. (1995) onderzochten het effect van diverse fenolische verbindingen op de fermentatie van cellulose door een pensflora in vitro. De vorming van methaangas werd sterk

verminderd door de toevoeging van 0,5 % ferullazuur, trans-kaneelzuur, vanilline of gaiacol. Deze fenolen verminderden de vorming van propionzuur. De vorming van azijnzuur werd iets geremd. De toevoeging van een mengsel van metabolieten van *Aspergillus flavus* resulteerde in een forse stijging van de productie van methaangas. Ook de hoeveelheden acetaat en propionaat namen sterk toe.

Evans en Martin (2000) onderzochten de invloed van thymol op de microorganismen in de pens in vitro. Thymol is een antimicrobiële stof en komt voor in diverse kruiden als tijm en oregano. Eerst werd het effect van thymol op de groei van *Streptococcus bovis* en van *Selenomonas ruminantium* onderzocht. Een dosering van 90 micromol thymol per ml gaf een remming van 75 % van de groei van beide organismen. Daarna werd de invloed van thymol op een gemengde pensflora in vitro onderzocht. Tot een dosering van 200 microgram thymol per ml nam de vorming van lactaat toe, de productie van propionaat daalde iets. De hoeveelheid waterstof nam af. Een hoge dosering van thymol van 400 microgram per ml remde de fermentatie in sterke mate. De vorming van methaan, acetaat, propionaat en lactaat werd sterk geremd. De acetaat/propionaatverhouding werd groter bij hogere doseringen van thymol. In een overzichtsartikel wordt aangegeven dat etherische oliën een verlaging van de ammoniakvorming in de pens kunnen geven (Wallace, 2002). Dit zou een gevolg zijn van een remming van zogenaamde hyper ammoniak producerende bacteriën en een algemene verminderde afbraaksnelheid van materiaal.

12.2 Resultaten en discussie in vitro onderzoek

Er is eigenlijk zeer weinig bekend over de invloed van specifieke kruidenextracten op de pensfermentatie. Er zijn talloze kruidenextracten. Het aantal op te nemen substraten in het in vitro onderzoek is beperkt. Er is gekozen om een sterk antimicrobiële etherische olie (oregano) in twee concentraties in het in vitro systeem te onderzoeken. De resultaten zijn vermeld in Tabel 12.1 en 12.2.

Tabel 12.1 Effect van etherische olie op de productie van vluchtige vetzuren (VVZ) per geïncubeerde hoeveelheid organische stof (os), de verhouding tussen VVZ en de berekende methaanproductie op grond van de VVZ productie (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Toevoeging kruidenextract		
		Controlerantsoen	0,1%	1%
Hac	mmol/ g os	4,07	3,90	4,02
Hpr	mmol/ g os	1,41	1,30	1,34
Hibr	mmol/ g os	0,07	0,07	0,07
Hbr	mmol/ g os	0,69	0,66	0,69
Hval	mmol/ g os	0,15	0,15	0,15
Hac	%	64,3	64,5	64,3
Hpr	%	20,9	20,2	20,3
Hbr	%	10,0	10,1	10,2
Hac/Hpr		3,16	3,29	3,25
NGR		3,26	3,36	3,33
CH ₄ berekend	mmol/ g os	1,98	1,92	1,98

Tabel 12.2 Effect van etherische olie op de productie van H₂, CO₂ en CH₄ (via gasmonsters en de HPLC berekend). De resultaten zijn berekend per monster in 2 ml gas en uitgedrukt per g geïncubeerde organische stof (proefserie A).

Parameter	Eenheid	Toevoeging kruidenextract		
		Controlerantsoen	0,1%	1%
H ₂	μl/ 2 ml gas	0,93	1,61	1,62
H ₂	μl/ 2 ml/ g os	2,22	3,86	3,87
CO ₂	μl/ 2 ml gas	1441	1456	1446
CO ₂	μl/ 2 ml/ g os	3444	3484	3454
CH ₄	μl/ 2 ml/ gas	244	263 *	255
CH ₄	μl/ 2 ml/ g os	584	629 *	609
CH ₄	%	14,4	15,3 *	15,0

*: verschil met het controlerantsoen is significant ($p < 0,05$).

Er was geen invloed van de etherische olie de productie van vluchtige vetzuren. Blijkbaar hebben deze betrekkelijke hoge concentraties aan oregano geen invloed op de flora dat zich uit in een verandering van de vorming van vluchtige vetzuren. In het onderzoek met de laagste concentratie aan etherische olie was het geanalyseerde methaangehalte verhoogd. Het mechanisme achter deze bevinding is vooralsnog niet duidelijk.

