



Systematisch onderzoek naar fermentatiekarakteristieken van zetmeel en celwanden in maïs

J.W. Cone, I. da Costa Ramos, A.H. van Gelder



Rapport 06/100086

Nutrition and Food



Copyright

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande toestemming van Animal Sciences Group van Wageningen UR te Lelystad.

Nutrition and Food
Goedgekeurd door het divisiehoofd

P.W. Vriesekoop

Januari 2006

Systematisch onderzoek naar fermentatiekarakteristieken van zetmeel en celwanden in maïs

J.W. Cone, Isabel da Costa Ramos, A.H. van Gelder

Januari 2006

Dit onderzoek werd gefinancierd door Productschap Zuivel en Productschap Diervoeder te 's Gravenhage.

Inhoud

Samenvatting	7
Inleiding	9
1. Invloed van voorbehandeling.....	11
1.1. Inleiding	11
1.2. Werkplan	11
1.3. Materiaal en methoden.....	12
1.4. Resultaten	12
1.5. Discussie	24
1.6. Deeltjesgrootteverdeling.....	24
1.7. Conclusies	25
2. Invloed van ras en oogststadium.....	27
2.1. Monsters maïs	27
2.2. Materiaal en methoden.....	27
2.3. Resultaten	29
2.3.1. Chemische samenstelling.....	29
2.3.2. Gasproductieanalyses	30
2.3.3. Bepaling zetmeelafbraak in pensvloeistof	37
2.3.4. Bepaling enzymatische afbraak zetmeel	38
2.3.5. Afbraak maïsmonsters na inkuilen.....	39
2.4. Conclusies	42
3. Invloed van haksellengte	33
3.1. Inleiding	33
3.2. Materiaal en methoden.....	33
3.3. Resultaten	33
3.4. Conclusies	33
4. Invloed van bewaarduur maïssilage	45
4.1. Inleiding	45
4.2. Materiaal en methoden.....	46
4.3. Resultaten	46
4.4. Conclusies	47
5. Conclusies in-vitro-onderzoek	49
6. Referenties	51

Samenvatting

Onderzoek werd gedaan naar de invloed van het oogsttijdstip op de fermentatiekarakteristieken van 4 maïsrassen. Omdat er vooral weinig bekend is over verschillen in fermentatiekarakteristieken van het zetmeel werd gekozen voor 4 maïsrassen met een hoog aandeel zetmeel. De rassen verschilden in vroegheid en in afrijping. Het ging om een vroeg ras van het dry down type (**R1**), een vroeg ras van het stay green type (**R3**), een laat ras van het dry down type (**R5**) en een laat ras van het stay green type (**R7**). Monsters werden geoogst op verschillende data met een verschillend drogestofgehalte, tijdstip **T1** met 24 % DS, **T3** met 32 % DS en **T5** met 40 % DS.

Omdat verwacht werd dat het drogen van met name de zetmeelhoudende monsters bij hoge temperaturen zou leiden tot nivellering van de verschillen in fermentatie, werd vooraf onderzocht wat de beste manier van monstervoorbehandeling was voor deze monsters. Geconcludeerd werd dat de hoogste reproduceerbaarheid werd gevonden bij de gevriesdroogde en gemalen monsters. Daarom werd de rest van het onderzoek uitgevoerd met gemalen en gevriesdroogde monsters.

Uit de chemische analyse bleek dat na T3 het kolfaandeel niet veel meer toenam en ook het zetmeelgehalte niet. In de jongste planten was het gehalte suiker en NDF het hoogst. De rasverschillen kwamen niet duidelijk tot uiting in de chemische samenstelling en ook niet in de afbreekbaarheid van de organische stof en de NDF.

De fermentatiekarakteristieken van de monsters werden bepaald met de gasproductietechniek. Monsters van de gehele plant, de kolf en de restplant werden afzonderlijk geanalyseerd. Analyse van monsters van de gehele plant liet zien dat er significante effecten waren van het oogsttijdstip op alle gasproductieparameters. De jongste monsters hadden de laagste totale gasproductie (GP20), de hoogste A1 door een hoger suikergehalte, de laagste A2 (fermentatie van zetmeel en celwanden) en de hoogste gasproductiesnelheid (lage B2). Het type ras had alleen een effect op GP20 en A1, met de hoogste waarden voor R5 (laat, dry down). De verschillen waren overigens gering.

Ook voor de kolfmonsters had het oogsttijdstip een significant effect op alle gasproductieparameters, met voor de jongste monsters de laagste waarde voor GP20, de hoogste voor A1, de laagste voor A2, de hoogste gasproductiesnelheid (lage B2) en het hoogste percentage berekende zetmeelafbraak. Deze resultaten waren zoals verwacht. Het type ras had alleen een significant effect op GP20 (hoogste waarde voor R3), A1 (hoogste R5, laagste R7), A2 (hoogste R3), Rmax2 (hoogste R1, laagste R5) en berekende zetmeelafbraak (hoogste R5, laagste R7). Er waren geen duidelijke systematische verschillen ten gevolge van het type maïs aan te geven.

Ook voor de monsters restplant waren er significante effecten van het oogsttijdstip op alle gasproductieparameters, met voor de jongste monsters de hoogste totale gasproductie (GP20), de gasproductie van de oplosbare fractie (A1) en van de niet oplosbare fractie (A2) en met de hoogste gasproductiesnelheid (laagste B2). Deze resultaten waren zoals verwacht. Ook het type maïs had duidelijke significante effecten, waarbij vooral R5 de hoogste gasproductie had (GP20, A1 en A2). R1 had de laagste gasproductiesnelheid (hoge B2). Er waren echter geen duidelijke systematische verschillen in ras en type (vroegheid, afrijping) aan te geven.

In gebufferde pensvloeistof werd de laagste zetmeelafbraak gemeten in de jongste monsters, terwijl met enzymen de hoogste afbraak werd gemeten bij de jongste monsters. In beide gevallen was er geen duidelijke trend in de verschillende rassen.

Na inkuilen waren er nog steeds significante effecten van het oogsttijdstip op de gasproductieparameters, met voor de jongste monsters de laagste GP20, de hoogste A1, de laagste A2, de laagste gasproductiesnelheid (hoge B2, lage Rmax2) en de hoogste berekende zetmeelafbraak. Significante raseffecten werden alleen waargenomen voor GP20, A2 en berekende zetmeelafbraak, zonder dat er systematische verschillen waren. Haksellengte bleek geen significant effect te hebben op de gasproductieparameters. De duur van de inkuilperiode

had geen invloed op de mate en snelheid van fermentatie, zoals in vitro gemeten met de gasproductietechniek.

Uit het onderzoek kan geconcludeerd worden dat het oogsttijdstip een significant effect had op de fermentatiekarakteristieken, zoals gemeten met de gasproductietechniek. De jongste monsters lieten in pensvloeistof de laagste zetmeelafbraak (kolf) zien en de hoogste celwandafbraak (restplant). Dus jong stengel en blad heeft een hogere afbraak dan ouder materiaal, terwijl voor zetmeel blijkt dat het jonge zetmeel in iets mindere mate wordt afgebroken, maar wel iets sneller dan het oudere. Bij afbraak met enzymen was het zetmeel in de jongere planten beter afbreekbaar.

Uit het onderzoek kwam geen duidelijk systematisch verschil tussen de rassen naar voren. Op basis van dit onderzoek is niet te zeggen welke van de typen (vroeg, laat, dry down, stay green) het best gevoerd kan worden.

1. Inleiding

De problemen die bestaan om te komen tot een juiste inschatting van de kwaliteit van zetmeel in krachtvoerders bestaan zeker ook voor zetmeel in maïs en maïssilage. Ook voor zetmeel in snijmaïs kan getwijfeld worden aan de juistheid van nylonzakjesgegevens, doordat ook bij snijmaïs de S-fractie overschat wordt. De kwaliteit van snijmaïs wordt in de rassenlijst o.a. gewaardeerd naar kolfaandeel (= zetmeelgehalte) en celwandverteerbaarheid. Er wordt hierbij geen rekening gehouden met de kwaliteit van het zetmeel en de afbraaksnelheid van de celwanden. Voor zetmeel betekent dit dat niet bekend is welk deel van het zetmeel bestendig is en wat de fermentatiesnelheid van het onbestendige deel is. Evenmin is bekend welke rasverschillen er bestaan ten aanzien van zetmeelkwaliteit en hoe de zetmeelkwaliteit verandert gedurende het groeiseizoen. Veranderingen in zetmeelkwaliteit moeten geïntegreerd worden met veranderingen in celwandkwaliteit (mate en snelheid van afbraak in de pens) om te komen tot een juiste inschatting van de snijmaïskwaliteit.

Verschillen in met name zetmeelafbreekbaarheid kunnen genivelleerd worden door het drogen. Door drogen is het waarschijnlijk dat de kristalliniteit van de macromoleculen wordt verhoogd, waardoor de afbreekbaarheid afneemt. Daarom is de monstervoorbehandeling van de monsters in dit onderzoek van wezenlijk belang.

In dit project wordt samengewerkt met PV en PPO en wordt systematisch onderzoek gedaan naar de interactie tussen rastype, oogsttijdstip, conservering, voeding en dierprestaties. In dit gedeelte van het totale project wordt in-vitro-onderzoek gedaan naar de fermentatie-eigenschappen van de maïsmonsters geogst op verschillende data van het perceel in Lelystad. Dit deel van het project heeft de volgende doelstellingen:

- Bepaling van de invloed van voorbehandeling (vers, drogen, malen, invriezen) van snijmaïsmonsters op de fermentatiekenmerken van de gehele plant en de korrels en restplant afzonderlijk, zowel voor als na inkuilen, gemeten met de gasproductietest. Hierdoor wordt inzicht verkregen in de wijze waarop de verkregen in-vitro-resultaten kunnen worden doorvertaald naar vers en ingekuild materiaal, zoals dat door de dieren wordt gegeten (deel 1).
- Bepaling van de invloed van (ras)verschillen op zetmeelkwaliteit en celwandkwaliteit (mate en snelheid van fermentatie) van snijmaïsmonsters (gehele plant, korrels en restplant) en hoe deze eigenschappen beïnvloed worden door het oogsttijdstip. Door een betere inschatting van de fermentatie-eigenschappen van snijmaïs kunnen krachtvoersupplementen meer gericht worden ingezet in rantsoenen (deel 2).
- Bepaling van de invloed van hakselen van verse snijmaïs op fermentatiekenmerken, na inkuilen, gemeten met de gasproductietechniek (GPT) (deel 3).
- Bepaling van de invloed van bewaarduur van maïskuilen op fermentatiekenmerken gemeten met de GPT (deel 4).

Deel 1. Invloed van voorbehandeling

1.1. Inleiding

De problemen die bestaan om te komen tot een juiste inschatting van de kwaliteit van zetmeel in krachtvoerders bestaan zeker ook voor zetmeel in maïs en maïssilage. Ook voor zetmeel in snijmaïs kan getwijfeld worden aan de juistheid van nylonzakjesgegevens, doordat ook bij snijmaïs de S-fractie overschat wordt. De kwaliteit van snijmaïs wordt in de rassenlijst o.a. gewaardeerd naar kolfaandeel (= zetmeelgehalte) en celwandverteerbaarheid. Er wordt hierbij geen rekening gehouden met de kwaliteit van het zetmeel en de afbraaksnelheid van de celwanden. Voor zetmeel betekent dit dat niet bekend is welk deel van het zetmeel bestendig is en wat de fermentatiesnelheid van het onbestendige deel is. Evenmin is bekend welke rasverschillen er bestaan ten aanzien van zetmeelkwaliteit en hoe de zetmeelkwaliteit verandert gedurende het groeiseizoen. Veranderingen in zetmeelkwaliteit moeten geïntegreerd worden met veranderingen in celwandkwaliteit (mate en snelheid van afbraak in de pens) om te komen tot een juiste inschatting van de snijmaïskwaliteit. Verschillen in met name zetmeelafbreekbaarheid kunnen genivelleerd worden door het drogen. Door drogen is het waarschijnlijk dat de kristalliniteit van de macromoleculen wordt verhoogd, waardoor de afbreekbaarheid afneemt. Daarom is de monstervoorbehandeling van de monsters in dit onderzoek van wezenlijk belang.

