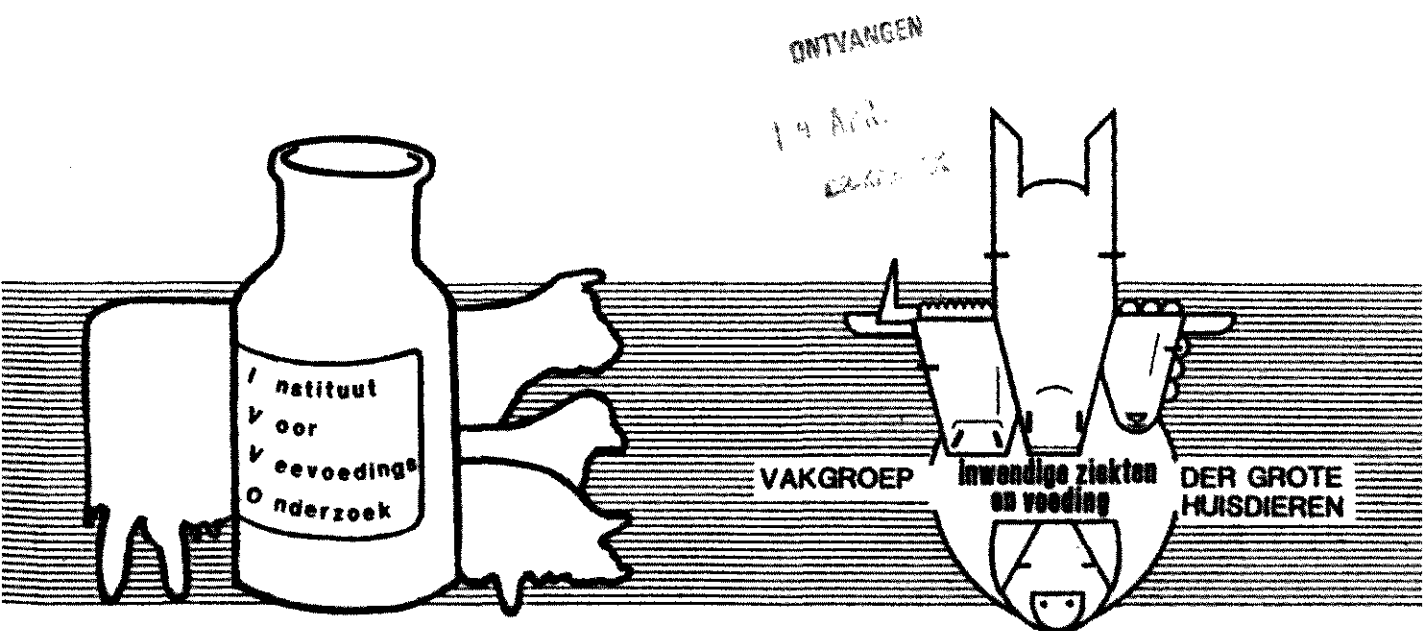


Zetmeel in de melkveevoeding



Lelystad – Utrecht

11 april 1989

INHOUD

1. De afbraak van zetmeel in vitro met pensvocht en enzymen
door J.W. Cone
(Vakgroep Inwendige Ziekten en Voeding, RU Utrecht) 39 p.
2. Het gedrag van zetmelen in de pens van melkkoeien
S. Tamminga (1,2), P. van der Togt (1), C.J. van der Koelen (1)
C. Meliefste (1), M. Luttikhuis (2), G.D.H. Claassen (2)
(1= Instituut voor veevoedingsonderzoek, Lelystad
(2= Vakgroep veevoeding, LU Wageningen) 29 p.
3. Krachtvoervoeding, pensfermentatie en voeropname
verslag van eigen onderzoek
A. Malestein
(Vakgroep Inwendige Ziekten en Voeding, RU Utrecht) 38 p.

DE AFBRAAK VAN ZETMEEL IN VITRO MET PENSVOCHT EN ENZYMEN.

J.W.Cone

Vakgroep Inwendige Ziekten en Voeding,
Rijksuniversiteit Utrecht,
Yalelaan 16, 3508 TD Utrecht.

Februari/Maart 1989.

HET GEDRAG VAN ZETMELEN IN
DE PENS VAN MELKKOEIEN

S. Tammings*,**
P. van der Togt*
C.J. van der Koelen*
C. Meliefste*
M. Luttikhuis**
G.D.H. Claassen**

december 1988

* Instituut voor Veevoedingsonderzoek, Lelystad
** Vakgroep Veevoeding, Landbouwuniversiteit, Wageningen

INHOUD

Samenvatting	3
1. Inleiding	4
2. Materialen en methoden	6
2.1. Grondstoffen	6
2.2. Incubaties met pensvocht	6
2.3. Incubaties met enzymen	7
2.4. Chemische analyses	7
2.5. Incubaties met pensvochtextract	7
3. Resultaten	7
3.1. Chemische analyse grondstoffen	7
3.2. In vitro afbraak m.b.v. pensvocht	7
3.2.1. Incubatieduur	7
3.2.2. Afbraak grondstoffen (1 mm maling)	8
3.2.3. Afbraak diverse zeeffracties	10
3.2.4. Afbraak combinaties van grondstoffen	10
3.2.5. Pensactiviteit na voeding	12
3.3. In vitro afbraak m.b.v. enzymen	13
3.3.1. Incubatieduur	13
3.3.2. Stabiliteit enzymen	13
3.3.3. pH-optimum van de enzymen	14
3.3.4. Afbraak grondstoffen (1 mm maling)	15
3.3.5. Invloed niet-amylolytische enzymen	17
3.4. Remming bij incubaties met pensvocht	18
3.4.1. Invloed incubatieduur op zetmeelafbraak	18
3.4.2. Afbraak in de tijd	19
3.4.3. Incubaties gedurende 26 uur	21
3.4.4. Incubaties bij pH 6.5	22
3.5. Afbraak m.b.v. pensvochtextract	23
3.5.1. Inleiding	23
3.5.2. Incubaties met pensvochtextract	23
4. Discussie	25
4.1. Zetmeelafbraak door pensvocht	25
4.2. Zetmeelafbraak door enzymen	27
4.3. Zetmeelafbraak door pensvochtextract	29
5. Conclusies	30
6. Referenties	30
7. Bijlagen	32

Samenvatting.

In dit verslag wordt een gedeelte beschreven van het onderzoek dat de afgelopen jaren is gedaan naar de afbraak van zetmeel. Van een zestigtal grondstoffen werd de afbraak van zetmeel door zowel pensvocht als enzymen onderzocht. Er bleken grote verschillen te bestaan in afbreekbaarheid van het zetmeel door zowel enzymen als pensvocht. Zetmeel van mais en milocorn werd relatief slecht afgebroken terwijl zetmeel van haver en tapioca relatief goed werd afgebroken. Tevens bleek er een grote invloed te zijn van de technologische voorbehandeling van de grondstoffen op de zetmeelafbraak. Naarmate het zetmeel meer ontsloten was nam de snelheid van afbraak toe. Poffen bleek de afbraak het meest te bevorderen.

In alle gevallen bleek er een vrij constante volgorde in het percentage zetmeelafbraak te bestaan tussen de verschillende grondstoffen. Dit toont aan dat de mate van afbreekbaarheid van het zetmeel bepaald wordt door de eigenschappen van het zetmeel. Het niveau van de afbraak wordt echter bepaald door de activiteit in de pens.

De afbraak van zetmeel m.b.v. pensvocht is onderzocht voor drie verschillende voederregimes van de donorkoe. Met pensvocht van een hooikoe werd een veel geringere afbraak gevonden dan met pensvocht van een krachtvoerkoe. Er werd een gering verschil in activiteit van het pensvocht gevonden tussen twee verschillende krachtvoerkoeien. Dit verschil bleek voornamelijk veroorzaakt te worden door het tijdstip van monsternamen.

De deeltjesgrootte bleek in belangrijke mate bepalend voor de snelheid van afbraak van het zetmeel. Naarmate de deeltjes kleiner werden nam de afbraaksnelheid toe. Voor tapioca, en in iets mindere mate gepofte mais, bleek er weinig invloed van de deeltjesgrootte te zijn.

Het gelijktijdig incuberen van twee verschillende grondstoffen, bleek alleen dan positief op de afbraak te werken, indien een goed en een slecht afbreekbaar zetmeel werden geïncubeerd. Dit bleek geheel terug te voeren op concentratieverschillen van de grondstoffen. Van een actieve beïnvloeding door de grondstoffen onderling bleek geen sprake te zijn.

Ook voor de afbraak van zetmeel door enzymen werd een constante volgorde in afbraakpercentage tussen de verschillende grondstoffen gevonden. Er werd geen invloed van niet-amylolytische enzymen op de afbraak van zetmeel door amyloglucosidase waargenomen.

Bij de afbraak van zetmeel in pensvocht bleek de pH dermate ver te dalen dat remming optrad. De afbraak bleek het sterkst geremd te worden bij de gemakkelijk aantastbare grondstoffen.

Een van de doelstellingen van dit onderzoek was om een laboratoriumtest te ontwikkelen om de afbraak van zetmeel in vivo te kunnen voorspellen. Omdat met de afbraak van zetmeel door enzymen geen exacte voorspelling gedaan kon worden, werd besloten om een celvrij extract van pensvocht te maken en hiermee het zetmeel te incuberen. Dit bleek een betere manier om de in vitro afbreekbaarheid te voorspellen.

1. Inleiding.

Zetmeel komt in vrijwel alle groene planten en algen voor en in vrijwel ieder type weefsel, zoals: blad, stengel, wortel, vruchten en zelfs in pollen. Het voor de mens belangrijkste zetmeel is dat in zaden van granen (mais, rijst, tarwe etc.) en in ondergrondse opslagorganen (aardappel, tapioca etc.).

Zetmeel wordt gevormd in de chloroplasten door middel van fotosynthese. In het donker en in het licht wordt het zetmeel in de bladeren weer afgebroken tot metabolisch suiker of getransporteerd naar andere delen van de plant. In de bladeren wordt zetmeel gevormd als zeer kleine korreltjes met een diameter van $\pm 1 \mu\text{m}$. Zetmeelkorrels in de opslagorganen (zaden, wortelen) ontstaan uit subcellulaire organellen, de z.g. "plastiden" of "amyloplasten". Men veronderstelt een gemeenschappelijke oorsprong van amyloplasten en chloroplasten. De vorming van een zetmeelkorrel in een amyloplast start rond een kern van onoplosbaar polysaccharide, dat bij een volledig uitgegroeide korrel het hilum vormt. Aanvankelijk zijn zetmeelkorrels rond. Echter als ze groter worden zijn ze meestal langwerpig of plat. Sommige soorten zetmeel, zoals rijst en mais, worden zo dicht opeen gepakt, dat ze een veelhoekige vorm aannemen. De vorm en interne organisatie van zetmeelkorrels is karakteristiek voor iedere plantensoort.

Rond de gedroogde zetmeelkorrels kunnen nog restanten van de amyloplast zitten. Behalve zetmeel kunnen ook andere koolhydraten en suikers in de korrels voorkomen, zoals: rhamnose, arabinose, xylose, allose, mannose, galactose, glucaan, cellulose en hemicellulose.

Zetmeel bestaat uit een mengsel van amylose en amylopectine. Amylose bevat lineaire ketens van $\alpha(1,4)$ verbonden glucose moleculen, met een reducerend en een niet-reducerend uiteinde. Amylopectine is in tegenstelling tot amylose sterk vertakt en bevat naast $\alpha(1,4)$ ook $\alpha(1,6)$ bindingen. De meeste soorten zetmeel bestaan voor 60 tot 80 % uit amylopectine en voor 20 tot 40 % uit amylose. Door selectie en veredeling beschikt men tegenwoordig over rassen die hier sterk van kunnen afwijken. Amylose bestaat gewoonlijk uit enkele honderden tot meerdere duizenden glucose eenheden. Amylopectine daarentegen kan uit enkele miljoenen glucose eenheden bestaan, met een totaal molecuulgewicht van wel meer dan 200 miljoen. Het is daarmee een van de grootste natuurlijk voorkomende moleculen. Amylose kan complexen vormen met jodium en verschillende organische stoffen, zoals butanol, vetzuren en fenolen. Deze complexen zijn onoplosbaar in water. Het amylose-jodium complex geeft de karakteristieke blauwe kleur, die gebruikt wordt om zetmeel (amylose) aan te tonen.

Zetmeel kan gesplitst worden door verschillende enzymen. α -Amylase (EC 3.2.1.1.) splitst de $\alpha(1,4)$ bindingen in zetmeel at random, waarbij maltose en glucose eenheden gevormd worden. α -Amylase heeft een grote verspreiding in de natuur. Het komt zowel bij dieren, planten, bacteriën als schimmels voor. Een veel gebruikt enzympreparaat is pancreatine, een extract van de

pancreas, dat naast α -amylase ook lipase en protease bevat.

β -Amylase (EC 3.2.1.2.) komt in tegenstelling tot α -amylase hoofdzakelijk voor in de plantenwereld. Het splitst zetmeel tot maltose, maar doet dit echter alleen vanaf de niet-reducerende kant. β -Amylase kan geen (1,6) bindingen verbreken, en kan hier ook niet overheen springen, zodat de reactie stopt wanneer β -amylase een (1,6) binding tegenkomt.

Amyloglucosidase (EC 3.2.1.3.) breekt, evenals β -amylase, zetmeel af vanaf de niet-reducerende kant. Het splitst echter glucose af, in plaats van maltose. Amyloglucosidase is in staat om behalve $\alpha(1,4)$ ook $\alpha(1,6)$ bindingen af te breken, echter met een veel geringere snelheid.

Isoamylase (EC 3.2.1.68.) en pullulanase (EC 3.2.1.41.) zijn twee z.g. "debranching enzymen", die alleen de $\alpha(1,6)$ bindingen kunnen verbreken. Met behulp van deze enzymen wordt het amylopectine afgebroken tot korte lineaire amylose ketens.

Van al deze enzymen bestaan, al naar gelang hun herkomst, vele varianten met verschillende eigenschappen en structuren.

Recent onderzoek aan de Rijksuniversiteit Utrecht (Malestein et al, 1984) heeft grote verschillen in de afbreekbaarheid tussen verschillende soorten zetmeel aangetoond. Bovendien werden aanwijzingen gevonden dat verschillende zetmeelbronnen een positieve invloed op elkaars zetmeelafbraak kunnen hebben, wanneer ze gezamenlijk in pensvocht werden afgebroken. Oriënterend onderzoek aan het IVVO met nylon zakjes incubaties in de pens toonde eveneens aan dat er tussen de verschillende zetmelen grote verschillen in afbreekbaarheid bestaan.

Besloten werd om in een gezamenlijk project van de Faculteit Diergeneeskunde (Vakgroep Inwendige Ziekten en Voeding, FDIZV) en het IVVO, met financiële steun van het Produktschap voor Veevoeding, onderzoek te doen naar de afbraak van zetmeel en de voor de veehouderij van belang zijnde factoren die daarbij een rol spelen. Het onderzoek, zoals beschreven in dit verslag, richtte zich met name op de volgende vragen;

- In welke mate verschillen de zetmelen uit diverse grondstoffen in snelheid van hydrolyse in vitro m.b.v. pensvocht.
- Hoe beïnvloedt de rantsoensamenstelling van de donorkoe de afbraak van zetmeel in vitro.
- Wat is de invloed van technologische bewerkingen.
- Hoe beïnvloeden de zetmeelrijke- en andere grondstoffen elkaar in de snelheid van hydrolyse en welke factoren zijn daarbij van belang.
- Hoe worden de diverse zetmelen afgebroken door amylolytische enzymen.
- Wat is de invloed van niet-amylolytische enzymen.
- Kan de enzymatische afbraak gebruikt worden als een voorspelling van de in vitro afbraak.
- Waardoor worden verschillen in afbraaksnelheid door zowel micro-organismen als enzymen veroorzaakt.

Aan deze laatste vraag is de afgelopen jaren enige aandacht besteed. Echter om een duidelijk antwoord op deze vraag te kunnen geven, bleek meer tijd en een veel fundamenteelere aanpak nodig.

Daarom is besloten om deze vraagstelling onder te brengen in een gezamenlijk project van de Faculteit Diergeneeskunde, Inwendige Ziekten en Voeding (FDIZV) en CIVO-TNO, met financiële steun van het Produktschap voor Veevoeding.

2. Materialen en methoden

2.1. Grondstoffen

Er is getracht om een zo breed mogelijk scala aan grondstoffen en technologisch bewerkte produkten, zoals die ook in de industrie gebruikt worden, te onderzoeken. Om verwarring te voorkomen hebben alle grondstoffen een nummer gekregen. Van een aantal grondstoffen is getracht om zowel de onbewerkte als de technologisch bewerkte grondstoffen uit één en dezelfde partij te betrekken. Het betreft hier mais van Food Products (FP), nrs 35 t/m 39 en de mais en tarwe produkten, nrs 58 t/m 96. De nrs 40 t/m 47 zijn vier verschillende rassen rijst, waarbij de korrels en de zemelen gescheiden zijn. Aardappel (nr 13) is eerst in plakjes gesneden en daarna gedroogd bij 70 °C. De nrs 25 t/m 27 zijn gezuiverde zetmelen, geleverd door BDH. Paselli (nrs 29 en 31) is een kortketig aardappelzetmeel (AVEBE, Veendam, Nederland). Zulkovsky (nr 30) is een kortketig oplosbaar zetmeel, dat veel gebruikt wordt als standaardzetmeel.

De grondstoffen zijn gemalen over een 1 mm zeef en daarna verdeeld in fracties door te zeven met zeven van 0.1, 0.25, 0.5, 0.8 en 1.0 mm.

2.2. Incubaties met pensvocht.

Het rantsoen van de donorkoeien bestond uit 6 kg hooi per dag (hooikoe, HK) of 4 kg hooi en 4 kg krachtvoer (krachtvoer koe, KVK). Het krachtvoer bevatte de gemakkelijk aantastbare grondstoffen, ontsloten mais en tapioca (voer A, KVK.A) of de veel moeilijker aantastbare grondstoffen, mais en milocorn (voer B, KVK.B). In enkele experimenten is gebruik gemaakt van krachtvoer C, dat hoofdzakelijk mais bevatte. Voor de exacte samenstelling van het krachtvoer zie bijlage 1. Voor de experimenten kregen de koeien tenminste vier weken de gelegenheid om zich aan te passen aan het rantsoen. De koeien werden gevoerd om 8.00 en 16.00 uur. Pensvocht werd 's morgens vlak voor het voeren getapt en 3 op 1 verdund met een kalium, fosfaat buffer met pH 6.5 (zie bijlage 2). Van de verdunde vloeistof werd 50 ml geïncubeerd met 500 mg van een grondstof bij 39 °C, gedurende 6 uur, tenzij anders aangegeven. De flesjes werden voortdurend geschud. Na 6 uur werd 10 ml 2 N HCl toegevoegd, om de microbiële activiteit te stoppen, en werd tenminste 20 minuten verhit in een kokend waterbad om het resterend zetmeel te hydrolyseren.

2.3. Incubaties met enzymen.

Incubaties met enzymen werden eveneens uitgevoerd met 500 mg grondstof in 50 ml, 3 op 1 met water verdunde buffer (zie bijlage 2) bij 39 °C. Hier werd echter slechts 4 uur geïncubeerd, tenzij anders aangegeven. De flesjes werden continu geschud. Na 4 uur werd de reactie gestopt door te filtreren over een papierfilter en werd de hoeveelheid glucose (maltose) in het filtraat bepaald. Voor iedere incubatie werd 100 mg α -amylase (Calbiochem, San Diego, USA of Fluka, Buchs, Zwitserland), 100 mg pancreatine (Merck, Darmstadt, W. Duitsland) of 100 μ l amyloglucosidase (Amigase GM, Gist Brocades, Delft, Nederland) gebruikt, tenzij anders aangegeven.

2.4. Chemische analyses.

De hoeveelheid glucose en maltose werd enzymatisch bepaald volgens de methode van Bergmeyer (1970), zoals beschreven in Methods of Enzymatic Food Analysis, een uitgave van Boehringer, Mannheim. Het gehalte aan fructose, sucrose en zetmeel werd eveneens bepaald volgens Bergmeyer (1970).

2.5. Incubaties met pensvochtextract.

Van een krachtvoerkoe (voer C) werd 3 liter pensvocht genomen en gecentrifugeerd bij 20.000 g. Vervolgens werd de pallet opgelost, 12 x 15 seconden gesonifiëerd, gevriesdroogd en gemalen in een mortier. Er werd zoveel mogelijk onder stikstof gewerkt. Van het extract werd een hoeveelheid genomen die overeenkwam met 50 ml pensvocht. Er werd uitgegaan van een constante hoeveelheid zetmeel en de pH werd op 6.5 gehouden.

3. Resultaten.

3.1. Chemische analyse grondstoffen.

Van vrijwel alle grondstoffen is een chemische analyse uitgevoerd door het IVVO (zie verslag Tamminga). Gemeten zijn de gehalten aan stikstof (eiwit), vet, ruwe celstof, as, NDF, ADF, suikers en zetmeel alsmede de bruto energie. Van alle grondstoffen is door FDIZV het gehalte aan zetmeel en suikers enzymatisch bepaald, waarbij voor de zetmeel bepaling gecorrigeerd werd voor de in de grondstoffen aanwezige suikers (bijlage 3).

3.2. In vitro afbraak m.b.v. pensvocht.

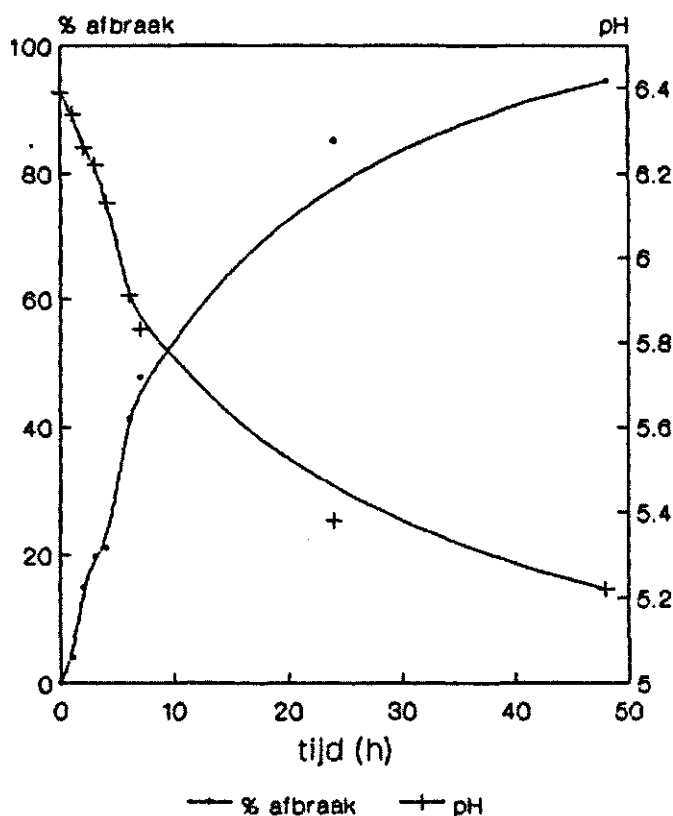
3.2.1. Incubatieduur.

Figuur 1 toont de zetmeelafbraak van 500 mg gepofte mais in 50 ml pensvocht van een hooikoe met verschillende incubatietijden. Tevens is het verloop van de pH weergegeven. Na 48 uur is

nagenoeg alle zetmeel verdwenen en is de pH gedaald van 6.4 naar 5.2. Gekozen is om voor alle volgende experimenten een incubatietijd van 6 uur te nemen. Na 6 uur heeft reeds een aanzienlijke afbraak plaats gevonden. Bij langere incubatie, b.v. 24 uur, wordt weliswaar een veel groter deel van het zetmeel afgebroken, maar is het gevaar aanwezig dat de bacteriepopulatie in de batch culture te veel afwijkt van het oorspronkelijke pensvocht. Tevens heeft een bijna maximale afbraak het gevaar, dat er weinig verschil tussen verschillende goed afbreekbare zetmelen gevonden wordt.

Figuur 1.

Daling van de pH en % afgebroken zetmeel na incubatie van 500 mg gepofte mais in 50 ml pensvocht van een hooikoe als functie van de incubatietijd



3.2.2. Afbraak grondstoffen (1 mm maling).

De afbraak van 500 mg grondstof in 50 ml met buffer verdunde pensvocht is weergegeven in bijlage 4. De afbraak werd bepaald met zowel pensvocht van een hooikoe (HK) als pensvocht van twee verschillende krachtvoerkoeien (KVK.A en KVK.B). Omdat er enige spreiding in de resultaten te zien was en de eigenschappen van het pensvocht van dag tot dag kon variëren zijn alle bepalingen minimaal vier keer herhaald. Om een beter inzicht in de resultaten te krijgen zijn een aantal gegevens uit bijlage 4 gelicht en nogmaals weergegeven in tabel 1 en 2. Tabel 1 toont de afbraak van een aantal onbewerkte produkten, gerangschikt naar de mate van afbreekbaarheid van het zetmeel in pensvocht van een hooikoe. In alle gevallen, zowel in pensvocht van een hooikoe als van een krachtvoerkoe, werd zetmeel van lupine, mais en milocorn het slechtst afgebroken. Zetmeel van tapioca en haver werd

Tabel 1

Het percentage zetmeel (gem. \pm SEM) van verschillende grondstoffen na 6 uur incubatie in pensvocht van een hooikoe (HK), of twee verschillende krachtvoerkoeien (KVK). Het krachtvoer bestond voornamelijk uit tapioca en ontsloten mais (A) of mais en milocorn (B).

nr	HK	KVK.A	KVK.B
09 lupine	0.0 \pm 0.0	13.9 \pm 4.8	18.5 \pm 0.1
06 erwten	3.1 \pm 0.2	33.3 \pm 2.8	36.1 \pm 0.1
01 mais	3.5 \pm 0.5	21.6 \pm 1.6	21.6 \pm 1.7
10 milocorn	5.5 \pm 0.5	23.6 \pm 1.5	25.1 \pm 1.8
13 aardappel	6.6 \pm 0.1	25.1 \pm 1.0	36.5 \pm 2.7
08 gierst	6.8 \pm 1.7	25.7 \pm 3.2	31.0 \pm 0.4
07 duivebonen	8.2 \pm 2.6	29.0 \pm 3.9	36.0 \pm 0.2
03 tarwe	9.9 \pm 1.1	42.3 \pm 2.7	41.2 \pm 2.5
05 gerst	10.3 \pm 3.2	33.8 \pm 3.7	41.0 \pm 1.0
04 haver	15.9 \pm 1.3	51.0 \pm 3.2	55.6 \pm 1.9
11 tapioca	23.3 \pm 0.9	47.0 \pm 2.5	52.8 \pm 2.4

daarentegen het best afgebroken. De afbraak in pensvocht van een hooikoe was in alle gevallen veel geringer dan in pensvocht van een krachtvoerkoe. In sommige gevallen was de afbraak in pensvocht van krachtvoerkoe B iets hoger dan van krachtvoerkoe A. Bij de drie verschillende rantsoenen van de donorkoeien werd min of meer dezelfde volgorde in afbraakpercentage tussen de verschillende zetmelen gevonden.

Tabel 2 geeft de afbraak weer van mais, tarwe en rijst en een aantal technologisch bewerkte produkten. Hier zien we hetzelfde beeld als in tabel 1. Een veel geringere afbraak met pensvocht van een hooikoe dan van een krachtvoerkoe en iets meer afbraak in pensvocht van krachtvoerkoe B dan van krachtvoerkoe A. Naarmate een meer rigoreuze bewerking van de grondstoffen heeft plaatsgevonden, werd een groter gedeelte van het zetmeel afgebroken. In alle gevallen gaf poffen de grootste mate van ontsluiting. Ook hier zijn de onderlinge verschillen in de mate van afbreekbaarheid tussen de verschillende grondstoffen onafhankelijk van het rantsoen van de donorkoe.

Bij de afbraak van zetmeel door pensvocht worden vluchtige vetzuren gevormd. Hoewel in een gebufferd systeem werd gewerkt trad toch een daling van de pH op. Het werken met een sterker gebufferd systeem bleek nadelig doordat remming optrad door een te hoge zout concentratie.

Tabel 2

Het percentage zetmeel (gem. \pm SEM) van verschillende grondstoffen na 6 uur incubatie in pensvocht van een hooikoe (HK), of twee verschillende krachtvoerkoeien (KVK). Het krachtvoer bestond voornamelijk uit tapioca en ontsloten mais (A) of mais en milocorn (B).

nr	HK	KVK.A	KVK.B
01 mais	3.5 \pm 0.5	21.6 \pm 1.6	21.6 \pm 1.8
76 maisvoermeel	11.1 \pm 0.5	36.1 \pm 0.1	36.1 \pm 1.2
14 maisglutenvoer	17.6 \pm 3.4	-	45.3 \pm 0.7
22 ontsloten mais	14.4 \pm 0.9	34.9 \pm 0.8	42.6 \pm 1.0
23 maisvlokken	15.8 \pm 2.5	38.5 \pm 2.5	47.7 \pm 1.7
19 gepofte mais	31.7 \pm 1.3	49.8 \pm 2.4	52.2 \pm 1.3
03 tarwe	9.9 \pm 1.1	42.3 \pm 2.7	41.2 \pm 2.5
24 tarwegries	14.7 \pm 3.3	41.7 \pm 5.4	50.1 \pm 1.8
16 tarwevoermeel	31.3 \pm 2.9	43.5 \pm 4.8	54.9 \pm 0.2
20 gepofte tarwe	44.0 \pm 1.7	57.8 \pm 2.3	66.4 \pm 3.1
40 rijst	7.3 \pm 0.5	24.4 \pm 0.9	23.9 \pm 1.2
18 rijstvoermeel	21.8 \pm 2.1	45.3 \pm 1.0	43.4 \pm 2.5
21 gepofte rijst	50.3 \pm 2.9	57.6 \pm 1.9	56.9 \pm 2.0

3.2.3. Afbraak diverse zeeffracties.

Van een aantal grondstoffen is de afbraak van alle zeeffracties bepaald met pensvocht van zowel de hooikoe als de twee verschillende krachtvoerkoeien (bijlage 5). De afbraak van zetmeel in pensvocht van de krachtvoerkoeien liet voor de meeste grondstoffen een aflopende afbreekbaarheid van het zetmeel zien, naarmate de deeltjes groter waren. Dit gold echter niet voor tapioca en in iets mindere mate voor gepofte mais. Voor tapioca was er geen significant ($p < 0.05$) verschil tussen de afbreekbaarheid van de grote en de kleine deeltjes. De afbraak van zetmeel in pensvocht van de hooikoe liet in de meeste gevallen hetzelfde beeld zien. Echter in sommige gevallen, b.v. haver en milocorn waren de resultaten niet eenduidig. Dit werd waarschijnlijk veroorzaakt door het lage afbraakpercentage en de (grote) spreiding in de resultaten.

3.2.4. Afbraak combinaties van grondstoffen.

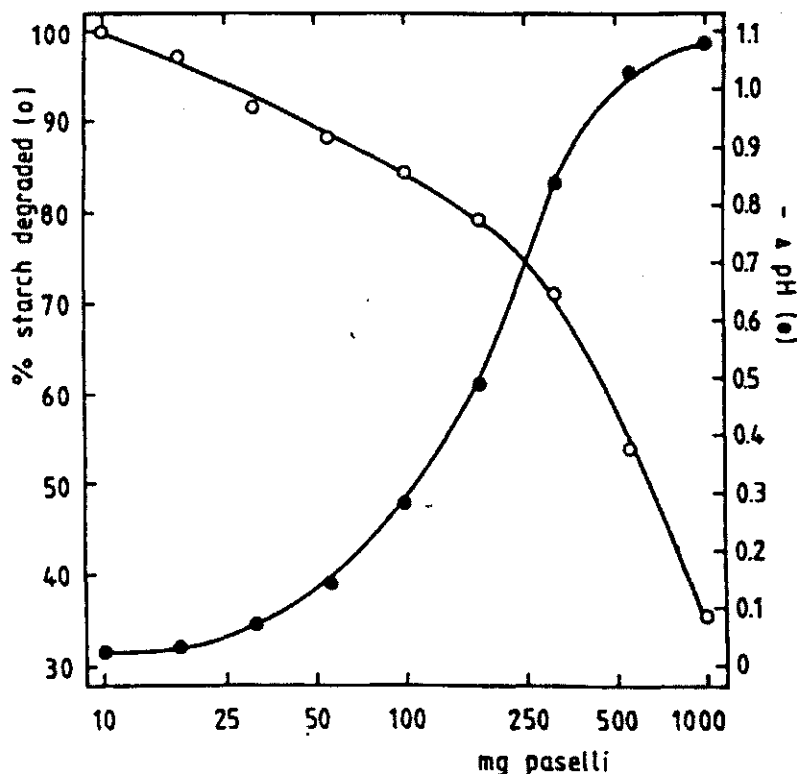
De afbraak van twee keer 250 mg van verschillende grondstoffen is vergeleken met de afbraak van 500 mg van de afzonderlijke grondstoffen. De afbraak van deze combinaties van

grondstoffen is bepaald in zowel pensvocht van de hooikoe als de twee verschillende krachtvoerkoeien (bijlage 6). Bij afbraak van combinaties van grondstoffen door pensvocht van de hooikoe werden grote verschillen gevonden tussen het bepaalde afbraakpercentage en het berekende afbraakpercentage, indien paselli een van de twee grondstoffen was. Er vond meer afbraak plaats dan op grond van de afbraak van de afzonderlijke grondstoffen verwacht werd. Ook wanneer tarwe in combinatie met tapioca en ontsloten mais werd geïncubeerd, werd meer zetmeel afgebroken dan verwacht. Bij incubaties in pensvocht van krachtvoerkoe A werd alleen een grotere afbraak gevonden dan verwacht indien paselli een van de grondstoffen was. Incubaties met pensvocht van krachtvoerkoe B leverde geen significant ($p < 0.05$) verschil op tussen de gevonden afbraak en de berekende afbraak.

Als basis voor de berekende afbraak werd de afbraak van 500 mg van de grondstoffen genomen. De afbraak van combinaties van grondstoffen werd bepaald door 2 X 250 mg te incuberen. Figuur 2 toont de afbraak van verschillende concentraties paselli in pensvocht van krachtvoerkoe B. Het bleek dat wanneer 500 mg paselli geïncubeerd werd 55 % van het zetmeel werd afgebroken. Wordt echter slechts 250 mg geïncubeerd, dan werd 75 % afgebroken. Wordt minder dan 10 mg geïncubeerd, werd 100 % afgebroken. Er bleek eveneens geen rechtlijnig verband te bestaan tussen de pH daling en de substraatconcentratie.

Figuur 2.

Daling van de pH en % afgebroken zetmeel na 6 uur incubatie bij 39 °C van verschillende hoeveelheden paselli in 50 ml pensvocht van krachtvoerkoe B.