13 METHAAN REDUCERENDE MOGELIJKHEDEN IN DE PRAKTIJK

13.1 De inschatting van de methaanproductie

In hoofdstuk 2 is een korte beschrijving gegeven van de grootte van de rundveestapel en de productie van methaan. Hierbij wordt de relatie tussen de melkproductie en de methaanproductie aangehaald.

Eén van de doelen van het onderhavige onderzoek is om de productie van methaan in te schatten via de voeding van de koe. Als tweede stap binnen dit doel is de methaanproductie op te kunnen nemen in de huidige voeroptimalisering. Hiertoe dient de productie van methaan gekoppeld te worden aan individuele ruwvoerders en krachtvoedergrondstoffen.

Voor de inschatting van de methaanproductie kan onderscheid gemaakt worden tussen een empirische en een mechanistische berekening. Bij de empirische berekening richt men zich op rekenkundige verbanden tussen nutriënten en de methaanproductie. Bij de mechanistische berekening wordt de methaanproductie berekend vanuit de productie van vluchtige vetzuren.

Via verschillende modellen is het mogelijk om een inschatting te geven van de methaanproductie vanuit de voeding. Het empirische model van Moe en Tyrrell (1979) wordt door verschillende auteurs genoemd als beste (Veen, 2000). Voor een waardering van de methaanproductie van individuele grondstoffen en het gebruik in de voeroptimalisering blijkt het empirische model van Moe en Tyrrell (1979) niet bruikbaar (zie hoofdstuk 3 voor meer informatie).

Het mechanistische model van Dijkstra geeft een betere voorspellende waarde voor de methaanproductie. Basisgegevens daarvan zijn gebruikt om de productie van methaan te berekenen van individuele ruwvoerders en krachtvoedergrondstoffen. Het is goed mogelijk gebleken om voor een redelijk groot aantal individuele ruwvoerders en krachtvoedergrondstoffen de methaanproductie te schatten vanuit de vluchtige vetzuren. De directe koppeling van de berekende methaanproductie is nodig om aan te sluiten met de huidige voerformulering. De nadelen van de formule van Moe en Tyrrell worden op deze manier ondervangen.

Voor een inschatting van de productie van vluchtige vetzuren vanuit een individuele grondstof zijn de volgende gegevens nodig:

- chemische analyse van de grondstof
- afbraakkarakteristieken in de pens van de nutriënten in de grondstof
- de vorming van individuele vluchtige vetzuren per mol gefermenteerde nutriënten (gebaseerd op grond van in vivo waarnemingen bij melkgevend rundvee)

De methaanproductie wordt vanuit de vluchtige vetzuren berekend met de volgende formule (in mol): $CH_4 = 0,5 H_{ac} - 0,25 H_{pr} + 0,5 H_{br} - 0,25 H_{val}$

De resultaten van de inschatting van de methaanproductie van individuele grondstoffen zijn weergegeven in hoofdstuk 3. Het gebruik van methaanproductie in mengvoer- of rantsoenoptimalisering is beschreven in hoofdstuk 5.

In de onderstaande tabel zijn de inschattingen van de methaanproductie vanuit de vluchtige vetzuren gebruikt voor het inschatten van de methaanproductie van melkkoeien per jaar. Als uitgangssituatie is een gemiddelde melkproductie van 7700 kg/ koe / 305 dagen genomen.

Voor vers gras zijn nog geen inschattingen voorhanden zodat de inschattingen in Tabel 13.1 gemaakt zijn met silages.

Tabel 13.1 Inschattingen van de methaanproductie per koe per jaar op basis van de productie van vluchtige vetzuren in de pens van een koe met een melkproductie van 7700 kg per 305 dagen. Uitgangspunten zijn een basisrantsoen bestaande uit volledig graskuil en een basisrantsoen bestaande uit 50% graskuil en 50% snijmaiskuil.

Ruwvoer:	100% graskuil	50% graskuil, 50% snijmaiskuil
Graskuil (kg ds/ dag)	12,8	6,4
Snijmaiskuil (kg ds/ dag)		6,4
Mengvoer (kg ds/dag)	5,2	4,8
<u>Methaanproductie*</u>		
Graskuil (g/dag)	253	127
Snijmaiskuil (g/dag)		105
Krachtvoer (g/dag)	104	96
Totaal (g/dag)	357	328
Totaal (kg/koe/jaar)	130,3	119,7

*: methaanproductie

-graskuil = 19,79 g/ kg ds (zie Tabel 3.6)

-snijmaiskuil = 16,39 g /kg ds (zie Tabel 3.6)

-mengvoer = 20 g/ kg ds (globaal gemiddelde; de methaanvorming is sterk afhankelijk van de samenstelling van het mengvoer)

De methaanproductie van het rantsoen met 50% snijmais in het ruwvoer is lager dan die voor 100% graskuil. Het verschil is ongeveer 9%. De opname van krachtvoer is iets lager om een energetisch (VEM) gelijkwaardig rantsoen te verkrijgen.