1.2. Werkplan

Deel 1: Invloed van voorbehandeling

Onderzoek naar de effecten van vers analyseren, drogen, malen en invriezen. De fermentatiekarakteristieken zullen onderzocht worden met de gasproductietechniek en de afbraak van zetmeel zal onderzocht worden met een enzymatische techniek met pepsine-HCl en pancreatine. De monsters zullen op de volgende manieren voorbehandeld worden, vers en gemalen, ingevroren weer ontdooid en gemalen, ingevroren en daarna gedroogd bij 70 °C en gemalen over een 1 mm zeef en gedroogd bij 70 °C en gemalen over een 1 mm zeef en gevriesdroogd en gemalen over een 1 mm zeef. De maïskorrels van de kolf en de restplant zullen afzonderlijk onderzocht worden.

Een deel van dit onderzoek is reeds uitgevoerd met maïskuilen uit 2002 en met aardappels. Indien nodig zal dit onderzoek herhaald worden met de maïsmonsters uit 2003. Daartoe zal op de oogsttijdstippen T1 – T5 materiaal (kolf + restplant) handmatig geoogst worden van rastypen R1, R3, R5 en R7.

1.3. Materiaal en methoden

Droge stof (DS) werd bepaald na 4 uur bij 103 °C en as na 3 uur bij 550 °C. Zetmeel werd enzymatisch bepaald met de amyloglucosidasemethode (Bergmeyer, 1970).

Verse monsters werden overnacht gedroogd bij 70 °C in een oven met luchtcirculatie of gevriesdroogd (-20 - +20 °C).

De fermentatiekinetiek werd bepaald met de gasproductietechniek (Cone et al., 1996). Incubaties met 0.5 gram organische stof (OS) werden uitgevoerd in duplo in 60 ml gebufferde pensvloeistof (1 deel pensvloeistof en 2 delen buffer) in 250 ml flessen bij 39 °C in een schudwaterbad. Pensvloeistof was afkomstig van 2 droogstaande koeien, gehouden onder standaardcondities. De dieren werden 2 keer daags gevoerd met hooi en in de ochtend met 1 kg krachtvoer. De pensvloeistof werd 2 uur na het voeren in de ochtend getapt.

De zetmeelafbraak werd ook onderzocht na 1.5 uur incubatie in 0.1 M HCl, gevolgd door 3 uur incubatie met 2.5 % pancreatine in 0.1 M fosfaatbuffer (Cone en Vlot, 1990).

1.4. Resultaten

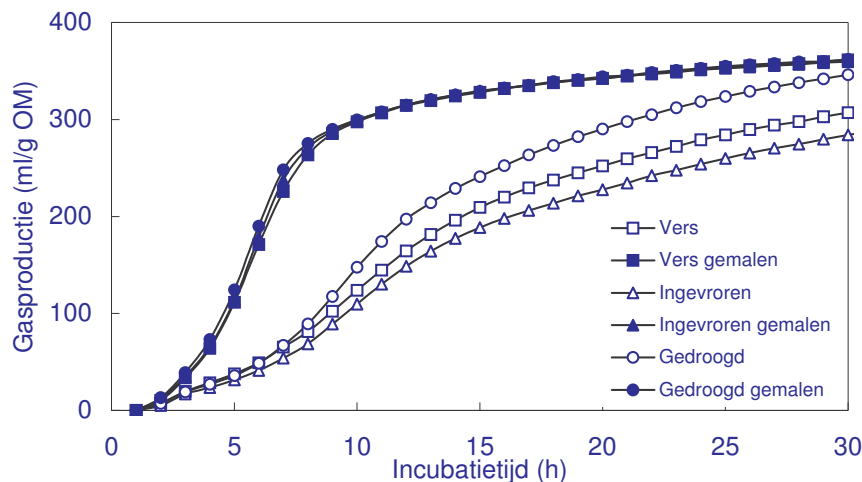
Onderzoek zomer 2003

Dit deel van het onderzoek werd uitgevoerd in de zomer van 2003 door een stagiaire Deze Portugese studente, Isabel Ramos, volgde een internationale cursus aan de CAH in Dronten. Omdat op dat moment geen verse maïs voorhanden was werd het onderzoek uitgevoerd met ingekuilde maïs en verse aardappels. Aangenomen mag worden dat de effecten van voorbehandeling op het zetmeel onafhankelijk zijn van de origine van het zetmeel.

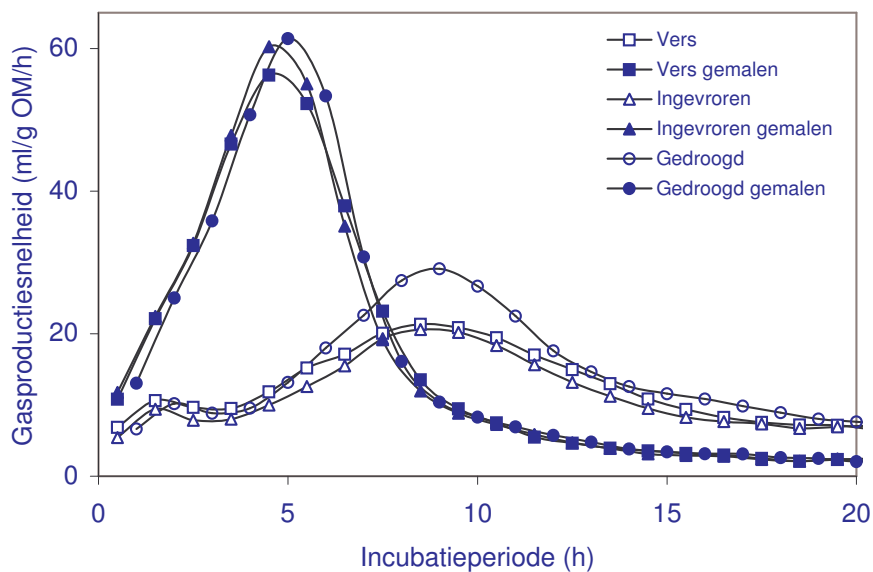
Experiment 1

In dit experiment werden maïskorrels en restplant met de hand gescheiden uit ingekuilde maïs van 2002 bij ID in Lelystad (33.2 % DS). De maïskorrels werden vervolgens vers bewaard bij 5 °C, ingevroren bij -20 °C of gedroogd bij 70 °C. De monsters werden vervolgens gemalen over een 1 mm zeef of niet gemalen. Monsters werden ingevroren om te onderzoeken wat het effect was op invriezen. Dit werd gedaan omdat vermoed werd dat uiteindelijk vers analyseren van de monsters qua logistiek etc. niet haalbaar is. Invriezen en daarna analyseren zou een alternatief kunnen zijn, mits er geen veranderingen optreden door het invriezen.

De op verschillende manieren behandelde maïskorrels werden onderzocht met de gasproductietechniek. Figuur 1 geeft de cumulatieve gasproductie weer. Hieruit blijkt dat er grote verschillen waren tussen de ongemalen monsters. Indien de monsters wel werden gemalen, waren de verschillen verwaarloosbaar. De snelheid van gasproductie van dezelfde monsters is weergegeven in Figuur 2. Hieruit volgt ook de conclusie dat er grote verschillen bestaan tussen wel of niet gemalen monsters, maar de verschillen tussen verschillende manieren van drogen niet aanwezig zijn bij gemalen monsters.



Figuur 1. Cumulatieve gasproductie van monsters maïskorrel uit een kuil, voorbehandeld op verschillende manieren.

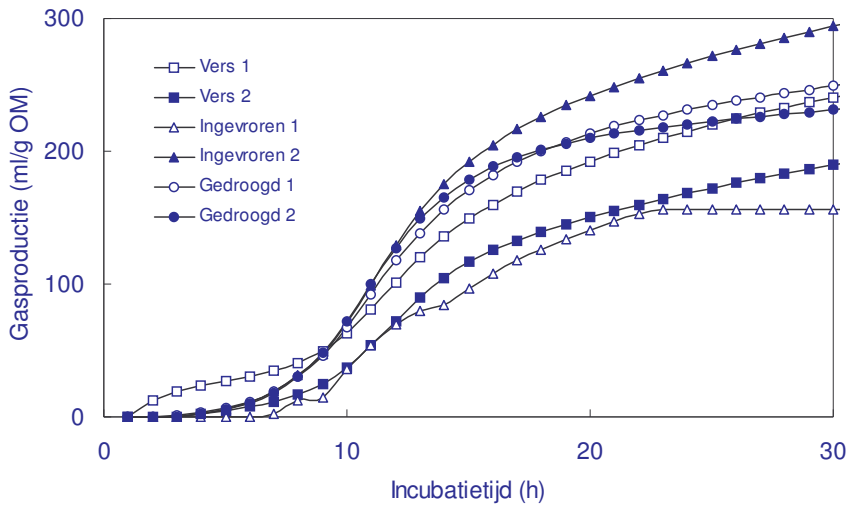


Figuur 2. Snelheid van gasproductie van monsters maïskorrel uit een kuil, voorbehandeld op verschillende manieren.

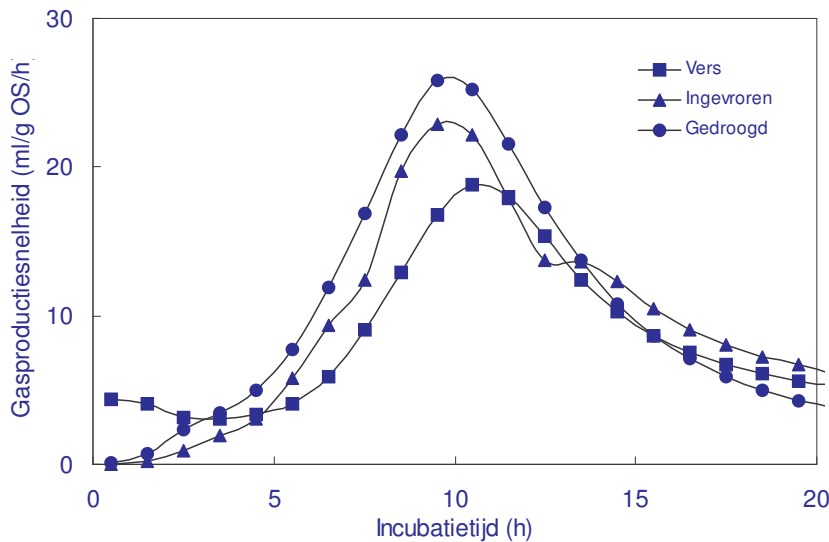
Experiment 2

Omdat uit experiment 1 geen duidelijke conclusies waren te trekken voor de niet-gemalen monsters, omdat waarschijnlijk de deeltjesgrootteverdeling hier bepalend was, werden deze experimenten herhaald. Om te voorkomen dat de resultaten werden beïnvloed door de inhomogeniteit van de monsters werden de incubaties opgeschaald. Er werd 6.0 gram geïncubeerd in 300 ml gebufferde pensvloeistof in flessen van 500 ml. De “verse” monsters werden verkregen vlak voor de gasproductie-incubaties.

De cumulatieve gasproductiecurven van de individuele monsters staan weergegeven in Figuur 3. Uit deze figuur blijkt duidelijk dat er grote verschillen waren tussen de duplo-incubaties. De resultaten laten zien dat de inhomogeniteit van de monsters te groot was om verschillen veroorzaakt door de manier van drogen aan te tonen. De gemiddelde snelheid van gasproductie voor de 3 verschillende manieren van voorbehandeling is weergegeven in Figuur 4. Hieruit blijkt dat de snelheid van gasproductie lager was voor de verse monsters dan voor de monsters die eerst gedroogd waren of ingevroren. Echter, omdat de verschillen tussen duplo-bepalingen te groot waren moet geen waarde gehecht worden aan de resultaten. Geconcludeerd kan worden dat niet malen geen goede methode is om verschillen in voorbehandeling, met name manier van drogen, aan te tonen.