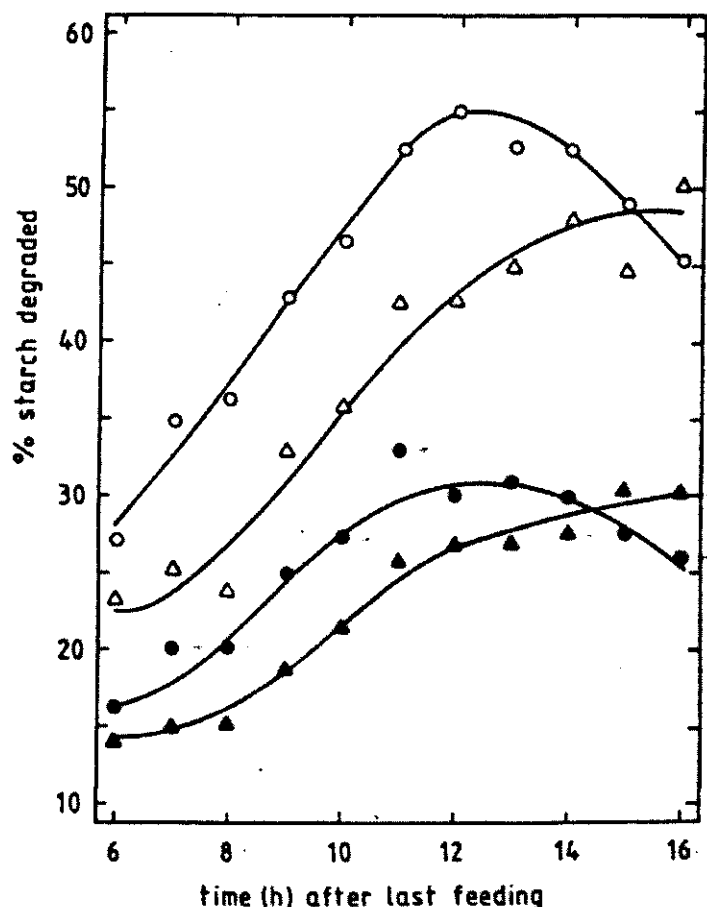


3.2.5. Pensactiviteit na voeding.

Bij alle incubaties met pensvocht van krachtvoerkoe B werd een iets hogere afbraak gevonden dan met pensvocht van krachtvoerkoe A. Krachtvoerkoe A werd gevoerd met ontsloten mais en tapioca, dus snel afbreekbare zetmelen. Krachtvoerkoe B werd gevoerd met mais en milocorn, dus langzaam afbreekbare zetmelen. De koeien werden 's middags om 4 uur gevoerd, terwijl het pensvocht pas de volgende morgen om 8 uur werd genomen. Om na te gaan wat de invloed is van het tijdstip van monstername op de microbiële activiteit in de pens werd de afbraak van mais en ontsloten mais in pensvocht, verkregen op verschillende tijdstippen na de voeding, bestudeerd. De donorkoe werd bij deze proef gevoerd met 4 kg hooi en 4 kg krachtvoer A (laag niveau) of 8 kg hooi en 8 kg krachtvoer A (hoog niveau). Figuur 3 laat zien dat de activiteit van het pensvocht toenam na de voeding en een maximum bereikte na meer dan 12 uur. Waarschijnlijk was er vlak na de voeding een lag tijd in de microbiële activiteit. Na 6 uur nam de activiteit door groei van de micro-organismen toe en na een bepaalde periode, wanneer al het voer (zetmeel) afgebroken was, verminderde de microbiële activiteit weer. Wanneer de donorkoe gevoerd werd op het lage voerniveau had de pens z'n maximale activiteit ongeveer 12 uur na de voeding. Op het hoge voerniveau werd het maximum na meer dan 16 uur bereikt. Veel voer betekent dat een langere periode nodig is om al het zetmeel af te breken en dus werd een langere periode met een hoge amylolytische activiteit in de pens waargenomen.

Figuur 3.

Invloed van de tijd tussen de laatste voeding en pensmonstername op de in vitro afbraak van zetmeel. Na monstername werd 500 mg mais (●, ▲) en ontsloten mais (○, △) 6 uur geïncubeerd in 50 ml pensvocht bij 39 °C. De donorkoe werd gevoerd met 4 kg krachtvoer A en 4 kg hooi (○, ●) of 8 kg krachtvoer A en 8 kg hooi (△, ▲).



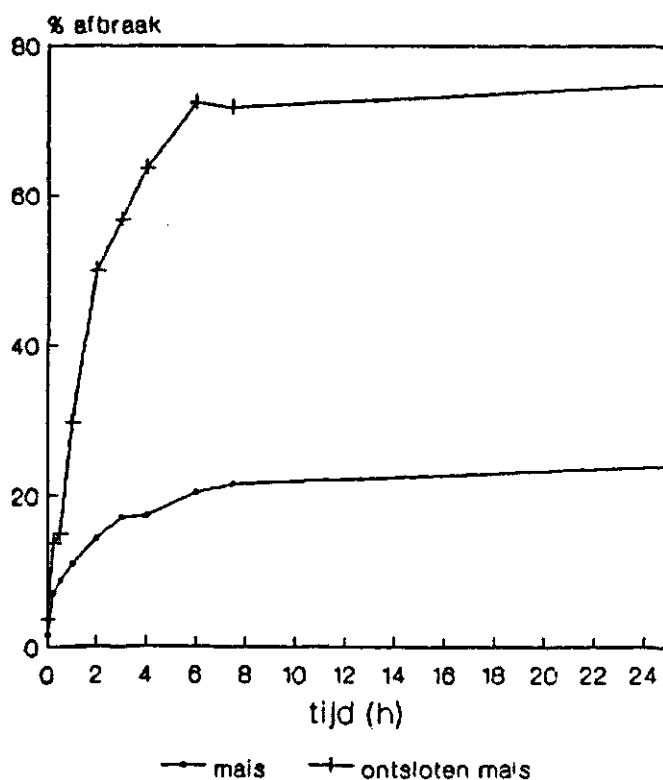
3.3. In vitro afbraak m.b.v. enzymen.

3.3.1. Incubatieduur.

Figuur 4 toont de zetmeelaafbraak van 500 mg mais en ontsloten mais in 50 ml buffer met pH 6.5 en 100 mg α -amylase. De afbraak van zetmeel met α -amylase had de eerste uren een exponentieel verloop. Na ongeveer 6 uur boog de curve af en vond nog slechts minimale afbraak plaats. Voor de enzymatische afbraak is gekozen voor een incubatieduur van 4 uur. Na 4 uur is een groot gedeelte van het zetmeel afgebroken maar bevindt de afbraak zich nog niet in de stationaire fase.

Figuur 4.

Relatie tussen de incubatietijd en het percentage afgebroken zetmeel bij incubatie van 500 mg grondstof en 100 mg α -amylase in 50 ml buffer bij 39 °C.



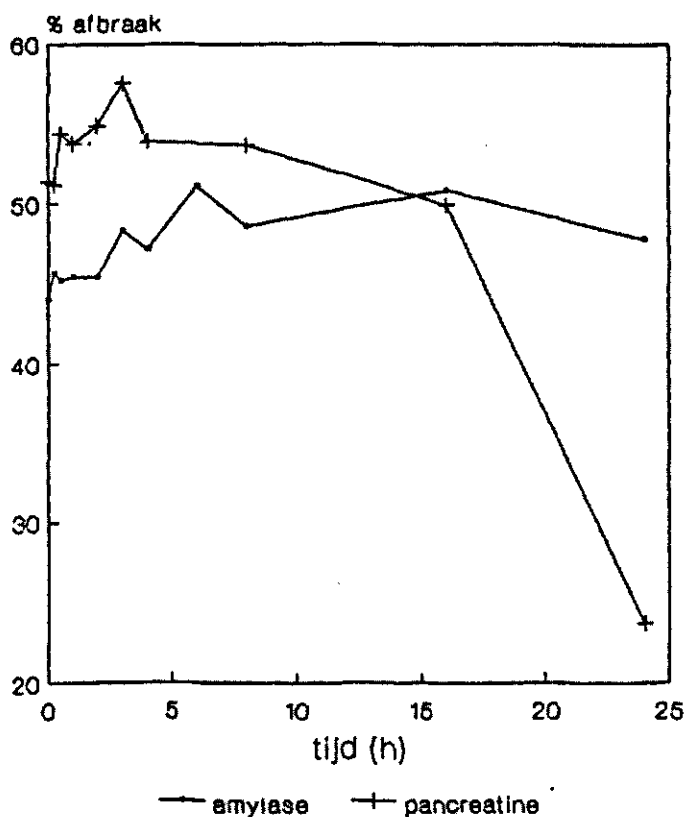
3.3.2. Stabiliteit enzymen.

De afbraak van zetmeel, zoals weergegeven in figuur 4, laat zien dat na 6 uur nauwelijks nog afbraak plaats vond, terwijl nog niet alle zetmeel was afgebroken. Dit kan betekenen dat het restant zetmeel niet op deze manier kan worden afgebroken. Ook kan de activiteit van het enzym zo ver zijn gedaald, dat er geen

afbraak meer plaats kon vinden. Daarom is de stabiliteit van α -amylase en pancreatine onderzocht. De enzymen werden geïncubeerd in buffer met pH 6.5 gedurende 0 tot 24 uur, waarna 500 mg ontsloten mais werd toegevoegd en nog eens 4 uur werd geïncubeerd. Figuur 5 laat zien dat de activiteit van het α -amylase gedurende 24 uur niet afnam. De activiteit van het pancreatine nam pas na 15 uur af. Dit kan het gevolg zijn van het feit dat de proteasen in pancreatine het α -amylase afbreken. Geconcludeerd kan worden dat de resultaten die in figuur 5 te zien zijn niet beïnvloed werden door een verminderde activiteit van de enzymen.

Figuur 5.

Stabiliteit van α -amylase en pancreatine. Van de enzymen werd 100 mg geïncubeerd in 50 ml buffer bij 39 °C gedurende een aantal uren (x-as). Daarna werd 500 mg ontsloten mais toegevoegd en nog eens 4 uur geïncubeerd waarna het % afgebroken zetmeel werd bepaald.



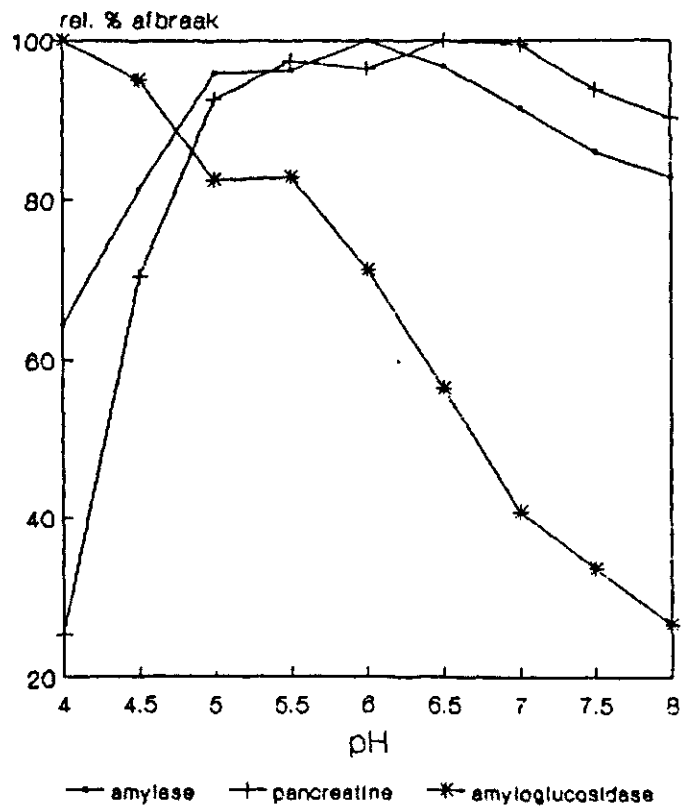
3.3.3. pH optimum van de enzymen.

Voor de bepaling van het pH optimum van de enzymen werd 500 mg tapioca geïncubeerd in 50 ml buffer met 100 mg α -amylase, 100 mg pancreatine of 100 μ l amyloglucosidase. Er werd 4 uur geïncubeerd bij 39 °C. De buffer was een fosfaat-citroenzuur buffer volgens McIlvaine (1921), die ingesteld kon worden van 2.2 tot 8.0. Om een zo goed mogelijke vergelijking tussen de verschillende enzymen te krijgen is in figuur 6 de relatieve afbraak weergegeven. Van ieder enzym werd de maximale afbraak op

100 % gesteld. Zowel α -amylase als pancreatine hebben een vrij breed optimum van pH 5 tot pH 8. Amyloglucosidase heeft een pH optimum van rond de pH 4. Er is voor gekozen om alle experimenten te doen bij pH 6.5, omdat dit een pH is die ook in de pens voorkomt. Voor α -amylase en pancreatine is dit ook het optimum. Voor amyloglucosidase is pH 6.5 niet het optimum, doch er vindt nog ongeveer 60 % afbraak plaats t.o.v. pH 4.0, zodat een pH van 6.5 geen problemen hoeft op te leveren.

Figuur 6.

pH optimum van de enzymen. De afbraak van 500 mg tapioca in 50 ml buffer door 100 mg α -amylase, 100 mg pancreatine of 100 μ l amyloglucosidase gedurende 4 uur bij 39 °C bij verschillende pH's. De maximale afbraak is op 100 % gesteld.



3.3.4. Afbraak grondstoffen (1 mm maling).

De afbraakpercentages van zetmeel van verschillende onbewerkte grondstoffen door verschillende amylolytische enzymen zijn weergegeven in tabel 3. De concentratie van de enzymen is zodanig gekozen dat een maximale spreiding tussen de verschillende grondstoffen optrad. Dus de absolute waarden, zoals weergegeven in tabel 3, kunnen niet vergeleken worden. Omdat de verschillende enzymen, met name α -amylase en amyloglucosidase,

Tabel 3.

Het percentage zetmeel van verschillende grondstoffen (500 mg) afgebroken na 4 h incubatie met 100 mg α -amylase, 100 mg pancreatine of 100 μ l amyloglucosidase bij 39 °C in 50 ml buffer. Twee verschillende α -amylases werden gebruikt, een van Calbiochem en een van Fluka. SEM weergegeven tussen haakjes.

nr	α -amylase (calbio.)	α -amylase (Fluka)	pancreatine	amyloglucosidase
13 aardappel	2.8 (0.1)	6.3 (0.3)	8.1 (0.2)	0.8 (0.2)
07 duivebonen	2.6 (0.2)	7.9 (0.7)	14.9 (0.9)	1.2 (0.2)
08 gierst	2.4 (0.1)	8.6 (0.5)	18.4 (1.1)	0.7 (0.7)
10 milocorn	3.9 (0.1)	10.7 (0.3)	23.3 (1.1)	1.1 (0.6)
06 erwten	4.8 (0.2)	18.4 (1.8)	26.7 (1.7)	0.8 (0.4)
01 mais	6.8 (0.1)	18.1 (0.2)	33.1 (3.0)	3.0 (0.2)
03 tarwe	8.9 (0.3)	17.4 (0.4)	10.1 (0.2)	1.9 (0.1)
05 gerst	10.9 (0.6)	20.9 (0.2)	29.0 (1.3)	2.1 (0.2)
04 haver	11.9 (0.5)	26.2 (1.2)	54.3 (1.2)	2.1 (0.2)
11 tapioca	42.3 (2.0)	59.3 (1.0)	74.9 (1.8)	36.5 (1.6)

wezenlijk andere reactiemechanismen hebben, bleek het niet mogelijk de concentraties van de enzymen zodanig te kiezen dat de afbraakpercentages direct met elkaar vergelijkbaar waren. Tabel 3 laat zien dat bij afbraak met α -amylase en pancreatine, aardappel, duivebonen en gierst het slechts afgebroken werden, m.u.v. tarwe door pancreatine, terwijl gerst, haver en tapioca significant ($p < 0.05$) beter werden afgebroken dan de rest. Bij de afbraak van zetmeel door amyloglucosidase bleek er geen significant ($p < 0.05$) verschil te zijn tussen de afbraak van de verschillende soorten zetmeel. Alleen tapioca werd significant beter afgebroken dan de rest. De afbraak van tarwezetmeel door pancreatine was relatief slecht in vergelijking met de afbraak door α -amylase. De afbraak van de verschillende soorten zetmeel door α -amylase en pancreatine vertoonde een constante volgorde in afbreekbaarheid, m.u.v. de afbraak van tarwe door pancreatine.

Tabel 4 toont de zetmeelafbraak door enzymen van verschillende grondstoffen en technologisch bewerkte producten van die grondstoffen. Het bleek dat in alle gevallen technologisch bewerkte grondstoffen beter werden afgebroken dan de onbewerkte grondstoffen. Gepofte producten werden significant ($p < 0.05$) beter afgebroken dan de andere producten bij afbraak met amyloglucosidase en met pancreatine, m.u.v. gepofte mais, en wanneer gepofte rijst werd afgebroken met α -amylase. In de andere gevallen waren er bewerkte producten die evengoed werden afgebroken als de gepofte producten. Tarwezetmeel werd relatief

Tabel 4

Het percentage zetmeel van verschillende grondstoffen (500 mg) afgebroken na 4 h incubatie met 100 mg α -amylase, 100 mg pancreatine of 100 μ l amyloglucosidase bij 39 °C in 50 ml buffer. Twee verschillende α -amylases werden gebruikt, een van Calbiochem en een van Fluka. SEM weergegeven tussen haakjes.

nr	α -amylase (Calbio.)	α -amylase (Fluka)	pancre- atine	amyloglu- cosidase
01 mais	6.8 (0.1)	18.1 (0.2)	33.1 (3.0)	3.0 (0.2)
76 maisvoermeel	14.4 (0.3)	27.6 (0.8)	43.9 (0.3)	4.5 (0.3)
14 maisgl.voer	27.2 (1.0)	43.8 (1.5)	57.5 (1.0)	8.9 (0.3)
22 ontsl. mais	34.0 (0.7)	61.8 (0.9)	80.0 (1.7)	25.4 (0.8)
23 maisvlokken	38.0 (0.6)	62.6 (2.2)	73.4 (0.9)	38.7 (1.4)
19 gepofte mais	38.0 (1.6)	64.0 (2.3)	72.1 (0.5)	58.9 (2.5)
03 tarwe	8.9 (0.3)	17.4 (0.4)	10.1 (0.2)	1.9 (0.1)
24 tarwegries	36.0 (0.4)	60.6 (1.4)	56.6 (1.2)	9.3 (0.4)
16 tarwevoerm.	40.2 (0.5)	57.6 (1.2)	61.6 (2.2)	9.0 (0.4)
20 gep. tarwe	41.2 (1.9)	62.2 (0.6)	75.5 (1.7)	87.3 (1.6)
40 rijst	3.7 (0.1)	10.1 (0.2)	22.6 (0.8)	1.6 (0.1)
18 rijstvoerm.	25.5 (1.1)	37.8 (0.9)	47.7 (1.2)	11.1 (0.6)
21 gep. rijst	43.1 (0.5)	67.3 (1.7)	79.9 (0.3)	90.9 (1.9)

slecht afgebroken door pancreatine (zie tabel 3). Dit gold echter niet voor de bewerkte produkten (tabel 4).

Tabel 4 laat evenals tabel 3 een constante volgorde in afbreekbaarheid zien.

3.3.5. Invloed niet-amylolytische enzymen.

De afbraak van haverzetmeel door pancreatine was relatief hoog in vergelijking met de afbraak door α -amylase (tabel 3). Een van de mogelijkheden is dat het lipase en protease in het pancreatine hiervoor verantwoordelijk is. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat zetmeelkorrels niet alleen bestaan uit amylose en amylopectine, maar dat ook andere stoffen zoals lipiden, proteïnen, suikers en celwandbestanddelen hier deel van uit kunnen maken. Daarom is de invloed van cellulase, pectinase, xylanase, RC6 (een mengsel van pectinase en cellulase), lipase en protease op de zetmeelafbraak door amyloglucosidase onderzocht. Het bleek dat geen van de onderzochte enzymen een positieve invloed had op de zetmeelafbraak door amyloglucosidase.

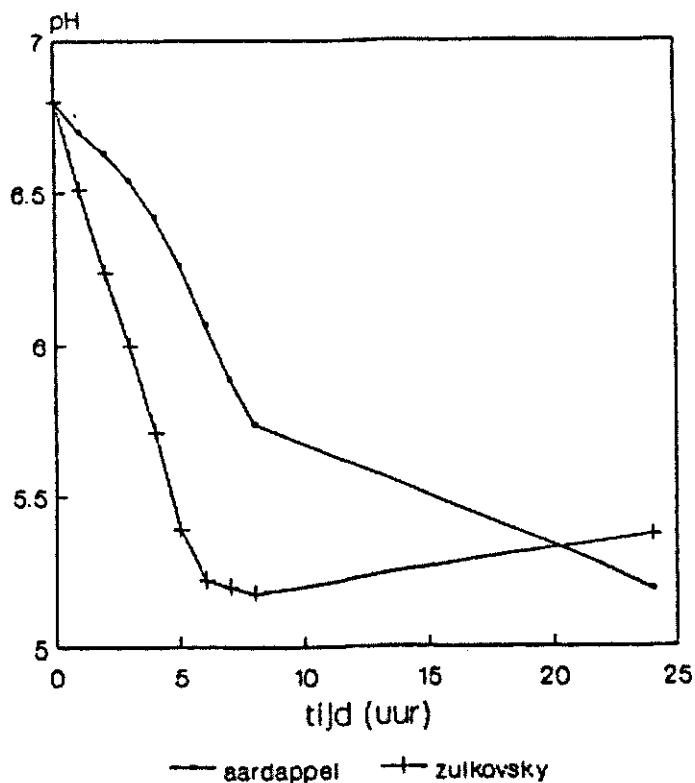
3.4. Remming bij incubaties met pensvocht.

3.4.1. Invloed incubatieduur op zetmeelaafbraak

Tijdens de afbraak van aardappel- en zulkovskyzetmeel m.b.v. pensvocht van een krachtvoerkoe (voer A) daalde de pH (Fig. 7). Voor zulkovskyzetmeel daalde de pH in ongeveer 6 uur tot 5.2, waarna de pH niet verder daalde. Bij de afbraak van aardappelzetmeel daalde de pH ook tot 5.2, maar deed daar echter veel langer over. Het feit dat de pH na 6 uur niet meer daalde bij de afbraak van zulkovskyzetmeel, kan niet gelegen zijn in het feit dat dan alle zetmeel verdwenen is. Na 6 uur was slechts 70 % van het zulkovskyzetmeel verdwenen. Uiteindelijk na 24 uur was er evenveel zulkovskyzetmeel als aardappelzetmeel omgezet, ongeveer 300 mg (Fig. 8). Dit kan dus wijzen op het feit dat bij een toename van de afbraak van zetmeel remming van de afbraak optreedt. Dit kan het gevolg zijn van de dalende pH of van de toenemende concentratie aan eindprodukten (vetzuren), waardoor de microbiële groei geremd wordt.

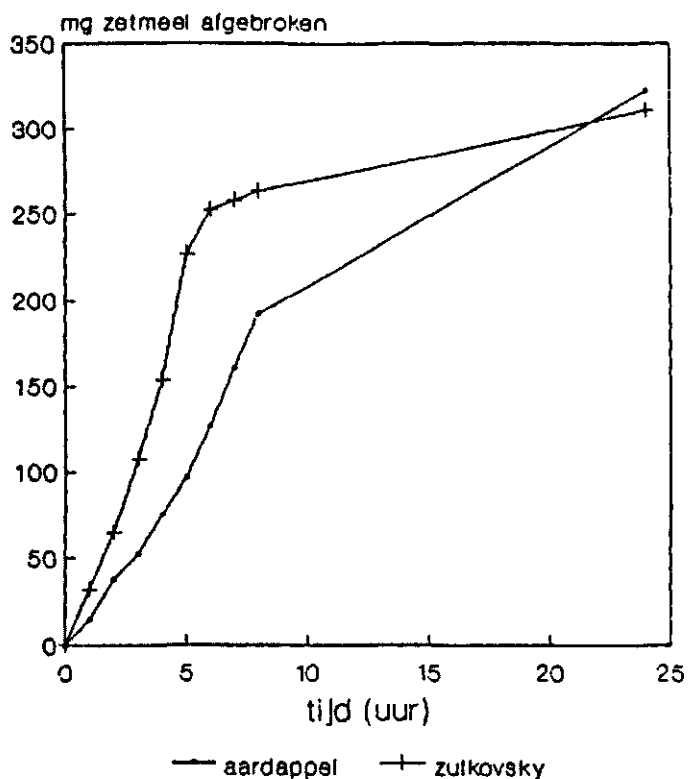
Figuur 7.

Relatie tussen de pH daling en de incubatietijd bij afbraak van 500 mg aardappel- en zulkovskyzetmeel in 50 ml pensvocht van krachtvoerkoe A bij 39 °C.



Figuur 8.

Relatie tussen de hoeveelheid zetmeel afgebroken en de incubatietijd bij afbraak van 500 mg aardappel- en zulkovskyzetmeel in 50 ml pensvocht van krachtvoerkoe A bij 39 °C.



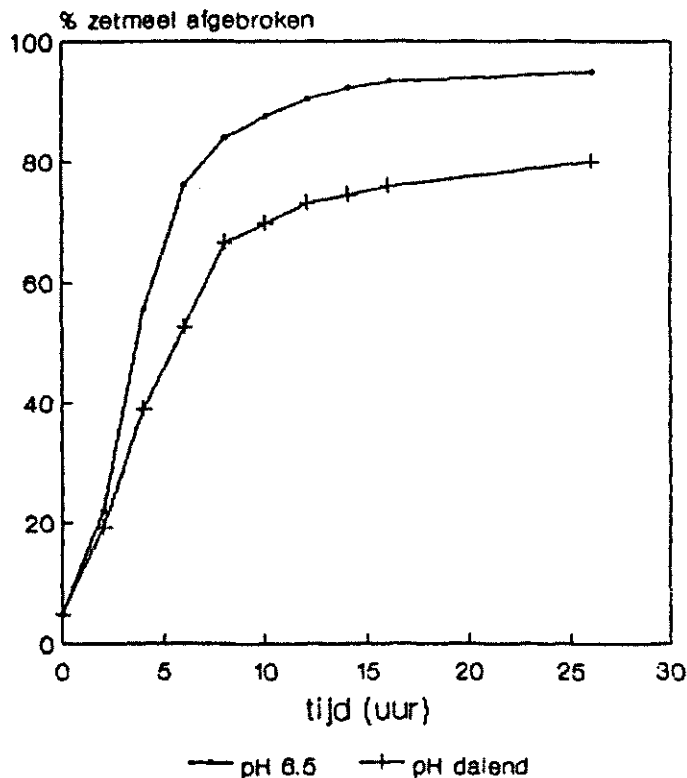
3.4.2. Afbraak in de tijd.

Een te sterk gedaalde pH zou dus remmend kunnen werken op de micro-organismen in het pensvocht. Daarom is de afbraak van mais- en zulkovskyzetmeel m.b.v. pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C) onderzocht bij een dalende en een constante pH van 6.5, gedurende 26 uur. Bij een constante pH werd ieder half uur de pH gesteld op 6.5. Bij mais trad ieder half uur een constante daling van de pH op. Bij zulkovsky werd de pH daling steeds groter naarmate er meer zetmeel afgebroken werd. Na ongeveer 5 uur was kennelijk al het aantastbare zetmeel afgebroken en vond ieder half uur nog slechts een geringe daling van de pH plaats.

Zowel bij mais als bij zulkovsky werd meer zetmeel afgebroken wanneer de pH constant werd gehouden op 6.5 dan wanneer de pH daalde. Bij zulkovskyzetmeel (Fig. 9) was reeds na enkele uren veel meer zetmeel afgebroken bij een constante pH dan bij een dalende pH. Bij maiszetmeel (Fig. 10) werd dit verschil pas veel later, na ongeveer 5 uur, merkbaar. Waarschijnlijk omdat de afbraak van maiszetmeel langzaam verloopt, duurde het veel langer voordat een dalende pH negatieve invloeden kon gaan uitoefenen. Zowel bij mais als bij zulkovsky werd bij een constante pH meer dan 90 % van het zetmeel afgebroken binnen 26 uur.

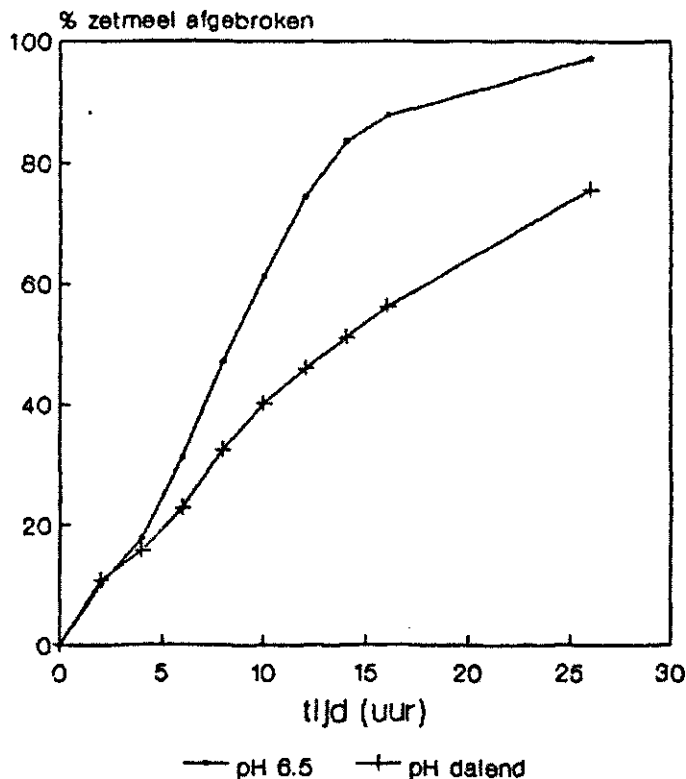
Figuur 9.

Relatie tussen het % zetmeel afgebroken en de incubatietijd bij incubatie van 500 mg zulkovsky-zetmeel in 50 ml pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C) bij 39 °C. De pH werd ingesteld op 6.5 en kon vervolgens dalen of werd constant gehouden op 6.5.



Figuur 10.

Relatie tussen het % zetmeel afgebroken en de incubatietijd bij incubatie van 500 mg maiszetmeel in 50 ml pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C) bij 39 °C. De pH werd ingesteld op 6.5 en kon vervolgens dalen of werd constant gehouden op 6.5.



3.4.3. Incubaties gedurende 26 uur.

Van een aantal grondstoffen is de afbraak door pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C) bepaald na 6, 16 en 26 uur, bij zowel een dalende als een constante pH (tabel 5). Het bleek dat bij een incubatie met een dalende pH, na 26 uur nog een aanzienlijk deel van het zetmeel aanwezig was. Dit gold voor alle onderzochte grondstoffen. Verschillen in afbreekbaarheid tussen de verschillende grondstoffen kwamen het best tot uiting na een incubatie van 6 uur. Het bleek dat na 6 uur tapioca en haver het snelst afgebroken werden en mais en milocorn het langzaamst.

Tabel 5.

Afbraakpercentage van zetmeel van mais, haver, gerst, milocorn, tapioca en aardappel na 6, 16 en 26 uur incubatie in pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C) bij 39°C. De pH werd ingesteld op 6.5 en daalde daarna of de pH werd constant gehouden op 6.5.

nr	grondstof	incubatie- tieduur	pH dalend	pH constant
01	mais	t = 6	12.8	13.7
		t = 16	47.2	77.4
		t = 26	68.4	93.3
04	haver	t = 6	37.3	44.1
		t = 16	63.1	81.0
		t = 26	77.2	93.5
05	gerst	t = 6	19.5	32.5
		t = 16	46.8	73.7
		t = 26	61.8	89.1
10	milocorn	t = 6	11.1	12.1
		t = 16	46.4	71.7
		t = 26	64.7	90.8
11	tapioca	t = 6	36.8	70.7
		t = 16	59.1	90.2
		t = 26	70.4	96.2
13	aardappel	t = 6	18.4	34.6
		t = 16	50.3	89.5
		t = 26	65.8	96.7

Indien geïncubeerd werd bij een constante pH van 6.5 was na 26 uur het overgrote deel van het zetmeel verdwenen. Het blijkt, dat als de omstandigheden optimaal zijn, alle zetmeel afgebroken kan worden en dat men dus niet van echt resistent zetmeel kan

spreken. Na 26 uur incuberen werden er geen significante verschillen in zetmeel afbraak gevonden tussen de verschillende grondstoffen. Opvallend is dat er nogal wat verschil was tussen de afbraak van de verschillende grondstoffen bij een dalende en een constante pH. Bijvoorbeeld de afbraak van haverzetmeel was bij een dalende pH na 6 uur 37 % en bij een constante pH 44 %, terwijl de afbraak van tapioca toenam van 37 naar 71 % bij een constante pH. Dit werd waarschijnlijk veroorzaakt door het feit dat in alle gevallen geïncubeerd werd met 500 mg grondstof, maar dat de grondstoffen verschillende percentages zetmeel bevatten. Zo bevat haver 41.9 % zetmeel en tapioca 63.5 %. Van haver kan dus een veel groter percentage zetmeel afgebroken worden voordat de pH zover gedaald is dat deze remmend gaat werken. Het afbraakpercentage bij een constante pH lijkt dus veel nauwkeuriger dan bij een dalende pH. Indien men toch wil werken met een dalende pH kan het best uitgegaan worden van een constante hoeveelheid zetmeel in plaats van een constante hoeveelheid grondstof.

3.4.4. Incubaties bij pH 6.5.

Van een aantal grondstoffen is de afbraak met behulp van pensvocht bepaald bij een constante pH van 6.5 (Tabel 6 en 7). Dit is gedaan met pensvocht van een hooikoe en van een krachtvoerkoe (voer C). Tabel 6 laat de afbraak zien van een aantal onbewerkte grondstoffen en tabel 7 van een aantal bewerkte grondstoffen.

Tabel 6.

Het percentage zetmeel afgebroken (\pm SEM) van verschillende grondstoffen (500 mg) na 6 uur incubatie bij 39 °C in 50 ml pensvocht. Pensvocht werd genomen van een hooikoe (HK) of van een krachtvoerkoe (KVK), gevoerd met voer C. Tijdens de incubaties werd de pH constant gehouden op 6.5.

nr	HK	KVK
06 erwten	1.4 (0.5)	24.6 (0.9)
01 mais	1.6 (1.5)	17.9 (1.9)
10 milocorn	4.6 (1.2)	12.5 (0.5)
13 aardappel	10.5 (1.3)	23.0 (0.4)
08 gierst	5.5 (2.1)	14.0 (4.3)
07 duivebonen	4.9 (1.1)	19.7 (0.5)
03 tarwe	14.0 (2.3)	41.7 (1.2)
05 gerst	6.3 (0.6)	27.6 (0.9)
04 haver	14.6 (0.2)	48.2 (2.0)
11 tapioca	28.4 (1.0)	57.5 (2.1)

Tabel 7.

Het percentage zetmeel afgebroken (\pm SEM) van verschillende grondstoffen (500 mg) na 6 uur incubatie bij 39 °C in 50 ml pensvocht. Pensvocht werd genomen van een hooikoe (HK) of van een krachtvoerkoe (KVK), gevoerd met voer C. Tijdens de incubaties werd de pH constant gehouden op 6.5.

nr	HK	KVK
01 mais	1.6 (1.5)	17.9 (1.9)
76 maisvoermeel	16.2 (1.2)	30.6 (1.6)
14 maisglutenvoer	11.7 (0.8)	31.6 (0.8)
22 ontsloten mais	7.9 (0.9)	26.1 (1.7)
23 maisvlokken	19.5 (1.2)	42.1 (0.7)
19 gepofte mais maïze	51.5 (0.1)	69.8 (0.4)
03 tarwe	14.0 (2.3)	41.7 (1.2)
24 tarwegries	14.2 (3.3)	34.8 (2.1)
16 tarwevoermeel	18.1 (1.2)	40.6 (1.2)
20 gepofte tarwe	66.5 (0.4)	72.6 (0.2)
40 rijst	6.0 (0.5)	13.4 (0.6)
18 rijstvoermeel	29.1 (0.8)	33.0 (1.2)
21 gepofte rijst	59.6 (4.1)	67.6 (1.0)

3.5. Afbraak m.b.v. pensvochtextract.

3.5.1. Inleiding.

Een van de doelstellingen van dit onderzoek is om na te gaan wat de mogelijkheden zijn om de in vivo afbreekbaarheid van zetmeel in de pens, middels een eenvoudige laboratoriummethode, te voorspellen. Het meest voor de hand liggend is om dan te denken aan de afbraak van zetmeel met behulp van enzymen. Echter, het is ook mogelijk om het pensvocht zelf als basis te gebruiken voor een laboratoriumtest om afbreekbaarheid van zetmeel in de pens te voorspellen. Pensvocht werd gecentrifugeerd en van de pallet werd een droog celvrij extract gemaakt. Met dat extract kan de afbraak van zetmeel bestudeerd worden en vergeleken met in vitro afbraak van zetmeel met pensvocht en met enzymatische afbraak.