Uitgaande van een rantsoen met 25% snijmais in het ruwvoer is de methaanproductie via de voeding in te schatten op ongeveer 125 kg/ koe/ jaar (gemiddelde van 119,7 en 130,3) bij een gemiddelde productie van 7700 kg melk in 305 dagen. De berekeningen in dit project hebben betrekking op de methaanproductie in de pens. Ongeveer 90-95% van de methaanproductie door de koe wordt uitgescheiden via de pens. De andere 5-10% wordt in de dikke darm geproduceerd. De inschatting van de methaanproductie per koe is dan 130-135 kg per jaar. Veen berekende een productie van 134 kg methaan per koe per jaar op grond van onderzoek uit het verleden. Het is goed denkbaar dat deze waarde op dit moment iets lager zal zijn door verbeteringen van de efficiëntie. Deze waarden zijn iets hoger dan de door IMAG gemeten productie (125 kg per koe per jaar) die onlangs genoemd is in de Staatscourant (nr 70; 9 april 2003). De berekende waarden van rond de 130-135 kg methaan per koe per jaar behoren bij koeien die een hogere voeropname en gewicht hebben dan het gemiddelde. In de berekening van Van Amstel et al. (1993) wordt een methaanproductie van melkkoeien aangehouden van 102 kg per jaar. De bijbehorende voeropname bij hun berekening is 14 kg ds per dag. De gemiddelde dagelijkse voeropname ligt vaak rond de 15 tot 19 kg ds. In het bovenstaande

voorbeeld (Tabel 13.1) is een hoge voeropname van ± 18 kg ds per dag aangehouden. De door ons berekende methaanproductie, omgerekend per kg ds voeropname, is vrijwel gelijk aan de emissiefactoren die aangegeven zijn door Van Amstel et al. (1993).

Het doel van dit project is echter niet om de methaanproductie per koe per jaar exact in te kunnen schatten. Het project is uitgevoerd om inzicht te verkrijgen in de sturing van de methaanproductie bij lacterende koeien via de voeding en de methaanproductie te koppelen aan individuele grondstoffen en ruwvoerders ten behoeve van een methaansturende voerformulering.

13.2 Reductie van methaan via de voeding

Ruwvoer

Middels de koppeling van de methaanproductie aan ruwvoeder en krachtvoergrondstoffen is het mogelijk om eisen te stellen aan de methaanproductie in de rantsoenoptimalisering. Sturing van de methaanproductie via ruwvoer lijkt het meest voor de hand te liggen via bijvoorbeeld snijmais- of graansilage. Met deze silages is de berekende methaanproductie per VEM eenheid 25% lager in vergelijking met graskuil. Formulering van een rantsoen met 20% snijmaiskuil en 30% graskuil in vergelijking met 50% graskuil leidt tot een berekende verlaagde methaanproductie van 7-8%. Bij een berekening via het dynamisch mechanistisch pensmodel van Dijkstra werd een reductie van 6-7% gevonden op pensniveau. Het gebruikte areaal snijmais is in de afgelopen decennia toegenomen. De oppervlakte verbouwde snijmais is verdrievoudigd ten opzichte van 1975 (CBS, 2002), maar gestabiliseerd in de jaren 90.

De mate waarin echter een keuze kan worden gemaakt in het ruwvoer is sterk afhankelijk van de bedrijfssituatie. Inzicht in regio en bedrijfsspecifieke situaties kan duidelijkheid geven over de mogelijkheden van een reductie van de methaanvorming.