Figuur 3. Cumulatieve gasproductie van monsters maïskorrel, voorbehandeld op verschillende manieren.

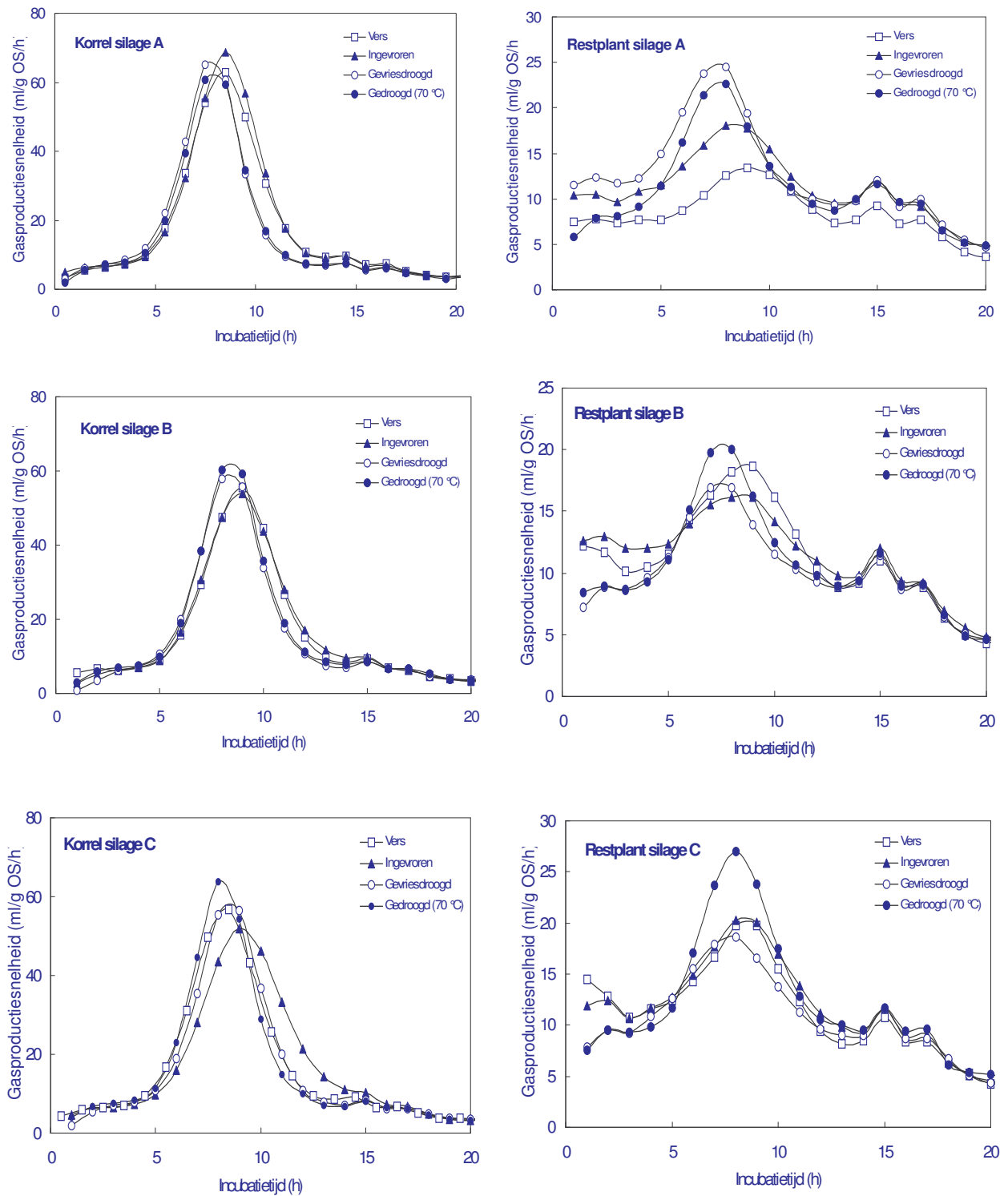


Figuur 4. Snelheid van gasproductie van niet-gemalen monsters maïskorrel, voorbehandeld op verschillende manieren.

Experiment 3

Omdat in experiment 1 geen duidelijke verschillen werden gevonden voor de gemalen monsters met verschillende voorbehandeling werden deze experimenten herhaald met 3 verschillende maïskuilen (A = 33.2 % DS, B = 32.5 % DS en C = 32.9 % DS). De monsters werden vers gemalen, ingevoren en gemalen, gevriesdroogd en gemalen en gedroogd bij 70 °C en gemalen. Zowel de maïskorrels als de restplant werden onderzocht met de gasproductietechniek.

Figuur 5 laat voor de 3 verschillende silages de snelheid van gasproductie zien voor de maïskorrels en voor de restplant met de verschillende voorbehandelingen. Hieruit blijkt dat er slechts kleine verschillen werden gevonden tussen de verschillende voorbehandelingen bij de maïskorrels. In alle gevallen was de piek in gasproductiesnelheid iets eerder bij de gevriesdroogde en bij 70 °C gedroogde monsters. Verschillen in gasproductiesnelheid werden ook hier waarschijnlijk veroorzaakt door verschillen in deeltjesgrootteverdeling als gevolg van



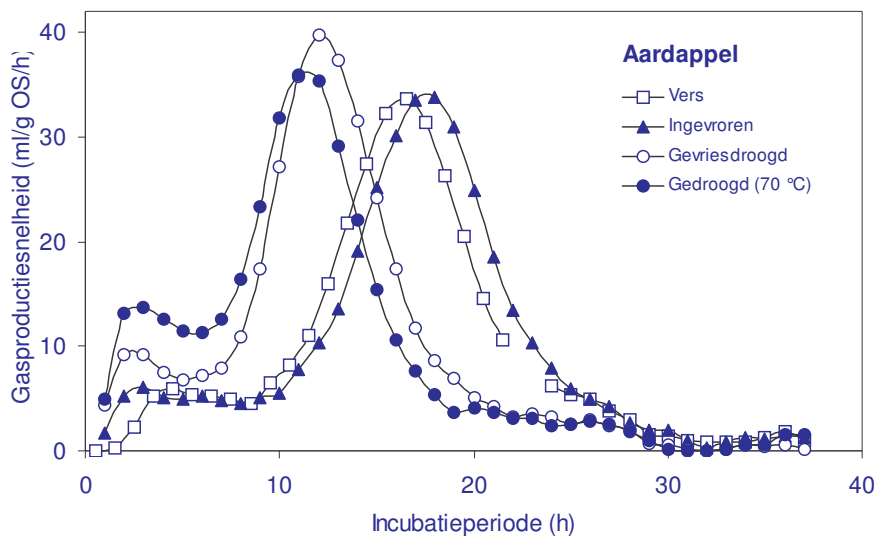
Figuur 5. Snelheid van gasproductie van korrels en restplant van 3 silages (A, B, C), voorbehandeld op verschillende manieren

het malen. Gedroogde monsters zijn beter te malen dan niet gedroogde monsters en geven een andere deeltjesgrootteverdeling.

De verschillen in gasproductiesnelheid voor de monsters restplant waren groot. Het verse monster van silage A had een lage gasproductie ten opzichte van de andere voorbehandelingen. De gevriesdroogde en bij 70 °C gedroogde monsters hadden de hoogste gasproductiesnelheid. Bij silage C was het bij 70 °C gedroogde monster een uitschieter. Ook hier is het waarschijnlijk dat de deeltjesgrootteverdeling na malen van de verschillende monsters een grotere invloed had op de gasproductiesnelheid dan de voorbehandeling zelf.

Experiment 4

Omdat er geen verse maïs voorhanden was ten tijde van het uitvoeren van dit onderzoek werd het onderzoek uitgevoerd met aardappels. De gasproductiesnelheid voor het aardappelmonsters, na de diverse voorbehandelingen, is weergegeven in figuur 6. De monsters werden gemalen over 1 mm.



Figuur 6. Snelheid van gasproductie van aardappel, voorbehandeld op verschillende manieren

Uit figuur 6 blijkt dat er geen grote verschillen waren in fermentatiesnelheid door een verschil in voorbehandeling. Wel bleek het verse monster een lagere maximale gasproductiesnelheid te hebben dan de overige monsters. Waarschijnlijk speelt een verschil in deeltjesgrootte hier een belangrijke rol. Er was een duidelijk verschil in plaats van de piek. Het verse en ingevroren product hadden een langere lag time dan het gedroogde en gevriesdroogde product. Deze verschillen kunnen veroorzaakt zijn door verschillen in fysische eigenschappen van het zetmeel ten gevolge van de manier van drogen of door een verschil in deeltjesgrootte na het malen. Verse monsters zijn veel moeilijker te malen dan droge monsters en geven een heel andere deeltjesgrootteverdeling. Droge monsters worden meer uit elkaar geslagen bij het malen dan de verse monsters.

Door het drogen kunnen de eigenschappen van het zetmeel veranderen. Door het drogen wordt water aan de macromoleculen onttrokken en gaan de macromoleculen zich herordenen waarbij een meer kristallijne structuur ontstaat. Dit zou betekenen dat door het drogen de afbraaksnelheid en de afbreekbaarheid lager worden. Dit was niet het geval bij de aardappelmonsters. De gedroogde en gemalen producten hadden een veel snellere fermentatie (kortere lag time) dan de niet gedroogde monsters. Dit betekent dus dat de gevonden verschillen in fermentatiesnelheid tussen de verschillende aardappelmonsters verklaard moeten worden door verschillen in deeltjesgrootte na het malen.

Experiment 5

In dit experiment werd de invloed van voorbehandeling op de enzymatische afbraak met pancreatine onderzocht. Alle monsters waren gemalen over een 1 mm zeef. In tabel 1 staan de resultaten weergegeven als gehalte glucose + maltose, de afbraakproducten van zetmeel, na 3 uur incubatie met pancreatine. Uit de tabel blijkt dat aardappelzetmeel veel slechter werd afgebroken dan zetmeel uit maïs. Maïszetmeel werd het best afgebroken. Bij maïs werd de laagste afbraak gevonden bij het product dat ingevroren geweest was. Tussen de andere voorbehandelingen was geen groot verschil. Bij aardappel werd de laagste afbraak waargenomen bij het verse en ingevroren monster en de hoogste bij de twee gedroogde monsters. Deze resultaten komen overeen met de bovengenoemde gasproductieresultaten. Uit de resultaten in tabel 1 blijkt dat drogen geen verslechtering geeft van de afbraak. Door het drogen zijn de monsters beter te malen en hebben daardoor waarschijnlijk kleinere deeltjes, hetgeen een positief effect heeft op de afbraak.

Tabel 1. Gemeten gehalte (g/kg DS) glucose + maltose na 3 uur incubatie met pancreatine. De monsters werden gemalen over een 1 mm zeef.

	Maïskorrel	Aardappel
Vers	328	22
Ingevroren	266	22
Gevriesdroogd	352	54
Gedroogd (70 °C)	321	151
SED	16	3

Conclusies experimenten 1 t/m 5

Doordat drogen voor de gemalen monsters een verhoging van de fermentatiesnelheid en enzymatische afbraak geeft kan geconcludeerd worden dat het negatieve effect dat verwacht werd door het drogen niet werd waargenomen. Doordat drogen een effect heeft op de efficiëntie waarmee monsters gemalen kunnen worden ligt het voor de hand dat de deeltjesgrootteverdeling na het malen een grote invloed heeft op de zetmeelafbraak.