3.5.2. Incubaties met pensvochtextract.

Tabel 8 laat de afbraak van een aantal onbewerkte grondstoffen zien door pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C) en door een celvrij extract van dat pensvocht. Tabel 9 laat de

afbraak van een aantal bewerkte grondstoffen zien. Bij deze proeven is uitgegaan van een constante hoeveelheid zetmeel. De hoeveelheid pensvochtextract kwam overeen met 50 ml pensvocht. Tijdens de incubaties werd de pH constant gehouden op 6.5.

Tabel 8.

Het percentage zetmeel afgebroken van verschillende grondstoffen (285 mg zetmeel) door pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C), of door een celvrij extract van dat pensvocht. Tijdens de incubaties werd de pH op 6.5 gehouden.

nr	KVK	extract
10 milocorn	21.0	18.5
01 mais	24.4	11.4
08 gierst	25.2	14.9
07 duivebonen	31.5	25.4
06 erwten	37.7	32.2
13 aardappel	39.2	16.3
05 gerst	47.4	31.1
03 tarwe	49.5	40.5
04 haver	58.2	53.3
11 tapioca	72.8	85.4

Tabel 9.

Het percentage zetmeel afgebroken van verschillende grondstoffen (285 mg zetmeel) door pensvocht van een krachtvoerkoe (voer C), of door een celvrij extract van dat pensvocht. Tijdens de incubaties werd de pH op 6.5 gehouden.

nr	KVK	extract
01 mais	24.4	11.4
76 maisvoermeel	57.3	37.7
14 maisglutenvoer	44.2	45.1
22 ontsloten mais	42.1	48.0
23 maisvlokken	61.7	68.9
19 gepofte mais	79.9	86.0
03 tarwe	49.5	40.5
24 tarwegries	51.7	55.2
16 tarwevoermeel	51.3	55.4
20 gepofte tarwe	85.5	85.6
40 rijst	26.1	8.3
18 rijstvoermeel	54.3	45.4
21 gepofte rijst	83.2	79.5

4. Discussie

4.1. Zetmeelafbraak door pensvocht.

De afbraak van zetmeel in pensvocht van een hooikoe was significant ($p < 0.05$) lager dan in pensvocht van een krachtvoerkoe. Dit gold echter niet voor de afbraak van gepofte rijst. De pens van een hooikoe blijkt dus veel minder aangepast aan de afbraak van zetmeel dan de pens van een krachtvoerkoe. Overeenkomstige resultaten werden gevonden door Trei et al (1970) en Giesecke en Geiges (1974).

In sommige gevallen bleek de afbraak van zetmeel in pensvocht van krachtvoerkoe B iets hoger dan in pensvocht van krachtvoerkoe A. Het is echter niet waarschijnlijk dat dit het gevolg is van een betere aanpassing van de micro-organismen in de pens van krachtvoerkoe B. Figuur 3 laat zien dat het tijdstip van monstername voor de in vitro proeven sterk bepalend is voor de activiteit van het pensvocht. Bovendien wordt de duur van een hoge amylolytische activiteit in de pens bepaald door de snelheid waarmee het krachtvoer afgebroken kan worden. Het feit dat krachtvoer B moeilijker afgebroken werd dan krachtvoer A, betekent dat een langere periode van microbiële activiteit in de pens nodig is om al het zetmeel af te breken. Zestien uur na de voeding is waarschijnlijk alle zetmeel van krachtvoer A reeds afgebroken en de microbiële activiteit weer afgenomen. De microbiële activiteit in de pens van krachtvoerkoe B is, in vergelijking met krachtvoerkoe A, na 16 uur waarschijnlijk hoger, doordat nog een gedeelte van het krachtvoer aanwezig is. Dit lijkt een plausibele verklaring voor het feit dat de in vitro afbraak van zetmeel met pensvocht van krachtvoerkoe B iets hoger is dan van krachtvoerkoe A. Als het tijdstip van monstername anders was gekozen, waren de verhoudingen m.b.t. de in vitro afbraak waarschijnlijk anders geweest.

Uit tabel 1 en 2 blijkt dat er een nagenoeg constante volgorde is in afbreekbaarheid tussen de verschillende grondstoffen, onafhankelijk van het rantsoen van de donorkoe. Zetmeel van lupine, mais en milocorn bleek moeilijk afbreekbaar, terwijl zetmeel van haver, tapioca en paselli veel beter werd afgebroken. Zetmeel van erwten werd relatief slecht afgebroken door pensvocht van een hooikoe, vergeleken met pensvocht van de krachtvoerkoeien. Geconcludeerd kan worden dat de mate van afbreekbaarheid van zetmeel wordt bepaald door de eigenschappen van het zetmeel zelf. Echter het niveau van de afbraak wordt bepaald door de activiteit van de pens. De constante volgorde in afbreekbaarheid tussen de verschillende grondstoffen maakt het mogelijk om met behulp van de fysisch/chemische eigenschappen van zetmeel, de afbreekbaarheid van zetmeel in de pens te voorspellen. Ook zou het mogelijk kunnen zijn om met behulp van enzymatische afbraak de afbraak van zetmeel in de pens te voorspellen.

Technologisch voorbereekte grondstoffen bleken in alle gevallen beter afgebroken te worden dan de onbewerkte grondstoffen (tabel 2), m.u.v. tarwegries en tarwevoermeel in pensvocht van krachtvoerkoe A. Technologische bewerkingen van zetmeel veranderen de ultrastructuur (Gallant en Bouchet 1986) en de fysische en chemische eigenschappen (Hoover en Sosulski 1985) van de zetmeelkorrels. In de literatuur zijn veel aanwijzingen dat het oppervlak van zetmeelkorrels minder gevoelig is voor enzymatische afbraak dan de kern (Gallant et al 1982, Fuwa et al 1978). De buitenste laag bevat mogelijk lipiden (Gallant en Guilbot 1973) en eiwitten die samen met het zetmeel een stabiel en onverteerbaar complex kunnen vormen (Larsson en Miezis 1979). Door bewerkingen kan de buitenste laag van de zetmeelkorrels kapot gemaakt worden waardoor enzymen en bacteriën gemakkelijker het binnenste deel van de korrels kunnen bereiken. Bovendien is het mogelijk dat bewerkingen eventueel aanwezige enzyminhibitoren inaktiveren (Rodriguez en Bayley 1987).

Bijlage 5 toont aan dat de afbraak van zetmeel in grote mate wordt beïnvloed door de deeltjesgrootte. Overeenkomstige resultaten werden gevonden door Penny Snow en O'Dea (1981). De afbraak van tapioca en ontsloten mais werd echter nauwelijks beïnvloed door de deeltjesgrootte. Dit kan op twee manieren worden verklaard. De deeltjes vallen uit elkaar, zo gauw ze in aanraking komen met water, zodat in pensvocht alle deeltjes even groot zijn. Of, het zetmeel is dermate goed ontsloten, dat bacteriën en enzymen in alle gevallen het zetmeel gemakkelijk kunnen bereiken. De eerste verklaring lijkt het meest aannemelijk voor tapioca en de tweede voor gepofte mais.

Eerder onderzoek van Malestein et al (1982) suggereerde dat, indien zetmeelhoudende grondstoffen gelijktijdig geïncubeerd worden, dit een positieve invloed kan hebben op de afbraak van zetmeel. Dit werd geconcludeerd uit het feit dat bij combinaties van grondstoffen een grotere pH daling gevonden werd dan op grond van incubaties van de afzonderlijke grondstoffen verwacht kon worden.

De afbraak van een grondstof door micro-organismen kan geremd worden, indien één element, dat essentieel is voor een optimale groei van de micro-organismen, beperkend wordt. Een dergelijk element zou aangevuld kunnen worden doordat het in voldoende mate voorkomt in een tweede grondstof. Uit bijlage 6 blijkt echter dat er weinig beïnvloeding door de zetmeelbronnen onderling is. Alleen als een zeer goed afbreekbare grondstof werd geïncubeerd met een slechter afbreekbare grondstof in pensvocht van de hooikoe of krachtvoerkoe A werd een hogere afbraak gevonden dan verwacht.

Als basis voor de berekende afbraak werd de afbraak van 500 mg van de grondstoffen genomen. De afbraak van combinaties van grondstoffen werd bepaald door 2 x 250 mg te incuberen. Uit figuur 2 blijkt duidelijk dat de afbraak van zetmeel afhankelijk is van de concentratie. Dit kan een verklaring zijn voor de

gevonden verschillen tussen de bepaalde en de berekende waarden in bijlage 6. De invloed van substraat concentratie zal voor slecht afbreekbare grondstoffen veel geringer of zelfs nihil zijn. Bij incubatie met pensvocht van krachtvoerkoe B werd een hoog percentage zetmeel afgebroken van niet alleen paselli, maar van alle grondstoffen. Dit betekent dat de afbraak van de twee grondstoffen verzadigd werd op dezelfde manier als 500 mg paselli. Hierdoor worden slechts kleine, niet significante, verschillen tussen de bepaalde en de berekende waarden gevonden. Bovendien is geen invloed van de concentratie te verwachten als twee grondstoffen met vergelijkbare afbreekbaarheid worden geïncubeerd.

Alle incubaties met pensvocht zijn in eerste instantie gedaan in een gebufferd systeem. Toch bleek dat de pH door de afbraak van zetmeel kon dalen tot ongeveer 5.2. Hierdoor ontstaat met name bij de snel afbreekbare grondstoffen binnen 6 uur remming van de afbraak. Het bleek dat in alle gevallen uiteindelijk eenzelfde hoeveelheid zetmeel werd afgebroken. Uit tabel 5 blijkt dat bij incubatie met een constante pH van 6.5 een veel groter gedeelte van het zetmeel binnen 6 uur werd afgebroken, van de goed afbreekbare grondstoffen. Omdat bij de slecht afbreekbare grondstoffen, mais en milocorn, de pH binnen 6 uur niet ver genoeg daalde werd nauwelijks effect van een constant gehouden pH gevonden. Wat dus in feite gebeurt door te werken bij een constante pH is dat van de goed afbreekbare grondstoffen een hoger percentage zetmeel wordt afgebroken. De percentages afbraak van de verschillende zetmelen komen dus iets verder uit elkaar te liggen. Dit heeft echter geen wezenlijke consequenties voor de onderlinge verhoudingen in afbraak tussen de verschillende grondstoffen. Dit blijkt ook uit de correlatie coëfficiënten tussen afbraak bij een dalende pH en een constante pH die allemaal rond de 0.9 liggen. Wel kan bij een constante pH grotere verschillen optreden tussen de goed afbreekbare grondstoffen. Welke van de beide situaties het dichtst bij de in vivo situatie ligt zal moeten blijken.

4.2. Zetmeelafbraak met enzymen.

Tabel 3 laat grote verschillen in afbraak tussen de verschillende soorten zetmeel door verschillende enzymen zien. In alle gevallen werd tapioca significant ($p < 0.05$) beter afgebroken dan de andere niet bewerkte grondstoffen. Afbraak van verschillende soorten zetmeel door α -amylase laat een constante volgorde in afbraak zien. Bij afbraak door pancreatine werd tarwezetmeel slecht afgebroken in vergelijking met afbraak door amylase. De reden hiervan is niet bekend. Mogelijk bevat tarwezetmeel een remmer die specifiek is voor het amylase in pancreatine. De afbraak van haver door pancreatine was relatief hoog in vergelijking met de afbraak door α -amylase. Het kan zijn dat het protease en lipase in pancreatine, het zetmeel in haver ontsluiten. Dit kon echter niet bewezen worden door toevoeging van lipase en protease.

Alleen tapioca werd goed afgebroken door amyloglucosidase. Tussen de andere grondstoffen bleek geen significant ($p < 0.05$) verschil in afbraak te zijn. Amyloglucosidase breekt het zetmeel af vanaf het niet-reducerende uiteinde, terwijl α -amylase het zetmeel at random splitst. Dit betekent, dat des te korter de ketenlengte van het zetmeel, het des te sneller afgebroken kan worden door amyloglucosidase. De snelle afbraak van tapioca door amyloglucosidase suggereert dat tapioca bestaat uit zetmeel met kortere ketens.

Het afbraakpercentage van technologisch bewerkte produkten door enzymen bleek hoger dan van de onbewerkte produkten. De afbraak door amyloglucosidase suggereert dat naarmate een meer rigoreuze technologische bewerking heeft plaats gevonden, de ketenlengte van het zetmeel korter wordt. Tarwezetmeel werd relatief slecht afgebroken door pancreatine (Tabel 3). Dit geldt echter niet voor de bewerkte produkten (Tabel 4). Het is mogelijk dat de eventuele remmer in tarwe, specifiek voor pancreatine, geïnactiveerd of afgebroken wordt door de bewerkingen.

Afbraak van verschillende soorten zetmeel door enzymen laat, evenals afbraak door pensvocht, een constante volgorde in afbraak zien. Er zijn echter wel wat verschillen in volgorde van afbraak tussen afbraak met enzymen en met pensvocht. Zo werd bijvoorbeeld met pensvocht aardappelzetmeel altijd beter afgebroken dan maïszetmeel. Bij afbraak met amylase werd het tegenovergestelde waargenomen. De constante volgorde in afbraak geeft de mogelijkheid om de afbraak van zetmeel in vitro te voorspellen m.b.v. enzymatische afbraak. De correlatiecoëfficiënten tussen de afbraak met enzymen en met pensvocht staan weergegeven in tabel 10. De hoogste correlatie wordt gevonden door de afbraak door amyloglucosidase te vergelijken met de afbraak door pensvocht van een hooikoe. De correlatie is echter in de andere gevallen niet hoog genoeg om middels enzymatische afbraak een exacte voorspelling te doen voor de afbraak door pensvocht. Wel kan de afbraak door enzymen gebruikt worden voor een grove indeling van de grondstoffen in slecht, middel en goed afbreekbaar. Het blijft echter de vraag in hoeverre de in vitro afbraak met pensvocht de in vivo situatie in de koe benaderd. Nader onderzoek zal dit moeten uitwijzen. Pas dan kan men ook met zekerheid zeggen of afbraak door enzymen wel of geen voorspellende waarde heeft.

TABEL 10.
Correlatiecoëfficiënten.

	HK	KVK.A	KVK.B	HK (6.5)	KVK (6.5)
α -amylase (cal)	0.81	0.77	0.81	0.71	0.77
α -amylase (flu)	0.78	0.75	0.79	0.68	0.75
pancreatine	0.75	0.73	0.75	0.65	0.72
amyloglucos.	0.89	0.72	0.69	0.93	0.84

De verschillen tussen de afbraak door enzymen en door pensvocht worden mogelijk veroorzaakt door het feit dat in de pens niet een, maar een heel scala aan enzymen voorkomt. Tevens is het bekend dat zetmeelkorrels niet alleen amylose en amylopectine bevatten maar ook lipiden, eiwitten (Swinkels 1985) en niet-zetmeel polysacchariden (Englyst en Cummings 1988). Echter in dit onderzoek werd geen effect van niet-amylolytische enzymen op de afbraak van zetmeel gevonden. Dat wil echter niet zeggen dat er geen andere, meer specifieke enzymen zijn die wel invloed hebben. Bovendien is het niet uitgesloten dat de niet-zetmeel stoffen een complex aangaan met b.v. zetmeel waardoor onoplosbare en onafbreekbare produkten ontstaan (Eliasson 1983).

4.3. Zetmeelafbraak door pensvochtextract.

In eerste instantie werd een aceton/butanol extractie op de afgecentrifugeerde pallet van het pensvocht toegepast. Het bleek echter dat daardoor een groot gedeelte van de amylolytische activiteit in de pallet verloren ging. Waarschijnlijk omdat de binding van veel enzymen aan membranen van essentieel belang is voor de werking. Tevens bleek het nodig om tijdens de gehele procedure anaeroob te werken. Een andere moeilijkheid was de bepaling van de hoeveelheid afgebroken zetmeel, doordat de gevormde glucose slechts gedeeltelijk werd omgezet.

Uit tabel 8 en 9 blijkt dat incubatie met een extract van pensvocht gedurende 6 uur ongeveer eenzelfde afbraak van het zetmeel geeft als bij incubatie met het pensvocht. De bedoeling van dit onderzoek was om na te gaan in hoeverre een celvrij extract van pensvocht de afbraak van zetmeel door pensvocht kan voorspellen. De correlatiecoëfficiënt tussen de afbraak met pensvocht en met het extract is 0.94. Dat is hoger dan de correlatie tussen de afbraak van zetmeel met enzymen en met pensvocht (tabel 10). Alleen de correlatie tussen de afbraak met amyloglucosidase en pensvocht van een hooikoe is van dezelfde orde. Dit betekent dat de afbraak door een extract van pensvocht een betere methode is om de afbraak door pensvocht te voorspellen dan de afbraak door enzymen.

5. Conclusies.

1. Er is een grote variatie in zetmeelafbreekbaarheid tussen verschillende grondstoffen.
2. Er is een vrij constante volgorde in afbreekbaarheid, zowel bij afbraak door enzymen als door pensvocht.
3. Enzymatische afbraak kan in beperkte mate gebruikt worden om afbraak met pensvocht te voorspellen.
4. De amylolytische activiteit in de pens wordt in belangrijke mate beïnvloedt door het rantsoen van de koe.
5. Het tijdstip van monstername is van essentieel belang in verband met een variërende activiteit in de pens na het voeren.
6. De afbreekbaarheid van zetmeel wordt bepaald door de eigenschappen van het zetmeel zelf.
7. Het niveau van afbraak wordt bepaald door de amylolytische activiteit in de pens.
8. Deeltjesgrootte is niet altijd bepalend voor de snelheid van afbraak.
9. Er vindt geen beïnvloeding van zetmeelbronnen onderling plaats bij een gelijktijdige incubatie.
10. Om zoveel mogelijk verschillen in afbreekbaarheid te zien tussen de verschillende soorten zetmeel kan het best gewerk worden bij een constante pH.
11. Door het incuberen van zetmeel met pensvochtextract wordt een betere correlatie met afbraak door pensvocht verkregen dan tussen enzymatische afbraak en afbraak met pensvocht.

6. Referenties.

- Bergmeyer H U 1970 Methoden der enzymatischen Analysen. Vol 2, 2nd edn, Verlag Chemie, Weinheim.
- Eliasson A C 1983 Physical properties of starch in concentrated systems such as dough and bread. PhD thesis, University of Lund, Sweden.
- Englyst H N, Cummings J H 1988 Improved method for measurement of dietary fiber as non-starch polysaccharides in plant foods. J Assoc Off Anal Chem 71 808-814.
- Fuwa H, Sugimoto Y, Tanaka M, Glover D V 1978 Susceptibility of various starch granules to amylases as seen by scanning electron microscopy. Starch/Stärke 30 186-191.
- Gallant D J, Bewa H, Buy Q H, Bouchet B, Szylit O, Sealy L 1982 On ultrastructural and nutritional aspects of some tropical tuber starches. Starch/Stärke 34 255-262.

Gallant D J, Bouchet B 1986 Ultrastructure of maize starch granules. A review. Food Microstructure 5 141-155.

Gallant D J, Guilbot A 1973 Développement des connaissances sur l'ultrastructure du grain d'amidon. 1. l'Amidon de blé. Starch/Stärke 25 335-342.

Giesecke D, Geiges R 1974 Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenacidose. 1. Stärke, Amylase-aktivität und acidität. Zentrallblatt Vet Med A 21 261-267.

Hoover R, Sosulski F 1985 Studies on the functional characteristics and digestibility of starches from Phaseolus vulgaris biotypes. Starch/Stärke 37 181-191.

Larsson K, Mieziš Y 1979 On the possibility of dietary fiber formation by interaction in the intestine between starch and lipids. Starch/Stärke 31 301-302.

Malestein A, van 't Klooster A Th, Counotte G H M 1984 Concentrate feeding and ruminal fermentation. 3. Influence of concentrate ingredients on pH, on DL-lactic acid concentration in rumen fluid of dairy cows and on dry matter intake. Neth J Agric Sci 32 9-21.

Malestein A, van 't Klooster A Th, Counotte G H M, Prins R A 1982 Concentrate feeding and ruminal fermentation. 2. Influence of concentrate ingredients on pH and on L-lactate concentration in incubations in vitro with rumen fluid. Neth J Agric Sci 30 259-273.

McIlvaine J 1921 J Biol Chem 49 83.

Penny Snow H, O'Dea K 1981 Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in food. Am J Clin Nutr 34 2721-2727.

Rodriguez J P, Bayley H S 1987 Steam-heated culled beans: Nutritional value and digestibility for swine. Can J Anim Sci 67 803-810.

Swinkels J J M 1985 Sources of starch, its chemistry and physics. In: Starch conversion technology, eds van Beynum G M A, Roels J A, Marcel Dekker Inc, New York and Basel, pp 15-46.

Trei J, Hale H W, Theurer B 1970 Effect of grain processing on in vitro gas production. J Animal Sci 30 825-831.

7. Bijlagen.

BIJLAGE 1.

Samenstelling krachtvoer donorkoeien.

Krachtvoer A:	40 % ontsloten mais
	30 % tapioca
Krachtvoer B:	40 % mais
	30 % milocorn
Krachtvoer A en B:	21 % sojaschroot
	6 % melasse
	1.2 % krijt
	0.8 % zout
	0.5 % fosforzure voederkalk
	0.5 % premix
Krachtvoer C:	51 % mais
	20 % soyameel (15 % RE)
	18 % sojaschroot
	8 % melasse
	1.2 % krijt
	0.8 % zout
	0.5 % fosforzure voederkalk
	0.5 % premix

BIJLAGE 2.

Samenstelling buffer (pH 6.7)

22.0	mM KH_2PO_4
17.2	mM K_2HPO_4
94.2	mM NaCl
41.6	mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
0.49	mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
0.82	mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

BIJLAGE 3.

Gehaltes (g/kg ds) aan zetmeel (ZM), glucose (Gl), fructose (Fr), maltose (Ma) en sucrose (Su) alsmede het gehalte (g/kg) droge stof (DS). Suikers en zetmeel zijn enzymatisch bepaald.

nr	grondstof	ZM	Gl	Fr	Ma	Su	DS
01	mais	650	3	1	1	8	868
03	tarwe	632	4	2	1	7	862
04	haver	467	4	2	1	6	886
05	gerst	535	3	2	2	8	882
06	erwten	419	3	2	4	31	858
07	duivebonen	386	1	1	1	19	853
08	gierst	629	3	1	2	7	870
09	lupine	39	1	0	1	40	906
10	milocorn	678	2	2	1	7	864
11	tapioca	695	6	8	1	6	901
13	aardappel	629	8	12	1	47	940
14	maisglutenvoer	510	6	5	1	14	889
16	tarwevoermeel	329	1	0	1	2	858
18	rijstvoermeel	273	1	1	3	34	907
19	gepofte mais	663	1	2	1	20	896
20	gepofte tarwe	657	1	2	0	12	893
21	gepofte rijst	792	0	0	1	3	882
22	ontsloten mais	610	4	4	1	14	860
23	maisvlokken	739	2	2	1	5	882
24	tarwegries	224	1	1	3	36	867
29	paselli SA10	890	2	0	39	1	918
30	zulkovsky	766	1	0	3	1	930
40	rijst BG348 korrel	806					878
76	maisvoermeel	570	6	4	4	20	944

Bijlage 4.

Zetmeelafbraak in vitro. 500 mg voer in 50 ml pensvocht/buffer.
Incubatietijd 6 uur. Weergegeven % zetmeel afgebroken \pm SD.
1 mm maling.

nr grondstof	HK		KVK.A		KVK.B	
01 mais	3.5	\pm 1.8	21.6	\pm 4.1	21.6	\pm 2.5
03 tarwe	9.9	2.2	42.3	7.4	41.2	2.5
04 haver	15.9	1.8	51.0	5.6	55.6	2.7
05 gerst	10.3	4.5	33.8	7.5	41.0	1.4
06 erwten	3.1	0.2	33.3	7.5	36.1	0.0
07 duivebonen	8.2	3.6	29.0	6.8	36.0	0.2
08 gierst	6.8	2.4	25.7	6.5	31.0	0.5
09 lupine	0.0	-	13.9	11.7	18.5	0.0
10 milocorn	5.5	1.1	23.6	3.3	25.1	2.6
11 tapioca	23.3	1.9	47.0	6.2	52.8	6.3
13 aardappel	6.6	0.3	25.1	2.1	36.5	4.1
14 maisglutenvoer	17.6	6.8	-	-	45.3	0.9
16 tarwevoermeel	31.3	5.8	43.5	8.3	54.9	0.3
17 voerhaverhout	7.0	2.4	35.4	4.0	39.3	7.1
18 rijstvoermeel	21.8	3.0	45.3	1.3	43.4	3.5
19 gepofte mais	31.7	3.2	49.8	5.8	52.2	4.5
20 gepofte tarwe	44.0	3.5	57.8	4.7	66.4	4.3
21 gepofte rijst	50.3	5.9	57.6	3.3	56.9	2.8
22 ontsloten mais	14.4	3.4	34.9	3.3	42.6	4.0
23 maisvlokken	15.8	3.5	38.5	4.9	47.7	3.0
24 tarwegries	14.7	4.7	41.7	10.7	50.1	3.2
25 mais (BDH)	8.9	2.1	44.0	4.8	43.4	4.8
26 rijst (BDH)	9.5	1.6	45.9	4.4	43.2	4.7
27 aardappel (BDH)	6.8	1.1	33.3	1.3	35.3	4.7
28 oplosbaar (BDH)	22.4	2.3	38.6	3.0	40.0	4.9
29 paselli SA10	55.9	9.3	60.4	6.1	58.9	6.3
30 zulkovsky	52.7	3.6	61.1	6.6	59.5	3.8
31 paselli WA4	42.9	3.0	51.2	1.9	53.8	8.1
35 FP mais	6.5	2.8	25.6	1.8	25.1	2.6
36 FP maisgluten	42.6	8.6	55.6	8.1	57.4	5.0
37 FP maisglutenvoer	38.5	2.7	52.8	7.9	54.4	3.0
38 FP globe	7.7	1.8	43.6	5.3	39.8	4.5
39 FP snowflake	52.5	10.5	55.8	0.9	50.6	9.8

Vervolg Bijlage 4.

nr grondstof	HK		KVK.A		KVK.B	
40 rijst BG348 korrel	7.3	± 1.5	24.4	± 0.7	23.9	± 4.3
41 BG348 zemel	23.0	0.0	54.3	5.1	36.4	2.1
42 BG276-5 korrel	9.4	1.5	24.6	1.9	27.8	5.2
43 BG276-5 zemel	12.0	8.3	42.7	11.5	-	
44 BG400-1 korrel	6.4	2.6	18.8	0.0	22.9	3.7
45 BG400-1 zemel	22.4	2.5	52.5	7.0	38.3	1.0
46 H4 korrel	7.8	2.9	21.6	0.5	26.7	2.9
47 H4 zemel	12.6	3.1	36.1	19.6	35.4	1.8
58 franse baktarwe	9.8	3.7	38.3	2.3	44.1	0.6
60 tarwevoergries	25.0	2.4	42.1	3.0	44.2	4.4
62 tarwevoerbloem	26.1	0.6	50.0	2.8	50.2	3.1
64 tarwezemelen	17.5	8.0	48.3	1.0	53.8	0.0
66 frans/inl. tarwe	9.8	3.6	40.8	2.1	42.5	2.0
68 tarwebloem	8.7	0.0	48.2	2.5	45.1	0.9
70 tarwezetm. natief	22.1	0.2	46.4	1.8	47.8	0.6
72 tarwezetm. voorv.	58.5	7.6	61.9	0.7	60.8	3.6
74 franse mais	7.9	2.2	30.8	2.3	34.8	3.3
76 maisvoermeel	11.1	0.6	36.1	0.1	36.1	1.6
78 tarwekiemz. (EEG)	15.5	1.6	44.1	2.7	45.2	2.5
80 tarwegries/grint	16.7	3.9	45.3	3.1	44.8	2.8
82 tarweachtermeel	23.6	1.7	45.4	2.7	49.1	0.4
84 tarweblankmeel	14.6	0.3	45.6	0.4	47.1	3.7
86 tarwegries	16.5	4.4	49.1	0.9	42.6	5.4
88 tarwekiemz. (USA)	15.6	1.5	45.5	3.0	48.2	5.3
90 tarwegries/grint	16.8	1.2	47.1	0.9	48.1	2.3
92 tarweachtermeel						
94 tarweblankmeel						
96 tarwegries						

Bijlage 5.

Zetmeelafbraak in vitro. 500 mg voer in 50 ml pensvocht/buffer. Incubatietijd 6 uur. Weergegeven % zetmeel afgebroken \pm SD. Gebruikt zijn zeven van 1.0 mm (deeltjes > 1.0 mm), 0.8 mm (deeltjes > 0.8 en < 1.0 mm), 0.5 mm (> 0.5 en < 0.8 mm), 0.25 mm (> 0.25 en < 0.5 mm) en 0.1 mm (> 0.1 en < 0.25 mm). 0 mm betekend dat de deeltjes kleiner dan 0.1 mm waren.

nr grondstof	zeef	HK		KVK.A		KVK.B	
01 mais	0 mm	-	-	-	-	-	-
	0.1	5.0 \pm 0.1		28.0 \pm 1.8		28.1 \pm 3.5	
	0.25	5.2	1.0	21.1	1.9	24.0	1.8
	0.5	4.5	0.4	14.4	0.4	14.2	2.8
	0.8	3.2	1.2	10.5	8.3	8.3	2.8
	1.0	-		7.7	3.9	8.3	0.6
03 tarwe	0 mm	8.8	0.1	47.8	7.6	38.8	1.6
	0.1	10.5	0.0	42.2	7.7	38.2	2.3
	0.25	7.7	0.5	34.5	4.7	28.3	2.5
	0.5	3.9	3.5	21.6	1.1	22.0	2.3
	0.8	8.1	2.1	14.4	2.4	27.3	1.6
	1.0	2.7	1.1	17.5	1.3	23.7	5.5
04 haver	0 mm	8.7	1.1	54.8	4.1	-	-
	0.1	8.2	0.1	45.8	9.4	44.8	4.9
	0.25	9.6	1.3	46.4	10.2	47.8	5.2
	0.5	2.9	2.5	40.2	10.1	40.9	7.6
	0.8	10.3	0.4	39.4	10.6	37.1	5.0
	1.0	6.0	1.6	38.1	6.2	31.6	5.0
10 milocorn	0 mm	-	-	-	-	-	-
	0.1	7.3	0.2	31.2	8.1	46.8	3.9
	0.25	6.8	1.1	23.0	3.7	27.3	3.2
	0.5	6.5	0.3	17.6	3.7	14.6	0.8
	0.8	4.8	3.3	9.6	1.0	8.2	1.2
	1.0	7.7	2.3	9.4	1.3	6.5	0.6
11 tapioca	0 mm	18.4	1.4	49.2	9.7	44.2	1.8
	0.1	27.7	3.4	52.6	7.1	49.0	4.1
	0.25	26.0	2.2	49.2	4.4	49.0	3.4
	0.5	24.9	3.3	48.8	7.6	48.0	3.7
	0.8	20.8	6.6	44.1	4.2	46.9	6.7
	1.0	-	-	-	-	-	-
13 aardappel	0 mm	7.4	1.7	26.0	11.2	22.4	1.8
	0.1	6.3	0.6	19.6	7.6	26.8	4.2
	0.25	5.6	0.9	18.2	6.9	25.3	5.4
	0.5	4.9	1.9	15.5	3.0	19.1	2.8
	0.8	5.6	0.4	12.7	3.5	15.6	2.8
	1.0	4.4	2.9	8.3	4.0	12.3	1.7

Vervolg Bijlage 5.

nr grondstof	zeef	HK		KVK.A		KVK.B	
14 maisgl.voer	0 mm	-		-		-	
	0.1	10.9 ± 2.9		40.4 ± 1.8		34.8 ± 3.9	
	0.25	8.5 ± 2.1		32.5 ± 1.1		31.5 ± 2.8	
	0.5	8.6 ± 0.0		29.7 ± 5.1		30.7 ± 2.5	
	0.8	8.6 ± 0.9		18.0 ± 4.5		16.0 ± 2.5	
	1.0	6.4 ± 1.8		13.7 ± 12.1		19.0 ± 5.0	
19 gepofte mais	0 mm	-		52.5 ± 1.1		-	
	0.1	29.3 ± 1.2		52.1 ± 1.8		43.7 ± 4.4	
	0.25	28.0 ± 1.9		47.9 ± 0.1		46.7 ± 0.6	
	0.5	24.4 ± 1.5		41.7 ± 3.9		44.8 ± 1.8	
	0.8	27.2 ± 1.1		41.9 ± 0.4		43.2 ± 1.4	
	1.0	26.5 ± 1.2		37.4 ± 0.6		41.5 ± 3.5	
22 ontsl. mais	0 mm	-		53.8 ± 1.1		-	
	0.1	18.4 ± 1.6		42.3 ± 2.8		52.6 ± 3.3	
	0.25	10.8 ± 0.4		30.3 ± 2.7		35.6 ± 4.4	
	0.5	8.0 ± 3.1		23.1 ± 3.5		26.3 ± 4.0	
	0.8	6.0 ± 1.9		14.6 ± 2.9		22.7 ± 0.3	
	1.0	-		-		-	
23 maisvlokken	0 mm	-		53.3 ± 0.0		-	
	0.1	19.0 ± 0.3		44.6 ± 0.2		40.6 ± 4.7	
	0.25	16.9 ± 0.0		37.3 ± 0.2		39.7 ± 2.9	
	0.5	15.1 ± 0.2		31.9 ± 0.5		36.2 ± 2.9	
	0.8	12.7 ± 1.6		29.8 ± 1.3		33.8 ± 1.8	
	1.0	15.7 ± 1.8		29.5 ± 4.6		-	

Bijlage 6a.

Afbraak van zetmeel in vitro m.b.v. pensvocht. Combinaties van verschillende soorten zetmeel (2 x 250 mg in 50 ml) vergeleken met de afbraak van de afzonderlijke zetmelen (500 mg in 50 ml)

Hooikoe					
nrs	grondstoffen	bepaald	SE	berekend	SE
01+10	mais + milocorn	3.9 ±	0.4	3.3 ±	0.2
01+11	mais + tapioca	14.9	3.2	12.6	0.4
01+13	mais + aardappel	7.6	2.3	4.2	0.3
01+19	mais + gepofte mais	19.5	1.3	15.5	0.3
01+22	mais + ontsloten mais	9.6	3.1	7.4	0.6
01+29	mais + paselli	44.6	0.4	30.7	2.7
03+11	tarwe + tapioca	22.7	2.3	15.8	0.1
03+22	tarwe + ontsloten mais	17.7	2.1	10.6	0.4
03+29	tarwe + paselli	50.7	0.8	33.6	2.5
10+11	milocorn + tapioca	16.1	2.2	14.2	0.3
10+13	milocorn + aardappel	6.6	0.7	5.9	0.4
11+13	tapioca + aardappel	15.3	0.8	14.9	0.2
11+22	tapioca + ontsl. mais	12.6	3.5	12.3	0.1
11+29	tapioca + paselli	46.8	2.8	38.6	2.2
13+17	aardappel + voerhaver m.	6.5	1.1	6.0	0.5
13+22	aardappel + ontsl. mais	10.9	1.3	9.9	0.0

Bijlage 6b.