Mengvoer

De berekende methaanproductie van praktische mengvoerders van Fuite varieert van ongeveer 16 tot 22 g/kg. Een wezenlijk deel van het rantsoen van hoogproductief melkvee bestaat uit krachtvoer. De sturing in het soort krachtvoer bij hoogproductieve koeien kan dan ook in grote mate bijdragen aan de methaanreductie. Bij de advisering van een (bestendig) zetmeelrijk mengvoer ligt een stimulering van de melkeiwitproductie en een verbetering van de diergezondheid ten grondslag. Een mengvoer in een dergelijke situatie leidt tot een lagere methaanproductie per kg mengvoer in de orde van grootte van 20%. Indien in de totale lactatie een derde van het rantsoen uit dit mengvoer zal bestaan, wordt de totale berekende methaanproductie verminderd met 6-7% in de lactatieperiode. Ook via berekeningen van het model van Dijkstra waarin een standaard mengvoer is vervangen door 20% mais in het mengvoer, wordt een verlaging van de methaanproductie gevonden van 4-5%. De keuze voor een (in dit stadium onbedoeld) methaanreducerend mengvoer start in feite met de wens om dierprestatie en gezondheid en het economisch resultaat te verbeteren. Het economisch voordeel is afhankelijk van onder meer de veebezetting, het aanwezige ruwvoer, het productieniveau en de mogelijkheden om twee soorten mengvoerders aan het melkvee aan te bieden.

Additieven

In de praktijk worden verschillende producten gebruikt in de voeding van rundvee en bij conservering van silages. Deze producten worden ingezet voor verschillende doeleinden.

Voorbeelden van doeleinden zijn preventie van pensverzuring, verhoging van de melkeiwitproductie, verbetering van de gezondheid en vruchtbaarheid of preventie van bijvoorbeeld broei van silages.

Op grond van de literatuur lijken verschillende producten (aangemerkt hier als additieven) een effect te kunnen hebben op de verhouding van azijnzuur/propionzuur en de emissie van methaan. Effecten van additieven op de vluchtige vetzuren en methaanproductie wordt niet als zodanig opgenomen in het model van Dijkstra en de, in dit project ontwikkelde variant waarbij het mogelijk is methaanproductie te koppelen aan een individuele grondstof. Om inzicht in het effect op de productie van methaan te verkrijgen is in vitro onderzoek uitgevoerd. De effecten in de literatuur en het in vitro onderzoek zijn in onderstaande tabel samengevat.

Tabel 13.2 Kwalitatief effect* van additieven en onverzadigd vet op de verlaging van de azijnzuur/ propionzuurverhouding en de methaanproductie.

Producten	Literatuur		In vitro onderzoek	
	Hac/Hpr	Methaan	Hac/Hpr	Methaan
Gisten	0/+	0/+	0/+	0/+
Tanninen	0/+	0/+	0/+	0/+
Zouten van organische zuren	+	+	+	0/+
Vetten (onverzadigd)	0	+	0	++
Fermentatiebevorderaar silages	++	?	++	+

* 0: geen effect

+: in het algemeen een gunstig effect of numeriek effect

++: duidelijk gunstig effect

Op grond van de literatuur en het in vitro onderzoek blijkt de rol van additieven in de vermindering van methaanproductie substantieel te zijn. Bij additieven die ingezet worden ter verhoging van de melkproductie is het effect op de methaanproductie per liter melk nog hoger. Gezien het aandeel ruwvoer in het rantsoen lijkt de rol die vermoedelijk bestaat voor fermentatiebevorderaars groot. De hoogte van de impact van het gebruik van additieven is op dit moment nog niet voldoende nauwkeurig aan te geven.

14 CONCLUSIES

De belangrijkste conclusies uit het onderzoek zijn hier puntsgewijs samengevat.

Voor de inschatting van de methaanproductie kan onderscheid gemaakt worden tussen een empirische en een mechanistische berekening. Bij de empirische berekening richt men zich op rekenkundige verbanden tussen nutriënten en de methaanproductie. Bij de mechanistische berekening wordt de methaanproductie berekend vanuit de productie van vluchtige vetzuren.

Empirische formules om de methaanproductie van een rantsoen te voorspellen zijn ongeschikt om de productie van methaan per kg droge stof opname van individuele grondstoffen in te schatten.

Het dynamisch mechanistisch model van Dijkstra, dat in het algemeen beschouwd wordt als de beste voorspellende waarde voor methaanproductie, is als basis gebruikt om de productie van methaan te berekenen. Het is goed mogelijk gebleken om voor een redelijk groot aantal individuele ruwvoerders en krachtvoedergrondstoffen de methaanproductie te schatten vanuit de vluchtige vetzuren.

Onverzadigde vetzuren fungeren als waterstofacceptor en kunnen de methaanproductie verlagen. Voor de schatting van de methaanproductie dient een correctie gemaakt te worden voor onverzadigde vetzuren. Voor een betrouwbare waardering van de productie van methaan bij opname van individuele grondstoffen is het essentieel om de mate van methaanverlaging te differentiëren naar vetsoort.