Maïsoogst Lelystad 2003

In 2003 werden 8 maïsrassen (R1 – R8) geoogst in Lelystad op 5 verschillende oogsttijdstippen (T1 – T5). In het kader van dit deelproject worden alleen de rassen R1, R3, R5 en R7 onderzocht, geoogst op de tijdstippen T1, T3 en T5. Oogsttijdstip T1 was op 20 augustus, T3 op 16 september en T5 op 03 oktober. Een overzicht van de DS-gehaltenes van de gehele plant, de kolf en de restplant is weergegeven in tabel 2. Tabel 2 geeft tevens het zetmeelgehalte van de kolf. Het gemiddelde DS-gehalte op T1 was 23.4 %, op T3 32.5 % en op T5 37.5 %. Het zetmeelgehalte in de kolf steeg van 42.6 % op T1 naar 63.0 % op T3 tot 64.8 % op T5.

Ras R1 was een vroeg dry down ras, ras R3 was een vroeg stay green ras, ras R5 was een laat dry down ras en R7 was een laat stay green ras. Alle rassen waren zetmeelrijke rassen.

Tabel 2. Drogestofgehalte (g/kg) van de maïsrassen R1, R3, R5 en R7 geoogst op tijdstippen T1, T3 en T5. DS-gehalte gegeven voor de gehele plant, de kolf en de restplant. Zetmeelgehalte (g/kg DS) alleen voor de kolf.

	T1	T3	T5
Totale plant (DS g/kg)			
R1	237	343	381
R3	241	322	381
R5	222	319	382
R7	236	315	355
Kolf (DS in g/kg)			
R1	334	554	587
R3	366	520	572
R5	311	513	562
R7	400	568	599
Stengel (DS g/kg)			
R1	208	215	236
R3	210	218	253
R5	207	224	238
R7	200	204	244
Kolf (zetmeel in g/kg DS)			
R1	402	665	660
R3	447	593	649
R5	375	625	638
R7	480	636	643

De monsters werden gedroogd bij 70 °C of gevriesdroogd en gemalen over een 1 mm zeef. Na drogen bij 70 °C werden de totale plant, de kolf en de restplant gehakseld met behulp van een stationaire hakselaar bij PPO. Dit gaf monsters met een haksellengte van gemiddeld 6 mm. Het plantmateriaal werd tevens vers gehakseld. De totale plant werd door het loonbedrijf tijdens het oogsten gehakseld door de oogstmachine op 6 mm. De kolf werd door de monstervoorbereiding van PPO gecutterd. De restplant werd door PPO gehakseld in een stationaire hakselaar.

Gasproductietechniek

Het plantmateriaal geogst op T1 werd onderzocht met de gasproductietechniek na drogen en verkleinen, zoals boven omschreven. De resultaten voor de totale plant (kolf + restplant) staan weergegeven in tabel 3. In deze tabel is A1 de gasproductie ten gevolge van de fermentatie van de snel fermenteerbare (=oplosbare) fractie. A2 is de gasproductie ten gevolge van de fermentatie van de langzaam afbreekbare fractie (= celwanden + zetmeel). B2 is de tijd die nodig is voor 50 % van A2 en is dus een maat voor de snelheid van afbraak van de celwanden + zetmeel. Het vers gehakselde materiaal werd in drievoud geanalyseerd, de rest in duplo. Voor de parameter A1 werd een betere dupliceerbaarheid waargenomen na drogen en malen dan bij de gehakselde monsters. In alle gevallen, behalve bij geluchtdroogd gehakseld materiaal, werd de hoogste waarde gevonden bij R5. A2 en B2 gaven een betere dupliceerbaarheid bij drogen en malen, ondanks dat geen significante effecten van rasverschillen werden waargenomen. De verschillen tussen geluchtdroogd gehakseld materiaal en geluchtdroogd over een 1 mm zeef kunnen beschouwd worden als verschillen veroorzaakt door verschillen in deeltjesgrootte en niet door verschillen in manier van drogen. Er bleken grote effecten te zijn van deeltjesgrootte.

Om beter onderscheid te kunnen maken tussen celwandafbraak en zetmeelafbraak werden de planten gescheiden in kolf en restplant. Deze monsters werden ook op verschillende manieren gedroogd en verkleind en vervolgens geanalyseerd met de gasproductietechniek. De resultaten voor de restplant (= gehele plant – kolf) staan weergegeven in Tabel 4. Ook hier werden de vers gehakselde monsters geanalyseerd in drievoud en de overige monsters in tweevoud. Voor A1 was de dupliceerbaarheid slecht bij de verse monsters. Wel was de waarde van A1 bij ras R5 in alle gevallen het hoogst, onafhankelijk van de monstervoorbehandeling. Zowel voor A2 als voor B2 werden geen significante ($p < 0.05$) verschillen tussen de rassen waargenomen. De verschillen tussen gedroogd en gehakseld en gedroogd en gemalen (1 mm) kunnen gezien worden als verschillen ten gevolge van verschillen in deeltjesgrootte. Grote verschillen werden vooral waargenomen voor B2. De gemalen monsters hadden een veel lagere waarde van B2 dan de gehakselde monsters. Ook was de ranking niet hetzelfde. Dit toont aan dat de deeltjesgrootteverdeling een meer bepalende rol had in de fermentatiekinetiek dan de manier van drogen. Er waren slechts kleine verschillen tussen de gemalen monsters na drogen bij 70 °C en vriesdrogen. Ook de ranking was hetzelfde. Gezien de lagere SD verdient vriesdrogen de voorkeur boven drogen bij 70 °C.

Ook de kolf werd op verschillende manieren gedroogd en verkleind. De resultaten van de gasproductieanalyses staan weergegeven in Tabel 5. Voor A1 was de dupliceerbaarheid het hoogst bij gemalen monsters. De raseffecten waren gelijk bij alle voorbehandelingen. In alle gevallen was A1 het hoogst voor R5 en het laagst voor R7. Vanwege de hogere dupliceerbaarheid, lagere SD, heeft vriesdrogen en malen de voorkeur. A2 gaf een zeer slechte dupliceerbaarheid bij de niet gemalen monsters. De hoogste dupliceerbaarheid werd waargenomen bij de gevriesdroogde monsters en alleen bij deze voorbehandeling waren raseffecten aantoonbaar. Ook bij de kolfmonsters waren de verschillen tussen de gedroogde monsters (gehakseld en gemalen) groot. Geconcludeerd kan worden dat de verschillen veroorzaakt werden door verschillen in deeltjesgrootte en niet door verschillen in manier van drogen.

De gemalen (1 mm) monsters vertoonden geen verschillen in afbraaksnelheid (B2) tussen de verschillende manieren van drogen. Verschillen werden wel gevonden bij de gehakselde monsters. Onduidelijk is of deze verschillen werden veroorzaakt door raseffecten of door verschillen in deeltjesgrootteverdeling.

Tabel 3. Gasproductieparameters (A1, A2 en B2) van de gehele maïsplant geoogst op T1 en op verschillende manieren gedroogd en verkleind.

Gehele plant	Vers gehakseld	Geluchtdroogd gehakseld	Geluchtdroogd 1 mm	Gevriesdroogd 1 mm
A1				
R1	47.7	58.5	59.3 ^{ab}	66.5 ^b
R3	49.5	51.2	52.7 ^b	62.4 ^b
R5	58.3	57.7	67.1 ^a	78.8 ^a
R7	53.9	47.6	58.0 ^b	63.1 ^b
<i>SD</i>	4.1	5.3	2.9	1.6
<i>P raseffect</i>	#	NS	*	**
<i>Overall raseffect</i>		***		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		#		
A2				
R1	167.8	158.0	175.6	171.5
R3	172.9	155.6	177.9	176.7
R5	169.0	145.3	173.2	166.5
R7	185.2	161.1	179.2	173.0
<i>SD</i>	18.6	11.2	5.1	5.9
<i>P raseffect</i>	NS	NS	NS	NS
<i>Overall raseffect</i>		NS		
<i>Behandelingseffect</i>		*		
<i>Interactie</i>		NS		
B2				
R1	11.9	10.6	8.4	8.1
R3	11.7	11.3	8.2	8.0
R5	11.2	11.0	7.9	7.7
R7	11.7	10.9	8.2	8.1
<i>SD</i>	0.9	0.6	0.7	0.6
<i>P raseffect</i>	NS	NS	NS	NS
<i>Overall raseffect</i>		NS		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		NS		

NS: P>0.10; #: P< 0.10; * : P<0.05 ; **: P<0.01; ***: P<0.001

Tabel 4. Gasproductieparameters (A1, A2 en B2) van de restplant (gehele maïsplant – kolf) geogst op T1 en op verschillende manieren gedroogd en verkleind.

Restplant	Vers gehakseld	Geluchtdroogd gehakseld	Geluchtdroogd 1 mm	Gevriesdroogd 1 mm
A1				
R1	38.6 ^b	47.5 ^b	48.0	55.9 ^b
R3	37.2 ^b	44.0 ^b	51.1	54.3 ^b
R5	54.0 ^a	58.6 ^a	64.5	72.5 ^a
R7	40.3 ^b	46.7 ^b	47.0	57.9 ^b
<i>SD</i>	5.5	1.6	5.4	2.0
<i>P raseffect</i>	*	**	#	**
<i>Overall raseffect</i>		***		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		NS		
A2				
R1	130.5	114.4	136.6	136.3
R3	127.3	121.7	143.5	142.6
R5	140.6	120.0	150.5	148.8
R7	121.9	121.1	136.8	135.2
<i>SD</i>	7.3	4.1	5.2	4.7
<i>P raseffect</i>	#	NS	NS	NS
<i>Overall raseffect</i>		**		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		NS		
B2				
R1	10.0	17.2	9.6	9.2
R3	9.8	12.1	9.4	9.1
R5	9.6	15.0	8.7	8.5
R7	10.5	13.8	9.5	9.1
<i>SD</i>	1.0	1.9	0.6	0.6
<i>P raseffect</i>	NS	NS	NS	NS
<i>Overall raseffect</i>		#		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		#		

NS: P>0.10; #: P< 0.10; * : P<0.05 ; ** : P<0.01; ***: P<0.001

Tabel 5. Gasproductieparameters (A1, A2 en B2) van de kolf geoogst op T1 en op verschillende manieren gedroogd en verkleind.

Kolf	Vers gehakseld	Geluchtdroogd gehakseld	Geluchtdroogd 1 mm	Gevriesdroogd 1 mm
A1				
R1	36.7 ^b	36.9 ^b	53.8 ^b	61.0 ^b
R3	38.5 ^b	31.9 ^{bc}	52.5 ^b	56.7 ^c
R5	49.5 ^a	50.3 ^a	64.8 ^a	73.2 ^a
R7	25.0 ^c	26.9 ^c	42.8 ^c	48.3 ^d
<i>SD</i>	2.7	3.2	1.6	1.3
<i>P raseffect</i>	***	**	**	**
<i>Overall raseffect</i>		***		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		NS		
A2				
R1	219.0	198.9	240.9	233.9 ^b
R3	213.2	198.0	251.6	243.8 ^a
R5	235.7	227.2	242.3	234.9 ^b
R7	190.0	219.7	252.5	243.8 ^a
<i>SD</i>	33.5	24.2	4.1	2.0
<i>P raseffect</i>	NS	NS	#	*
<i>Overall raseffect</i>		NS		
<i>Behandelingseffect</i>		*		
<i>Interactie</i>		NS		
B2				
R1	9.8 ^{bc}	10.5 ^{ab}	7.6	7.4
R3	10.6 ^a	11.2 ^a	7.6	7.5
R5	9.5 ^c	9.9 ^b	7.6	7.5
R7	10.6 ^{ab}	11.3 ^a	7.8	7.5
<i>SD</i>	0.4	0.3	0.2	0.3
<i>P raseffect</i>	*	*	NS	NS
<i>Overall raseffect</i>		**		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		#		

NS: P>0.10; #: P< 0.10; * : P<0.05 ; ** : P<0.01; ***: P<0.001

Zetmeelafbraak met pancreatine

Van de kolfmonsters werd de zetmeelafbraak bepaald na 1.5 uur incubatie in pepsine-HCl en 3 uur incubatie in een pancreatineoplossing. De resultaten als % zetmeelafbraak staan weergegeven in Tabel 6. Ook hier werd het vers gehakselde monster geanalyseerd in drievoud en de overige monsters in tweevoud.