Krachtvoerkoe A.

nrs	grondstoffen	bepaald	SE	berekend	SE
01+10	mais + milocorn	19.6 ±	2.3	20.7 ±	0.1
01+11	mais + tapioca	36.7	5.2	34.4	3.5
01+13	mais + aardappel	22.5	4.9	21.1	2.2
01+19	mais + gepofte mais	34.8	3.6	34.4	4.1
01+22	mais + ontsloten mais	26.9	5.5	26.2	3.5
01+29	mais + paselli	48.0	1.6	38.4	0.0
03+11	tarwe + tapioca	47.8	4.3	45.8	7.1
03+22	tarwe + ontsloten mais	38.0	3.7	35.8	4.6
03+29	tarwe + paselli	57.2	3.8	48.0	1.1
10+11	milocorn + tapioca	39.2	1.2	35.4	2.8
10+13	milocorn + aardappel	24.8	3.7	22.6	0.6
11+13	tapioca + aardappel	36.7	4.0	36.4	2.5
11+22	tapioca + ontsl. mais	41.0	5.7	42.2	4.5
11+29	tapioca + paselli	58.0	4.0	54.5	0.8
13+17	aardappel + voerhaver m.	30.3	3.3	28.2	3.3
13+22	aardappel + ontsl. mais	30.2	1.6	29.0	2.9

Bijlage 6c.

Krachtvoerkoe B.

nrs	grondstoffen	bepaald	SE	berekend	SE
01+10	mais + milocorn	26.7 ±	0.5	33.4 ±	3.0
01+11	mais + tapioca	43.9	0.6	46.2	5.9
01+13	mais + aardappel	31.9	1.3	36.3	4.1
01+19	mais + gepofte mais	43.1	1.3	45.6	5.9
01+22	mais + ontsloten mais	37.0	1.8	39.9	3.8
01+29	mais + paselli	50.6	3.0	53.2	4.6
03+11	tarwe + tapioca	51.7	2.5	51.0	0.8
03+22	tarwe + ontsloten mais	44.4	0.6	44.7	1.3
03+29	tarwe + paselli	57.6	3.3	58.0	0.4
10+11	milocorn + tapioca	46.5	1.1	43.0	0.7
10+13	milocorn + aardappel	36.8	0.6	33.1	1.1
11+13	tapioca + aardappel	46.3	2.1	45.9	1.8
11+22	tapioca + ontsl. mais	53.7	2.8	49.6	1.5
11+29	tapioca + paselli	60.3	3.3	62.8	2.3
13+17	aardappel + voerhaverm.	39.8	1.6	39.3	1.1
13+22	aardappel + ontsl. mais	40.5	0.8	39.7	0.4

SAMENVATTING

In een vijftal proeven werd het gedrag van zetmelen in de pens van melkkoeien bestudeerd. Van ruim 20 zetmeelhoudende krachtvoergrondstoffen werd met behulp van nylon zakjes incubaties de afbraak van zetmeel in de pens van met diverse zetmeelbronnen gevoerde koeien nader gekarakteriseerd. Tevens werd van acht krachtvoerrijke rantsoenen met variërende hoeveelheden zetmeel van diverse oorsprong het effect op het verloop van de pensfermentatie bepaald. Ook werd van vier krachtvoerrijke rantsoenen met daarin zetmeel van verschillende oorsprong, het verdwijnen van zetmeel en celwandbestanddelen uit de pens in vivo nagegaan. Ten slotte werd een indirecte vergelijking gemaakt van de met behulp van nylon zakjes incubaties geschatte aan afbraak in de pens ontsnapte hoeveelheid zetmeel en de hoeveelheid zetmeel die de dunne darm in vivo bereikt.

Oorsprong en technologische (voor-)behandeling bleken van invloed op de snelheid van zetmeelafbraak en daarmee op de bestendigheid. Zetmeel met een hoge bestendigheid komt voor in mais, milo en rauwe aardappelen. Grondstoffen met een lage zetmeelbestendigheid zijn tarwe, gerst, haver, tapioca en tarweprodukten. Technologische behandelingen tijdens fabricageprocessen in de voedings- en genotmiddelenindustrie (droge maling, natte maling) alsmede tijdens de mengvoerfabricage (malen, rijpen, pelletieren) bleken een negatieve invloed te hebben op de bestendigheid van zetmeel tegen afbraak in de pens.

Naarmate zetmeel sneller werd afgebroken nam als gevolg van een snellere vorming van vluchtige vetzuren de gemiddelde pH in de pens af en nam binnen de gevormde vluchtige vetzuren het aandeel propionzuur en melkzuur toe. Rantsoenen met veel mais en rantsoenen met veel tapioca hadden gemiddeld over de dag een pH in de pens van resp. 6,3 (s.d.=0,2) en 5,8 (s.d.=0,5). In dezelfde proeven veranderde het procentuele aandeel van azijnzuur van 63,2 (s.d.= 1,0) naar 54,4 (s.d.= 4,7) en dat van propionzuur van 18,4 (s.d.= 0,8) naar 25,8 (s.d.= 2,2). Het gemiddelde gehalte aan melkzuur nam toe van 4,2 (s.d.= 5,9) op het rantsoen met mais naar 9,6 (s.d.= 8,7) op het rantsoen met tapioca.

De soort zetmeel bleek een belangrijke invloed te hebben op het gedrag van celwandbestanddelen in de pens. De totale hoeveelheid celwanden in de pens nam minder snel af met de tijd na de voeropname naarmate het zetmeel in krachtvoer minder bestendig was. Dit was vooral het geval bij celwanden in kleine (<2,5 mm) voerdeeltjes. Als gevolg hiervan nam de totale celwandvertering af van 64 % op een rantsoen met mais naar 56 % op rantsoenen met gerst of tapioca.

Vergelijking van de in vitro, in sacco en in vivo meetmethoden voor het schatten van de zetmeelafbraak in de pens leverde geen eenduidig overeenstemmende uitkomsten. De geschatte afbraaksnelheid in vivo was vaak hoger dan die in vitro en in sacco. Een indirecte vergelijking van met nylon zakjes bepaalde zetmeelbestendigheidscijfers met in vivo gemeten hoeveelheden zetmeel in de dunne darm gaf voor rantsoenen met mais een overschatting door de nylon zakjes methode en voor rantsoenen met veel tapioca en maisglutenvoer een onderschatting.

INHOUD

Samenvatting

1. Inleiding	1
2. Materiaal en methoden	2
2.1 Dierproeven	2
2.2. Chemische analyses	4
2.3. Verwerking van resultaten	5
3. Resultaten	6
3.1. Verloop van de proeven	6
3.2. De invloed van zetmeel op het verloop van de pensfermentatie	6
3.3. Zetmeelafbraak in vitro	7
3.4. Nylon zakjes incubaties in de pens	
3.5. Invloed van hoeveelheid en soort zetmeel op het gedrag van zetmeel in de pens in vivo	11
3.6. De invloed van zetmeel op het gedrag van celwanden	14
3.7. De invloed van de zetmeelbron op de schijnbare vertering van diverse rantsoencomponenten	14
3.8. De invloed van de zetmeelbron op het verschijnen van zetmeel in de dunne darm	16
4. Discussie	17
4.1. Zetmeel en pensfermentatie	17
4.2. De afbraak van zetmeel in de pens	18
4.3. De invloed van de zetmeelbron op het verteringsgedrag van celwanden in het maagdarmkanaal	22
4.4. De invloed van technologische (voor-)behandeling op de afbraak van zetmeel in de pens	21
4.5. Zetmeelpassage naar de dunne darm	21
5. Conclusies	22
6. Literatuur	23
7. Bijlagen	24

1. INLEIDING

Melkkoeien met een erfelijke aanleg voor een hoge melkproduktie kunnen deze produktie slechts realiseren indien ze voldoende hoeveelheden van de juiste nutriënten vanuit het verteringskanaal in hun bloed krijgen aangeboden. Het aanbod van zowel de hoeveelheid als de soort nutriënten is mede afhankelijk van het verloop van de pensfermentatie. Met name de aard van de nutriënten (vluchtige vetzuren, microbiële eiwit) is sterk afhankelijk van de mate waarin en de snelheid waarmee rantsoenbestanddelen (oplosbaar eiwit, niet-oplosbaar eiwit, oplosbare suikers, zetmelen, celwandbestanddelen) in de pens worden gefermenteerd. De snelheid waarmee rantsoenbestanddelen worden omgezet in vluchtige vetzuren bepaalt in sterke mate de verhouding waarin vluchtige vetzuren (azijnzuur, propionzuur, boterzuur) worden gevormd. Daarnaast is de efficiëntie van microbiële groei en daarmee van microbiële eiwitproduktie mede afhankelijk van de snelheid waarmee rantsoencomponenten worden omgezet. De mate waarin de afbraaksnelheden van de verschillende rantsoencomponenten op elkaar zijn afgestemd, bepaalt tenslotte in hoeverre pensfermentatie en het daaruit voortvloeiende aanbod van nutriënten, de optimale voorwaarden voor een hoge (melk-)produktie schept.

Aan het IVVO werd de laatste jaren met behulp van nylon zakjes incubaties al dan niet in combinatie met evacuatie van de pensinhoud en darmpassage-metingen, op uitgebreide schaal onderzoek verricht naar de afbraak van eiwitten (Tamminga en Ketelaar, 1988a), celwandbestanddelen (Tamminga en Ketelaar, 1988b) en in mindere mate zetmeel. Het onderzoek naar de afbraak van eiwitten en celwandbestanddelen omvatte mengvoedergrondstoffen en ruwvoerders; onderzoek naar de afbraak van zetmeel beperkte zich tot mengvoedergrondstoffen. Evenals voor eiwitten en celwandbestanddelen werd gevonden, bleek bij een eerste oriënterend onderzoek met nylon zakjes incubaties dat er tussen de verschillende zetmelen grote verschillen in afbraaksnelheid bestaan. De resultaten van recent in vitro onderzoek (Malestein e.a., 1988) bij de Vakgroep Inwendige Ziekten en Voeding van de Veterinaire Faculteit in Utrecht naar de invloed van mengvoersamenstelling op pensfermentatie wees in dezelfde richting.

Besloten werd in een gezamenlijk onderzoek van beide onderzoekinstellingen, met financiële steun van het Produktschap voor Veevoeder, de invloed van zetmeel in krachtvoer op pensfermentatie en nutriëntenvoorziening bij melkvee, nader te onderzoeken. In onderstaande verslaggeving worden resultaten gegeven van een vijftal experimenten die in het kader van dit onderzoek of daarmee samenhangend, aan het IVVO te Lelystad werden uitgevoerd.

De vraagstellingen bij het IVVO onderzoek waren:

1. Welke invloed hebben soort en hoeveelheid zetmeel in het rantsoen op het verloop van de pensfermentatie ?
2. Hoe snel worden verschillende zetmelen tijdens in vitro incubatie in pensvloeistof afgebroken en hoe snel verdwijnen ze uit nylon zakjes tijdens incubatie in de pens ?
3. Welke invloed hebben soort en hoeveelheid zetmeel op de verdwijning van zetmelen uit de pens ?
4. Welke invloed heeft de soort zetmeel op het gedrag van celwanden in de pens ?
5. Welke invloed heeft technologische (voor-)behandeling op de afbraaksnelheid van zetmeel in de pens ?
6. Hoeveel zetmeel bereikt de dunne darm van melkkoeien ?

2. MATERIAAL EN METHODEN

2.1. Dierproeven

2.1.1. Experiment 1 (Onderdeel van de IVVO Projecten 425 en 426)

In het kader van het onderzoek naar de afbreekbaarheid van eiwit in krachtvoedergrondstoffen werden ook een aantal zetmeelrijke grondstoffen (minimaal 100 g zetmeel/kg ds) gedurende verschillende tijden (0, 2,5, 7,5, 16,5, 24 en 48 uren) in nylon zakjes (PA 40/30, polyamide, mesh 41 nm, Swiss Silk Bolting Cloth Mfg. Ltd., Zurich) in de pens van melkkoeien geïncubeerd. De koeien werden gevoerd met rantsoenen, bestaande uit 6 kg hooi en 12 kg krachtvoer. De grondstoffensamenstelling van het krachtvoer wordt gegeven in bijlage 1.1.

Na incubatie in de pens werden de zakjes met de nog resterende inhoud gewassen, gedroogd en na individueel geanalyseerd te zijn op droge stof, as en stikstof (N), per incubatietijd bijeengevoegd. In deze gepoolde residuen werd het gehalte aan zetmeel bepaald en vervolgens werd een schatting gemaakt van de snelheid van afbraak van in de geïncubeerde grondstoffen aanwezige zetmeel.

2.1.2. Experiment 2 (IVVO Project 427, proef 427-Ta/Ro-33)

Een 5-tal koeien, allen voorzien van een grote penscanule, werden in de loop van een volledige lactatieperiode gevoerd met rantsoenen, bestaande uit 1/3 lang ruwvoer (hooi) en 2/3 krachtvoer. In een volgens een 5x5 Latijns vierkant opgezette proef werden de dieren met vijf verschillende rantsoenen gevoerd. Variabelen waren enerzijds de voeropname (respectievelijk 21, 17, 13, 9 en 5 kg ds/dag) en het gehalte aan zetmeel in het krachtvoer (respectievelijk 32, 26, 20, 14 en 8%). De grondstoffensamenstelling van de twee gebruikte krachtvoerders (met resp 32 en 8 % zetmeel) en de chemische samenstelling van het gevoerde hooi en de beide krachtvoerders worden gegeven in respectievelijk de bijlagen 1.2.1 en 1.2.2. De drie tussenliggende krachtvoerders werden samengesteld uit mengsels van de krachtvoerders A en B. Gedurende elke proefperiode werden uitgebreide metingen verricht voor wat betreft pensfermentatie (Robinson e.a., 1986), penskinetiek (Robinson e.a., 1987a) en verteerbaarheid en melkproductie (Robinson e.a. 1987b). Als onderdeel van de metingen over penskinetiek werden bepaald de opname aan zetmeel, de passagesnelheid van kleine voerdeeltjes met behulp van Cr-NDF en op 3 tijdstippen verdeeld over een etmaal (respectievelijk 2,5 uren na de ochtendvoeding en 3,5 en 7,5 uren na de middagvoeding), de hoeveelheid zetmeel in de pens.

2.1.3. Experiment 3 (IVVO Project 428, proef 428.001)

In een volgens een 4x4 Latijns vierkant opgezette proef werden 4 van grote penscanules (interne diameter 100 mm, Bar Diamond, Parma, Idaho) voorziene, melkgevende, op een aanbindstal gehuisveste koeien gevoerd met winterrantsoenen, bestaande uit hooi en krachtvoer. Proefbehandelingen waren 4 rantsoenen, waarvan 3 krachtvoerrijk (35 % lang hooi, 65 % krachtvoer) en 1 ruwvoerrijk (65 % lang hooi, 35 % krachtvoer). Het ruwvoerrijke rantsoen (RZRS) bevatte een hoog gehalte aan snel afbreekbaar zetmeel, de krachtvoerrijke rantsoenen bevatten respectievelijk zetmeelarm krachtvoer (KZA), krachtvoer met een hoog gehalte aan langzaam afbreekbaar zetmeel (KZRL), afkomstig van mais en milocorn en krachtvoer met een hoog gehalte aan snel afbreekbaar zetmeel (KZRS), afkomstig van tapioca en ontsloten maiszetmeel. De grondstoffensamenstelling van de krachtvoerders en de chemische samenstelling van het gevoerde hooi en de krachtvoerders wordt gegeven in respectievelijk bijlage 1.3.1. en 1.3.2.

Elk rantsoen werd aan elke koe gedurende 8 weken dagelijks om 09.00 uur en 21.00 uur in twee gelijke porties verstrekt. Na een gewennings- en voorperiode van 4 weken, werden in de weken 5 t/m 7 pensincubaties uitgevoerd met zetmeelhoudende mengvoergrondstoffen in nylon zakjes.

Incubatietijden waren 0, 1, 2, 4, 6, 8 en 12 uren. Incubaties vonden plaats in 6 groepen van 4 grondstoffen te weten:

1. (Franse) tarwe, tarwevoerbloem, tarwevoergries en tarwezemelen, afkomstig van dezelfde partij uitgangsmateriaal en beschikbaar gesteld door de b.v. meelfabriek "Weert" te Weert.
2. (Melange Franse-/Inlandse) tarwe, tarwebloem, natief tarwezetmeel en voorverstijfseld tarwezetmeel, eveneens afkomstige van eenzelfde partij en beschikbaar gesteld door de b.v. meelfabriek "Weert" te Weert.
3. (Amerikaanse) mais, maisglutenmeel, maisglutenvoer en natief maiszetmeel. Deze van dezelfde partij afkomstige serie werd beschikbaar gesteld door CMC te Sas van Gent.
4. (Franse) mais, maisvoermeel, aardappelzetmeel en tapioca. Mais en maisvoermeel waren afkomstig van hetzelfde uitgangsmateriaal en werden afkomstig van de b.v. meelfabriek "Weert" te Weert.
5. (Sri Lankaanse) rijst, (Indonesisch) rijstevoermeel, duivebonen en erwten.
6. gerst, gierst, haver en milocorn.

Alle incubaties werden op hetzelfde tijdstip gestart, maar op verschillende tijdstippen beëindigd.

In het midden van week 6 werden mais, ontsloten mais en ontsloten aardappelzetmeel (Paselli) gedurende 6 uren geïncubeerd met pensvloeistof, afkomstig van elk van de 4 koeien. Gemeten werd de hoeveelheid zetmeel die in vitro werd afgebroken volgens de door Malestein e.a. (1988) beschreven methode.

In de 5e en 7e week van elke proefperiode werden in de loop van een etmaal 12 pensmonsters genomen ter bepaling van de pH en de gehalten aan vluchtige vetzuren (VFA), NH_3 en melkzuur (HL).

2.1.4. Experiment 4 (IVVO Project 428, proef 428.002)

Vier melkgevende, op een aanbindstal gehuisveste, tweedekalfs koeien werden in een volgens een 4x4 Latijns vierkant opgezette proef gevoerd met rantsoenen bestaande uit 6 kg hooi en 12 kg krachtvoer. Het krachtvoer bevatte zetmeel van verschillende oorsprong (mais, gerst, tapioca of een mengsel van de drie). Het rantsoen werd verstrekt in twee gelijke porties om 09.00 en 21.00 uur. De grondstofsamenstellingen van de krachtvoerders en de chemische samenstellingen van het gevoerde hooi en de krachtvoerders worden gegeven in respectievelijk de bijlagen 1.3.1. en 1.3.3. Na een gewenningsperiode van 4 weken werd in week 5 in de pens van alle 4 dieren m.b.v. nylon zakjes incubaties het gevoerde hooi, de zetmeelhoudende grondstoffen (mais, gerst, tapioca), niet geperste krachtvoerders (4) en wel geperste krachtvoerders (4) gedurende resp. 0, 2, 4, 6, 8 en 12 uren in de pens geïncubeerd. Hooi werd bovendien gedurende 24 uren geïncubeerd. In dezelfde week werden mais, gerst en tapioca, en de daaruit bereide gemengde krachtvoerders voor en na het persen, eveneens gedurende verschillende tijden volgens de eerder beschreven (Malestein e.a., 1988) methode geïncubeerd in pensvloeistof afkomstig van de met de verschillende rantsoenen gevoerde koeien. Tevens werden in die week gedurende 1 etmaal 12 pensmonsters genomen voor het bepalen van de pH en de gehalten aan vluchtige vetzuren (VFA), melkzuur (HLac) en ammoniak (NH_3). Gedurende week 6 werd van maandag t/m vrijdag de mest zo volledig mogelijk verzameld. Tevens werden op 8 tijdstippen gedurende deze week evacuatie van de volledige pensinhoud

uitgevoerd. Pensevacuaties vonden plaats op de door Robinson et al., (1986) beschreven methode. Van de genomen monsters pensinhoud werd een deel door middel van uitwassen verder opgesplitst in voerdeeltjes langer dan 2,5 mm en voerdeeltjes korter dan 2,5 mm. Deze splitsing vond plaats door een monster in een nylon zak met een maaswijdte van 2 mm over te brengen en de inhoud ervan vervolgens onder een lopende kraan uit te wassen. Tijdstippen van pensevacuatie waren maandag om 10.00 en 17.00 uur, dinsdag 11.30 en 20.00 uur, donderdag om 13.30 en 20.00 uur en vrijdag om 10.00 en 15.00 uur. Gedurende week 7 werden de zelfde metingen uitgevoerd als gedurende week 5.

Gedurende de weken 5 t/m 7 werd de voeropname continu geregistreerd. In de weken 5 en 7 werden tevens de penspassagesnelheid van de merkstoffen Cr-NDF (representatief geacht voor voerdeeltjes) en Co-EDTA (representatief geacht voor pensvloeistof) bepaald.

2.1.5. Experiment 5 (Onderdeel van de IVVO projecten 424 en 427)

In een drietal proefseries met resp 2, 4 en 5 dieren werden melkgevende koeien, voorzien van een penscanule en re-entrant canules in het begin van de dunne darm, gevoerd met rantsoenen, bestaande uit hooi en krachtvoer. Het krachtvoeraandeel bedroeg 60-70% van de ds. Gedurende 5 maal 24 uur werd de darmpassage gemeten en bemonsterd. Na vriesdrogen werd in de monsters darminhoud en voer, naast de gehalten aan o.a. ds, N, celwanden en rvet ook het gehalte aan zetmeel bepaald.

In een eerste serie proeven was het rantsoen 5 kg hooi en 7 kg krachtvoer, bestaande uit gepelleteerde mais met daarin 5% ureum of biureet. In een tweede proefserie werd in het krachtvoer een oplopende hoeveelheid (0, 5, 10 en 12%) dierlijk vet opgenomen. Het rantsoen bestond hier uit 7 kg hooi en 12-13 kg krachtvoer. Tenslotte werd een derde serie proeven uitgevoerd, waarin een deel van het eiwit afkomstig was uit sojaschroot (S), vismeel (V), "Onbestendig" (O) of "Bestendig" (B) eiwit. Rantsoenen bestonden uit 3-7 kg hooi en 6-14 kg krachtvoer. De samenstelling van de in de verschillende proeven gevoerde krachtvoerders wordt gegeven in bijlage 1.4.

2.2. Chemische analyses

Pensmonsters werden genomen en geanalyseerd volgens de bij het IVVO gebruikelijke, elders gerapporteerde methodes (Robinson e.a., 1986).

De na pensincubatie in de nylon zakjes achtergebleven residuen werden gewassen in koud water (wasmachine) en na drogen (70°C) geanalyseerd op hun gehalte aan droge stof (ds), N en zetmeel. Het gehalte aan ds werd bepaald door droging bij 70°C tot constant gewicht. N werd bepaald volgens de Dumas methode.

Zetmeel in de residuen van nylon zakjes incubaties en in voer, pensinhoud en mest werd enzymatisch met behulp van amyloglucosidase bepaald op een auto-analyser (Breda Scientific, Breda). Vooraf werden de aanwezige suikers verwijderd door extractie met 40 % ethanol en vond ontsluiting plaats door gedurende 120 minuten bij 128°C te autoclaveren.

Suikers in voer en pensinhoud werden bepaald met behulp van de neocuprinemethode op een auto-analyser. Suikers werden daartoe eerst ge-extraheerd met 40 % ethanol. De suikers werden daarna gehydrolyseerd in zwak zuur milieu (0.1 M HCl) tot monosacchariden. Na deze hydrolyse werd koper(II) door oxidatie van de monosacchariden omgezet tot koper(I) wat met neocuprine een geel gekleurd complex vormt dat spectrofotometrisch kon worden bepaald.

In vitro incubaties met pensvloeistof werden uitgevoerd door aan 100 ml 1:3 met buffer verdunde pensvloeistof 1 g van het te onderzoeken voedermiddel

toe te voegen en dit gedurende een aantal uren bij 39° C te incuberen (Malestein e.a., 1988).

Na in vitro incubaties werden zetmeel+suikers bepaald met behulp van amyloglucosidase (Boehringer, Mannheim). Bij deze bepalingsmethode werd zetmeel eerst ontsloten door het gedurende 15 minuten met 1,5 M HCl te koken. Vervolgens werd het met behulp van het enzym amyloglucosidase gehydrolyseerd en omgezet in D-glucose, wat daarna met behulp van de enzymen hexokinase en glucose-6-fosfaat dehydrogenase werd omgezet in glucose-6-fosfaat onder gelijktijdige vorming van NADPH. Deze laatste verbinding kon spectrofotometrisch nauwkeurig worden bepaald. Omdat er van werd uitgegaan dat in pensvloei stof vrije suikers zeer snel worden omgezet werden deze niet apart bepaald.

2.3. Verwerking van de resultaten

Voor het schatten van de zetmeelafbraak werd aangenomen dat zetmeel in principe in de pens volledig afbreekbaar is en dat de afbraak verloopt volgens een 1e orde afbraakmodel, waarvoor geldt:

$$R(t) = R(o) * (1 - e^{-k(t)}),$$

waarin:

R(o): de totale hoeveelheid zetmeel aan het begin van de in vitro incubatie, de hoeveelheid niet uitwasbare zetmeel in de pens te incuberen nylon zakjes of de hoeveelheid zetmeel in vivo in de pens vlak na voeding (t=0).

R(t): de hoeveelheid zetmeel op het tijdstip van stoppen van de incubatie (vitro), het tijdstip van verwijdering van het nylon zakje uit de pens (sacco) of het tijdstip van pens leeghalen (vivo)

k : de snelheid van zetmeelverdwijning als gevolg van afbraak in vitro, als gevolg van uitwassen en/of afbraak in nylon zakjes of als gevolg van afbraak in de pens in vivo en passage naar de dunne darm (in fracties per uur).

Van zetmeel dat uit nylon zakjes verdween werd verder aangenomen dat het zeer snel en volledig in de pens wordt afgebroken. Van de niet uitwasbare fractie zetmeel in nylon zakjes werd aangenomen dat het de pens via passage verlaat met een snelheid van 5 % per uur. De effectieve zetmeelbestendigheid (EB) werd vervolgens geschat uit de verhouding van passagesnelheid en de som van passagesnelheid en afbraaksnelheid (Tamminga en Ketelaar, 1988). Zetmeel bleek sneller uit de zakjes te verdwijnen dan volgens het voorgestelde logaritmische model werd verwacht. Er werd daarom een iets gewijzigde berekeningsmethode toegepast, waarbij de direct uitwasbare fractie niet werd gemeten door zonder incubatie uit te spoelen, maar werd berekend uit het snijpunt van de door de meetpunten geconstrueerde curve met de y-as.

De resultaten van de proeven werden statistisch geanalyseerd met behulp van het statistische analysepakket Genstat (Alvey e.a., 1982).

3. RESULTATEN

3.1. Verloop van de proeven

Experiment 3 was aanvankelijk opgezet als een 4x4 Latijns vierkant met 4 dieren, 4 perioden en 4 rantsoenen. Als gevolg van een niet geschikte fysiologische toestand (afkalven) moesten 2 dieren voortijdig uit de proef worden genomen en vervangen door andere dieren. Dit leidde er tevens toe, dat de proef niet in 4 perioden afgewerkt kon worden, maar moest worden uitgebreid tot 5.

Tijdens de eerste proefperiode in experiment 3 bleken natief tarwezetmeel, ontsloten tarwezetmeel en natief maiszetmeel reeds na 1 uur pensincubatie volledig uit de nylon zakjes te zijn verdwenen. In volgende proefperiodes werden deze grondstoffen daarom niet verder geïncubeerd.

Wegens een onvoldoende in pensvloeistof suspenderen van de substraten ontsloten mais en Paselli in experiment 3, gaven de in vitro incubaties met pensvloeistof aanvankelijk onbevredigende resultaten. De problemen werden opgelost door de te incuberen grondstoffen fijner te malen.

Experiment 4 had een vrijwel vlekkeloos verloop. Alleen in de laatste proefperiode liet tijdens de meetperiode de voeropname van de koe die krachtvoer met veel gerst kreeg gevoerd, te wensen over. Voor deze koe werden de pensevacuaties daarom een week later uitgevoerd. Bij deze proef werd tevens enige hinder ondervonden van het feit dat bij de pensevacuaties om 10.00 en 11.30 nog niet altijd alle voer was geconsumeerd.

De samenstelling van de meeste voor incubaties gebruikte grondstoffen, die worden vermeld in bijlage 2, kwam goed overeen met de in de Veevoedertabel van het Centraal Veevoeder Bureau voor gelijknamige produkten vermelde samenstellingen. Uitzonderingen waren maisvoermeel, dat een samenstelling had die het midden hield tussen maisvoermeel en maisvoerbloem, aardappelzetmeel dat een laag gehalte aan zetmeel en een hoog gehalte aan andere bestanddelen had en rijst, dat waarschijnlijk ontdopte rijst was.

3.2. De invloed van zetmeel op het verloop van de pensfermentatie.

(Experimenten 3 en 4)

De in experimenten 3 en 4 gevonden resultaten over het verloop van de pensfermentatie bleken goed met elkaar overeen te komen. In beide proeven samen werden 8 rantsoenen gevoerd, 1 ruwvoerrijk (RZRS) en 7 krachtvoerrijk. Van de krachtvoerrijke rantsoenen (5 kg hooi, 10 kg krachtvoer in experiment 3; 6 kg hooi, 12 kg krachtvoer in experiment 4) bevatte 1 rantsoen weinig zetmeel (KZA) en bevatten 6 rantsoenen veel zetmeel (35 - 40 % in de ds van het rantsoen). De zetmeel in deze rantsoenen was afkomstig van respectievelijk mais + milo (KZRL), mais (MAIS), een mengsel van mais, tapioca en gerst (MIX), gerst (GERST), tapioca (TAPIOCA) en een mengsel van tapioca en ontsloten mais (KZRS). De gevonden resultaten worden weergegeven in tabel 1.

Opvallend is dat ook binnen zetmeelrijke rantsoenen (KZRL t/m KZRS) grote variaties in pensfermentatiekarakteristieken mogelijk zijn. Naarmate de zetmeel in het rantsoen gemakkelijker wordt afgebroken neemt de gemiddelde pH geleidelijk af, met een toenemende variatie (d.w.z. een groter verschil tussen minimum en maximum), neemt aanvankelijk het gehalte aan boterzuur (HBu) toe bij een dalend azijnzuurgehalte (HAc) en neemt vervolgens het gehalte aan propionzuur (HPr) toe bij zowel een dalend azijnzuurgehalte als een dalend boterzuurgehalte. Naarmate de zetmeel gemakkelijker wordt afgebroken neemt ook het gemiddelde melkzuurgehalte (HLac) toe, met eveneens een toenemende spreiding (hogere piekwaardes).

Tabel 1: Pensfermentatiekarakteristieken na het voeren van verschillende zetmeelhoudende rantsoenen.
(Etmaalgemiddelde met standaardafwijking)

Rant- soen (jaar)	zetmeel- bestendig- heid	pH	t-VFA* mmol/L	HAc* ----- %	HPr* ----- %	Hbu* ----- %	NGR*	NH ₃	HLac mmol/L
RZRS (1987)	3	6,3 0,2	111,9 17,1	66,7 1,5	17,7 1,2	11,8 0,6	4,9 0,4	12,4 5,3	3,3 4,8
KZA (1987)	-	6,2 0,3	105,2 18,3	66,4 1,8	17,9 1,4	12,0 0,7	4,9 0,5	8,2 4,6	3,4 5,2
KZRL (1987)	46	6,3 0,2	107,1 14,2	63,2 1,0	18,4 0,8	13,3 0,7	4,7 0,3	14,4 5,8	4,2 5,9
MAIS (1988)	45	6,1 0,4	108,1 15,1	63,3 1,9	18,3 1,5	15,2 1,2	5,0 0,5	6,4 2,7	2,8 6,2
MIX (1988)	18	6,1 0,4	110,8 16,7	63,0 1,9	17,4 1,5	16,0 1,2	5,2 0,5	6,3 2,1	4,8 10,3
GERST (1988)	7	5,9 0,5	107,6 21,9	61,7 1,8	18,4 1,7	14,9 1,4	4,7 0,5	5,2 2,3	5,4 8,7
TAPIOCA (1988)	6	6,0 0,5	108,9 22,2	62,4 3,1	18,5 2,3	14,6 1,7	4,7 0,6	4,6 2,3	6,8 13,6
KZRS (1987)	3	5,8 0,5	108,3 22,8	54,4 4,7	25,8 2,2	13,3 2,7	3,0 0,2	6,6 3,3	9,6 8,7

* : t-VFA = totaal vluchtige vetzuren (mmol/L)

HAc = Azijnzuur; HP = Propionzuur; HB = Boterzuur

NGR = Non glucogenic/Glucogenic Ratio

NH₃ = ammoniak; Hlac = Melkzuur

Statistische analyse van de uitkomsten binnen beide proeven liet significante rantsoeninvoeden (P,0,05) zien voor gemiddelde pH, NGR, NH₃ en Hlac in experiment 3. In experiment 4 werden allen de gemiddelde waarden van NH₃ en Hlac significant (P,0,05) door het rantsoen beïnvloed. De variatie in de loop van de dag (s.d.) van pH, VFA, NH en Hlac werden in experiment 3 significant (P<0,05) beïnvloed door het rantsoen waarmee de dieren gevoerd werden. In experiment 4 werd de variatie van alle gemeten grootheden behalve NH₃ en NGR significant (P<0,05) door het rantsoen beïnvloed.

3.3. Zetmeelafbraak in vitro

3.3.1. Experiment 3

De resultaten van de incubaties van mais, ontsloten mais en Paselli (ontsloten aardappelzetmeel) in pensvloeistof in week 6 van de proefperioden, worden gegeven in tabel 2.

Tabel 2. Afbraak van zetmeel na 6 uren in vitro incubatie in pensvloei-stof. (Gemiddelde van 4 dieren)

substraat	r a n t s o e n				Gem.
	RZRS	KZA	KZRL	KZRS	
mais	26,9	35,6	36,6	60,8	41,9
ontsloten mais	40,6	45,4	53,7	77,4	54,8
Paselli	68,0	74,0	77,4	91,1	79,0
gemiddeld:	45,6	51,7	55,9	76,4	58,6

Uit de resultaten blijkt dat zetmeel in ontsloten mais sneller wordt afgebroken dan in niet ontsloten mais. Ook blijkt dat zetmeel sneller wordt afgebroken in de pens van met veel dan in de pens van met weinig zetmeel gevoerde koeien. Tenslotte blijkt dat pensvloei-stof van een met snel afbreekbaar zetmeel gevoerde koe sneller zetmeel afbreekt dan pensvloei-stof van een met langzaam afbreekbaar zetmeel gevoerde.

3.3.2. Experiment 4

In experiment 4 werden de gevoerde zetmeelbronnen (mais, gerst, tapioca) afzonderlijk en als mengsel voor en na pelletteren in vitro geïncubeerd met pensvloei-stof van met de verschillende rantsoenen gevoerde koeien. Als incubatieduur werden dezelfde tijden aangehouden als bij de nylon zakjes incubaties in experiment 3. Uit de op verschillende incubatietijden achtergebleven hoeveelheden zetmeel kon een afbraaksnelheidsconstante (% per uur) worden berekend. Dit leverde de uitkomsten (gemiddelde van 8 incubaties; 2 per koe) zoals weergegeven in tabel 3.