De productie van methaan per eenheid VEM is bij een graskuil ongeveer 30% hoger dan bij snijmais- of graansilage.

In de praktijk is er een groot verschil in de berekende methaanproductie tussen de verschillende mengvoedersoorten. Verschillen kunnen meer dan 25% bedragen.

Gebruik van melkeiwitstimulerende voeders resulteren niet alleen in meer eiwitproductie, maar ook in een verlaging van de methaanemissie door melkkoeien.

Formulering van rantsoenen en mengvoeders met als doel de methaanproductie te verlagen leiden tot een hogere voerprijs per kg, die gecompenseerd wordt door de additionele voordelen voor productie en gezondheid van lacterend melkvee.

Fermentatie van bietenpulp in pensvloeistof geeft, zoals verwacht een hoge azijnzuurproductie. De berekende methaanproductie is als gevolg daarvan relatief hoog. In het in vitro onderzoek bleek de geanalyseerde productie van methaan bij bietenpulp lager te zijn. Vooralsnog nemen wij aan dat er bij de afbraak van pectines tot azijnzuur minder waterstof wordt gevormd zodat de methaanproductie minder is dan op grond van de productie aan vluchtige vetzuren kan worden verwacht.

Fermentatiebevordering in silages leidt mogelijk bij verstrekking aan herkauwers tot een verlaging van de azijnzuur/propionzuurverhouding in de pens. In vitro onderzoek in dit project bevestigde deze waarneming en toonde eveneens een significante verlaging van de

berekende methaanproductie en een numerieke verlaging van het geanalyseerde gehalte aan methaan.

Op grond van de literatuur en het in vitro onderzoek kunnen additieven zoals zouten van organische zuren, levende gist en gistcultuur een positieve bijdrage leveren aan de reductie van methaan.

Voor het bereiken van een gewenste reductie van de methaanemissie via de voeding van melkkoeien is het essentieel dat er een combinatie van maatregelen wordt opgenomen. Deze maatregelen betreffen de samenstelling van het ruwvoer en het krachtvoer en het gebruik van (natuurlijke) additieven.

LITERATUURLIJST

- Amstel, A.R. van, R.J. Swart, M.S. Krol, J.P. Beck, A.F. Bouwman & K.W. van der Hoek (1993). Methane, the other greenhouse gas. Research and policy in the Netherlands. RIVM report 481507-001.
- Arcos-Garcia, J. L., F. A. Castrejon, G.D. Mendoza & Preze-Gavilan (2000). Effect of two commercial yeast cultures with *Saccharomyces cerevisiae* on ruminal fermentation and digestion in sheep fed sugar cane tops. *Livestock Prod. Sci.* 63: 153-157.
- Asiegbu, F.O, A. Paterson, I.M. Morrison & J.E. Smith (1995). Effects of cell wall phenolics and fungal metabolites on methane and acetate production under in vitro rumen conditions. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 41: 475-485
- Asanuma, N., M. Iwamoto & T. Hino (1999). Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms in vitro. *J. Dairy Sci.* 82: 780-787.
- Bannink, A., Kogut, J., Dijkstra, J., France, J., Tamminga, S. & Van Vuuren, A.M. (2000). Modelling production and portal appearance of volatile fatty acids in dairy cows. In *Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals*, pp. 87-102 [J.P. McNamara, J. France & D.E. Beever, editors]. Wallingford: CAB International
- Bayaru, E., S. Kanda, T. Kamada, H. Itabashi, S. Andoh, T. Nishida, M. Ishida, T. Itoh, K. Nagara & Y. Isobe (2001). Effect of fumaric acid on methane production, rumen fermentation and digestibility of cattle fed roughage alone. *Anim. Sci. J.* 72: 139-146.
- Beker, D. & C.J. Peek (2002). Referentieraming niet CO₂ broeikasgassen. Rapport 773001019/2002. RIVM.
- Broudiscou, L.P., Y. Papon & Broudiscou, A.F. (2000). Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.* 87: 263-277.
- Butler, W.R. (1998). Review: Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 81: 2533-2539.
- CBS (2002). *Landbouwtellingen*. ISBN 90-5242-585-x.
- CVB (2001). *Chemische samenstelling verteerbaarheid en voederwaarde van voedermiddelen*. Lelystad, Nederland.
- Callaway, T. R. & S. A. Martin (1996). Effects of organic acid and monensin treatment on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation of cracked corn. *J. Anim. Sci.* 74: 1982-1989.
- Carro, M.D., P. Lebzien & K. Rohr (1992). Influence of Yeast Culture on the In vitro Fermentation (Rusitec) of Diets Containing Variable Portions of Concentrates. *Anim. Feed Sci. Technol.* 37: 209-220.
- Carro, M.D., S. Lopez, C. Valdes & F.J. Ovejero (1999). Effect of DL-malate on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (RUSITEC). *Anim. Feed Sci. Technol.* 79: 279-288.
- Carro, M.D. & Ranilla (2003). Effect of malate on in vitro rumen fermentation of cereal grains. *Brit J. Nutr.* 89: 181-189.
- Charmley, E. (2001). Towards improved silage quality - a review. *Can. J. Anim. Sci.* 81: 157-168.
- Chaucheyras, F., G. Fonty, G. Bertin & P. Gouet (1995). In vitro H₂ utilization by ruminal acetogenic bacterium cultivated alone or in association with an archaea methanogen is stimulated by a probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 3466-3467.