Uit de resultaten in Tabel 6 blijkt dat er grote verschillen waren in zetmeelafbraak tussen de gemalen en de niet gemalen monsters. Het absolute niveau van zetmeelafbraak was in de gemalen monsters 2 tot bijna 4 keer hoger dan in de niet gemalen monsters. Overigens waren de tendensen in alle gevallen hetzelfde. De hoogste afbraak werd gevonden in R1 en R5 en de laagste in R3 en R7. Ook bij deze enzymatische afbraak werd de laagste SD gevonden bij de gevriesdroogde en gemalen monsters.

Tabel 6. Percentage zetmeelafbraak van zetmeel uit de kolf geoogst op T1 na 1.5 uur incubatie met pepsine-HCl en 3 uur incubatie met pepsine.

	Vers gehakseld	Geluchtdroogd gehakseld	Geluchtdroogd 1 mm	Gevriesdroogd 1 mm
R1	25.5 ^a	30.0 ^a	68.9 ^a	83.9 ^a
R3	17.0 ^b	16.3 ^b	62.0 ^b	76.1 ^c
R5	24.5 ^a	40.2 ^a	73.3 ^a	80.9 ^b
R7	16.4 ^b	17.2 ^b	56.6 ^b	60.4 ^d
<i>SD</i>	3.0	3.8	2.3	0.8
<i>P raseffect</i>	**	**	**	***
<i>Overall raseffect</i>		***		
<i>Behandelingseffect</i>		***		
<i>Interactie</i>		***		

NS: P>0.10; #: P< 0.10; * : P<0.05 ; ** : P<0.01; ***: P<0.001

Conclusies experimenten maïsoogst 2003

Niet gemalen materiaal leverde grote problemen op bij het verkrijgen van reproduceerbare resultaten. Niet zelden werden eventuele raseffecten versluierd door de grotere onnauwkeurigheid. Verschillen die waarneembaar waren tussen rassen, wezen bij vrijwel alle parameters dezelfde kant uit. Wel was er een duidelijk niveauverschil. Een snellere afbraak of fermentatie werd steeds waargenomen bij de gemalen varianten, waarbij gevriesdroogde monsters nog weer sneller werden afgebroken dan geluchtdroogde monsters. Al deze verschillen hangen samen met deeltjesgrootte. Zeer waarschijnlijk bevat gevriesdroogd materiaal nog weer kleinere deeltjes dan geluchtdroogd materiaal (meer poedervorm). Verder geldt dat, mocht drogen bij hogere temperatuur een effect hebben op de chemische en fysische eigenschappen van het zetmeel, dit effect afwezig zal zijn bij de gevriesdroogde varianten. Enige uitzonderingen was parameter B2, bepaald met de gasproductietechniek. Hier waren raseffecten zichtbaar bij het verse materiaal en niet bij het gedroogde materiaal. Dit zijn hoogstwaarschijnlijk geen echte effecten van de eigenschappen van het zetmeel, maar van de verschillen in deeltjesgrootte. Bij niet gemalen materiaal zijn de meeste korrels nog intact. Kleine verschillen in het percentage gekneusde korrels heeft enorme effecten op de (schijnbare) afbreekbaarheid van het materiaal.

1.5. Discussie

Dit onderzoek werd uitgevoerd om de hypothese te testen dat met name drogen een invloed heeft op de eigenschappen van het zetmeel waardoor verschillen in zetmeelafbreekbaarheid nivelleren. Onderzocht werd wat de invloed is van verschillende manieren van drogen en malen op de microbiële afbraak in pensvloeistof (gasproductietechniek) en met enzymen (pancreatine). Tevens werd de fermentatiekinetiek bepaald aan verse monsters die een tijdje werden ingevroren bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dit werd gedaan omdat het vers analyseren in de praktijk te veel problemen oplevert. Een alternatief zou kunnen zijn om de monsters tijdelijk in te vriezen, daarna te ontdooien en vervolgens te analyseren.

Uit de resultaten blijkt dat er grote verschillen werden gevonden tussen monsters die op verschillende manieren waren voorbehandeld (drogen $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, vriesdrogen, invriezen en ontdooien en vers). Ook waren er grote verschillen tussen de verschillende duplo-bepalingen. Door het niet-malen was het niet mogelijk om een goed representatief monster te incuberen. Ook door de incubaties op te schalen werd geen verbetering in reproduceerbaarheid verkregen. Geconcludeerd kan worden dat niet-malen geen optie is voor het vervolgonderzoek.

Er werden geen systematische verschillen gevonden tussen vers geanalyseerd materiaal en materiaal dat eerst was ingevroren en daarna weer ontdooid. Hierdoor is het mogelijk om vers materiaal in te vriezen en tijdelijk op te slaan. Dit voorkomt veel problemen die wel optreden indien het materiaal echt vers zou moeten worden geanalyseerd.

Bij analyse van de gemalen monsters werden of geen verschillen tussen de verschillende manieren van drogen waargenomen of er waren verschillen tussen de verse en gedroogde monsters. Deze verschillen zijn hoogstwaarschijnlijk terug te voeren op verschillen in deeltjesgrootte. Waarschijnlijk wordt gedroogd en gevriesdroogd materiaal door de molens veel meer uit elkaar geslagen dan de verse (vers of eerst ingevroren) monsters. Dit verschil in deeltjesgrootte vertaalt zich in een verschil in afbraaksnelheid. Verwacht werd dat door het drogen, en vooral het drogen bij hoge temperaturen, het zetmeel minder afbreekbaar zou worden. Dit werd echter niet gevonden in de uitgevoerde experimenten. Mogelijk werden verschillen gecamoufleerd door verschillen in deeltjesgrootte. Daarom werd achteraf een analyse gedaan van de deeltjesgrootteverdeling van het monster R7, geoogst op T1.

1.6. Deeltjesgrootteverdeling

Van het monster R7, geoogst op T1, werd de deeltjesgrootteverdeling bepaald, middels een droge zeefmethodiek, na wel en niet malen en na verschillende manieren van drogen (*Tabel 7*). De niet gemalen monsters waren wel gehakseld (6 mm) en daarna gedroogd bij $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Procentueel waren de meeste deeltjes tussen 1 en 5 mm. Slechts een klein percentage was kleiner dan 1 mm. Opvallend is dat door het hakselen van de kolf kleinere deeltjes ontstaan dan bij de gehele plant.

Malen over 1 mm gaf uiteraard veel kleinere deeltjes dan alleen hakselen. Door te drogen bij $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ en vriesdrogen van de kolf werd geen wezenlijk andere deeltjesgrootte verdeling verkregen, met name alle deeltjes tussen 0.1 en 0.5 mm (*Tabel 7*). Door het vriesdrogen werden bij de gehele plant wel kleinere deeltjes verkregen dan bij drogen bij $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Geconcludeerd kan worden dat malen een groot effect had op de deeltjesgrootteverdeling in zowel de gehele plant als de kolf. Door vriesdrogen werden meer kleinere deeltjes gevonden in de gehele plant na malen in vergelijking met drogen bij $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Bij de kolf alleen werd geen verschil in deeltjesgrootteverdeling gevonden na drogen bij $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ en vriesdrogen.

De deeltjesgrootteverdeling van de gehele plant kunnen gerelateerd worden aan de gasproductieresultaten in *Tabel 3*. De gehakselde monsters hebben een lagere waarde voor A1 en A2 (lagere gasproductie) en een hogere waarde voor B2, een lagere fermentatiesnelheid. De waarden van B2 voor gevriesdroogd materiaal zijn iets lager (hogere fermentatiesnelheid) dan voor $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ gedroogd materiaal. Ook de deeltjes waren iets kleiner na vriesdrogen dan na

drogen bij 70 °C (Tabel 7). Voor de kolf was de relatie tussen deeltjesgrootte en gasproductie (Tabel 5) overeenkomstig de relaties voor de gehele plant.

Geconcludeerd kan worden dat kleinere deeltjes een snellere gasproductie geven.

Tabel 7. Percentuele verdeling van monster R7, geoogst op T1, naar deeltjesgrootte. De monsters waren gehakseld (niet gemalen) en gedroogd bij 70 °C, gedroogd bij 70 °C en gemalen over 1 mm en gevriesdroogd en gemalen over 1 mm.

R7, T1	Gehele plant	Kolf
	%	%
Gehakseld – 70 °C drogen		
> 5 mm	42.4	15.8
1 – 5 mm	56.0	75.8
< 1 mm	1.5	8.4
70 °C drogen – 1 mm malen		
> 0.5 mm	4.8	8.7
0.2 – 0.5 mm	52.1	48.3
0.1 – 0.2 mm	27.3	40.6
< 0.1 mm	15.8	2.4
Vriesdrogen – 1 mm malen		
> 0.5 mm	2.4	6.1
0.2 – 0.5 mm	41.0	46.7
0.1 – 0.2 mm	42.6	44.9
< 0.1 mm	14.0	2.3

1.7. Conclusies

Geconcludeerd kan worden dat voor het vervolgonderzoek beter wel gemalen kan worden. Uit de resultaten blijkt dat drogen een hogere reproduceerbaarheid geeft dan niet-drogen. De hoogste reproduceerbaarheid werd gevonden bij de gevriesdroogde en gemalen monsters. Voor de rest van het onderzoek binnen dit project wordt daarom ervoor gekozen om de monsters te vriesdrogen en te malen. De kleine deeltjesgrootte maakt het mogelijk goed reproduceerbare bepalingen uit te voeren. Daarnaast is het waarschijnlijk dat de lage temperaturen tijdens het droogproces geen invloed hebben op de kwaliteit van het zetmeel.

Deel 2. Invloed van ras en oogststadium

2.1. Monsters maïs

Het onderzoek werd uitgevoerd met het monstermateriaal uit Lelystad (kleigrond, proefbedrijf PPO). Daarbij werd gebruik gemaakt van dezelfde rastypen (R1 – R8) en oogsttijdstippen (T1 – T5) zoals gebruikt door PV en PPO (Tabel 8). De oogsttijdstippen werden bepaald door het drogestofgehalte van de planten (Tabel 9).

Tabel 8. Typen maïs met hoog zetmeelgehalte of hoog aandeel celwanden. DD = dry down, SG = stay green.

Ras	vroeg / laat	dry down / stay green	zetmeel / celwanden
R1	Vroeg	DD	Zetmeel
R2	Vroeg	DD	Celwanden
R3	Vroeg	SG	Zetmeel
R4	Vroeg	SG	Celwanden
R5	Laat	DD	Zetmeel
R6	Laat	DD	Celwanden
R7	Laat	SG	Zetmeel
R8	Laat	SG	Celwanden

Tabel 9. Percentage droge stof in de planten op oogsttijdstippen T1 – T5.

Tijdstip	% droge stof
T1	24
T2	28
T3	32
T4	36
T5	40

Het in-vitro-onderzoek werd uitgevoerd met slechts 4 rastypen en 3 oogsttijdstippen. Omdat de nadruk bij dit onderzoek lag op het onderzoeken van de mogelijke verschillen in zetmeelkwaliteit worden die rassen gekozen met een hoog kolfaandeel. Het onderzoek werd daarom uitgevoerd met de rastypen **R1**, **R3**, **R5** en **R7**. Monsters werden onderzocht op 3 oogstdata. Hiervoor werden de uiterste data en de middelste genomen, nl. **T1**, **T3** en **T5**. Echter, omdat achteraf niet extra oogsttijdstippen verzameld zouden kunnen worden, werden ook monsters genomen op T2 en T4.