Tabel 3. Snelheid van zetmeelafbraak (% per uur) in vitro. (gemiddelde van 4 dieren)

zetmeel- bron	r a n t s o e n				Gem.
	mais	gerst	tapioca	mix	
Mais	8,3	11,1	10,3	8,6	9,6
Gerst	9,2	17,8	16,2	12,7	14,0
Tapioca	9,4	15,2	15,3	10,9	12,7
Mix (o)*	12,1	16,2	15,4	14,1	14,4
Mix (p)*	12,2	17,3	16,7	14,2	15,1

*: o = ongepelleteerd; p = gepelleteerd

Opnieuw blijkt een sterke invloed van de zetmeelbron in het rantsoen van de donordieren van pensvloei-stof op de snelheid waarmee zetmeel van verschillende oorsprong in vitro wordt afgebroken. De invloed van pelletteren op de snelheid van zetmeelafbraak lijkt hier gering, maar er is een tendens tot een iets versnelde afbraak na pelletteren.

3.4. Nylon zakjes incubaties

3.4.1. Experiment 1

De resultaten van de nylon zakjes incubaties in experiment 1 worden gegeven in tabel 4.

Tabel 4. Bestendigheid van zetmelen gemeten met nylon zakjes in experiment 1. (Gemiddelde van 4 dieren)

grondstof	zetmeel (g/kg ds)		S*	B*	k(d)*	EB*
	1*	2*	(%)	(%)	(%/uur)	(%)
aardappelzetmeel	650	-	23	77	16,0	18
erwten	426	479	24	76	14,1	19
macoyapellets	137	148	88	12	25,4	2
maisglutenvoer	246	255	50	50	12,6	14
maisglutenvoer	189	-	55	45	10,2	13
maisvoerschroot	336	-	48	52	5,6	25
paardebonenmeel	422	386	41	47	12,2	17
rijstevoermeel	180	192	0	100	13,5	30
rijstevoermeel	317	331	14	86	15,4	21
rijstevoerschroot	221	238	23	67	8,9	24
tapioca	684	-	59	41	6,8	17
tarwegries	200	241	89	11	27,2	2
voerbonenmeel	347	375	14	86	10,0	29

*: 1 - met amyloglucosidase;

2 - volgens methode Ewers;

S - uitwasbare fractie;

B - niet uitwasbare, afbreekbare fractie;

k(d) - verdwijnsnelheid (% per uur);

EB - effectieve ontsnapping aan pensafbraak bij een penspassagesnelheid van 5% per uur.

De resultaten worden weergegeven als % uitwasbaar zetmeel (S), afbraak-snelheidsconstante (k (d) in fractie per uur) en effectieve bestendigheid (EB). Uit de resultaten blijken grote verschillen tussen grondstoffen, zowel voor wat betreft de uitwasbaarheid (S) als voor de afbraaksnelheid van zetmeel. Dientengevolge varieerde ook de bestendigheid (EB) tussen grondstoffen. Opvallend zijn de lage bestendigheden van zetmeel in macoyapellets en in tarwegries en de relatief hoge van zetmeel in maisvoerschroot, rijstevoermeel en voerbonenmeel.

3.4.2. Experiment 3

De resultaten van pensincubaties met 21 grondstoffen in nylon zakjes worden voor experiment 3 op dezelfde wijze gegeven in tabel 5.

De resultaten uit experiment 1 werden grotendeels bevestigd. Wat in dit onderzoek opviel was, evenals bij de in vitro incubaties was geconstateerd, dat de snelheid van zetmeelafbraak mede afhankelijk was van de soort zetmeel waarmee de koe, waarin incubaties plaats vonden, werd gevoerd. Naarmate dit zetmeel sneller afbreekbaar was, was de snelheid waarmee zetmeel uit de nylon zakjes verdween hoger en de zetmeelbestendigheid

dienovereenkomstig lager. Een overzicht van de invloed van het rantsoen op de gemiddelde zetmeelbestendigheid wordt gegeven in bijlage 2.

Tabel 5. Bestendigheid van zetmelen gemeten met nylon zakjes in experiment 2 (Gemiddelde van 4 dieren)

grondstof	zetmeel		S*	B*	k(d)*	EB*
	(g/kg ds)*					
	1	2	(%)	(%)	(%/uur)	(%)
Milo	652	734	32	67	3,6	41
Mais	676	712	27	73	4,0	42
Franse mais	709	727	25	75	3,9	42
Maisvoermeel	607	617	30	70	4,9	36
Maisglutenvoer	403	391	70	30	7,8	13
Maisglutenmeel	205	219	23	77	28,6	12
Rijst	848	865	26	74	7,6	31
Rijstvoermeel	269	382	34	66	9,3	24
Gierst	616	657	41	59	8,3	23
Gerst	561	589	62	38	24,2	7
Melange tarwe	666	678	68	32	18,8	7
Franse tarwe	654	648	68	32	17,5	8
Tarwebloem	772	817	87	13	19,8	4
Tarwevoerbloem	493	513	85	15	15,7	4
Tarwegries	238	254	80	20	21,1	4
Tarwezemelen	134	131	81	19	20,8	4
Haver	466	464	96	4	18,8	1
Aardappel	651	698	26	74	4,9	39
Tapioca	726	764	75	25	16,8	6
Duivebonen	360	408	44	56	8,0	24
Erwten	418	489	50	50	7,1	22

* Voor verklaring zie tabel 4.

Wanneer de gemiddelde uitkomsten in dit experiment worden beoordeeld blijken ook in dit experiment tussen grondstoffen grote verschillen in zetmeelbestendigheid te bestaan. Opvallend zijn hier de lage bestendigheden van tarwe, tarweprodukten, gerst, haver en tapioca. Hoge bestendigheden worden daarentegen gevonden voor milo, mais, sommige maisprodukten, rijst, rijstprodukten en aardappelzetmeel. Verder valt op dat naarmate een grondstof uit een produkten reeks meer bewerkt is (uitmalen, zetmeelfabricage) de bestendigheid van de erin aanwezige zetmeel afneemt.

3.4.3. Experiment 4.

In tabel 6 worden de resultaten gegeven van de nylon zakjes incubaties in experiment 4.

Tabel 6. Bestendigheid van zetmelen gemeten met nylon zakjes in experiment 4 (Gemiddelde van 4 dieren)

grondstof	zetmeel (g/kg ds)		S*	B*	k(d)*	EB*
	1	2	(%)	(%)	(%/uur)	(%)
mais	681		19	81	4,0	45
gerst	572		47	53	15,4	13
tapioca	710		68	32	13,1	9
mengsel	654		39	61	9,7	22
krv. mais (o)**	356		13	87	5,0	44
krv. gerst (o)**	370		61	39	20,3	8
krv. tapioca (o)**	360		75	25	14,1	7
krv. mengsel (o)**	373		51	49	7,7	19
krv. mais (p)**	362		21	79	5,2	38
krv. gerst (p)**	386		66	34	23,9	6
krv. tapioca (p)**	364		81	19	15,8	4
krv. mengsel (p)**	373		59	41	9,3	14

* Voor verklaring zie tabel 4.

** : (o) - voor pelleteren

(p) - na pelleteren

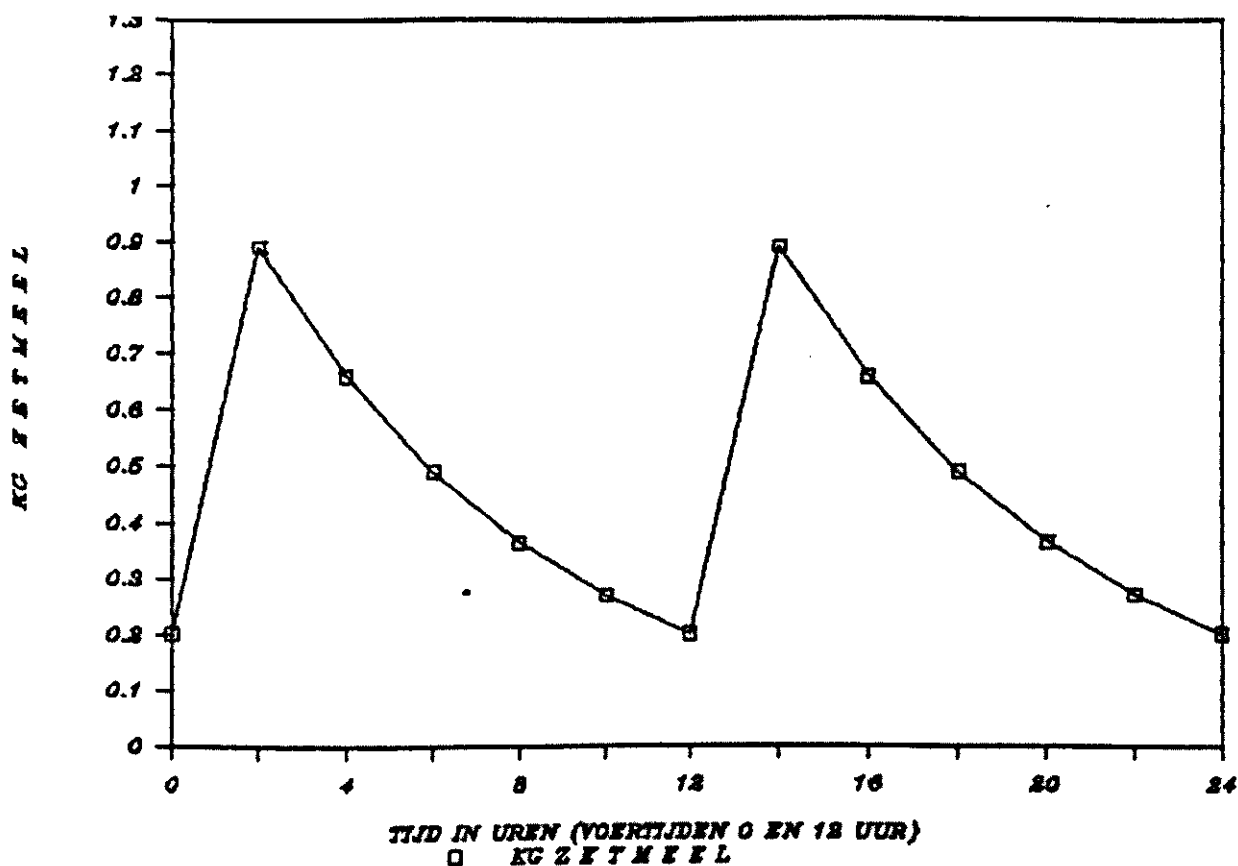
De eerder gevonden verschillen tussen de verschillende grondstoffen werden opnieuw bevestigd, evenals de verschillen in afbraaksnelheid als gevolg van de soort zetmeel in het rantsoen. Wat eveneens opvalt is dat door het pelleteren zowel de uitwasbare fractie (S) als de snelheid van afbraak (k(d)) toenemen. Pelleteren heeft dus een negatieve invloed op de zetmeelbestendigheid.

3.5. Invloed van hoeveelheid en soort zetmeel op het gedrag van zetmeel in de pens

3.5.1. Experiment 2

Uit de verzamelde gegevens in experiment 4 werd een schatting gemaakt van de snelheid van zetmeelafbraak. Het model van zetmeeltoevoer en afbraak in de pens kan grafisch worden weergegeven als in figuur 1.

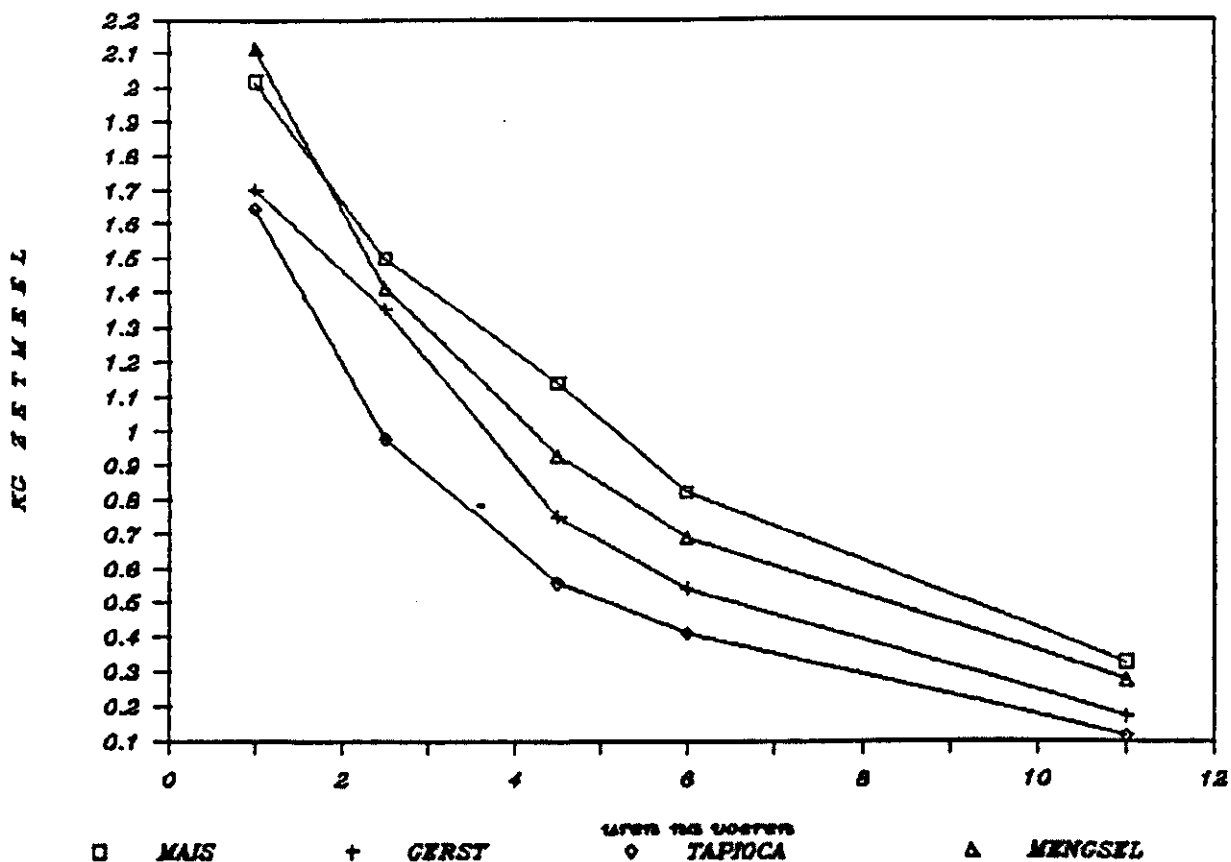
Door middel van iteratie werd de hoeveelheid zetmeel op het tijdstip $t=0$ bepaald, door aan te nemen dat de hoeveelheid zetmeel die per 12 uur uit de pens verdween, gelijk was aan de hoeveelheid die per keer met het voer werd opgenomen. Aangenomen werd dat de k bestond uit de som van k(d) en k(p) die respectievelijk de snelheid van afbraak en de snelheid van passage weergeven. De snelheid van passage werd geschat met behulp van Cr-NDF. De snelheid van afbraak werd vervolgens berekend door de snelheid van passage (k(p)) van de verdwijnsnelheid (k) af te trekken. De op deze wijze bewerkte resultaten van experiment 4 worden weergegeven in tabel 7.



Figuur 1. De hoeveelheid zetmeel in de pens op verschillende tijdstippen na het voeren.

Tabel 7. Invloed van voeropnameniveau en zetmeelopname op de snelheid van zetmeelafbraak in de pens bij melkkoeien.

Voeropname (kg/dag)	24	19,5	15	10,5	6
zetmeelopname (g/dag)	2870	2380	1890	1360	680
pens (t=4,5)	402	491	454	326	255
pens (t=0)	1480	1290	1055	759	442
k (p) (%/hr)	3,6	4,6	4,0	4,3	3,3
k (d) (%/hr)	25,4	16,9	14,7	14,5	9,1
Voeropname (kg/dag)	15	15	15	15	15
zetmeelopname (g/dag)	2930	2400	1890	1230	730
pens (t=4,5)	461	453	410	346	269
pens (t=0)	1525	1280	1032	720	470
k (p) (%/hr)	3,5	3,9	4,0	3,8	4,5
k (d) (%/hr)	23,1	19,2	16,5	12,5	7,9



Figuur 2. De verdwijning van zetmeel uit de pens

3.5.2. Experiment 4.

In experiment 4 werden de hoeveelheden zetmeel op verschillende tijdstippen na de ochtendvoeding bepaald door op verschillende tijdstippen na het voeren de volledige pensinhoud te evacueren en te bemonsteren. Voor de verschillende rantsoenen worden de resultaten weergegeven in figuur 2. De gegevens waaruit deze figuur is geconstrueerd worden gegeven in bijlage 4. Uit de resultaten blijkt dat de snel afbreekbare zetmelen (tapioca, gerst) sneller uit de pens verdwijnen dan de langzaam afbreekbare (mais). Uit de gegevens werden op dezelfde wijze als bij experiment 4 verdwijnsnelheden berekend die zijn weergegeven in tabel 7. In deze tabel zijn tevens opgenomen de verdwijnsnelheden van Cr-NDF, als maat voor de verdwijning door passage naar de rest van het verteringskanaal. De uit het verschil van totale verdwijning en verdwijning door passage geschatte afbraaksnelheden wijken nogal af van wat er m.b.v. nylon zakjes incubaties werd gemeten. Mais verdwijnt in vivo sneller dan verwacht, terwijl gerst en tapioca langzamer verdwijnen. In de discussie wordt hierop nader teruggekomen.

Tabel 8. De verdwijnsnelheid van zetmeel uit de pens

snelheid	Mais	Gerst	Tapioca	Mengsel
k(p)+k(d)	19,4	25,3	27,2	20,3
k(p)	5,74	4,18	4,38	4,87
k(d)	13,7	21,1	22,8	15,4

k(p) = passagesnelheid k(d) = afbraaksnelheid

3.6. De invloed van zetmeel op het gedrag van celwanden in de pens.
(Experiment 4)

De invloed van de zetmeelbron op het gedrag van celwandbestanddelen (in zowel lange in als korte voerdeeltjes) worden gegeven in de figuren 3 en 4. De gegevens waarop deze figuren zijn gebaseerd worden gegeven in bijlage 5. Uit de figuren blijkt dat naarmate een zetmeelbron sneller afbreekbaar is de celwanden minder snel de pens verlaten. Lange voerdeeltjes (>2,5 mm) en korte voerdeeltjes (<2,5 mm) blijken verschillend te reageren. Ook lijkt het er op dat de celwanden niet altijd volgens een le orde proces de pens verlaten.

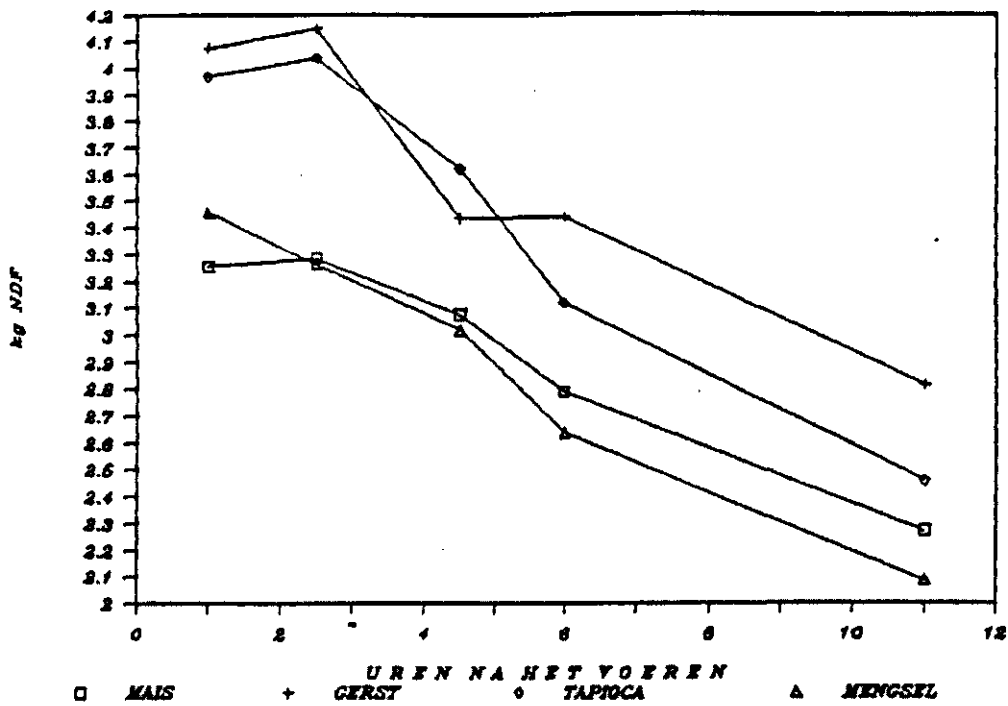
Opvallend is dat enerzijds tapioca en gerst ongeveer dezelfde invloed lijken te hebben, terwijl het mengsel van mais, gerst en tapioca zich vrijwel identiek gedraagt als mais alleen. Vooral bij korte celwandbestanddelen komt dit duidelijk naar voren.

3.7. De invloed van de zetmeelbron op de schijnbare vertering van diverse rantsoencomponenten.

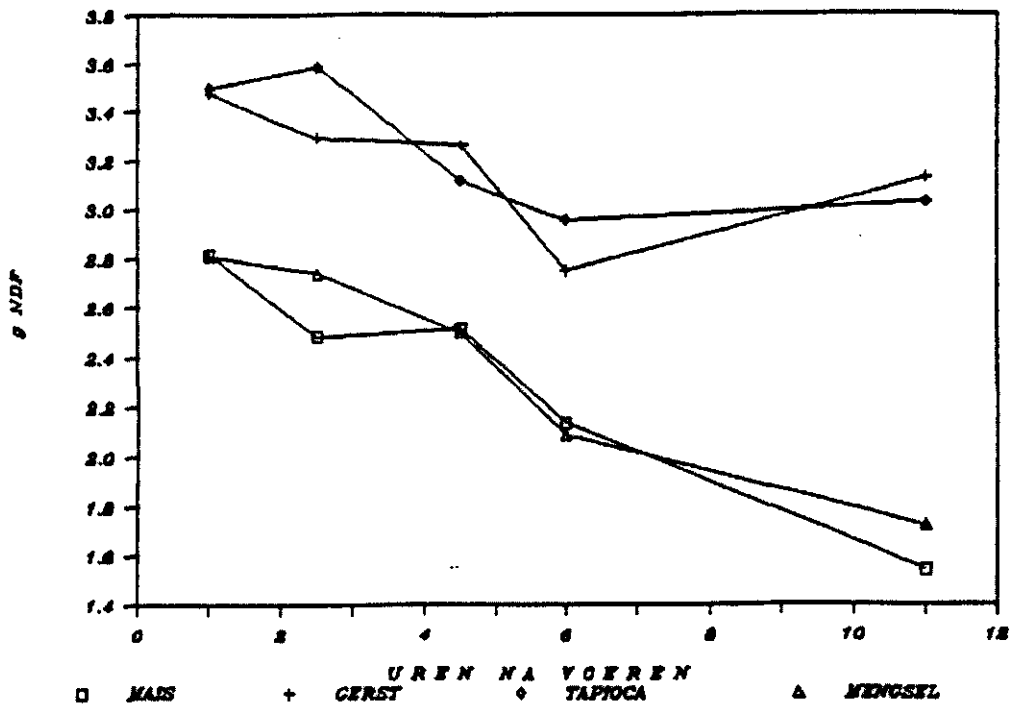
Als onderdeel van experiment 3 werd naast het vaststellen van pensfermentatiekarakteristieken en penslediging ook de schijnbare verteerbaarheid van diverse rantsoencomponenten bepaald. Hiertoe werd gedurende 5 etmalen de mest zo nauwkeurig mogelijk verzameld. Dit leverde de uitkomsten zoals weergegeven in tabel 9.

Tabel 9. Invloed van zetmeelbron op vertering.

Rantsoen- component	MAIS	GERST	TAPIOCA	MIX	s.e.m.	P
DS	71,9	70,4	70,6	72,7	0,89	n.s.
AS	51,1	42,0	40,7	50,7	3,45	<0,05
OS	73,2	72,4	73,0	74,7	0,76	n.s.
N	63,0	65,9	63,6	65,2	1,05	n.s.
RVET	85,3	69,4	64,5	72,1	4,86	<0,05
ZETMEEL	95,6	98,2	98,8	97,5	0,06	<0,01
NDF	63,6	55,1	56,3	61,3	1,78	<0,01
ADF	62,1	51,0	53,4	59,4	2,21	<0,01
RC	61,0	49,2	51,8	57,6	2,14	<0,01
NDF-ADF	65,5	59,4	60,8	64,8	3,38	n.s.



Figuur 3. De invloed van de zetmeelbron op het gedrag van celwanden in lange voerdeeltjes in de pens



Figuur 4. De invloed van de zetmeelbron op het gedrag van celwanden in korte voerdeeltjes in de pens

Opvallend is de invloed van de zetmeelbron op de vertering van celwandbestanddelen (NDF, ADF, RC). Snel afbreekbaar zetmeel (gerst, tapioca) blijkt in vergelijking met langzaam afbreekbaar zetmeel (mais) een sterk negatieve invloed (ca. 10 eenheden) op de vertering van celwandbestanddelen te hebben. Naast een invloed op de vertering van celwanden werd een statistisch significante invloed van de zetmeelbron op de vertering van zetmeel zelf en rvet vastgesteld. De invloed van het krachtvoer op de vertering van rvet kan grotendeels verklaard worden door een verschil in vetopname.

3.8. De invloed van de zetmeelbron op het verschijnen van zetmeel in de dunne darm

De resultaten van de met darmassageproeven bepaalde plaats van zetmeelvertering in het maagdarmkanaal van koeien, worden gegeven in tabel 10. Uit de resultaten blijkt, dat de totale zetmeelverteerbaarheid over het algemeen zeer hoog is en boven de 95% ligt. Echter een niet te verwaarlozen deel van de zetmeel blijkt pas na de pens verteerd te worden, in deze proeven variërend van ruim 10 tot bijna 40%.

Tabel 10. Plaats van zetmeelvertering in melkkoeien

serie	n*	behandeling ***	opname		zetmeelvertering**		
			kg/ds	g/zetmeel	totaal	pens1	pens2
1	5	mais	10,2	3951	-	77	59
2	4	DLO	15,5	990	98	69	89
2	4	DL5	14,8	968	98	77	89
2	4	DL10	14,8	933	98	79	89
2	3	DL12	12,5	814	97	82	90
3	3	S	10,2	1557	99	83	90
3	3	V	10,6	1809	99	83	90
3	4	B	9,9	1311	98	83	82
3	4	O	10,4	869	96	80	87

*: aantal dieren

** : pens 1 = gemeten
pens 2 = berekend

***: DLO, DL5, DL10, DL12 - respectievelijk 0, 5, 10 of 12% dierlijk vet in het krachtvoer; S, V, B, O - krachtvoer met respectievelijk sojaschroot, vismeel, bestendig eiwit en onbestendig eiwit.

4. DISCUSSIE

De microflora in de voormagen van herkauwers is in staat om grote hoeveelheden koolhydraten om te zetten in vluchtige vetzuren. Afhankelijk van de soort koolhydraat vinden deze omzettingen in een sneller of langzamer tempo plaats. Koolhydraten worden daarbij wel onderscheiden in structurele koolhydraten, waarin de monosacchariden overwegend via -glycoside bindingen aan elkaar gekoppeld zijn (cellulose, hemicellulose) en niet-structurele koolhydraten, waarin de binding van monosacchariden overwegend via -glycoside bindingen is (o.a. zetmeel). Algemeen geldt dat polysacchariden met -glycoside bindingen sneller worden afgebroken dan polysacchariden met -glucoside bindingen. In zijn algemeenheid lijkt dit juist. Binnen de groep van structurele koolhydraten blijken echter vrij belangrijke verschillen te bestaan in de snelheid van afbraak (Tamminga en Ketelaar, 1988). Dit is niet alleen afhankelijk van de oorsprong van de structurele koolhydraten (Robinson e.a., 1986), ook de omstandigheden in de pens kunnen hierop een belangrijke invloed uitoefenen (Robinson e.a., 1987).

Uit de hier gepresenteerde onderzoekresultaten blijken ook tussen niet-structurele koolhydraten grote verschillen te bestaan in snelheid van afbraak in de pens en als gevolg daarvan de snelheid waarmee en de verhouding waarin vluchtige vetzuren gevormd worden. Ofschoon ook van niet-structurele koolhydraten bekend is dat ze van soort tot soort verschillend van opbouw zijn (French, 1973; Rooney en Pflugfelder, 1986) is niet duidelijk welke verschillen in opbouw verantwoordelijk zijn voor verschillen in afbraak in de pens.

4.1. Zetmeel en pensfermentatie

Eerder onderzoek aan het IVVO (De Visser e.a., 1982) toonde aan dat wanneer melkkoeien met grote hoeveelheden krachtvoerrijke rantsoenen met veel zetmeel en suikers worden gevoerd dit een negatieve invloed heeft op de pensfermentatie. Deze negatieve invloed uitte zich met name in lage pH waarden en hoge gehalten aan propionzuur en melkzuur. Uit de resultaten van dit onderzoek blijkt dat een verdere nuancering nodig is. Wanneer het krachtvoer betreft waarin veel gemakkelijk aantastbaar zetmeel en suikers voorkomen, mag men inderdaad verschuivingen in de pensfermentatie verwachten in de zin van een sterke daling van de pH kort na het voeren en verhoogde gehalten aan propionzuur en melkzuur. Dit gaat gepaard met een verlaagde (ruw-)voeropname (De Visser e.a., 1982; Malestein & van 't Klooster, 1986). Krachtvoerrijke rantsoenen met veel langzaam afbreekbaar zetmeel blijken een veel minder desastreus invloed op de pensfermentatie te hebben. Het fermentatiepatroon verschilt niet veel van dat na het voeren van krachtvoerrijke rantsoenen met weinig zetmeel en suikers.

Verschuivingen in het vluchtige vetzuren patroon naar meer propionzuur en minder azijnzuur als gevolg van de zetmeelbron, lijken zich te voltrekken via een overgangspatroon met een verhoogd gehalte aan boterzuur. Dit zou kunnen wijzen op een tijdelijke toename gevolgd door een sterke vermindering van het aantal protozoen (Eadie, 1970).

Bij het beoordelen van de resultaten moet er rekening mee worden gehouden dat de proefdieren niet ad lib gevoerd werden. Bij hogere voeropnames worden de rantsoeninvloeden ongetwijfeld versterkt.

4.2. De afbraak van zetmeel in de pens

4.2.1. Zetmeelafbraak in vitro

Uit de resultaten van zetmeelafbraak in vitro komt ook naar voren dat de afbraak een le orde reactiemechanisme volgt dat kan worden beschreven door een negatief exponentiele curve. Zetmeel kan dus beschouwd worden als een tamelijk homogeen produkt, dat weliswaar tussen soorten qua eigenschappen vrij sterk kan verschillen, maar binnen soorten kennelijk veel minder.

Uit de in vitro incubaties blijkt dat ook de verschillende vormen van zetmeel met een verschillende snelheid worden afgebroken, iets wat in vitro al eerder was aangetoond. (Malestein e.a., 1988). Door deze onderzoekers werd ook een invloed van de soort en/of hoeveelheid zetmeel in het rantsoen op de snelheid van zetmeelafbraak in de pens vastgesteld. Dit is waarschijnlijk het gevolg van een toegenomen zetmeelsplitsende activiteit met een toenemende hoeveelheid zetmeel in het rantsoen (Giesecke en Geiges, 1974).

4.2.2. Resultaten van nylon zakjes incubaties

Uit de resultaten van nylon zakjes incubaties blijkt, dat er tussen grondstoffen aanzienlijke verschillen bestaan in afbraak in de pens. De grootste verschillen worden gevonden in de direct uitwasbare fractie. Daarnaast zijn er echter ook verschillen in snelheid van afbraak van het niet uitwasbare deel.

De relatief lage afbraakcijfers voor zetmeel in mais-, milo-, gierst- en rijstprodukten komen goed overeen met literatuurgegevens (Waldo, 1973; Preston et al., 1977; Spicer et al., 1986; Theurer, 1986). Het aandeel van de pens in de vertering van maiszetmeel varieert volgens literatuurgegevens (Waldo, 1973) van 50 tot 95% (gemiddeld 74), afhankelijk van ras, diersoort (bij schapen hoger dan bij runderen) en rantsoen. Van aardappelzetmeel is ook bekend dat de weerstand tegen afbraak in de pens relatief hoog is (Rooney en Pflugfelder, 1986), maar dat dit door technologische behandelingen, waardoor het zetmeel ontsloten wordt, verlaagd wordt. Dit verklaart waarschijnlijk het grote verschil in bestendigheid van aardappelzetmeel tussen de experimenten 1 en 3. Met uitzondering van mais, milo, rijst en gierst blijkt zetmeel in granen snel te worden afgebroken. Zetmeel in graanbijprodukten blijkt over het algemeen sneller te worden afgebroken dan zetmeel in de oorspronkelijke granen. Zetmeel in zaden van peulvruchten neemt wat afbraaksnelheid betreft een middenpositie in.

Ook bij nylon zakjes incubaties kan de zetmeelafbraak doorgaans redelijk goed worden beschreven door een negatief exponentiele curve. Hierbij moet worden opgemerkt dat de uit de curve berekende snelheid betrekking heeft op de niet uitwasbare, afbreekbare deel. Deze eveneens berekende fractie blijkt vaak lager uit te komen dan de direkt bepaalde. Dit verschil duidt op een uitwassen van zetmeel dat het zakje in gesuspendeerde vorm verlaat voordat werkelijke afbraak heeft plaats gevonden. Bij de incubatietechniek met nylon zakjes wordt aangenomen dat zetmeel dat uit de zakjes verdwijnt snel en volledig wordt afgebroken, wat suggereert dat zetmeel niet een homogeen produkt is. Uit de in vitro incubaties komt echter een ander beeld naar voren, namelijk dat het juist wel een tamelijk homogeen produkt is met een constante snelheid van afbraak.

Uit alle onderzochte monsters samen kan op basis van de resultaten van nylon zakjes incubaties het volgende overzicht worden samengesteld (tabel 11). Bedacht moet worden dat de gegevens betrekking hebben op mengvoergrodstoffen, zoals ze er voor het fabricageproces tot mengvoer uit zien. Ze hebben dus (nog) geen technologische behandeling ondergaan zoals stoombehandeling en/of pelleteren. Gebleden is dat bijvoorbeeld pelleteren de zetmeelbestendigheid met 10-30 % kan verlagen. Het precieze effect van

malen is niet duidelijk, maar verwacht mag worden dat (fijn) malen ook een negatieve invloed zal hebben op de bestendigheid van zetmeel.

Tabel 11. Overzicht zetmeelbestendigheid.

z e t m e e l b e s t e n d i g h e i d				
< 10 %	10-20 %	20-30 %	30-40 %	> 40 %
gerst	aardappel-	duivebonen	aardappel	mais
haver	zetmeel		meel	milo
maisgluten-	maisgluten-	erwten	maisvoer-	
meel	voer	gierst	meel	
maisgluten-	maisgluten-	maisgluten-	rijst	
voer	meel	voer	rijstevoer-	
macoya-	paardebonen	maisvoer-	meel	
pellets	voerbonden	schroot		
tapioca		rijstevoer-		
tarwe		meel		
tarwebloem				
tarwevoer-				
bloem				
tarwegries				
tarwe-				
zemelen				

4.2.3. De verdwijning van zetmeel uit de pens in vivo

De m.b.v. vitro en nylon zakjes incubaties gevonden verschillen in snelheid van afbraak van zetmelen van verschillende oorsprong wordt in vivo duidelijk bevestigd. De verdwijncurve van zetmeel uit de pens blijkt goed beschreven te kunnen worden door een negatief exponentieel model. Dit suggereert dat niet alleen de zetmeelafbraak plaats vindt volgens dit model, maar ook de passage naar de rest van het maagdarkanaal.