- Counotte, G.H.M. (1981). Regulation of lactate metabolism in the rumen. Proefschrift Rijksuniversiteit Utrecht.
- Cushnahan, A., C.S. Mayne & E.F. Unsworth (1995). Effects of ensilage of grass on performance and nutrient utilization by dairy cattle. 2. Nutrient metabolism and rumen fermentation. *Anim. Sci.* 60: 347-359.
- Dijkstra, J. (1993). Mathematical modelling and integration of rumen fermentation processes. Proefschrift, Landbouwniversiteit Wageningen.
- Dohme, F., A. Machmuller, A. Wasserfallen & M. Kreuzer (2000). Comparative efficiency of various fast rich in medium-chain fatty acids to suppress ruminal methanogenesis as measured with RUSITEC. *Can. J. Anim. Sci.* 80: 473-482.
- Doreau, M. & A. Ferlay (1995). Effect of dietary lipids on nitrogen metabolism in the rumen: a review. *Livestock Prod. Sci.* 43: 97-110.
- Eastridge, M.L. & J.L. Firkins (2000). Feeding tallow triglycerides of different saturation and particle size to lactating dairy cows. *Anim. Feed Sci. Technol.* 83: 249-259.
- Evans, J.D. & S.A. Martin (2000). Effect of thymol on ruminal microorganisms. *Current Microbiol.* 41: 336-340.
- Fievez, V. (2001). Optimalisering van de methanogenese en stikstofbenutting in de pens: een bijdrage tot de milieuzorg. Proefschrift Universiteit Gent, België.
- France, J. & R.C. Siddons, 1993. In: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CAB International, Wallingford, UK, pp 107-121.
- Harrison, G.A., R.W. Hemken, K.A. Dawson & R.J. Harmon (1988). Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.* 70: 2967-2975.
- Hill, G.D. & S. Tamminga (1998). The effect of antinutritional factors in legume seed and rapeseed on ruminant nutrition. In *Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds and rapeseed*. Eds Jansman, A.J.M. et al. Pp 157-172.
- Holter, J.B. & A.J. Young (1992). Methane production in dry and lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci* 75: 2165-2175.
- Howden, S.M. & P.J. Ryenga (1999). Methane emissions from Australian livestock: implications of the Kyoto protocol. *Austr. J. Agric. Res.* 50: 1285-1291.
- Huhtanen, P.J., H.O. Miettinen & V.F.J. Toivonen (1997). Effects of silage fermentation and post ruminal casein supplementation in lactating dairy cows: 1. Diet digestion and milk production. *J. Sci. Food Agric.* 74: 450-458.
- IPCC (1996). IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories.
- Keady, T.W.J. & C.S. Mayne (2001). The effects of concentrate energy source on feed intake and rumen fermentation of dairy cows offered a range of grass silages. *Anim. Feed Sci Tech.* 90: 117-129.
- Kirchgesser, M. (1997). *Tierernährung*. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Duitsland.
- Kung, L., J.T. Huber, J.D. Krummrey, L. Allison & R.M. Cook (1982). Influence of adding malic acid to dairy cattle rations on milk production, rumen volatile acids, digestibility, and nitrogen utilization. *J. Dairy Sci.* 65: 1170-1174.
- Lopez, S., C. Valdes, C.J. Newbold & R.J. Wallace (1999). Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation in vitro. *Brit. J. Nutr.* 81: 59-64.
- Machmuller, A., D. A. Ossowski & M. Kreuzer (2000). Comparative evaluation of the effects of coconut oil, oilseeds and crystalline fat on methane release, digestion and energy balance in lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 85: 41-60.
- Machmuller, A., F. Dohme, C.R. Soliva, M. Wanner & M. Kreuzer, 2001. Diet composition affects the level of ruminal methane suppression by medium-chain fatty acids. *Austr. J. Agric. Res.* 52: 713-722.