2.2. Materiaal en methoden

Weinig is bekend over de verschillen in eigenschappen van zetmeel tussen verschillende rassen (genotypen) en hoe de eigenschappen van zetmeel variëren gedurende de afrijping van de kolven. Daarom werd in dit deel van het project onderzoek gedaan naar de eigenschappen van met name zetmeel in verschillende maïstypen, geoogst op verschillende data gedurende het groeiseizoen.

Dit deel van het onderzoek werd uitgevoerd met de 4 zetmeelrijke rastypen (R1, R3, R5 en R7), geoogst op de data (T1, T3 en T5) (Tabel 10).

In totaal werden 12 objecten (4 typen * 3 oogsttijdstippen) in duplo geanalyseerd met behulp van de gasproductietest. De monsters werden gevriesdroogd en gemalen geanalyseerd (zie deel 1). Aanvullend werd materiaal van de 12 objecten gescheiden in korrels uit de kolf en restplant. De zetmeelhoudende korrels uit de kolf en de restplant werden afzonderlijk geanalyseerd (in duplo) met de gasproductietest, zoals beschreven door Cone et al. (1996).

Tabel 10. Schema voor de monsternamen in deel 2 van het project. Getal geeft aantal benodigde monsters weer.

	T1	T3	T5
R1 – gehakseld, 6 mm	X	X	X
R1 – kolf	10	10	10
R1 – rest	5	5	5
R1 – labsilo, 6 mm	2	2	2
R3 – gehakseld, 6 mm	X	X	X
R3 – kolf	10	10	10
R3 – rest	5	5	5
R3 – labsilo, 6 mm	2	2	2
R5 – gehakseld, 6 mm	X	X	X
R5 – kolf	10	10	10
R5 – rest	5	5	5
R5 – labsilo, 6 mm	2	2	2
R7 – gehakseld, 6 mm	X	X	X
R7 – kolf	10	10	10
R7 – rest	5	5	5
R7 – labsilo, 6 mm	2	2	2

Van een selectie van 8 kolfmonsters (uiterste oogstdata van de 4 maïstypen) werd de fermentatiekinetiek van zetmeel, bepaald met de gasproductietest, gecontroleerd door middel van extra zetmeelbepalingen tijdens de fermentatie. Zetmeel werd bepaald met de methode beschreven door Bergmeyer (1970). Daarnaast werd van alle 12 korrelmonsters via incubatie met pepsine-HCl en pancreatine de mate van zetmeelvertering in vitro op het niveau van de dunne darm vastgesteld, zoals beschreven door Chai et al. (2004).

Daarnaast werden van de genoemde 12 objecten (verse gewasmonsters) de bijbehorende objecten uit het conserveringsonderzoek benut. De monsters werden 8 weken ingekuild in labsilo's (buis 60 cm hoog, 20 cm diameter, 18 liter) met perssapopvang bij ongeveer 20 °C. Per silo werd 10 tot 15 kg gehakseld monster ingekuild, afhankelijk van het DS-gehalte. Bovenin de silo's werd het materiaal aangedrukt met een gewicht van 30 kg om een kuilhoogte van 2 meter te simuleren.

Van deze objecten werden van het materiaal in de labsilo's de fermentatiekarakteristieken met behulp van de gasproductietechniek bepaald (12 duplobepalingen). Hierbij werden de monsters gevriesdroogd en gemalen en tevens werden de monsters geanalyseerd zoals het materiaal in de kuil aanwezig was. Bij die kuilen waar dat mogelijk was, werden korrels en restplant gescheiden en afzonderlijk geanalyseerd met de gasproductietechniek. De verteerbaarheid van zetmeel in deze korrelmonsters werd bepaald via incubatie met pepsine-HCl gevolgd door pancreatine. Na verwijdering van de korrels uit de kuil werd het zetmeelgehalte bepaald in het restmateriaal.

2.3. Resultaten

2.3.1. Chemische samenstelling

De chemische samenstelling van de monsters is weergegeven in tabel 11, 12 en 13 en werd bepaald in geluchtdroogd materiaal.

Tabel 11. Chemische samenstelling van de rastypen R1, R3, R5 en R7 geoogst op tijdstip T1. Gehalten zijn in g/kg DS. VC-OS en VC-NDF zijn gegeven in percentage. Kolf is het kolfaandeel (g/kg DS) van de gehele plant. Gehalten met een * zijn bepaald met NIRS.

T1	DS	Kolf	As	RE*	Zet-meel	Suiker*	NDF*	ADF*	ADL*	VC-OS*	VC-NDF	VC-NDF*
<i>Gehele plant</i>												
R1	249	455	47	82	152	118	491	265	23	73.3	54.8	54.6
R3	254	512	54	79	183	117	468	247	21	75.5	56.6	55.8
R5	235	412	53	77	140	152	470	244	20	75.9	57.8	54.9
R7	247	446	55	83	193	105	450	234	20	75.2	53.1	56.7
<i>Kolf</i>												
R1	350	-	19	-	402	-	-	-	-	-	-	-
R3	372	-	18	-	447	-	-	-	-	-	-	-
R5	327	-	18	-	375	-	-	-	-	-	-	-
R7	409	-	16	-	480	-	-	-	-	-	-	-
<i>Restplant</i>												
R1	214	-	72	80	-	112	624	350	34	65.7	53.2	53.0
R3	227	-	81	77	-	133	595	334	31	67.7	52.4	52.6
R5	217	-	72	67	-	159	572	319	29	69.8	54.1	52.1
R7	215	-	86	82	-	111	622	355	34	65.7	50.8	52.1

Tabel 12. Chemische samenstelling van de rastypen R1, R3, R5 en R7 geoogst op tijdstip T3. Gehalten zijn in g/kg DS. VC-OS en VC-NDF zijn gegeven in percentage. Kolf is het kolfaandeel (g/kg DS) van de gehele plant. Gehalten met een * zijn bepaald met NIRS.

T3	DS	Kolf	As	RE*	Zet-meel	Suiker*	NDF*	ADF*	ADL*	VC-OS*	VC-NDF	VC-NDF*
<i>Gehele plant</i>												
R1	348	586	42	72	364	42	391	211	20	75.7	53.4	50.9
R3	317	572	50	76	331	52	384	205	17	76.0	54.5	53.1
R5	320	552	46	71	321	76	397	211	17	76.7	56.4	54.2
R7	316	561	47	79	346	49	374	190	17	76.7	51.9	55.6
<i>Kolf</i>												
R1	541	-	11	-	665	-	-	-	-	-	-	-
R3	527	-	14	-	593	-	-	-	-	-	-	-
R5	505	-	14	-	625	-	-	-	-	-	-	-
R7	559	-	13	-	636	-	-	-	-	-	-	-
<i>Restplant</i>												
R1	242	-	76	65	-	64	694	410	44	59.3	49.8	48.1
R3	208	-	88	65	-	67	674	393	39	62.9	51.1	50.3
R5	227	-	81	53	-	123	663	388	39	64.0	52.4	49.9
R7	205	-	87	71	-	74	660	383	39	62.3	49.4	50.0

Tabel 13. Chemische samenstelling van de rastypen R1, R3, R5 en R7 geoogst op tijdstip T5. Gehalten zijn in g/kg DS. VC-OS en VC-NDF zijn gegeven in percentage. Kolf is het kolfaandeel (g/kg DS) van de gehele plant. Gehalten met een * zijn bepaald met NIRS.

T5	DS	Kolf	As	RE*	Zet-meel	Suiker*	NDF*	ADF*	ADL*	VC-OS*	VC-NDF	VC-NDF*
<i>Gehele plant</i>												
R1	401	595	41	64	353	36	430	238	22	74.5	49.2	51.4
R3	384	593	46	72	405	34	357	189	17	76.6	50.6	52.9
R5	389	582	43	67	379	47	368	193	17	76.9	52.0	52.7
R7	370	576	48	71	380	35	378	201	19	75.7	49.7	52.4
<i>Kolf</i>												
R1	602	-	12	-	660	-	-	-	-	-	-	-
R3	586	-	12	-	649	-	-	-	-	-	-	-
R5	575	-	13	-	638	-	-	-	-	-	-	-
R7	613	-	13	-	643	-	-	-	-	-	-	-
<i>Restplant</i>												
R1	268	-	75	38	-	100	701	410	43	61.0	47.7	49.1
R3	262	-	88	44	-	103	665	384	39	64.1	50.6	49.8
R5	249	-	88	41	-	131	645	381	39	64.2	50.3	47.9
R7	242	-	87	59	-	120	633	365	37	65.1	47.9	49.3

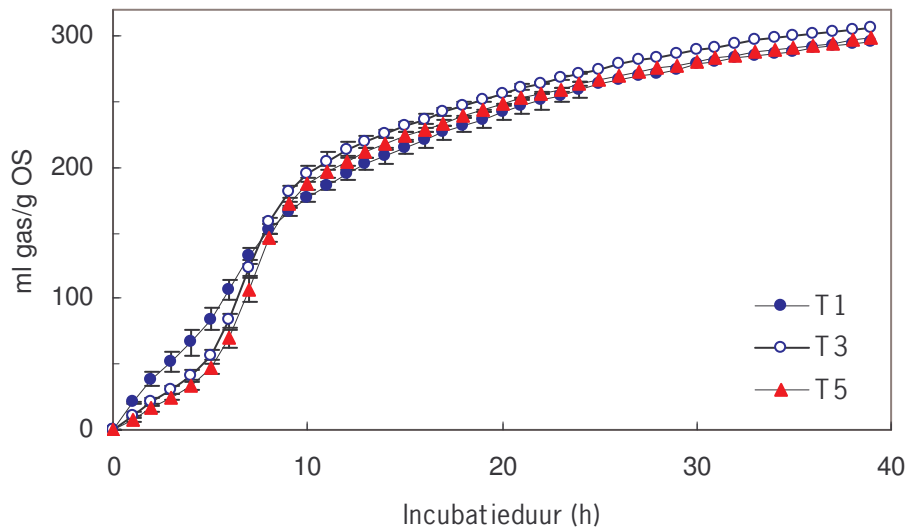
Uit de resultaten in Tabel 11, 12 en 13 blijkt dat na T3 het zetmeelgehalte in de maïsplanten niet verder opliep, dit ondanks dat het DS-gehalte na T3 nog wel toenam. De verteringscoëfficiënt (VC) van de OS en van NDF, gemeten aan de gehele plant, veranderde nauwelijks tijdens het afrijpen. De VC van OS en NDF in de restplant daalde slechts enkele procenten naarmate de plant mee afrijpte. Ook deze verschillen waren echter niet groot. Hierbij dient opgemerkt te worden dat de meeste gegevens in bovenstaande tabellen werden verkregen met behulp van NIRS en niet via nat chemische weg en in-vitro-analyses.

De r^2 tussen de VC-NDF bepaald met de Tilley-en-Terry-techniek en NIRS was 0.49. De range van de waarnemingen was echter vrij beperkt.