In tabel 12 wordt een overzicht gegeven van de op diverse manieren geschatte afbraaksnelheden van een viertal zetmeelbronnen, t.w. mais, gerst, tapioca en een mengsel van de drie.

Tabel 12. Snelheid van zetmeelafbraak en zetmeelbestendigheid in de pens geschat op verschillende manieren

methode	mais	gerst	tapioca	mengsel
vitro*	9,6 (34)	14,0 (26)	12,7 (28)	14,4 (26)
nylon zakjes**	4,0 (45)	15,4 (13)	13,1 (9)	9,7 (22)
vivo***	13,7 (27)	21,1 (19)	22,8 (18)	15,4 (25)

* incubatie in met buffer verdunde pensvloeistof, genomen vlak voor het voeren.

** afbraaksnelheid van het niet uitwasbare deel.

*** gecorrigeerd voor passage naar de rest van het maagdarkanaal.

() Berekende zetmeelbestendigheid.

De snelheid van afbraak van zetmeel in vivo blijkt volgens deze schattingsmethode aanzienlijk hoger dan die bepaald in vitro of met nylon zakjes incubaties. Het verschil met de in vitro methode is wel verklaarbaar. Bij deze methode wordt pensvloeistof 1:3 verdund met buffer, waardoor de concentratie aan bacterien sterk wordt verkleind en de bacteriele activiteit ongetwijfeld lager is. Deze verlaging wordt waarschijnlijk deels gecompenseerd doordat de in pensvloeistof te incuberen monsters fijner zijn gemalen dan bij nylon zakjes incubaties of in vivo. Incubaties werden uitgevoerd met monsters pensvloeistof die vlak voor het voren (en dus 12 uren na de vorige voeding) waren genomen, waardoor de zetmeelsplitsende activiteit waarschijnlijk niet op haar hoogtepunt was.

De snelheid van afbraak in nylon zakjes heeft betrekking op het niet direct uitwasbare deel. Voor een deel wordt de hier kennelijk het gevolg van zijnde onderschatting blijkbaar gecompenseerd doordat van het uitgespoelde deel wordt aangenomen dat het volledig in de pens wordt afgebroken. In werkelijkheid ontsnapt hiervan vrij zeker ook een deel. Van het uit de zakjes gespoelde deel mag worden aangenomen dat het zich gedraagt als een suspensie (de deeltjes moeten $< 0,041$ mm zijn) die zich in de pens zal gedragen alsof het tot de vloeibare fase behoort. De snelheid van uitspoeling van de vloeibare fase uit de pens is doorgaans veel hoger dan die van de deeltjesfase.

4.3. De invloed van de zetmeelbron op het verteringsgedrag van celwanden in het maagdarmkanaal

4.3.1. De invloed in de pens

Van zetmeel wordt aangenomen, dat het over het algemeen vrij snel in de pens wordt afgebroken. Omdat dit vaak gepaard gaat met een snelle vorming van vluchtige vetzuren en een snelle daling van de pH, bestaat het gevaar van een vertraging van de afbraak van celwandbestanddelen, wanneer grote hoeveelheden snel afbreekbaar zetmeel in het rantsoen voor melkvee worden opgenomen. In Nederland wordt daarom geadviseerd om slechts beperkte hoeveelheden zetmeelhoudende grondstoffen in krachtvoer voor melkvee op te nemen.

Uit de figuren 3 en 4 komt naar voren dat het verdwijnen van celwanden uit de pens niet altijd goed beschreven kan worden door een exponentieel logaritmisch model. Een reden hiervoor kan zijn dat celwanden in feite een mengsel zijn van verteerbare en niet verteerbare fracties. Beide fracties staan bloot aan zowel verkleining als passage, maar microbiële afbraak beperkt zich tot de afbreekbare fractie.

Uit onze waarnemingen blijkt dat afhankelijk van de soort zetmeel welke in krachtvoer voorkomt de in het rantsoen aanwezige celwanden zich anders gaan gedragen. Bij het verdwijnen van lange voerdeeltjes valt op dat kort na het voeren voor rantsoenen met gerst en tapioca er nog een toename plaats vindt van lange voerdeeltjes. Dit wordt veroorzaakt door een veel langzamer voeropname, met name voor wat betreft het hooi. Opvallend is ook dat bij mais en het mengsel van mais, gerst en tapioca lange en korte celwanden ongeveer even snel verdwijnen (De helling van de lijn is bij benadering gelijk). Dit betekent dat onder die voedingsomstandigheden de snelheid van verkleining van lange voerdeeltjes ongeveer even groot is als de passagesnelheid van korte voerdeeltjes, aangenomen dat de afbraaksnelheid van beide soorten deeltjes gelijk is. Bij de rantsoenen met zetmeel uit gerst en uit tapioca zijn er duidelijke verschillen tussen het gedrag van celwandbestanddelen in lange en korte voerdeeltjes. Tot ongeveer 6 uren na het voeren lopen de curves nog aardig parallel, maar daarna blijft de hoeveelheid celwanden in korte voerdeeltjes ongeveer gelijk of neemt zelfs

nog iets toe. Dit moet worden toegeschreven aan een sterk geremde snelheid van vertering, die er mogelijk ook de oorzaak van is dat de passage naar de rest van het verteringskanaal wordt afgeremd.

4.3.2. De invloed in het totale maagdarmkanaal

De negatieve invloed op de vertering in de pens wordt bevestigd door de vertering in het totale maagdarmkanaal. Immers met name de rantsoenen waarin gerst dan wel tapioca was opgenomen vertoonden een sterke verteringsdepressie van celwandbestanddelen. De omvang van de depressie lijkt goed overeen te komen met bevindingen elders na het voeren van gerst (Orskov, 1986). De verteringsdepressie bij het voeren van het mengsel van de drie krachtvoerders lijkt minder dan op grond van de mengverhoudingen kon worden verwacht. Dit is echter in overeenstemming met de invloed van de verschillende krachtvoerders op het gedrag van celwanden in de pens.

4.4. De invloed van technologische (voor-)behandeling op de afbraak van zetmeel in de pens

Uit de nylon zakjes incubaties blijkt dat technologische behandelingen van zetmeelhoudende krachtvoergrondstoffen zowel tijdens behandeling in de voedings- en genotmiddelenindustrie als tijdens het fabricageproces in de mengvoerindustrie een negatieve invloed hebben op de bestendigheid van zetmelen. De natte behandeling tijdens de zetmeel en/of glucose fabricage lijkt een desastreusere invloed te hebben dan het droge maalproces dat plaats vindt tijdens de meelbereiding. Pelleteren blijkt eveneens een nadelige invloed te hebben en het effect lijkt groter naarmate de zetmeel "van nature" minder bestendig is.

De invloed van technologische behandeling op de gevoeligheid van zetmeel voor afbraak in de pens werd ook in andere proeven vastgesteld (Orskov, 1986; Theurer, 1986).

4.5. Zetmeelpassage naar de dunne darm

Zetmeelbestendigheden op basis van nylon zakjes incubaties lijken de bestendigheid in vivo (d.w.z. het percentage van de opgenomen zetmeel dat de dunne darm bereikt) niet correct weer te geven. Bij rantsoenen op basis van mais en maisvoermeel vindt er een overschatting plaats, bij rantsoenen waarin tapioca en maisglutenvoer de belangrijkste zetmeelbronnen (wat het geval was in het overgrote deel van de gevallen) zijn vindt er daarentegen een onderschatting plaats. De uitkomsten van deze vergelijking lijken die van de eerdere vergelijking tussen de afbraak in vivo en de met nylon zakjes bepaalde afbraak te bevestigen.

De variatie in het percentage van de opgenomen zetmeel die de dunne darm bereikt kan niet alleen verklaard worden door variatie in grondstoffen. Andere factoren, zoals het voeropnameniveau en de aan- of afwezigheid van vet lijken ook een invloed te hebben.

5. CONCLUSIES

1. Afhankelijk van de soort wordt zetmeel in de pens van melkkoeien afgebroken met een snelheid variërend van minder dan 10 tot meer dan 25 % per uur
2. Technologische voorbewerking (droge maling, natte maling, pelleteren) heeft een negatieve invloed op de bestendigheid van zetmeel tegen afbraak in de pens.
3. Naarmate zetmeel sneller wordt afgebroken neemt het aandeel van propionzuur in de gevormde vluchtige vetzuren toe. Bij een toenemend gehalte aan propionzuur wordt er tijdelijk eveneens meer melkzuur gevormd.
4. Naarmate zetmeel sneller in de pens wordt afgebroken neemt de snelheid van afbraak van celwandbestanddelen in de pens af en de verblijftijd toe, met name die van celwandbestanddelen in kleine voerdeeltjes. De langere verblijftijd is onvoldoende om te compenseren voor de vertraagde afbraak en de totale vertering van celwanden neemt met 5-10 eenheden af.
5. De op dit moment beschikbare in vitro en in sacco methoden om zetmeelafbraak in de pens te meten geven slechts een kwalitatieve schatting van de hoeveelheid zetmeel die effectief aan afbraak in de pens ontsnapt.

6. LITERATUUR

- Alvey, N., N. Galwey en P. Lane, 1982. An introduction to Genstat. Academic Press, London, 152 pp.
- Eadie, J.M. en S.O. Mann, 1970. Development of the rumen microbial population. In: Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant, A.T. Phillipson, Ed.), Oriel Press, Newcastle upon Tyne, pp. 335-347.
- French, D. 1973, Chemical and physical properties of starch. J. Anim. Sci., 37:1048-1061.
- Giesecke, D. en R. Geiges, 1974. Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenacidose. 1. Starke, Amylase-Aktivitat und Aciditat., Zbl. Vet. Med. A., 21:261-267.
- Malestein, A. & A. Th. van 't Klooster, 1986. Influence of ingredient composition of concentrates on rumen fermentation rate in vitro and in vivo and on roughage intake of dairy cows. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 55:1-13.
- Malestein, A., A.Th. van 't Klooster en J.W. Cone, 1988. Degradability of various types of starch by incubation with rumen fluid or with bacterial -amylase. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 59:225-232.
- Orskov, E.R., 1986, Starch digestion and utilisation in ruminants. J. Anim. Sci., 63:1624-1633.
- Robinson, P.H., S. Tamminga, & A.M. van Vuuren, 1986. Influence of declining level of feed intake and varying the proportion of starch in the concentrate on rumen fermentation in dairy cows. Livestock Prod. Sci. 15 (1986) 173-189.
- Robinson, P.H., S. Tamminga, & A.M. van Vuuren, 1987b. Influence of declining level of feed intake and varying the proportion of starch in the concentrate on rumen ingesta quantity, composition and kinetics of ingesta turnover in dairy cows. Livestock Production Science 17:37-62.
- Rooney, L.W. en R.L. Pflugfelder, 1986, Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. J. Anim. Sci., 63:1607-1623.
- Spicer, L.A., C. B. Theurer, J. Sowe en T.H. Noon, 1986, Ruminal and post-ruminal utilisation of nitrogen and starch from sorghum grain, corn and barley-based diets by beef steers. J. Anim. Sci., 62:521-530.
- Sutton, J.D., 1985, Digestion and absorption of energy yielding substrates in the lactating cow. J. Dairy Sci., 68:3376-3393.
- Tamminga, S. & R.S. Ketelaar, 1988. De afbraak van celwanden in de pens van melkkoeien. IVVO rapport no 191.
- Tamminga, S. & R.S. Ketelaar, 1988. Eiwitbestendigheid van voedermiddelen voor herkauwers, IVVO rapport 192.
- Tamminga, S. & A.M. Van Vuuren, 1988. Formation and utilisation of end products of lignocellulose degradation in ruminants. Anim. Fd. Sci. technol., 21:141-159.
- Theurer, C.B., 1986, Grain processing effects on starch utilisation by ruminants. J. Anim. Sci., 63:1649-1662.
- Waldo, D., 1973, Extent and partition of cereal grain starch digestion in ruminants. J. Anim. Sci., 1062-1074.

Bijlage 1.1. Krachtvoersamenstelling experiment 1.

grondstof	aandeel (g/kg)
bietenpulp	250
citruspulp	250
maisglutenvoer	200
melasse	25
sojaschroot	100
tarwegries	150
mineralen/vit.	25

Bijlage 1.2. Rantsoensamenstellingen experiment 2.

1.2.1. Grondstoffensamenstelling krachtvoer

grondstof	krachtvoer A	krachtvoer B
bietenpulp	-	150
maisglutenvoer	210	200
maisvoermeel	210	-
palmpitschilfers	-	150
sojabliezen	-	330
sojaschroot	210	100
tapioca	280	-
melasse	65	45
min/vit	20	20
vet	5	5

1.2.2. Chemische samenstelling hooi en krachtvoer

component	hooi	krachtvoer A	krachtvoer B
ds (g/kg)	853.0	893.0	879.0
		g/kg ds	
as/ds	167.0	79.0	81.0
re/ds	135.6	171.9	188.8
rvet/ds	23.0	36.0	25.0
NDF/ds	520.0	460.0	250.0
ADF/ds	271.0	280.0	101.0
su/ds	160.0	64.0	71.0
zm/ds	10.0	72.0	321.0

Bijlage 1.3 Rantsoensamenstellingen experimenten 3 en 4.

1.3.1. Grondstoffensamenstelling krachtvoerders

grondstof	KZRL	KZRS	KZA	MAIS	GERST	TAPIOCA	MENGSEL
mais	400	-	-	525	-	-	175
mais (ontsl.)	-	400	-	-	-	-	-
gerst	-	-	-	-	650	-	216
tapioca	-	300	-	-	-	500	167
maisglutenvoer	-	-	200	-	-	-	-
melasse	60	60	60	60	60	60	60
milo (sorghum	300	-	-	-	-	-	-
palmpitschilfers	-	-	200	-	-	-	-
pulp	-	-	150	-	-	-	-
sojabliezen	-	-	310	205	95	100	134
sojaschroot	210	210	50	180	165	310	218
krijt	12	12	12	12	12	12	12
P-zure voederkalk	5	5	5	5	5	5	5
sporenel./vit.	5	5	5	5	5	5	5
zout	8	8	8	8	8	8	8
VEM	980	960	940	980	933	990	968
vre	121	106	135	112	112	112	112

1.3.2. Chemische samenstelling hooi en krachtvoer experiment 3

Component	HOOI	KVZA	KVZRS	KVZRL
ds (g/kg)	866.6	895.0	874.7	859.9
	----- g/kg ds -----			
as/ds	99.9	87.0	76.5	57.9
re/ds	238.0	163.4	177.1	204.4
rvet/ds	24.3	39.2	26.1	33.4
NDF/ds	521.8	475.8	127.7	135.3
ADF/ds	267.4	288.6	54.1	48.8
su/ds	88.7	60.4	69.3	56.9
ZM1/ds		75.0	487.3	500.8
ZM2/ds		107.9	504.1	522.5

ZM1: bepaald m.b.v. amyloglucosidase
 ZM2: bepaald volgens Ewers

1.3.3. Chemische samenstelling hooi en krachtvoer experiment 4

Component	HOOI	KRV 1	KRV 2	KRV 3	KRV 4
ds (g/kg)	850.3	867.3	857.4	881.5	874.5
	----- g/kg ds -----				
as/ds	57.8	63.7	75.1	85.2	76.9
re/ds	99.2	159.2	176.2	172.0	171.8
rc/ds	317.1	123.1	82.2	102.5	104.0
rvet/ds	14.9	34.2	20.7	14.7	19.5
NDF/ds	626.6	277.2	230.2	211.1	226.2
ADF/ds	351.1	160.8	109.3	135.3	138.3
su/ds	120.9	53.2	63.6	66.5	62.1
zm/ds		355.6	367.7	353.7	353.4
vitro	63.3	88.3	86.6	88.5	88.7

Bijlage 1.4. Samenstelling krachtvoerders experiment 6.

<u>proefserie 3</u>	<u>proefserie 2</u>							
	DL0	DL5	DL10	DL12	S	V	B	O
grondstof								
bierbostel							167	
bietenpulp	160	152	144	130	150	150	200	200
citruspulp	175	166	157	130	125	150	200	200
lijnzaadschilfers								150
mais							80	
maisglutenmeel							120	
maisglutenvoer	300	285	269	220				130
maisvoerschroot					189	200		
melasse	35	33	31	20	52	70	50	50
moutkiemen								87
paardebonen								100
sojabonen							20	24
sojaschroot	250	237	224	260	131			
tapioca	50	47	45	50	200	200	138	41
tarwezemelgrint					110	97		
vismeel						90		
vet		50	100	120	23	23		
mineralen/vit	30	30	30	70	20	20	25	18

Bijlage 2. Chemische samenstelling mengvoedergrondstoffen
(gehaltenes in g/kg ds).

grondstof	as	N	rvet	NDF	ADF	rc	su	ZM1	ZM2	GE
tarwe (Fr.)	19	22	19	151	35	25	25	654	648	18,5
tarwevoerbloem	34	32	54	114	33	22	62	493	513	19,2
tarwevoergries	45	33	54	347	105	74	91	238	254	19,5
tarwezemelen	72	27	36	543	160	120	60	134	131	18,9
tarwe	20	22	19	120	33	24	24	666	678	18,3
tarwebloem	6	19	3	22	4	3	13	772	817	17,9
tarwezetmeel	7	5	1	24	4	3	32	830	863	17,4
T.-zetm. (o.s.)	2	1	1	3	5	1	15	934	909	17,4
mais	17	17	44	122	34	20	8	676	712	18,7
maisglutenmeel	18	108	18	45	52	10	1	205	219	23,6
maisglutenvoer	60	26	44	274	87	63	27	403	391	18,7
maiszetmeel	1	2	2	0	5	2	1	956	992	17,3
mais (Fr.)	13	16	42	122	30	20	24	709	727	18,7
maisvoermeel	19	16	64	201	44	38	30	607	617	19,2
aardappelmeel	44	15	3	89	39	22	83	651	698	17,1
tapioca	59	5	4	80	65	42	22	726	764	16,6
rijst (Sr. L.)	8	15	12	40	15	3	0	848	865	18,0
rijstevoermeel	125	25	176	200	84	61	43	269	382	20,3
duivebonen	36	52	14	173	118	85	28	360	408	18,8
erwten	41	41	10	170	91	66	43	418	489	18,1
gerst	57	18	22	220	72	60	15	561	589	18,4
gierst	32	22	43	164	106	70	7	616	657	18,9
haver	32	20	48	301	129	116	9	466	464	19,2
milocorn	18	20	34	131	59	22	6	652	734	18,7

NDF: Neutral Detergent Fibre

ADF: Acid Detergent Fibre

rc : ruwe celstof

su : suikers

ZM1: zetmeel m.b.v. amyloglucosidase

ZM2: zetmeel volgens Ewers

GE : Bruto Energie (MJ/kg ds)

Bijlage 3. De invloed van het basisrantsoen op de bestendigheid van zetmelen gemeten met nylon zakjes.
(Gemiddelde van 4 dieren)

Grondstof	KZA	KZRL	RZRS	KZRS	Gem.
franse mais	46,3	45,4	40,7	37,6	42,5
mais	45,6	44,6	41,1	35,1	41,6
milo	42,2	47,9	38,7	35,4	41,0
aardappel	43,2	42,4	37,8	32,3	38,9
maisvoermeel	39,0	37,9	35,4	31,9	36,9
rijst	33,9	37,1	30,1	24,5	31,4
duivebonen	23,6	27,9	21,2	25,4	24,5
rijstevoermeel	26,0	25,6	22,0	20,8	23,6
gierst	26,5	23,8	21,2	19,7	22,8
erwten	23,7	25,0	18,5	22,6	22,5
maisglutenvoer	14,8	12,7	12,9	10,5	12,7
maisglutenmeel	14,4	9,6	11,9	11,9	11,9
franse tarwe	9,3	8,6	7,3	6,0	7,8
melange tarwe	7,4	8,9	6,7	5,5	7,1
gerst	9,3	6,9	6,6	5,4	7,1
tapioca	7,1	5,7	5,7	5,3	6,0
tarwebloem	7,0	4,8	4,0	2,3	4,5
tarwevoerbloem	7,1	4,6	4,0	2,4	4,5
tarwegries	4,9	4,7	4,2	2,8	4,1
tarwezemelen	4,5	4,3	4,1	2,7	3,9
haver	1,7	1,0	1,1	0,8	1,1

Bijlage 4. Hoeveelheden zetmeel+suikers, zetmeel en lange resp. korte celwanden in de pens op verschillende tijdstippen na het voeren.

Gemiddelde Zetmeel + Suikers

Tijd	Mais	Gerst	Tapioca	Mengsel	Gem.
Ma 10	2337.1	2240.0	2028.7	2129.1	2183.7
Vr 10	2220.7	2104.4	2166.6	2171.1	2165.7
Di 11.5	1389.0	1483.7	1072.5	1391.8	1334.3
Do 13.5	1047.4	837.3	562.4	944.9	848.0
Vr 15	930.0	542.5	432.9	722.3	656.9
Ma 17	538.0	362.1	284.3	543.5	432.0
Di 20	316.1	173.0	135.5	281.7	226.6
Do 20	307.8	190.3	133.9	274.4	226.6

Gemiddelde Zetmeel

Ma 10	2015.5	1922.9	1690.7	1792.6	1855.4
Vr 10	1886.3	1660.6	1674.7	1711.6	1733.3
Di 11.5	1384.7	1322.8	922.7	1279.2	1227.3
Do 13.5	940.7	673.9	487.3	816.1	729.5
Vr 15	793.3	366.7	324.3	595.6	520.0
Ma 17	498.5	296.7	238.8	499.1	383.3
Di 20	282.6	161.8	119.6	254.9	204.7
Do 20	268.3	157.4	114.2	238.7	194.7

Gemiddelde NDF in lange voerdeeltjes

Ma 10	3565.7	3884.8	3790.7	4135.0	3844.1
Vr 10	3141.1	3818.8	3187.3	3139.3	3321.6
Di 11.5	3289.2	4063.7	3911.8	3267.1	3632.9
Do 13.5	3073.0	3596.7	3602.8	2948.0	3305.1
Vr 15	2790.1	3438.2	3118.6	2637.0	2996.0
Ma 17	2508.1	3730.9	3447.1	2476.9	3040.7
Di 20	2047.7	2847.0	2789.5	2377.5	2515.5
Do 20	2495.2	2781.8	2267.1	2070.3	2403.6

Gemiddelde NDF in kleine voerdeeltjes

Ma 10	3132.5	4360.0	4092.8	2730.4	3578.9
Vr 10	2967.6	3548.3	4046.1	2549.7	3277.9
Di 11.5	2482.2	3319.9	3632.3	2738.8	3043.3
Do 13.5	2517.5	3582.5	3133.9	2568.1	2950.5
Vr 15	2139.8	2752.3	2956.8	2089.0	2484.5
Ma 17	2278.4	3337.9	2998.3	2568.2	2795.7
Di 20	1772.8	3683.2	3112.4	1539.4	2526.9
Do 20	1309.9	2573.6	2805.8	1635.8	2081.3

KRACHTVOERVOEDING, PENSFERMENTATIE EN VOEROPNAME

Verslag van eigen onderzoek.

A. Malestein

Inleiding

In het streven de voeding van melkvee met een hoge potentie voor melkproductie te optimaliseren, wordt sinds 1970 op de Afdeling Voeding van de Faculteit der Diergeneeskunde te Utrecht onderzoek uitgevoerd naar het meest gewenste voerschema en de rantsoensamenstelling rond het afkalven.

In eerste instantie lag het accent daarbij op het gewenste voer-niveau voor het afkalven. Vervolgens werd ook aandacht geschonken aan de gewenste snelheid van verhogen van de hoeveelheid krachtvoer na afkalven (1,2). Een en ander gaf de aanzet tot bijstelling naar het huidige C.V.B. advies voor de voeding rond het afkalven.

Daarna werd de invloed van de frequentie van krachtvoerverstrekking bestudeerd (3). De uitkomsten daarvan vormden aanleiding om de aandacht op de snelheid van fermentatie van krachtvoerders te richten.

Centrale vragen daarbij waren:

- * Welke factoren in het krachtvoer dragen bij tot het optreden van pensverzuring na verstrekking van grote hoeveelheden krachtvoer?
- * Kunnen deze factoren middels in vitro onderzoek worden bestudeerd en gekwantificeerd?
- * Hebben uiteenlopende eigenschappen van krachtvoer invloed op de ruwvoeropname en op de totale voeropname van het melkvee?

Een deel van dit onderzoek is sinds 1986 met financiële steun van het Productschap voor Veevoeder, gezamenlijk met IVVO te Lelystad uitgevoerd (zie bijdrage S. Tamminga).

In de vorm van wetenschappelijke publicaties is verslag gedaan van een groot deel van het door ons uitgevoerde onderzoek.

onderzoek. In deze bijdrage wordt een beknopt overzicht gegeven van de uitgevoerde proeven. Voor een meer gedetailleerd verslag inclusief bespreking van de uitkomsten wordt verwezen naar de publicaties vermeld in de literatuurlijst.

Achtereenvolgens wordt verslag gedaan van:

- Proef 1. Invloed van de frequentie van krachtvoerverstrekking op pensverzuring, voeropname en melkproductie.
- Proef 2. Invloed van krachtvoergrondstoffen op pH en melkzuurconcentratie tijdens in vitro incubaties met pensvloei-stof.
- Proef 3. Invloed van krachtvoergrondstoffen op pH en melkzuurconcentratie in pensvloei-stof bij melkvee en op de totale droge stof opname.
- Proef 4. Invloed van de mengvoersamenstelling op de snelheid van fermentatie in vitro en in vivo en op de ruwvoeropname.
- Proef 5. Aantastbaarheid van diverse soorten zetmeel tijdens incubaties met pensvloei-stof en met bacterieel α -amylase.
- Proef 6. Invloed van diverse zetmeelsoorten op de snelheid van fermentatie in vivo en in vitro en op de ruwvoeropname door melkkoeien.

Materiaal en Methoden

Proef 1. Effecten voerfrequentie.

Aan 4 melkgevende koeien, die voorzien waren van een pensfistel, werd dagelijks 12 kg krachtvoer verstrekt. In de voorperiode werd dit krachtvoer in 2 porties van 6 kg (8.00 en 15.30 uur) verstrekt. Daarna werd in een wisselproef dit krachtvoer gedurende 14 dagen in 1 portie van 12 kg (8.00 uur) of in 4 porties van 3 kg verstrekt (8.00, 11.00, 14.00 en 17.00 uur).

Om te voorkomen dat de dieren zelf de voerfrequentie zouden aanpassen werd het na 30 à 45 minuten nog niet geconsumeerde krachtvoer via de fistel in de pens gedeponneerd.

De proef is eerst uitgevoerd met een krachtvoer dat 23% zetmeel plus suikers bevatte en vervolgens met een krachtvoer dat 50% zetmeel plus suikers bevatte (samenstellingen in bijlage 1a). Als ruwvoer werd fris, stengelig hooi gebruikt (samenstelling in bijlage 1b). Er werd steeds zoveel hooi verstrekt dat er minstens 1 kg voerrest per dag aanwezig was.

Pensmonsters werden genomen op dag 1, 7 en 14 van de proefperiode. Hierin werden bepaald de pH, de gehalten van de vluchtige vetzuren en van D- en L-melkzuur. Tevens werden de producties van de dieren van dag tot dag gemeten.

Proef 2. In vitro incubaties met enkelvoudige krachtvoergrondstoffen.

Diverse enkelvoudige krachtvoerders werden geïncubeerd met pensvocht dat afkomstig was van koeien die uitsluitend gem. kwaliteit hooi kregen. Het pensvocht werd voor het voeren afgenomen en 1 : 1 verdund met een anaërobe mineralenoplossing, waarbij de temperatuur op 39°C werd gehouden. Van de verdunde pensvloeistof werden 20 ml-hoeveelheden anaëroob toegevoegd aan flesjes waarin steeds een enkelvoudige grondstof aanwezig was. De flesjes werden in een waterbad op 39°C gehouden. Elk uur werd de pH en het gehalte aan DL-lactaat bepaald.

Proeffactoren waren de reproduceerbaarheid van de methode, de incubatieduur, de doseerhoeveelheid, de deeltjesgrootte, het

effect van pelleteren (mengvoer vóór en na pelleteren; samenstelling in bijlage 2), de variatie binnen partijen en de invloed van combinaties van producten.

Proef 3. Invloed van enkelvoudige producten op risico pensverzuring bij melkkoeien.

In een wisselproef met 4 koeien die voorzien waren van een pensfistel, werden achtereenvolgens 7 verschillende enkelvoudige voeders verstrekt. Tijdens de voor- en tussenperioden werd goede kwaliteit hooi verstrekt.

Gedurende 5 dagen werd om 9.00 uur 6 kg van een van de volgende producten verstrekt: bietenpulp, citruspulp, maisglutenvoermeel, maismeel, kokosschilfers, soyaschroot en tapioca.

Van deze partijen was ook in proef 2 gebruik gemaakt. De samenstelling van deze producten is in bijlage 3 vermeld. Om een eventuele invloed van (verschillen in) de opnamesnelheid uit te sluiten, werden de enkelvoudige producten steeds (binnen 6 minuten) via de fistel in de pens gebracht. Vooraf en vanaf 9.00 uur tot 13.00 uur werden elke 15 minuten pensmonsters genomen ter bepaling van de pH en het gehalte aan D- en L-melkzuur. Vanaf 13.00 uur hadden de dieren onbeperkt hooi ter beschikking, waarvan zoveel werd verstrekt dat er per dag minstens 1 kg rest was.

Proef 4. Invloed van mengvoeders op risico pensverzuring in vitro en in vivo.

In Exp. A werd aan 3 melkkoeien (circa 600-700 kg l.g.) in een wisselproef verschillende mengvoeders verstrekt. Deze mengsels waren samengesteld (bijlage 4a) op basis van de uitkomsten van het voorgaande in vitro onderzoek.

Gedurende 2 à 3 weken werd 8 kg krachtvoer verstrekt en daarna werd per week de hoeveelheid krachtvoer met 2 kg verhoogd. De dieren konden daarnaast onbeperkt gemiddelde kwaliteit hooi opnemen. De verhoging van de hoeveelheid krachtvoer werd beëindigd wanneer de hooiopname tot circa 5 kg per dag afnam, of de pH in de pens tot circa 5.0 was gedaald.

Het krachtvoer werd 2x daags verstrekt. Eerst werd 's morgens (9.00 uur) 6 kg en 's middags (16.00 uur) 2 kg verstrekt. De verhoging van de hoeveelheid werd eerst 's morgens doorgevoerd totdat een niveau van 12 kg was bereikt. Kon er nog meer krachtvoer worden verstrekt, dan werd de hoeveelheid 's middags verder verhoogd.

Krachtvoer dat niet binnen 45 minuten was geconsumeerd, werd via de fistel in de pens gedeponereerd.

Hooi werd om 10.00 uur en 17.00 uur verstrekt; de resten daarvan moesten minstens 1 kg per dag bedragen.

Vanaf maandag tot en met vrijdag werden tussen 9.00 en 15.00 uur elk half uur pensmonsters genomen. Hierin werd bepaald pH, D- en L-melkzuur en vluchtige vetzuren.

In Exp. B werden dezelfde krachtvoerders (als in Exp. A) aan in vitro onderzoek onderworpen.

Pensvocht was afkomstig van een koe die uitsluitend 8 kg hooi kreeg (de hooikoe) of van een koe (de krachtvoerders) die naast 8 kg hooi 10 kg mengvoer kreeg (samenstelling in bijlage 4b).

Pensvocht werd afgenomen voor het voeren of 2 uur daarna en werd 1 : 1 verdund met een anaërobe mineralenoplossing. Van deze verdunde pensvloeistof werd 20 ml toegevoegd aan flesjes waarin 0.25 g, 0.50 g, 0.75 g of 1.0 g van de mengvoerders aanwezig was. Het geheel werd gedurende 5 uur in een waterbad op 39°C gehouden en elk uur werd de pH bepaald. In het laatste monster werd tevens het D- en L-lactaatgehalte bepaald.

De in de mengvoerders gebruikte grondstoffen waren gemalen over een 2 mm zeef, vervolgens gemengd en gepelletteerd.

Voorafgaand aan de incubaties werden de pellets met de hand in een vijzel met een mortier fijn gemaakt, zodat de deeltjesgrootte zo min mogelijk werd beïnvloed.

Proef 5. Afbraaksnelheid van zetmeelbronnen.

Diverse zetmeelbronnen (samenstelling in bijlage 5a) werden onderzocht op de snelheid waarmee het zetmeel afgebroken werd.

In Exp. 5a werd hiertoe pensvocht gebruikt dat ofwel afkomstig was van een koe die uitsluitend 10 kg goede kwaliteit hooi kreeg (de hooikoe) danwel afkomstig was van een koe die naast 8 kg hooi nog 10 kg mengvoer (de krachtvoerhoe) kreeg. De samenstelling van dit mengvoer is vermeld in bijlage 5b.

Pensvocht werd steeds afgenomen voor het voeren en werd 3 : 1 verdund met een geconcentreerde anaërobe mineralenoplossing. Van deze verdunde pensvloeistof werd 50 ml anaëroob toegevoegd aan 0.5 g hoeveelheden van de krachtvoerders, welke vooraf gemalen waren over een 1 mm zeef.

Gedurende de incubatietijd van 6 uur werd elk uur de pH bepaald en na de laatste pH meting werd het resterende zetmeel bepaald. Hiertoe werd na de 6 uren incubaties 10 ml 2 N HCl aan de flesjes toegevoegd, welke vervolgens gedurende 15 minuten in kokend water werden geplaatst. De fermentatie wordt daarmee stilgelegd en het resterende zetmeel gehydrolyseerd, zodat het zetmeelgehalte met gebruikmaking van het enzym amyloglucosidase kon worden bepaald en wel door bepaling van het suikergehalte.

In Exp. 5b werd water in plaats van pensvocht gebruikt. Na toevoeging van (meestal) 10 mg bacterieel α -amylase werden de flesjes met daarin dezelfde producten als in Exp. 5a, onder dezelfde condities, gedurende 4 uur geïncubeerd. De mate van zetmeelafbraak werd aansluitend gemeten door middel van bepaling van het (toegenomen) gehalte aan maltose plus glucose in de vloeistof.

Proef 6. Invloed afbraaksnelheid zetmeelbronnen op ruwvoeropname en maximale voeropname.

Aan 2 paar eeneiïge tweelingen, welke voorzien waren van een pensfistel, werden per periode 4 verschillende zetmeelrijke mengvoerders verstrekt. De samenstelling van de verschillende mengvoerders is in bijlage 6 vermeld.

In periode 1 werden de mengvoeders A - D getest en in periode 2 de mengvoeders E - H. De proefopzet was gelijk aan die vermeld in Exp. 4a.

De tweelingen verschilden in lichaamsgewicht. Paar A woog omstreeks 650 kg en paar B omstreeks 550 kg.

Tevens werden de mengvoeders (0.59) geïncubeerd volgens de in Exp. 5a omschreven methode. Pensvocht was afkomstig van een koe die uitsluitend 10 kg goede kwaliteit hooi kreeg of van een koe die naast 6 kg hooi nog 4 kg mengvoer kreeg. De samenstelling van dat mengvoer was nagenoeg gelijk aan dat gebruikt in Exp. 5a.

Resultaten

Proef 1. Effecten Voerfrequentie.

De door de dieren opgenomen hoeveelheid ruwvoer verschilde niet als de 12 kg krachtvoer in verschillende frequenties werd verstrekt. Bij koe N240 trad in de periode dat het 23% Z + S-krachtvoer in 1 x 12 kg per dag werd verstrekt, gedurende enkele dagen een daling van de ruwvoeropname op. Dit viel samen met een periode van warm weer, waarbij de staltemperatuur opliep tot circa 25°C. De gemiddelde totale drogestofopname is in tabel 1.1 vermeld.