- Makar, H.P.S., M. Blummel & K. Becker (1995). In vitro effects of interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen. *J. Sci. Food Agric.* 69: 481-493.
- Martin, S. A. (1998). Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: A review. *J. Anim. Sci.* 76: 3123-3132.
- McMahon, L.R., T.A. McAllister, B.P. Berg, W. Majak, S.N. Acharya, J.D. Popp, B.E. Coulman, Y. Wang & K.J. Cheng (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Can. J. Plant. Sci.* 80: 469-485.
- Miller-Webster, T., W.H. Hoover & M. Holt (2002). Influence of yeast culture on ruminal microbial metabolism in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 85: 2009-2014.
- Mills, J.A.N., J. Dijkstra, A. Bannink, S.B. Cammell, E. Kebrea & J. France (2001). A mechanistic model of whole tract digestion and methanogenesis in the lactating dairy cow: Model development, evaluation, and application. *J. Anim. Sci.* 79: 1584-1597.
- Moe, P.M. & H.F. Tyrrell (1979). Methane production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 62: 1583-1586.
- Newbold, C. J., S.M. El Hassan, J. Wang, M.E. Ortega & R.J. Wallace (1997). Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Brit. J. Nutr.* 78: 237-249.
- Newbold, C.J., R.J. Wallace & F.M. McIntosh (1996). Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. *Brit. J. Nutr.* 76: 249-261.
- Nisbet, D.J. & S. A. Martin (1991). "Effect of a *Saccharomyces-cerevisiae* Culture on Lactate Utilization by the Ruminal Bacterium *Selenomonas-Ruminantium*. *J. Anim. Sci.* 69: 4628-4633.
- Reijs, J. (2000). Beschikbare nutriënten voor melkkoeien gevoerd op structuurrijke en eiwitarme rantsoenen. Scriptie Landbouwuniversiteit, Wageningen.
- Roth, S., H. Steingäß & W. Drochner (2001). Reducing the methane emission and optimisation of N-supply by treating feed with tannins. Internet: www.uni-hohenheim.de.
- Sharp, R., P.G. Hooper & D.G. Armstrong (1994). The digestion of grass silages produced using inoculants of lactic acid bacteria. *Grass For. Sci.* 19: 42-53.
- Sliwinski, B.J., M. Kreuzer, H.R. Wetstein & A. Machmuller (2002). Rumen fermentation and nitrogen balance of lambs fed diets containing plant extracts rich in tannins and saponins and associated emissions of nitrogen and methane. *Arch. Anim. Nutr.* 56: 379-392.
- Tamminga, S., A.M. van Vuuren, C.J. van der Koelen, R.S. Ketelaar & P.L. van der Togt (1990). Ruminal behaviour of structural carbohydrates, non structural carbohydrates and crude protein from concentrate ingredients in dairy cows. *Neth. J. Agric. Sci.* 38: 513-522.
- Veen, W.A.G. (2000). Veevoedermaatregelen ter vermindering van methaanproductie van herkauwers. Novem ROB-rapport.
- Visser, H. de, P.L. van der Togt & S. Tamminga (1990). Structurele en niet structurele koolhydraten in krachtvoerders van melkveerantsoenen met silage. Med. 15 IVVO, Lelystad.
- Vuuren, A.M. van, P. Huhtanen & J.P. Dulphy (1995). Improving feeding and health value of ensiled forages. In: recent Developments in the nutrition of herbivores, eds M. Journet, E. Grenet, M.H. Farce, M. Theriez & C. Demerquilly. INRA editions, Paris, pp. 279-307.
- Wallace, R.J., N.R. McEwan, F.M. McIntosh, B. Teferedgne & C.J. Newbold (2002). Natural manipulators of rumen fermentation. *Asian Austr. J. Anim Sci.* 15: 1458-1468.
- Wang, Y., T.A. McAllister, C.J. Newbold, L.M. Rode, P.R. Cheeke & K.J. Cheng (1998).