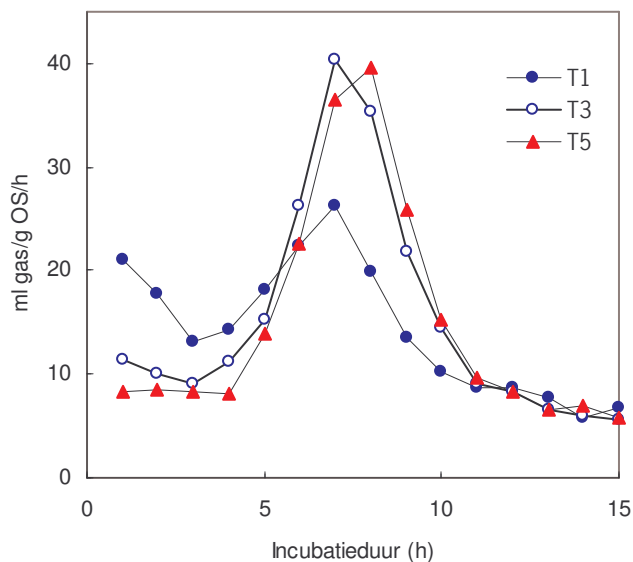
2.3.2. Gasproductieanalyses

- Gehele plant

Maïsplanten werden geoogst op verschillende tijdstippen (T1-T5). Monsters werden aangelegd van de gehele plant, de kolf en de restplant (stengel + bladeren). De monsters werden gevriesdroogd en gemalen (1 mm) en geïncubeerd met de gasproductietechniek. De cumulatieve gasproductiecurven van monster R1 (gehele plant), geoogst op de tijdstippen T1, T3 en T5 staan weergegeven in Figuur 7. Hieruit blijkt dat de gasproductie gedurende de eerste 8 uur het hoogst was bij het jongste monster (T1) en het laagst bij het oudste monster (T5). De verschillen in totale gasproductie na 20 uur incubatie waren gering. De gasproductiesnelheid van het monster R1 (gehele plant), geoogst op de tijdstippen T1, T3 en T5 staan weergegeven in Figuur 8. Ook uit Figuur 8 valt af te leiden dat de initiële gasproductiesnelheid het hoogst was voor het monster geoogst op T1 en het laagst voor het monster geoogst op T5. Tussen 5 en 10 uur incubatie was de gasproductiesnelheid het laagst voor het monster geoogst op T1 en het hoogst voor de monsters geoogst op T3 en T5. De eerste uren van de fermentatie wordt voornamelijk oplosbaar materiaal gefermenteerd en gedurende de daaropvolgende fase (5 tot 12 uur) het niet oplosbare materiaal, zoals celwanden en zetmeel. Zowel de cumulatieve gasproductiecurven als de curven met de gasproductiesnelheid waren voor de monsters van de gehele plant van R3, R5 en R7 vergelijkbaar met die van R1.



Figuur 7. Cumulatieve gasproductiecurven van monster **R1** (gehele plant) geogst op T1, T3 en T5.



Figuur 8. Gasproductiesnelheid tijdens incubatie van monster **R1** (gehele plant) geogst op T1, T3 en T5.

De berekende gasproductieparameters voor de monsters van de gehele plant staan weergegeven in Tabel 14. Weergegeven is de gasproductie na 20 uur (GP20) als maat voor de totale fermentatie, de gasproductie van 3 uur (A1) als maat voor de fermentatie van de oplosbare fractie en de gasproductie tussen 3 en 20 uur als maat voor de fermentatie van de niet oplosbare fractie, voornamelijk celwanden (NDF) en zetmeel. Tevens is weergegeven de waarde van B2. B2 wordt uitgedrukt in uren en geeft de tijd weer die nodig is om de helft van de maximale gasproductie in fase 2, fermentatie van de niet oplosbare fractie, te bereiken. B2 is daarmee een maat voor de snelheid van fermentatie. Een lage waarde van B2 komt overeen met een hoge fermentatiesnelheid. Ook Rmax2 is een maat voor de gasproductiesnelheid in fase 2, maar dan op het tijdstip waarop de microbiële massa maximaal is en het substraat nagenoeg op is.

Tabel 14. Gasproductieparameters van niet ingekuilde snijmaïsmonsters van de gehele plant, inclusief kolf..

Oogst-tijdstip	Ras	Zetmeel g/kg DS	GP20	A1	A2	B2	Rmax2
T1	R1	152	242.8	52.0	190.8	7.65	0.179
	R3	183	238.2	46.0	192.5	7.61	0.190
	R5	140	256.0	65.7	190.3	7.61	0.165
	R7	193	241.8	49.4	192.4	7.70	0.191
T3	R1	364	256.4	30.6	225.8	7.56	0.272
	R3	331	257.2	30.7	226.5	7.62	0.271
	R5	321	270.6	41.2	229.4	7.62	0.239
	R7	346	257.0	32.7	224.3	7.76	0.262
T5	R1	353	247.8	25.1	222.7	7.79	0.289
	R3	405	256.6	27.6	229.0	7.90	0.270
	R5	379	263.8	31.1	232.7	7.66	0.280
	R7	380	259.3	31.3	228.0	7.89	0.281
LSD		-	10.4	5.5	6.5	0.21	0.017
T1	-	167	244.7	53.3	191.4	7.64	0.181
T3	-	341	260.3	33.8	226.5	7.64	0.261
T5	-	379	256.8	28.8	228.1	7.81	0.280
LSD		18	5.2	2.7	3.3	0.11	0.009
-	R1	290	249.0	35.9	213.1	7.67	0.247
-	R3	306	250.6	34.8	215.9	7.71	0.244
-	R5	280	263.4	46.0	217.5	7.63	0.228
-	R7	306	252.7	37.8	214.9	7.78	0.245
LSD		21	6.0	3.2	3.8	0.12	0.010
Effect oogsttijdstip		***	***	***	***	**	***
Effect ras		*	**	***	NS	#	**
Oogsttijdstip * Ras		-	NS	*	NS	NS	*

NS : $P \geq 0.1$, # : $P < 0.1$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

Tabel 14 laat zien dat het oogsttijdstip een significant effect met $p < 0.001$ had op het zetmeelgehalte, GP20, A1, A2 en Rmax2 en met $p < 0.01$ op B2. De effecten van het rastype waren minder uitgesproken. Het rastype had geen effect op A2 en slechts beperkt ($p < 0.1$) op B2. Het rastype had wel een effect ($p < 0.001 - 0.05$) op zetmeelgehalte, GP20, A1 en Rmax2. De combinatie oogsttijdstip x ras was alleen significant ($p < 0.05$) voor A1 en Rmax2.

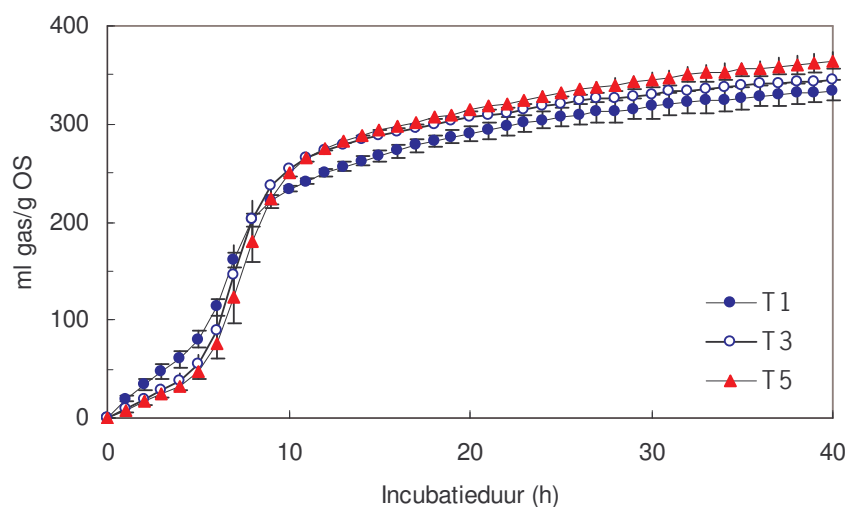
Geconcludeerd kan worden dat oogsttijdstip een zeer grote invloed had op de gasproductieparameters voor de gehele plant (kolf + restplant).

- Kolven

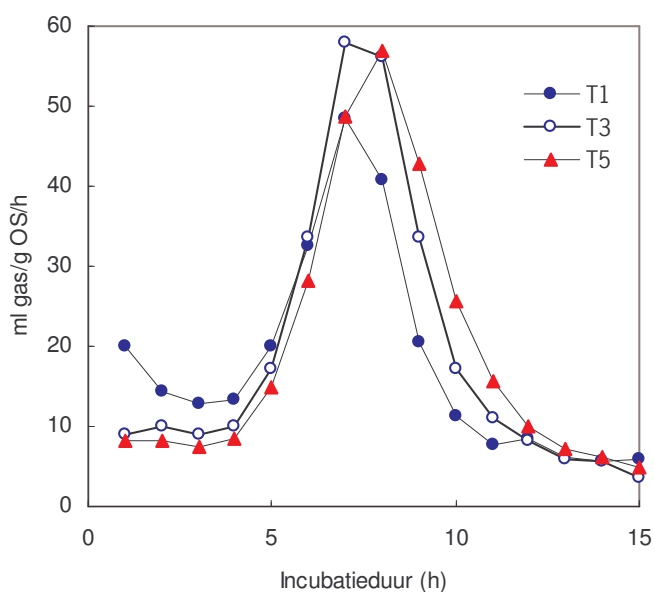
De kolven van de maïsplanten werden afzonderlijk geoogst (T1, T3 en T5), gevriesdroogd en gemalen over 1 mm en werden afzonderlijk geanalyseerd met de gasproductietechniek.

De cumulatieve gasproductiecurven van monster R1 (alleen kolf), geoogst op de tijdstippen T1, T3 en T5 staan weergegeven in Figuur 9. Ook bij incubatie van de kolf was de gasproductie gedurende de eerste 8 uur het hoogst bij het jongste monster (T1) en het laagst bij het oudste monster (T5). Na 20 uur was de gasproductie voor T1 lager dan voor T3 en T5. Dit werd waarschijnlijk veroorzaakt door het veel lagere zetmeelgehalte in T1 ten opzichte van de andere oogsttijdstippen. Deze verschillen werden ook gevonden in gasproductiesnelheid (Figuur 10).

Zowel de cumulatieve gasproductiecurven als de curven met de gasproductiesnelheid waren voor de monsters van de kolven van R3, R5 en R7 vergelijkbaar met die van R1.



Figuur 9. Cumulatieve gasproductiecurven van monster **R1** (alleen kolf) geoogst op T1, T3 en T5.



Figuur 10. Gasproductiesnelheid tijdens incubatie van monster **R1** (alleen kolf) geoogst op T1, T3 en T5.

Tabel 15. Gasproductieparameters van de kolfmonsters en de berekende zetmeelfermentatie na 10 uur incubatie (%; formule uit Chai et al., 2004).

Oogst-tijdstip	Ras	Zetmeel g/kg DS	GP20	A1	A2	B2	Rmax2	Zetmeel-afbraak na 10 h
T1	R1	402	290.2	47.1	243.1	7.09	0.312	77.6
	R3	447	311.9	44.9	267.0	7.31	0.317	78.5
	R5	375	301.0	54.1	246.9	7.28	0.263	81.8
	R7	480	291.8	36.4	255.4	7.32	0.343	70.4
T3	R1	665	306.9	27.9	279.0	7.31	0.416	63.9
	R3	593	315.2	29.4	285.8	7.68	0.378	67.9
	R5	625	309.1	31.6	277.5	7.52	0.386	65.9
	R7	636	310.4	24.0	286.4	7.67	0.402	64.4
T5	R1	660	313.9	23.9	290.0	7.80	0.389	63.2
	R3	649	309.8	22.1	287.8	7.83	0.365	61.7
	R5	638	304.8	25.3	279.6	7.54	0.369	62.7
	R7	643	307.4	24.6	282.8	7.93	0.343	60.2
LSD		-	10.4	3.8	8.3	0.46	0.023	2.6
T1	-	426	298.7	45.6	253.1	7.25	0.309	77.1
T3	-	630	310.4	28.2	282.2	7.54	0.395	66.5
T5	-	648	309.0	23.9	285.0	7.77	0.366	61.9
LSD		29	5.2	1.9	4.2	0.23	0.012	1.3
-	R1	576	303.6	32.9	270.7	7.40	0.372	68.2
-	R3	563	312.3	32.1	280.2	7.61	0.353	69.4
-	R5	546	305.0	37.0	268.0	7.44	0.339	70.1
-	R7	586	303.2	28.3	274.9	7.64	0.363	65.0
LSD		33	6.0	2.2	4.8	0.27	0.013	1.5
Effect oogsttijdstip		***	***	***	***	**	***	***
Effect ras		#	*	***	***	NS	**	***
Oogsttijdstip * ras		-	*	**	*	NS	***	**

NS : $P \geq 0.1$, # : $P < 0.1$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

De berekende gasproductieparameters voor de monsters van de kolven staan weergegeven in Tabel 15. Tabel 15 laat zien dat het oogsttijdstip een significant effect met $p < 0.001$ had op het zetmeelgehalte, GP20, A1, A2 en Rmax2 en met $p < 0.01$ op B2. De effecten van het rastype waren ook hier minder uitgesproken. Het rastype had geen effect op B2 en slechts beperkt ($p < 0.1$) op het zetmeelgehalte. Het rastype had wel een effect ($p < 0.001 - 0.05$) op GP20, A1, A2 en Rmax2. De combinatie oogsttijdstip x ras had geen significant effect op B2.