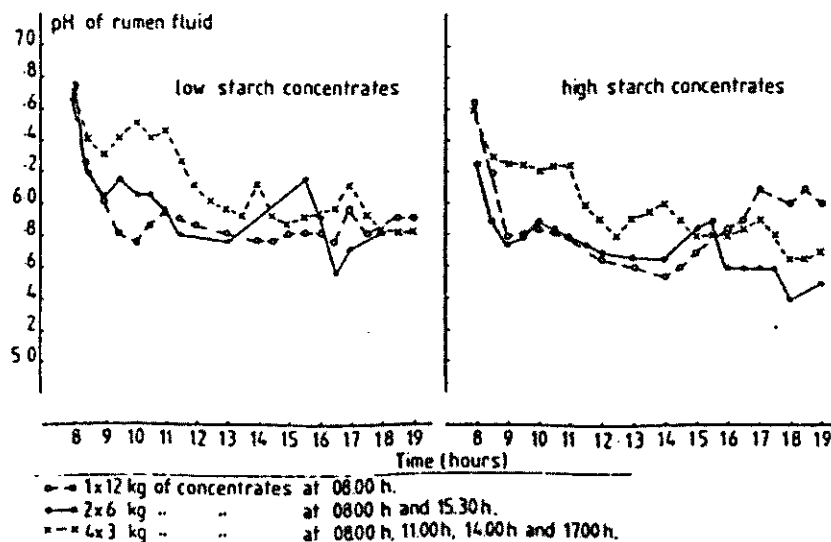
Tabel 1.1: De gemiddelde totale droge stof opname tijdens het voeren van 12 kg krachtvoer in verschillende frequenties en met een verschillend zetmeel plus suiker gehalte.

Krachtvoer	<u>2 x 6 kg</u>	<u>1 x 12 kg</u>	<u>4 x 3 kg</u>
23% Z + S	19.9	19.2	19.7
50% Z + S	19.7	19.6	19.6

Zoals uit tabel 1 blijkt, had de frequentie van krachtvoer verstrekking geen invloed op de drogestofopname.

Het gemiddeld pH verloop in pensvloestof na het voeren van de verschillende porties krachtvoer is in Figuur 1.1 weergegeven.

Figuur 1.1: pH-verloop in pensvocht na het voeren van 12 kg krachtvoer in verschillende frequenties en met een verschillend zetmeel plus suiker gehalte.

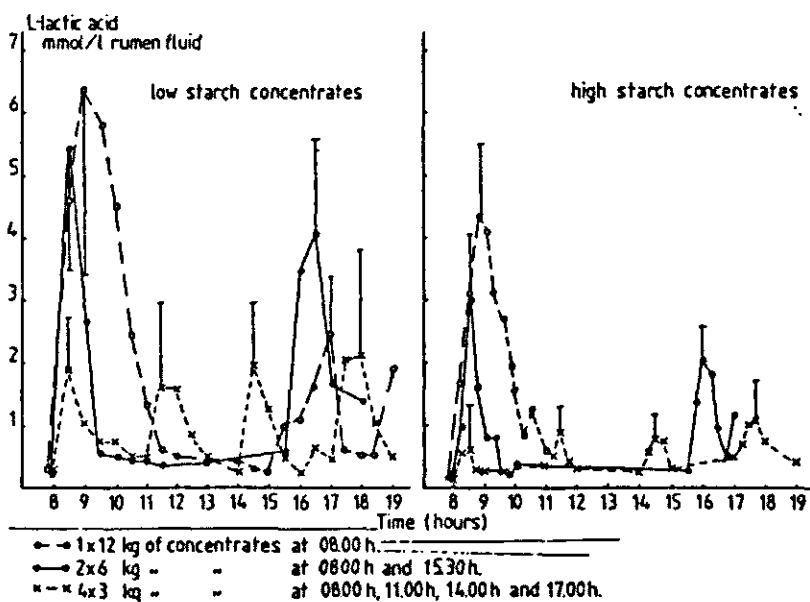


Uit deze Figuur blijkt dat zowel op het 23% Z + S-krachtvoer als op het 50% Z + S-krachtvoer het pH-verloop per voederfrequentie verschillend was. Zoals te verwachten was, werd het laagste pH-niveau bij 1 x 12 kg krachtvoer sneller bereikt dan wanneer 4 x 3 kg krachtvoer werd verstrekt. Vergelijken we echter de laagste dagwaarden dan blijken die op een nagenoeg gelijk niveau rond pH 5.5 te komen. Dit geldt zowel per voerfrequentie binnen de krachtvoersoort als ook tussen de krachtvoersoorten.

Per krachtvoersoort en per voerfrequentie kwam geen systematisch verschil in pH-niveau tussen de eerste, de zevende of de veertiende dag naar voren. Alleen op de eerste dag van de overgang op het 1 x 12 kg 50% Z + S-krachtvoer, was de pH ongeveer 0.2 eenheid lager dan op de andere dagen.

Het verloop van het gehalte aan L-melkzuur na het voeren van de verschillende porties krachtvoer is in Figuur 1.2 weergegeven.

Fig. 1.2: L-melkzuur gehalte (mM/l) in pensvloeistof na het voeren van 12 kg krachtvoer in verschillende frequenties en met een verschillend zetmeel plus suikergehalte.



Zoals uit Figuur 1.2 blijkt wordt de hoogte van de melkzuurpiek beïnvloed door de grootte van de voerportie. Nadat de maximum-

waarden zijn bereikt, daalt de melkzuurconcentratie zeer snel; dit duidt op een nog stabiele pensfermentatie.

Verder blijkt dat de maximumwaarden van de melkzuurgehalten op het 50% Z + S-krachtvoer lager liggen dan op het 23% Z + S-krachtvoer.

Ten tijde van de maximum L-laktaatwaarden, bleek het D-laktaat gehalten 2.5 à 3 x zo hoog te zijn.

De gehalte van vluchtige vetzuren (v.f.a.) werden alleen bepaald in de periode dat het 50% Z + S-krachtvoer werd verstrekt.

Juist vóór het voeren 's morgens bedroeg de concentratie voor de 1 x 12 kg, 2 x 6 kg en 4 x 3 kg voerfrequentie resp. 93, 98 en 107 mmol v.f.a./ l. deze verschillen waren niet significant.

In de loop van de dag veranderen zowel de concentraties als de verschillen; de gehalten waren het grootst om 19.00 uur en bedroegen resp. 118, 136. en 138 mmol/l. De waarde 118 verschilde significant van de andere waarden op dat moment.

Voor het voeren 's morgens was de molaire verhouding tussen azijnzuur (C2), propionzuur (C3) en boterzuur (C4) ongeveer 62 : 22: 15. In de loop van de dag veranderde die verhouding en was om 19.00 uur 56 : 24 : 20. De verschillen in de molaire verhouding tussen de voerfrequenties waren klein.

De produktiegegevens van de dieren zijn in Tabel 1.2 vermeld.

Tabel 1.2: De gemiddelde melkproductiegegevens tijdens het voeren van 12 kg krachtvoer in verschillende frequenties en met een verschillend zetmeel plus suiker gehalte.

	23% Z + S			50% Z + S		
	<u>2x6 kg</u>	<u>1x12 kg</u>	<u>4x3 kg</u>	<u>2x6 kg</u>	<u>1x12 kg</u>	<u>4x3 kg</u>
kg melk	22.7	21.5	21.3	29.9	29.1	30.4
vetgrammen	778	770	770	1074	971	974
vet %	3.43	3.58	3.62	3.59	3.34	3.21
4% F.C.M.	19.4	19.2	19.2	26.8	24.3	24.3

Uit tabel 1.2 blijkt dat er geen systematische verschillen zijn in productie, veroorzaakt door de voerfrequentie. De verschillen

in productie in vivo tussen de krachtvoermengsels zijn toe te schrijven aan het verschil in leeftijd en lactatiestadium van de dieren.

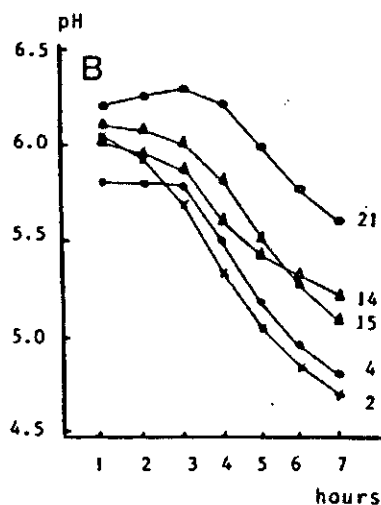
Proef 2.

De reproduceerbaarheid van de in vitro test was hoog, zoals blijkt uit de volgende uitkomsten:

Na 5 uren incubaties met tapioca, in 9-voud ingezet, was de pH 6.03 ± 0.01 en het L-lactaatgehalte $2.8 \text{ mmol} \pm 2.0$. Bij citruspulp die in 10-voud was ingezet, was de pH 4.85 ± 0.01 en het L-lactaatgehalte $43.4 \text{ mmol} \pm 0.9$. Vanwege die hoge reproduceerbaarheid werden de incubaties later veelal in enkelvoud ingezet. Uit de metingen van de pH gedurende de 7-uurs incubaties bleek dat de pH eerst na 2 uur duidelijk veranderde en dat de verschillen tussen de producten toenamen. Tussen 4 en 7 uur incuberen daalde de pH verder, maar de verschillen tussen de producten veranderden niet wezenlijk.

Ter illustratie is in Figuur 2.1 het pH-verloop gedurende 7-uurs incubaties van een aantal producten weergegeven.

Figuur 2.1: Het pH-verloop gedurende 7-uurs incubaties van een aantal producten (2=tarwegries, 4=maisglutenvoer, 14=kokoschilfers, 15= haver, 21= sorghum).



Volgende series incubaties werden doorgaans na 4 uur beëindigd.

Wat betreft de doseerhoeveelheid bleek bij incubaties met 7 producten afzonderlijk het grootste effect op de pH naar voren te komen bij een doseerhoeveelheid van 1 g per 20 ml (verdund) pensvocht. Zowel bij een geringere als bij een hogere dosering werden de verschillen tussen de diverse producten kleiner. In volgende incubaties met enkelvoudige producten, werden doorgaans doseringen van 1 g product op 20 ml pensvloeistof toegepast. Met een 7-tal producten werd de invloed van de maalfijnheid op de mate van pH-daling gedurende 6 uurs incubaties nagegaan. Het bleek dat bij de gebruikte producten alleen bij maismeel een duidelijke invloed van de maalfijnheid op de pH-daling kon worden vastgesteld.

Van het mengvoer dat voor en na het pelleteren werd geïncubeerd, bleek de pH gedurende de 6 uurs incubaties nauwelijks uiteen te lopen. Verder vertoonden verschillende charges van een product grote verschillen in pH-daling gedurende 4-uurs incubaties. Van de onderzochte partijen kwamen de grootste verschillen naar voren bij bietenpulp, soyaschroot en maismeel (tabel 2.1).

Tabel 2.1: De pH en het L-melkzuurgehalte van pensvocht (mM/l) na 4-uurs incubaties met een aantal voeders van verschillende charges per voeder.

Feedstuff	n	pH			L-lactate (mmol/litre)	
		mean	highest	lowest	lowest	highest
Citrus pulp	5	5.06	5.11	4.93	21.51	22.54
Beet pulp	6	5.55	5.62	5.32	5.18	9.02
Maize meal	6	5.42	5.74	5.29	3.61	10.53
Soya bean meal (solv. extr.)	8	5.41	5.65	5.33	9.91	30.40
Maize gluten feed	5	5.15	5.24	5.02	22.81	26.91
Tapioca	5	5.47	5.54	5.42	8.37	12.46
Wheat midlings	5	5.02	5.08	4.95	28.58	30.66
Coconut meal (expeller)	5	5.41	5.56	5.30	15.77	26.15
Rape-seed meal (solv. extr.)	4	5.31	5.42	5.24	17.29	25.76
Hominy feed	6	5.12	5.18	5.05	25.51	28.60

Als producten samen werden geïncubeerd bleek de pH-daling gedurende 4-uurs incubaties meestal groter, dan wanneer de producten enkelvoudig werden geïncubeerd. Meestal ging dat ook samen met een toename van het melkzuurgehalte. Voorbeelden zijn in Tabel 2.2 weergegeven.

Tabel 2.2: De pH, en het L- en D-melkzuurgehalte (mM/l) na 4 uurs incubaties met een aantal voeders afzonderlijk of gecombineerd.

Feedstuffs	pH		L-lactate (mmol/litre)		D-lactate (mmol/litre)		D-lactate (ml/litre of total lactate)
	measured	calculated	analysed	calculated	analysed	calculated	
1. maize meal	5.14		22.03		4.74		177
2. tapioca	5.73		8.25		1.60		162
3. beet pulp	5.07		21.64		4.35		167
4. soya bean meal (solv. extr.)	5.07		32.85		5.55		145
5. citrus pulp	4.98		32.59		3.59		97
6. maize gluten feed	4.99		22.54		11.18		332
7. coconut meal (expeller)	5.38		15.85		4.74		230
8. molasses	5.24		18.16		5.53		233
1 + 2*	5.01	5.43	31.69	15.14	4.38	3.17	121
1 + 2 + 4*	4.89	5.32	35.17	21.04	5.96	3.96	145
1 + 2 + 3 + 4	4.90	5.25	28.86	28.26	5.37	4.06	157
3 + 4	5.07	5.07	18.29	27.25	5.44	4.95	229
1 + 2 + 3 + 4 + 8	4.82	5.25	27.70	20.59	6.27	4.35	185
5 + 7	5.11	5.18	22.80	24.22	3.83	4.17	144
5 + 6 + 7	4.87	5.12	34.01	23.66	7.19	6.50	175
5 + 6 + 7 + 8	4.82	5.15	37.62	22.29	6.58	6.26	149
3 + 5	4.99	5.03	27.05	27.12	3.84	3.97	124
1 + 3 + 5 + 6	4.83	5.05	34.40	24.70	6.20	5.97	153

* 1 + 2 = maize meal + tapioca; 1 + 2 + 4 = maize meal + tapioca + soya bean meal, etc.

Bij dit in vitro onderzoek bleek de concentratie D-melkzuur steeds lager te zijn dan de L-melkzuurconcentratie.

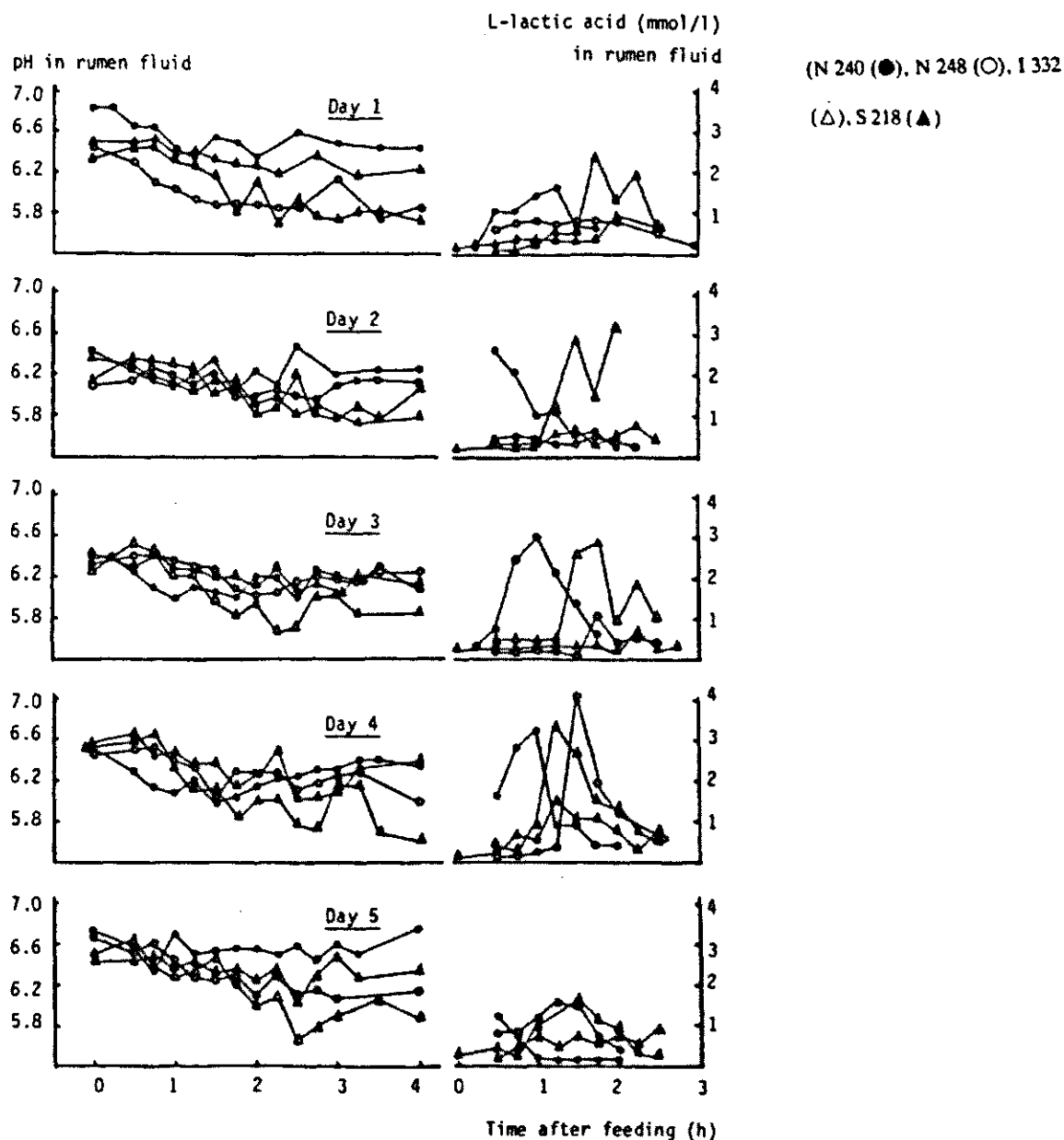
Verder bleek dat de pH-daling tijdens incubaties van eenzelfde serie producten met pensvocht van dezelfde koe, de hooikoe dan wel de krachtvoerkoe, van dag tot dag behoorlijk kon variëren. Evenwel de onderlinge rangorde op basis van pH-daling veranderde er niet door.

Proef 3

Het via de pensfistel verstrekken van hoeveelheden van 6 kg van

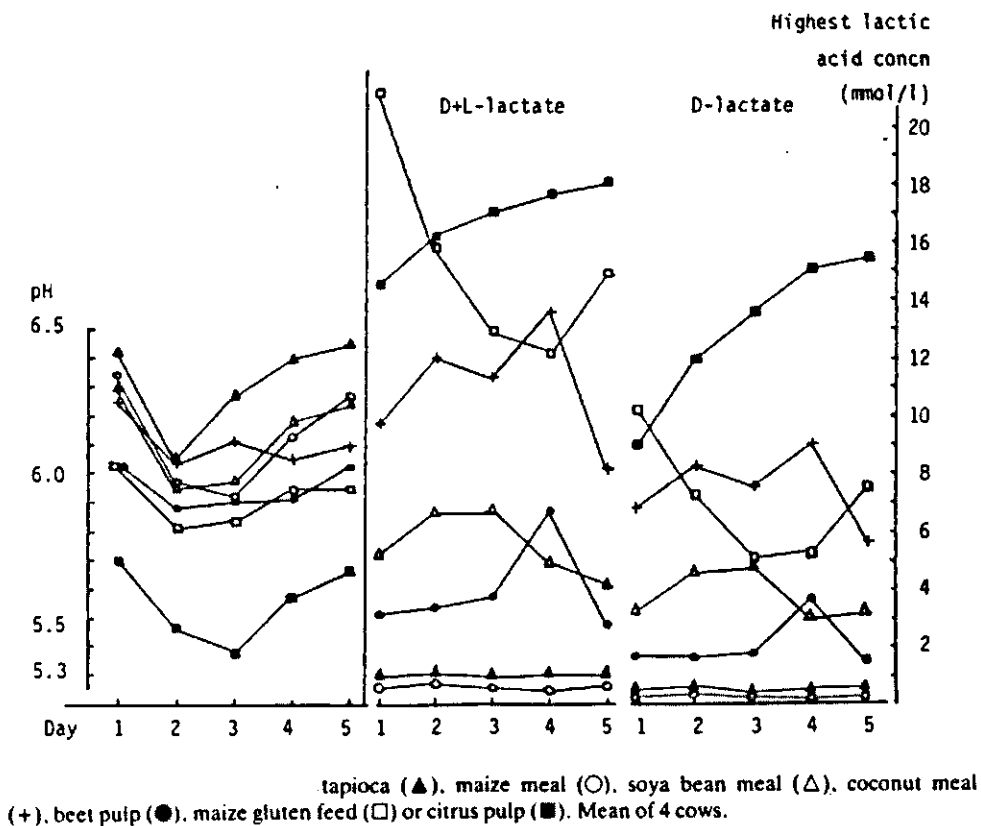
een enkelvoudig product aan 4 koeien gedurende 5 opeenvolgende dagen, veroorzaakte een duidelijke pH-daling, welke samenging met een stijging van het D- en L-lactaatgehalte in het pensvocht. In Figuur 3.1 zijn de resultaten van het verstrekken van 6 kg hoeveelheden bietenpulp weergegeven. Uit Figuur 3.1 blijkt dat 2 à 3 uur na de verstrekking de laagste pH-waarden in de pens werden gemeten, terwijl het L-lactaatgehalte dan al weer was gedaald. Verder blijkt dat de pH in het pensvocht vóór het voeren op de 2e en 3e dag van de verstrekking lager ligt dan op de andere dagen. Tevens blijkt dat de max. L-lactaatgehalten tot en met de 4e dag toenemen.

Figuur 3.1: Het verloop van de pH en het L-melkzuurgehalte in pensvocht van 4 koeien gedurende de eerste 5 dagen van de abrupte introductie van 6 kg bietenpulp in het rantsoen.



De gemiddelde (dagelijkse) laagste pH-waarden en de hoogste L- en D-lactaatgehalten in het pensvocht, gedurende de 5 dagen dat de 7 verschillende producten zijn verstrekt, zijn in Figuur 3.2 vermeld.

Figuur 3.2: De gemiddelde laagste pH-waarden en de hoogste L- en D-melkzuurgehalten in pensvocht gedurende 5 dagen waarop 6 kg van verschillende voeders werd verstrekt.

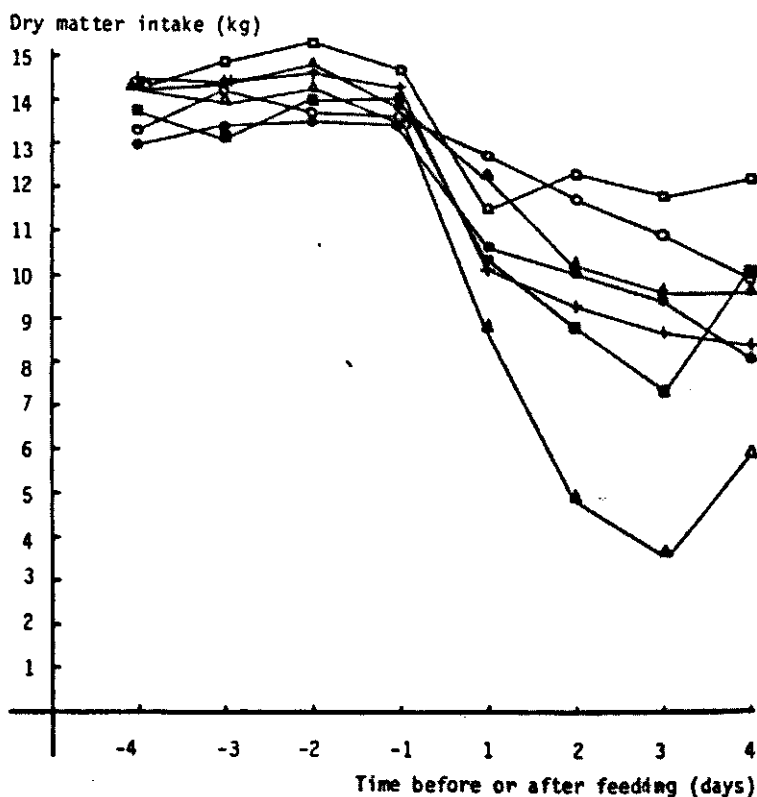


Hieruit blijkt dat in het algemeen op de 2e of de 3e dag van de verstrekking de laagste pH-waarden werden vastgesteld. De verschillen in laagste pH-waarden tussen de producten zijn groot. De rangorde tussen de producten op basis van de laagste pH-waarden blijkt zich in de loop van de 5 dagen enigszins te wijzigen, maar blijkt op de eerste en de vijfde dag van het experiment nagenoeg gelijk te zijn.

Ook blijkt dat de gemiddelde dagelijkse max. D + L-lactaatgehalten tussen de producten sterk verschillen. Meestal werden op

de 3e of 4e dag van het experiment de hoogste lactaatwaarden gevonden. Echter bij maïsglutenvoer werden al op de eerste dag de hoogste waarden vastgesteld. Een ander belangrijk verschil trad op bij citruspulp. Uit de bepalingen van het D- en het L-lactaatgehalte afzonderlijk, bleek dat na de verstrekking van citruspulp het L-lactaatgehalte in het pensvocht daalde, terwijl het D-lactaatgehalte sterk steeg. Bij de verstrekking van de andere producten werd dit niet waargenomen. Wel bleek dat de verhouding van D- en L-lactaat in het pensvocht via het voeren per product kon verschillen, maar van dag tot dag niet wezenlijk veranderde. De gemiddelde hooiopname (kg ds) gedurende enkele dagen vóór en tijdens de verstrekking van de 7 enkelvoudige producten is in Figuur 3.3 weergegeven.

Figuur 3.3: De gemiddelde hooiopname (kg d.s.) gedurende enkele dagen voor en tijdens de verstrekking van 6 kg van de enkelvoudige krachtvoerders.



tapioca (▲), maize meal (○), soya bean meal (△), coconut meal (+), beet pulp (●), maize gluten feed (□) or citrus pulp (■). Mean of four cows.

Hieruit blijkt dat de dieren in de dagen dat geen krachtvoerders werden verstrekt 14 à 15 kg droge stof opnamen aan hooi. Zoals te verwachten was, daalde de hooiopname als dagelijks 6 kg krachtvoer werd verstrekt. De daling van de hooiopname was het grootst op de 3e of 4e dag van het experiment, maar verschilde sterk van product tot product. Enige keren was op de vijfde dag verzuimd de hooiresten terug te wegen en daarom is de hooiopname van de vijfde dag niet vermeld in Figuur 3.3. Voor zover de hooiopname wel was bepaald, was deze altijd hoger dan de voorgaande dag.

Met de 7 producten uit deze proef zijn in experiment 2 diverse series *in vitro* incubaties uitgevoerd. In Tabel 3.1 zijn de pH-waarden en de L-lactaatgehalten na 4-uurs-incubaties weergegeven.

Tabel 3.1: Rangorde, het L- en D-melkzuur en de pH van pensvloeistof gedurende in vitro en in vivo onderzoek met dezelfde producten.

	In vitro ¹				In vivo ²				
	n	L-lactate		pH		D+L-lactate		pH	
		rank	mean ±S.D.	rank	mean ±S.D.	rank	mean ±S.D.	rank	mean ±S.D.
Tapioca	7	1	7.0 ± 5.1	1	5.81 ± 0.3	2	1.2 ± 0.4	1	6.08 ± 0.2
Coconut expeller meal	4	2	17.6 ± 7.7	2	5.43 ± 0.1	5	12.6 ± 6.1	2	6.00 ± 0.1
Maize meal	7	3	19.5 ± 5.8	4	5.24 ± 0.2	1	0.7 ± 0.1	3	6.00 ± 0.3
Maize gluten feed	5	4	23.0 ± 5.7	6	5.09 ± 0.1	6	15.9 ± 7.5	6	5.82 ± 0.2
Beet pulp	4	5	23.1 ± 7.9	5	5.18 ± 0.2	3	6.0 ± 1.3	5	5.95 ± 0.2
Citrus pulp	5	6	31.8 ± 4.5	7	5.04 ± 0.1	7	17.1 ± 5.7	7	5.39 ± 0.1
Soya bean meal solvent extracted	5	7	40.7 ± 10.0	3	5.25 ± 0.2	4	6.7 ± 6.5	4	5.94 ± 0.1

¹ Values after 4 hours of incubation (Malestein et al., 1982).

² Peak values of D+L-lactate conc. (mmol/l) and lowest pH values measured on the day with the highest potential risk (mean of 4 cows).

Tevens zijn vermeld de max. DL-lactaatwaarden en de min. pH-waarden op de dag dat de grootste verzuring optrad na het verstrekken van dezelfde producten aan de koeien.

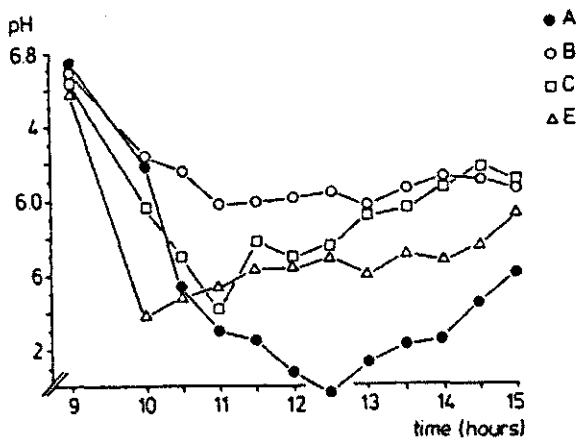
Hieruit blijkt dat er met name op basis van de pH-waarden een goede overeenkomst in rangorde was tussen de *in vitro* en *in vivo* experimenten.

Uit deze experimenten kon worden afgeleid dat het risico van verzuring (op basis van de 7 producten) vooral werd veroorzaakt door het gehalte aan glucose plus fructose in de producten en dat verder het gehalte aan oplosbaar eiwit nog een bijdrage leverde.

Proef 4

De pH in de pensvloeistof na het voeren van de diverse mengvoeders verschilde sterk van product tot product. Dit betrof niet alleen het bereikte dieptepunt, maar ook het tijdstip waarop de laagste waarden werden bereikt. Enkele typische voorbeelden hiervan (na het voeren van 10 kg van verschillende mengsels) aan een en dezelfde koe zijn in Figuur 4.1 weergegeven.

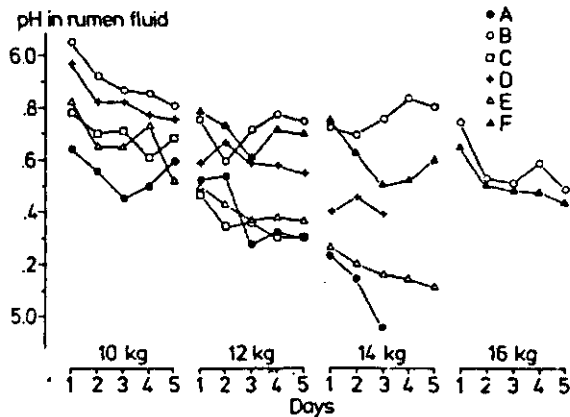
Figuur 4.1: Het pH-verloop in pensvocht na het voeren van 10 kg krachtvoer van verschillende samenstelling aan dezelfde koe.



Hieruit blijkt dat bij voer A (34% tapioca) de grootste pH-daling optrad, dat het dieptepunt 3.5 uur na het voeren werd bereikt en dat een snel herstel optrad. Bij voer B (34% maismeel) daalde de pH minder dan bij voer A en veranderde de pH tussen 2 en 6 uur na het voeren nauwelijks. Bij voer C (34% citruspulp) daalde de pH vrij sterk, het dieptepunt werd 2 uur na voeren vastgesteld en daarna trad een snel herstel op. Bij voer E (23% citrus, 23% tapioca, 23% maismeel) trad een snelle pH-daling op en het herstel was traag. Naarmate meer krachtvoer werd verstrekt,

daalde de pH naar lagere waarden en werden de verschillen tussen de voeders groter. In Figuur 4.2 zijn de gemiddelden van de 3 laagste pH-waarden per dag bij toenemende hoeveelheden krachtvoer weergegeven.

Figuur 4.2: De gemiddelde laagste pH in pensvloeistof per dag na het voeren van opklimmende hoeveelheden krachtvoerders.



Hieruit blijkt dat met krachtvoer A (34% tapioca) na verstrekking van 14 kg per dag de pH was gedaald tot waarden lager dan 5.0, terwijl dan met voer B (34% maismeel) de laagste pH waarden tussen 5.5 en 6.0 lagen. Van voer B werd uiteindelijk 18 kg per dag verstrekt; daarbij bleken de laagste pH-waarden in pensvocht rond 5.5 te liggen.

De pH 3 uur na het voeren van 12 kg van de mengvoerders A t/m F werd gerelateerd aan diverse koolhydraatfracties. Er bleek een significante correlatie te bestaan tussen de laagste pH-waarden in pensvocht 3 uur na voeren en het gehalte aan oplosbaar zetmeel plus glucose en fructose ($P \leq 0.05$)

De effecten van de verschillende voeders op de gehalten aan L- en D-melkzuur en aan vluchtige vetzuren konden helaas niet in alle gevallen worden vastgesteld, omdat een aantal pensmonsters verloren zijn.

In tabel 4.1 zijn weergegeven de max. L- en D-lactaatgehalten, gemeten in pensvocht na het voeren van opklimmende hoeveelheden van enkele voeders.

Tabel 4.1: De hoogste L- en D-melkzuurgehalten in pensvocht na het voeren van opklimmende hoeveelheden krachtvoer.

	10 kg ¹		12 kg		14 kg		16 kg	
	L ²	D ²	L	D	L	D	L	D
B	3	5	6	11	6	12	8	20
C	8	16	13	20	19	27	21	30
D	4	5	5	6	5	18	5	13
E	8	10	15	25	10	13	17	18

¹ Daily amount of concentrates
² Max. L- resp. D-lactic acid concentration (mM/L rumen fluid) measured on the 5th day.

Hieruit blijkt, overeenkomstig de verwachting, dat de max. lactaatconcentraties toenemen naarmate er meer krachtvoer wordt verstrekt. Verder blijkt dat bij eenzelfde hoeveelheid krachtvoer de hoogste waarden werden gevonden na het voeren van krachtvoer C en E. Vermoed wordt dat ook bij voer A de lactaatgehalten hoog zijn geweest.

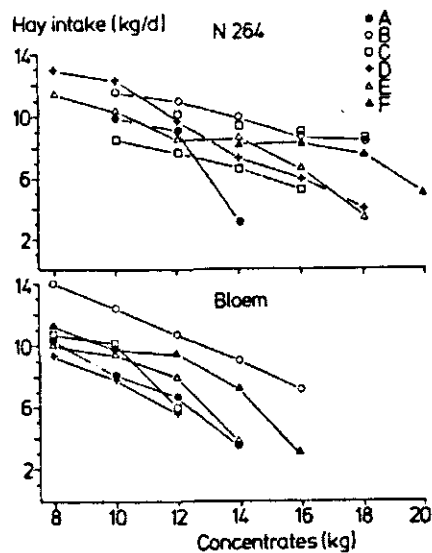
Uit de metingen van de gehalten aan vluchtige vetzuren in het pensvocht kwam naar voren dat de verhouding tussen azijnzuur (C2) en propionzuur (C3) vóór het voeren ruimer was dan daarna. De verschillen in de C2/C3-verhouding tussen de producten veranderden niet. In Tabel 4.2 is de C2/C3-verhouding in het pensvocht weergegeven op de 5e dag nadat de hoeveelheid krachtvoer was verhoogd.

Tabel 4.2: De C2/C3-verhouding in pensvocht op de 5e dag na opklimmende hoeveelheden krachtvoer.