- Effects of *Yucca schidigera* extract on fermentation and degradation of steroidal saponins in the rumen simulation technique (Rusitec). *Anim. Feed Sci Technol.* 74: 143-153
- Wiedmeier, R.D., M.J. Arambel & J.L. Walters (1987). Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.* 70: 2063-2068.
- Wikselaar, P.G. van & S.J.W.H. Oude Elferink (2001). Toepassing van effectieve micro-organismen (EM) als kuilverbeteraar. Rapport ID-Lelystad nr 2165.
- Williams, B.A. (2000). Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. In: Forage evaluation in ruminant. D.I. Givens, E. Owen, RFE. Axford and H.M. Omed, Eds. CABI publishing, New York, USA. pp. 189-213.
- Yoon, I.K. & M.D. Stern (1996). Effects of feeding *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* cultures on ruminal fermentation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79: 411-417.
- Zom, R.L.G. (2000). Feed and Dairy Research Unit, "De Waiboerhoeve" Research Station for Cattle, Sheep and Horse Husbandry, Lelystad, The Netherlands

Bijlage I OVERZICHT PRESENTATIES EN RAPPORTAGES

Presentaties

- Bedrijven in gewasveredeling (2x)

Onderwerp: de rol van snijmaïs in het algemeen en de soort snijmaïs in relatie tot verlaging van de methaanproductie per liter geproduceerde hoeveelheid melk.

Snijmaïskuil lijkt een goede rol te kunnen spelen in de verlaging van de methaanproductie. Het huidige onderscheid in voederwaarde tussen snijmaïsrassen is klein en is derhalve niet van groot belang. De te verwachten verschillen voor de methaanproductie zijn groter.

In de presentaties is de achtergrond en berekeningswijze van methaanproductie toegelicht. De potentiële mogelijkheden van de reductie door middel van de voeding en specifiek snijmaïs in samenhang met de efficiëntie.

- Bedrijven op het gebied van grondstoffen, premixen en voeradditieven (6x)
 - Producent / distributeurs granen, plantaardige eiwitten en vetten
 - Instituut voor Rationele Suikerproductie
 - Producent en distributeurs gist
 - Product tanninen
 - Producent premixen en speciaalvoerders

Bij de bovengenoemde bedrijven is een presentatie verricht over de methaanreductie via de voeding van melkvee. De presentaties hebben de volgende opbouw gehad:

- a. Hoogte van de methaanproductie door melkvee en methaan als broeikasgas
- b. Achtergrond methaanproductie in de pens
- c. Mogelijkheden van nutritionele sturing van methaan
- d. Mogelijkheden van nutritionele methaan en economische voordelen van grondstoffen en additieven die interessant zijn voor de toehoorder. Een specifieke toespitsing op de toehoorder.

- Producent fermentatiebevorderaar silages

De presentaties hebben de volgende opbouw gehad:

- a. Hoogte van de methaanproductie door melkvee en methaan als broeikasgas
- b. Achtergrond methaanproductie in de pens
- c. Mogelijkheden van nutritionele sturing van methaan
- d. Te verwachten effecten van de EM-silage op vluchtige vetzuren in de pens (literatuur en eigen onderzoek)
- e. Resultaten uitgevoerd onderzoek en implicaties milieu (methaan) en economie

Bovengenoemde presentaties zijn verricht voor het bedrijf en voor alle distributeurs in Nederland.

- KI Vereniging

Onderwerp: Op welke manier kan de methaanproductie via de fokkerij verlaagd worden. In de presentatie is de achtergrond van de methaanproductie aan de orde gekomen en de mogelijkheden van sturing via voeding en potentiële sturingen via de fokkerij. De verhoging van de melkproductie leidt tot een hoger methaanproductie per koe. De methaanproductie per kg geproduceerde melk wordt echter verlaagd. Op basis van diverse berekeningen (o.a. Van Amstel et al., 1993) blijkt dat de methaanproductie van jongvee aanzienlijk is. In de laatste decennia is de gemiddelde leeftijd van de melkkoe verlaagd. Een verhoging van de duurzaamheid van de melkkoe zorgt dat er minder jongvee nodig is als vervanging van de veestapel.

Rapportages

- Persbericht Fermentatieverbeteraar silage (februari 2003)
Bij de volgende tijdschriften/ kranten is (een deel van) het persbericht tevens gepubliceerd:
 - Agrarisch Dagblad
 - Oogst
 - Landbouwblad
- Afzonderlijke rapporten
 - Effect of chestnut tannins on methane production ruminants
 - Effect van bietenpulp op de methaanproductie
 - Effect of yeast culture on methane and volatile fatty acid production of ruminants
 - Effect of yeast on methane production
 - Effect van graskuil waarbij gebruik gemaakt is van EM silage op de methaan en vluchtige vetzurenproductie in de pens (www.agriton.nl/fol111.html)