Cow	Concentrate	10 kg	12 kg	14 kg	16 kg	18 kg	20 kg
N264	C	4.1	3.7	3.3			
	D	3.3	3.1	2.9	2.1	2.1	
	E	2.8	3.2	2.9	2.7	2.3	
	F			3.2	2.9	2.8	1.7
Bloem	B	3.0	3.1	3.0	2.7		
	C	3.4	2.8				
	D	3.6	2.0				
	E		3.0	1.9			

Zoals te verwachten was, werd de C2/C3-verhouding vooral nauwer als de hoeveelheid krachtvoer toenam.

Figuur 4.3 laat zien dat de hooiopname door de dieren afnam als de hoeveelheid krachtvoer in het rantsoen werd verhoogd.



Figuur 4.3: De gemiddelde hooiopname (kg/dag) bij opklimmende hoeveelheden krachtvoer.

De mate van vermindering van de ruwvoeropname (verdringing) werd duidelijk door de samenstelling van het mengvoer beïnvloed. Zo bleek de verdringing kleiner te zijn wanneer krachtvoerders werden verstrekt, die een langzame of geringe pH-daling van de pensinhoud veroorzaakten.

Proef 5.

De reproduceerbaarheid van de 6-uurs incubaties met pensvocht afkomstig van de hooikoe, resp. van de krachtvoerkoe bleek hoog te zijn. Zo was bij triplo incubaties met laplata maismeel de pH na 6-uurs incubaties met pensvocht van de hooikoe 6.61 ± 0.01 en met pensvocht van de krachtvoerkoe 6.02 ± 0.02 . De zetmeelafbraak in laplata mais was resp. 4.1 ± 1.5 en 29.8 ± 1.0 procent. Met Paselli, een zetmeel van de aardappelindustrie, was de pH resp. 5.80 ± 0.00 en 5.18 ± 0.02 en de zetmeelafbraak resp. 51.0 ± 0.5 en 67.4 ± 1.0 procent.

Ook na incubaties met α -amylase werden grote verschillen in aantastbaarheid van zetmeel, aanwezig in verschillende bronnen, vastgesteld. De mate van zetmeelafbraak na 6-uurs incubaties met pensvocht van de hooikoe en van de krachtvoerkoe, als ook na 4-uurs incubaties met α -amylase, is in Tabel 5.1 vermeld (gem. van 6 series elk).

Tabel 5.1: De afbraak van zetmeel tijdens incubaties met pensvocht van de hooikoe, de krachtvoerkoe en met α -amylase.

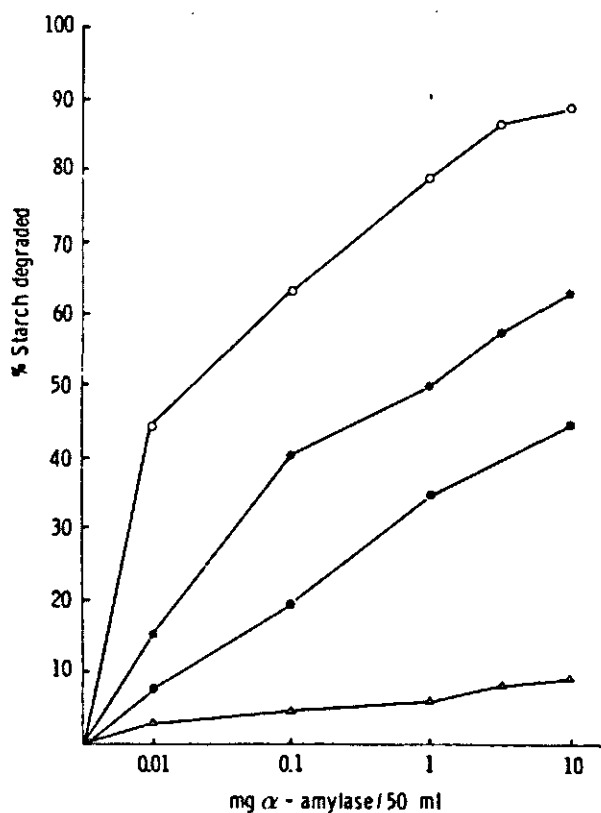
	Experiment		
	A1 Hay-fed cow	A2 Concentrate-fed cow	B2 α -Amylase
Maize, la plata	3.7 ± 0.9	25.2 ± 4.9	6.0 ± 1.4
Millet	4.6 ± 1.1	33.5 ± 2.7	2.9 ± 0.4
Milicorn	6.7 ± 3.7	32.4 ± 4.0	1.2 ± 0.4
Canary seed	9.2 ± 1.3	47.2 ± 3.5	4.9 ± 0.6
Wheat	9.3 ± 4.3	35.4 ± 6.8	5.5 ± 1.5
Tapioca	11.8 ± 4.3	45.0 ± 10.8	45.3 ± 2.2
Maize, steam flaked	25.1 ± 6.2	53.7 ± 8.7	71.2 ± 1.8
Maize, popped	37.0 ± 7.7	66.4 ± 0.6	89.2 ± 3.1
Wheat, popped	42.3 ± 5.8	71.7 ± 3.4	93.0 ± 2.6
Paselli	49.6 ± 5.2	67.8 ± 9.3	99.9 ± 1.5

Met pensvocht afkomstig van de hooikoe werd een geringere hoeveelheid zetmeel afgebroken dan met pensvocht van de krachtvoerkoe. De onderlinge rangorde van de producten op basis van zetmeelafbraak veranderde niet en de correlatie tussen de zetmeelafbraak met pensvocht van de hooikoe en die van de krachtvoerkoe was hoog ($r=0.95$). Ook de correlatie tussen de uitkomsten verkregen met de hooikoe resp. de krachtvoerkoe met die verkregen met α -amylase bleek hoog te zijn, namelijk resp. 0.96 en 0.93.

Het is overigens opvallend dat de afbraak van het zetmeel, in de niet speciaal bewerkte producten, bepaald met α -amylase vaak geringer was dan bepaald met pensvocht van de hooikoe. Daarentegen was bij de bewerkte producten de zetmeelafbraak bepaald met α -amylase vaak zelfs aanzienlijk hoger dan bepaald met pensvocht van de krachtvoerkoe.

De hoeveelheid α -amylase oefende een duidelijke invloed uit op de mate van zetmeelafbraak en naarmate er meer α -amylase gebruikt werd, namen de verschillen in zetmeelafbraak tussen de producten toe (Figuur 5.1).

Figuur 5.1: De afbraak van zetmeel bij toenemende hoeveelheden α -amylase. barley (Δ), tapioca (\bullet), steam flaked maize (\times) and popped maize (\circ).

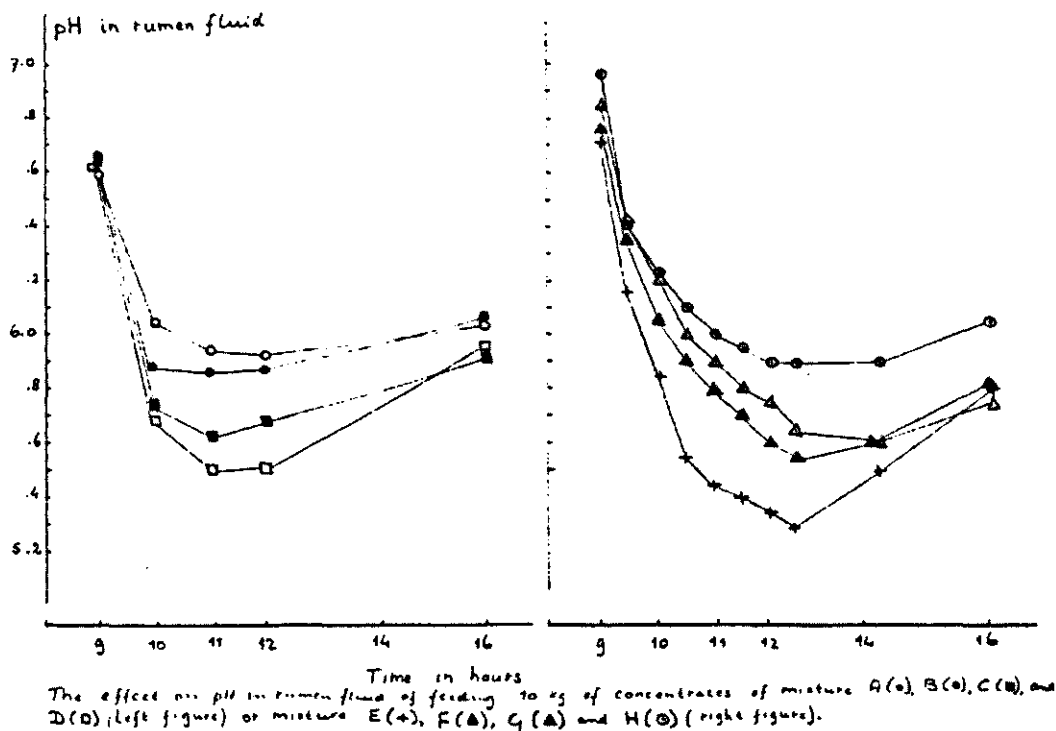


Proef 6.

Invloed afbraaksnelheid zetmeelbronnen op ruwvoeropname en maximale voeropname.

Het verloop van de pH in het pensvocht na het voeren in deze proef van verschillende mengvoeders, verschilde onderling sterk.

Figuur 6.1: Het verloop van de pH in pensvloeistof na het voeren van 10 kg krachtvoerders A t/m D en E t/m H.



In Figuur 6.1 is het gemiddelde verloop van de pH na het verstrekken van 10 kg mengvoer A t/m D en van E t/m H voor elk van de voeders apart weergegeven. Met betrekking tot de mengsels A t/m D blijkt dat de pH in het pensvocht na het voeren lager wordt, als het mengsel een hoger percentage gepofte mais bevat (hetgeen overigens ook verwacht werd). Met betrekking tot de mengsels E t/m H blijkt er (opnieuw) een groot verschil tussen voer E en H voor te komen, terwijl voer F en G een tussenpositie innemen. Verder laat Fig. 6.1. zien dat ongeveer 3 uur na het voeren de laagste pH-waarden werden bereikt.

De gemiddelde pH-waarden, gemeten in het pensvocht om 12-uur (3

uur na voeding) gedurende de dagen dat de maximale hoeveelheden krachtvoer werden verstrekt, zijn in Tabel 6.1 weergegeven.

Tabel 6.1: De gemiddelde pH in pensvloeistof 3 uur na voeding van de hoogste hoeveelheid krachtvoer.

1A	5.42	5.18		5.25	5.30		5.44
1B	5.63		5.44	5.50	5.41		5.25
2A	5.55	5.40	5.14			5.23	5.40
2B		5.52	5.25	5.22		5.08	5.26

Globaal liggen deze pH-waarden dan tussen 5.1 en 5.5. Elk experiment zou worden beëindigd zodra de pH in de pens een waarde van ongeveer 5.0 bereikte. Dat dit ook veelal gebeurd is, blijkt uit de laagste pH-waarde die op de laatste dag van elk experiment is gemeten en welke in Tabel 6.2 is vermeld.

Tabel 6.2: De laagste pH in pensvloeistof op de laatste dag van verstrekking van de hoogste hoeveelheid krachtvoer.

1A	5.11	4.91		5.13	5.06		5.24
1B	5.15		5.22	5.11	5.17		5.16
2A	5.36	5.15	5.38			4.99	4.98
2B		5.32	4.83	5.03		4.95	4.94

De hoeveelheid krachtvoer welke nodig was om een pH van ± 5.0 in de pens op te wekken is in Tabel 6.3 weergegeven. Uit deze tabel blijkt dat tussen de verschillende mengsels (binnen dezelfde koe) een verschil in hoeveelheid krachtvoer van ongeveer 6 kg per dag bestond. Die hoeveelheid krachtvoer leek afhankelijk van het feit of het zetmeel in het krachtvoer snel, dan wel langzaam afgebroken werd.

Tabel 6.3: De maximale hoeveelheid krachtvoer welke kon worden verstrekt.

Cows	Mixtures							
	A	B	C	D	E	F	G	H
1A	20	18		14	10			16
1B	14		12	10	8			16
2A	15	13	13			12	14	
2B		13	13	11		12	12	

Zoals te verwachten was, neemt de ruwvoeropname af naarmate er meer krachtvoer wordt opgenomen. In Tabel 6.4 is de gemiddelde hooi-opname weergegeven, gedurende de dagen dat de grootste hoeveelheid krachtvoer werd verstrekt.

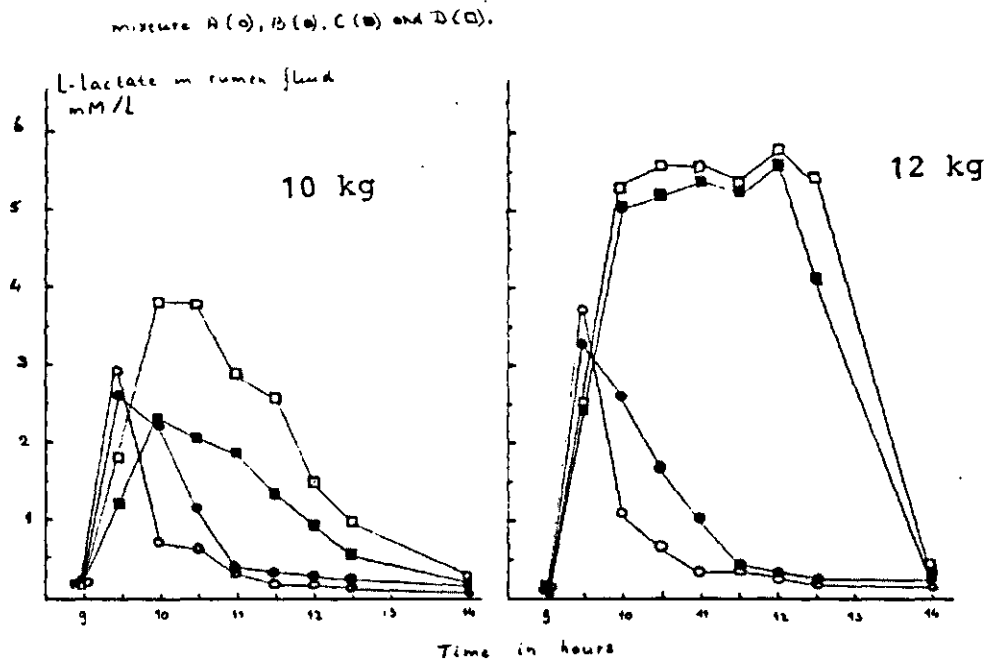
Tabel 6.4: De gemiddelde hooiopname (kg/dag) tijdens het verstrekken van de maximale hoeveelheid krachtvoer.

1A	6.4	5.6		7.0	9.2			2.6
1B	6.3		5.2	8.8	5.4			4.5
2A	6.0	5.4	6.4			5.6	9.0	
2B		7.6	5.9	6.9		8.2	6.2	

Uit tabel 6.4 blijkt dat de hooiopname dan gemiddeld rond de 6 kg lag.

Het max. L-lactaatgehalte in het pensvocht bleek afhankelijk te zijn van de hoeveelheid krachtvoer en van de snelheid waarmee het zetmeel afgebroken wordt. In Figuur 6.2 is het gemiddelde verloop over 5 dagen, van het L-lactaatgehalte in pensvocht weergegeven na verstrekken aan de proefkoeien van 10 kg en van 12 kg van de voeders A t/m D.

Figuur 6.2: Het gemiddelde verloop van het L-melkzuurgehalte (mM/l) in pensvloeistof na het voeren van 10 kg of van 12 kg krachtvoer A t/m D.



Na het voeren van 10 kg hoeveelheden krachtvoer bleek het gemiddelde maximale L-lactaatgehalte per voersoort nog weinig te variëren. Naarmate het voer een hoger gehalte gepofte mais bevatte, was het L-lactaatgehalte gedurende een langere tijd na het voeren verhoogd. Op het niveau van 12 kg krachtvoer werden de verschillen tussen de voeders groter.

Uit dit onderzoek kwam verder opnieuw naar voren dat ten tijde van de hoogste lactaatgehalten het D-lactaat gehalte steeds hoger was dan het L-lactaatgehalte. Dit verschil werd groter, naarmate er meer krachtvoer werd verstrekt.

DISCUSSIE

Factoren in het krachtvoer welke bijdragen tot het optreden van pensverzuuring.

De uitkomsten beschreven onder proef 3 deden ons concluderen dat het risico van pensverzuuring in eerste instantie werd bepaald door het gehalte aan glucose plus fructose in het voer. Door in de correlatieberekeningen ook het gehalte aan sucrose of het totaalgehalte aan oplosbare koolhydraten in het voer op te nemen, werd de correlatie tussen de gehalten aan suikers en het potentiële risico van pensverzuuring niet hoger. Dit zou er op kunnen duiden dat er zelfs binnen de groep van de zeer gemakkelijk aantastbare koolhydraten nog weer onderlinge verschillen bestaan met betrekking tot het risico van verzuuring.

Verder bleken naast het gehalte aan glucose plus fructose, toenemende gehalten aan oplosbaar eiwit het risico van pensverzuuring te vergroten. Dit kan mogelijk verklaard worden uit het feit dat eiwit de groeisnelheid van D/L-melkzuur vormende micro-organismen stimuleert (Counotte, 1981), hetgeen zou kunnen leiden tot een toename van de D/L-melkzuurproductie.

Dat vooral het glucose plus fructosegehalte in het voer de vorming van melkzuur beïnvloedt, komt ook naar voren in proef 1, waarin de voerfrequentie werd gevarieerd. Per voerfrequentie waren de max. melkzuurconcentraties op het 23% Z + S-krachtvoer hoger dan op het 50% Z + S-krachtvoer. Het 23% Z + S-krachtvoer bevatte namelijk 14% suikers en 9% zetmeel, terwijl het 50% Z + S-krachtvoer 6% suikers en 44% zetmeel bevatte.

Tussen zetmelen in de verschillende voedermiddelen konden grote verschillen worden aangetoond in de snelheid waarmee die zetmelen worden afgebroken. Binnen de niet technologisch bewerkte producten was tapioca (zetmeel) het gemakkelijkst aantastbaar.

Een moeilijk aantastbaar zetmeel kan door bewerkingen gemakkelijker aantastbaar worden gemaakt. Door malen worden de deeltjes verkleind, hetgeen een vergroting van de oppervlakte en een verhoging van de aantastbaarheid tot gevolg heeft. Dat fijner malen bij tapioca geen en bij maismeel wel een invloed op de aantastbaarheid uitoefende, kan mogelijk verklaard worden uit het

feit dat tapioca na het malen over een 1 mm zeef al vrijwel uitsluitend uit zeer fijne deeltjes bestaat, terwijl maismeel dan nog veel grovere deeltjes bevat. Juist deze grovere deeltjes worden bij malen over een fijnere zeef verkleind.

Pelleteren had in proef 2 geen invloed op de pH-daling. Het is niet uitgesloten dat dit een gevolg is van het geringe zetmeelgehalte in het gebruikte mengvoer. Door poffen of extruderen kan de aantastbaarheid van het zetmeel sterk worden verhoogd. In proef 6 komt duidelijk naar voren dat naarmate het percentage gepofte mais in het mengvoer toenam, de pH in het pensvocht sterker daalde.

Uit dit onderzoek kan worden afgeleid dat het risico van pensverzuring bij grotere hoeveelheden krachtvoer vooral wordt bepaald door het gehalte aan suikers, met name glucose en fructose, alsmede door het gehalte en de aard van het zetmeel. Tevens lijkt het gehalte aan oplosbaar eiwit daar nog een rol bij te spelen.

Kunnen de risicofactoren middels in vitro onderzoek worden bestudeerd en gekwantificeerd.

Diverse enkelvoudige voeders als ook diverse mengvoeders zijn aan koeien verstrekt en tevens in vitro geïncubeerd met pensvocht afkomstig van een hooi gevoerde dan wel van een krachtvoer gevoerde koe. Rangschikking van de producten op basis van de pH-daling tijdens de incubaties of de pH-daling circa 3 uren na het voeren gaf te zien dat de onderlinge rangorde gebaseerd op in vitro onderzoek weinig afweek van die gebaseerd op in vivo onderzoek.

Wel bleek dat per incubatieserie de uitkomsten van dag tot dag op een verschillend niveau kunnen liggen. Dit duidt er op dat de microbiële activiteit in de gebruikte 50 ml hoeveelheden pensvocht van dag tot dag verschilde. Een duidelijke verschuiving in de onderlinge rangorde deed zich niet voor. Als gevolg van de niveauverschillen van dag tot dag, is bij een in vitro test het gebruik van één of meer standaardproducten in elke incubatieserie gewenst.

Tijdens incubaties met pensvocht afkomstig van een koe die

zetmeelrijk krachtvoer kreeg, werd aanzienlijk meer zetmeel afgebroken dan wanneer het pensvocht afkomstig was van een koe die uitsluitend hooi kreeg. Dit duidt op een relatieve toename van de amylolytische bacteriën of een adaptatie van de microflora in de richting van amylolytische soorten. De onderlinge rangorde van zetmeelrijke voedermiddelen in snelheid van zetmeelafbraak veranderde niet wezenlijk bij incubaties met verschillende soorten pensvocht. Voor een evaluatie van deze bevindingen en het vervolgonderzoek zij verwezen naar de bijdrage van dr. J. Cone.

Hebben uiteenlopende eigenschappen van krachtvoer invloed op de ruwvoeropname en op de totale voeropname.

In proef 3 zagen wij dat de mate van verdringing van ruwvoer door krachtvoer, na het in de pens brengen van 6 kg hoeveelheden van enkelvoudige krachtvoerders, zowel tussen de producten alsook van dag tot dag sterk verschilde. In het algemeen was de verdringing het grootst rond de derde dag na de introductie van de enkelvoudige krachtvoerders. Na de vierde dag nam de ruwvoeropname weer toe, maar tussen de producten bleef een aanzienlijk verschil bestaan.

Ook in proef 4 en 6 kwam naar voren dat de ruwvoeropname op de 2e of 3e dag, na de verhoging van de hoeveelheid krachtvoer met 2 kg, geringer was dan de daaropvolgende dagen. Dit was vooral het geval indien de krachtvoerders relatief veel gemakkelijk afbreekbare bestanddelen bevatten. Dit zou er op kunnen duiden dat de introductie van relatief gemakkelijk aantastbare producten in het rantsoen voorzichtiger moet plaats hebben dan een moeilijk aantastbaar product, wil men de fermentatie in de pens niet te veel verstoren. Dit kan met name rond het afkalven van belang zijn.

Gebleken is dat niet alleen de hoeveelheid krachtvoer, maar ook de samenstelling van het krachtvoer invloed uitoefende op de ruwvoeropname. In proef 4 en 6 bleek dat de ruwvoeropname geringer was, indien krachtvoer verstrekt werd dat gemakkelijker aantastbaar was. Dit was vooral het geval naarmate er meer krachtvoer werd verstrekt. Waarschijnlijk is dit vooral een gevolg van het pH-niveau in de pens. Bij een snel fermenteerbaar

krachtvoer daalt de pH sneller en komt dan na het voeren onder het pH-optimum van de cellulolytische microflora te liggen, hetgeen een verminderde celwandafbraak tot gevolg kan hebben. Dit laatste kan de verdwijningssnelheid van de grovere voerdeeltjes uit de pens vertragen en zo tot daling van de ruwvoeropname leiden.

Als gevolg van een geleidelijke fermentatie van krachtvoerders in de pens kon een aanzienlijk grotere hoeveelheid krachtvoer worden verstrekt alvorens de pH in de pens tot lage waarden daalde. Mede als gevolg van de geringere verdringing van ruwvoer kon met langzaam fermenteerbaar krachtvoer een aanzienlijk hogere droge stof opname per dag worden bereikt.

Met verwijzing naar de uitkomsten van proef 1 lijkt het niet erg waarschijnlijk dat, bij verstrekking van langzaam fermenteerbaar krachtvoer, verhoging van de voerfrequentie nog bij zal dragen aan de stabiliteit in de pens.

CONCLUSIES

Het risico van pensverzuring bij grotere hoeveelheden krachtvoer wordt vooral bepaald door het gehalte aan suikers, alsmede het gehalte en de aard van het zetmeel. Tevens lijkt het gehalte aan oplosbaar eiwit daar nog een rol bij te spelen.

Rangschikking van de onderzochte krachtvoergrondstoffen op basis van de pH-daling tijdens de incubaties of de pH-daling in de pens gedurende de eerste 3 uren na voeding gaf te zien dat de rangorde gebaseerd op in vitro onderzoek weinig afweek van die gebaseerd op in vivo onderzoek.

De verdringing van ruwvoer door krachtvoer is niet alleen afhankelijk van de hoeveelheid krachtvoer, maar ook van de samenstelling van het krachtvoer.

Met langzaam fermenteerbaar krachtvoer kon een aanzienlijk hogere totale drogestofopname worden bereikt dan met snel fermenteerbaar krachtvoer.

Het is niet waarschijnlijk dat, bij verstrekking van langzaam fermenteerbaar krachtvoer, verhoging van de voerfrequentie nog bij zal dragen aan de stabiliteit in de pens.

LITERATUUR

1. Haalstra, R.T. en A. Malestein, 1977. De voeding van melkvee rond het afkalven tijdens de stalperiode in verband met de gezondheid en de melkproductie.
Tijdschrift voor Diergeneeskunde 102, 254-265.
2. Malestein, A en D. v.d. Geer, 1979. De voeding van melkvee rond het afkalven. De invloed, de krachtvoerhoeveelheid op de voeropname, de melkproductie en uierafmetingen.
Landbouwkundig Tijdschrift/DT 91, 37-42.
3. Malestein, A., A.Th. van 't Klooster, G.H.M. Counotte and R.A. Prins, 1981. Concentrate feeding and ruminal fermentation. 1. Influence of frequency of feeding concentrates on rumen acid composition, feed intake and milkproduction.
Neth. J. agric. Sci. 29, 239-248.
4. Malestein, A., A.Th. van 't Klooster, G.H.M. Counotte and R.A. Prins, 1982. Concentrate feeding and ruminal fermentation. 2. Influence of concentrate ingredients on pH and on L-lactate concentration in incubations in vitro with rumen fluid.
Neth. J. agric. Sci. 30, 259-273.
5. Malestein A., A.Th. van 't Klooster, R.A. Prins and G.H.M. Counotte, 1984. Concentrate feeding and ruminal fermentation. 3. Influence of concentrate ingredients op pH, on DL/lactic acid concentration in rumen fluid of dairy cows and on dry matter intake.
6. Malestein, A. and A.Th. van 't Klooster, 1986. Influence of ingredient composition of concentrates on rumen fermentation rate in vitro and in vivo and on roughage intake of dairy cows.
J.Anim.Physiol. a. Anim.Nutr. 55, 1-13.

7. Malestein, A., A.Th. van 't Klooster and J.W. Cone, 1988. Degradability of various types of starch by incubation with rumen fluid or with bacterial α -amylase. J.Anim.Physiol. a. Anim.Nutr. 59, 225-232.
8. Malestein, A., A.Th. van 't Klooster and J.W. Cone. The influence of starch sources on rumen fermentation rate in vivo and in vitro and on roughage intake of dairy cows (in ontwerp).
9. Counotte, G.H.M. 1981. Regulation of lactate metabolism in the rumen. Proefschrift, Utrecht.

Bijlage 1a. Krachtvoersamenstelling in proef 1 (in %)

A. 23% Z + S	B. 50% Z + S
-----	-----
10 kokosschilfers	19 sojaschroot
9 rijstevoerschroot	70 maismeel
6 lijnschilfers	8 melasse
21 maisglutenvoer	3 min. + vit.
3 sojaschroot	
3 grasmeel	
18 bietenpulp	
13.5 citruspulp	
1.5 destr.vet	
8 melasse	
4 tarwegrintzetmelen	
3 min. + vit.	

Bijlage 1b. Kwaliteiten hooi in proef 1 (in kg ds).

	A	B
Ruw Eiwit (g)	141	134
Ruwe Celstof (g)	291	298
Ruwe As (g)	94	110
VRE (g)	83	80
VEM	764	746

Bijlage 2. Krachtvoersamenstelling in proef 2.

25	maisglutenvoer
18	citruspulp
6	soyaschroot
4	rijstevoermeel
10	palmpitschilfers
3	tarwemeel
3	grasmeel
18	tarwegrintzemelen
8	melasse
1	destr.vet
4	min. + vit.

Bijlage 3. Gehalten aan suikers, zetmeel en oplosbaar eiwit in de producten gebruikt in proef 3 (g/kg ds).

	glucose + fructose	opl. koolhydr.	zetmeel	opl. eiwit
-----	-----	-----	-----	-----
mais	3	15	616	4
tapioca	10	1	706	2
bietenpulp	6	72	12	24
citruspulp	44	52	51	29
maisglutenvoer	3	9	225	73
kokosschilfers	12	63	8	20
soyaschroot	1	67	16	85

Bijlage 4a. De samenstelling van de in proef 4 gebruikte mengvoeders (%)

Ingredients	A	B	C	D	E	F
Tapioca	34.0	—	—	34.0	24.0	—
Maize	—	34.0	—	—	23.0	—
Citrus pulp	—	—	34.0	—	23.0	—
Beet pulp	14.5	14.5	15.0	14.5	—	25.0
Soya bean meal (solv. extr.)	14.5	14.5	15.0	14.5	23.0	6.5
Wheat middlings	29.5	29.5	29.5	—	—	—
Palm kernel meal (exp.)	—	—	—	29.5	—	13.0
Coconut meal (exp.)	—	—	—	—	—	15.0
Maize gluten feed meal	—	—	—	—	—	23.0
Rice feed meal	—	—	—	—	—	2.5
Molasses	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	10.0
Minerals + vitamins	2.5	2.5	1.5	2.5	2.0	5.0
Chemical analysis						
Crude Protein	16.2	17.7	16.3	15.2	16.3	17.4
Crude Fat	2.0	2.1	3.3	3.8	2.7	4.6
Crude Fiber	7.6	7.2	10.8	13.1	7.1	15.1
Total Starch	21.0	28.6	8.3	21.3	29.6	6.4
Soluble Starch	2.1	0.5	1.0	1.0	1.4	0.9
Soluble Protein	6.3	7.3	8.8	6.2	5.4	8.2
Sucrose	4.3	1.6	6.7	4.0	2.6	4.5
Glucose	0.4	0.8	1.0	0.5	0.8	0.5
Fructose	0.5	0.6	1.0	0.7	0.8	0.5
Total Soluble Carbohydrates	10.5	6.0	18.6	9.1	9.6	9.9

Bijlage 4b. De mengvoedersamenstelling van proef 4b (%)

10	kokosschilfers
10	palmpitschilfers
15	maisglutenvoer
20	citruspulp
10	soyaschroot
16	maismeel
6	melasse
3	min. + vit.

Bijlage 5a. Het gehalte aan suikers en zetmeel in de diverse zetmeelbronnen gebruikt in proef 5 (g/kg)

	Glucose	Fructose	Sucrose	Maltose	Starch
Maize, la plata	1.1	0.6	10.9	1.3	583
Millet	1.0	0.5	4.1	1.1	575
Milicorn	1.7	1.7	4.2	1.0	596
Canary seed	0.7	0.5	4.4	0.7	430
Wheat	1.5	0.7	10.8	2.4	557
Tapioca	5.7	8.6	2.4	1.0	614
Maize, steam flaked	1.9	1.3	10.7	0.5	594
Maize, popped	1.2	2.1	10.7	1.0	593
Wheat, popped	1.1	1.9	10.8	10.0	562
Paselli	1.6	0.3	0.2	2.0	851
Maize	1.9	1.1	6.7	1.1	594
Maize starch	0.1	0.1	0.1	0.1	852
Barley	1.3	1.0	9.8	3.6	494

Bijlage 5b. De samenstelling van het mengvoer verstrekt aan de krachtvoerkoe (%)

40 milicorn
 30 mais
 15 soya schroot
 6 maisgluten
 6 melasse
 3 min. + vit.

Bijlage 6. De samenstelling van de mengvoeders gebruikt in proef
6 (g/kg)

	A	B	C	D	E	F	G	H
maismeel	510	340	170	---	---	---	---	510
mais, gepoft	---	170	340	510	---	---	---	---
gerst	---	---	---	---	---	---	510	---
tarwe	---	---	---	---	---	510	---	---
tapioca	---	---	---	---	510	---	---	---
soyaschroot	200	200	200	200	240	240	240	240
soyahullen	180	180	180	180	140	140	140	140
melasse	80	80	80	80	80	80	80	80
min. + vit.	30	30	30	30	30	30	30	30
zetmeel	372	363	366	367	308	318	280	361

890317/7div.

MEDEDELINGEN IVVO

- no. 1 Van "Hoorn" naar "IVVO" 1965-1985: voordrachten, gehouden bij gelegenheid van het afscheid van ir. F. de Boer als directeur van het Instituut voor veevoedingsonderzoek. Met bijdragen: Ir. F. de Boer, directeur IVVO van 1965 tot 1985 / W. Landman. Van "Hoorn" naar "IVVO" / Y.S. Rijpkema. Mineralen in mest uit veevoer, een zorg voor IVVO, burger en boer / A.W. Jongbloed. Wel en wee van vre bij Nederlands melkvee / S. Tamminga. Meer of minder gras in de koe? Een zure keus / J.A.C. Meijs. Voederwaarde: van ruwe celstof naar in vitro en NIR / A.J.H. van Es (1985) [77 p. NED]
- no. 2 Krachtvoersamenstelling voor grazend melkvee / J.A.C. Meijs (1985) [10 p., 12 ref., NED]
- no. 3 Berekeningen over de mogelijke vermindering van de uitscheiding aan N, P, Cu, Zn en Cd via de voeding door landbouwhuisdieren in Nederland / A.W. Jongbloed, A. Steg, P.C.M. Simons, W.M.M.A. Janssen, N.P. Lenis, J.A.C. Meijs en K. Vreman (1985) [50 p., 12 ref., NED]
- no. 4 Behoeftte aan linolzuur bij fokzeugen / S.H.M. Metz, H. Everts, L.A. den Hartog, A.C.M. Mentink (1985) [26 p., 32 ref., NED]
- no. 5 Snijmaissilage naast gras bij melkvee 1. Effect op ruwvoeropname. 2. Effect op stikstofbenutting / J.A.C. Meijs (1986) [18 p., 17 ref., NED]
- no. 6 Ontwikkelingen bij het inkuilen van voeders / S.F. Spoelstra (1986) [12 p., 16 ref., NED]
- no. 7 Toepassing van melkzuurbacteriën bij het inkuilen / S.F. Spoelstra (1986) [12 p., 14 ref., NED.]
- no. 8 Perspulpsilage in de varkensvoeding / B. Smits en L.B.J. Sebek (1987) [9p., 14 ref., NED]
- no. 9 Enzymtechnologie en voermagenvertering bij herkauwers / S. Tamminga (1987) [13 p., 47 ref., NED]
- no. 10 Veranderingen in melksamenstelling door voeding en het toepassen van biotechnologie / S. Tamminga (1987) [14 p., 15 ref., NED]
- no. 11 Natte bij- en afvalprodukten: het gebruik in de varkensvoeding / door B. Smits en L.B.J. Sebek (1988) [69 p., 24 ref., NED]
- no. 12 Voederwaardevoorspelling met Nabij-Infrarood-Reflektie-Spectroscopie (NIRS) / A. Steg (1988) [12 p., 23 ref. NED]
- no. 13 Invloed van lucht op kuilvoer / S.F. Spoelstra (1989) [15 p., 24 ref., NED]
- no. 14 Zetmeel in de veevoeding: themamiddag IVVO - Vakgroep Inwendige Ziekten en Voeding RU Utrecht [106 p., NED]