Uit het zetmeelgehalte en de gasproductie kan de zetmeelafbraak, voor zetmeelhoudende monsters, berekend worden, zoals beschreven door Chai et al. (2004). De zetmeelafbraak wordt beschreven door:

$$\text{Afbraak (mg/g OM)} = -191.6 + 0.303 * \text{zetmeelgehalte} + 1.648 * \text{gasproductie}$$

Hierbij kan de gasproductie (GP) op ieder tijdstip van de incubatie genomen worden. In Tabel 15 staat de berekende zetmeelafbraak na 10 uur incubatie weergegeven. Het blijkt dat zowel het oogsttijdstip als het ras een significant ($p < 0.001$) effect hadden op de berekende zetmeelafbraak. Ook oogsttijdstip x ras had een significant effect ($p < 0.01$).

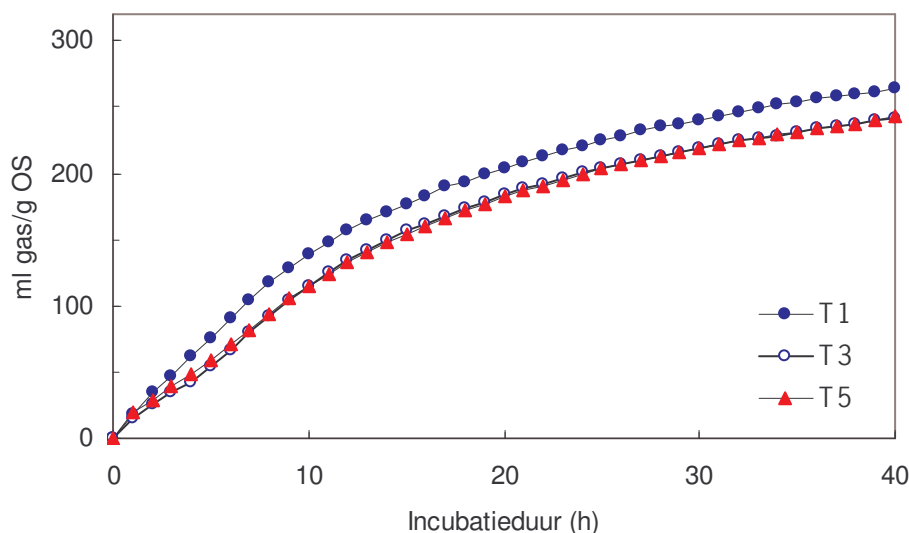
Geconcludeerd kan worden dat met name het oogsttijdstip een zeer grote invloed had op de gasproductieparameters voor de kolfmonsters. De jongere monsters hadden een hogere A1, hetgeen duidt op meer snel fermenteerbare suikers. Op latere oogsttijdstippen was het zetmeelaandeel duidelijk hoger, hetgeen tot uiting kwam in grotere waarden voor A2. De hogere waarden van B2 bij latere oogsttijdstippen duidt op een langzamere afbraak, hetgeen ook blijkt uit de afgenomen berekende zetmeelafbraak.

- Restplant

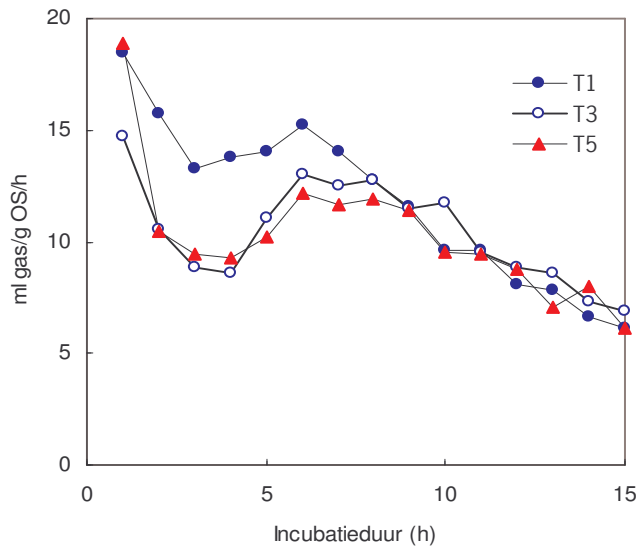
Ook de restplanten (maïsplanten zonder kolf) werden afzonderlijk geoogst (T1, T3 en T5), gevriesdroogd en gemalen over 1 mm en werden afzonderlijk geanalyseerd met de gasproductietechniek.

De cumulatieve gasproductiecurven van monster R1 (restplant), geoogst op de tijdstippen T1, T3 en T5 staan weergegeven in Figuur 11. Bij incubatie van de restplant was de gasproductie het hoogst bij het jongste monster (T1). De curven voor de monsters geoogst op T3 en T5 waren nagenoeg identiek. Figuur 12 laat zien dat de initiële (0 – 5 h) gasproductiesnelheid het hoogst was voor het monster geoogst op T1, hetgeen duidt op meer oplosbare componenten in de T1-monsters dan in de andere monsters..

Zowel de cumulatieve gasproductiecurven als de curven met de gasproductiesnelheid waren voor de monsters van de restplanten van R3, R5 en R7 vergelijkbaar met die van R1.



Figuur 11. Cumulatieve gasproductiecurven van monster **R1** (restplant) geoogst op T1, T3 en T5.



Figuur 12. Gasproductiesnelheid tijdens incubatie van **R1** (restplant) geoogst op T1, T3 en T5.

Tabel 16. Gasproductieparameters van de monsters restplant.

Oogsttijdstip	Ras	GP20	A1	A2	B2	Rmax2
T1	R1	204.4	47.5	156.9	8.70	0.130
	R3	203.4	46.3	157.1	8.58	0.135
	R5	225.8	64.3	161.6	8.23	0.139
	R7	206.3	50.3	156.0	8.37	0.133
T3	R1	184.0	34.1	149.9	9.63	0.133
	R3	187.8	32.2	155.6	8.90	0.142
	R5	200.4	45.8	154.6	8.92	0.142
	R7	199.9	41.0	159.0	8.76	0.140
T5	R1	182.3	38.8	143.5	9.68	0.129
	R3	188.6	39.2	149.5	9.39	0.133
	R5	207.0	48.4	158.6	9.38	0.133
	R7	184.9	46.9	138.0	9.17	0.129
<i>LSD</i>		<i>12.5</i>	<i>5.7</i>	<i>9.6</i>	<i>0.30</i>	<i>0.005</i>
T1	-	210.0	52.1	157.9	8.47	0.134
T3	-	193.0	38.3	154.8	9.05	0.139
T5	-	190.7	43.3	147.4	9.40	0.131
<i>LSD</i>		<i>6.3</i>	<i>2.9</i>	<i>4.8</i>	<i>0.15</i>	<i>0.003</i>
-	R1	190.2	40.1	150.1	9.34	0.131
-	R3	193.2	39.2	154.0	8.96	0.137
-	R5	211.1	52.8	158.3	8.84	0.138
-	R7	197.0	46.1	151.0	8.76	0.134
<i>LSD</i>		<i>7.2</i>	<i>3.3</i>	<i>5.6</i>	<i>0.17</i>	<i>0.003</i>
Effect oogsttijdstip		***	***	**	***	***
Effect ras		***	***	*	***	**
Oogsttijdstip * ras		NS	NS	#	#	NS

NS : P≥0.1, # : P<0.1, * : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001

De berekende gasproductieparameters voor de monsters restplant staan weergegeven in Tabel 16. Tabel 16 laat zien dat het oogsttijdstip een significant effect had op alle bepaalde parameters ($p < 0.001 - 0.01$) en ook het rastype had in alle gevallen een significant ($p < 0.001 - 0.05$) effect op de gasproductieparameters. De combinatie van oogsttijdstip en ras was niet significant voor de meeste parameters.

Geconcludeerd kan worden dat zowel het oogsttijdstip als het rastype een grote invloed hadden op de gasproductieparameters voor de monsters restplant. De jongere monsters hadden een hogere A1, hetgeen duidt op meer snel fermenteerbare suikers, en een iets hogere A2, hetgeen duidt op beter afbreekbare celwanden. Ook de lage waarde van B2 op T1 duidt op een snellere afbraak voor de jongere monsters.

2.3.3. Bepaling zetmeelafbraak in pensvloeistof

Tabel 17. Gemeten zetmeelfermentatie (%) in verse kolfmonsters na 6, 9 en 12 incubatie in gebufferd pensvloeistof.

Oogsttijdstip	Ras	6 uur	9 uur	12 uur
T1	R1	15.5	72.1	81.6
	R3	14.8	71.4	83.0
	R5	12.3	67.7	77.8
	R7	16.7	75.0	86.5
T5	R1	16.6	73.4	88.9
	R3	17.0	67.6	87.5
	R5	17.5	72.8	88.4
	R7	17.5	71.0	87.5
LSD		5.5	2.8	1.1
T1	-	14.8	71.5	82.2
T5	-	17.2	71.2	88.1
LSD		2.7	1.4	0.5
-	R1	16.0	72.7	85.3
-	R3	15.9	69.5	85.3
-	R5	14.9	70.3	83.1
-	R7	17.1	73.0	87.0
LSD		3.9	2.0	0.8
Effect oogsttijdstip		#	NS	***
Effect ras		NS	**	***
Oogsttijdstip* ras		NS	**	***

NS : $P \geq 0.1$, # : $P < 0.1$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

De monsters R1, R3, R5 en R7 geoogst op T1 en T5 werden geïncubeerd in pensvloeistof, zoals ook werd gedaan met de gasproductietechniek. In dit experiment werd echter niet de gasproductie gemeten, maar werd de daadwerkelijke afbraak van zetmeel in het flesje bepaald na 6, 9 en 12 uur incubatie. De resultaten staan weergegeven in Tabel 17. Uit de resultaten blijkt dat er tussen 6 en 9 uur incubatie een enorme toename was in zetmeelafbraak. Na 6 uur incubatie was er slechts een matig significant effect ($p < 0.1$) van het oogsttijdstip en geen effect van ras en van oogsttijdstip x ras. De effecten van oogsttijdstip en ras werden duidelijker bij langere incubatietijden. Na 12 uur incubatie was er een zeer significant ($p < 0.001$) effect van zowel oogsttijdstip, ras en oogsttijdstip x ras.

Vergelijking van de resultaten in Tabel 15 en Tabel 17 geeft geen eenduidig beeld. In Tabel 15 is er een afname in fermentatie te zien bij veroudering van het materiaal, maar in Tabel 17 juist een toename. Ook ranking in fermentatie van rassen is anders.

2.3.4. Bepaling enzymatische afbraak zetmeel

Tabel 18. Enzymatische zetmeelafbraak van verse kolfmonsters na 1 uur voorincubatie met pepsine-HCl en 3 uur incubatie met pancreatine (%).

Oogsttijdstip	Ras	Zetmeelafbraak
T1	R1	66.5
	R3	63.7
	R5	69.0
	R7	55.6
T3	R1	57.9
	R3	57.6
	R5	58.4
	R7	52.4
T5	R1	51.3
	R3	47.4
	R5	55.0
	R7	48.2
LSD		2.1
T1	-	63.7
T3	-	56.6
T5	-	50.5
LSD		1.1
-	R1	58.6
-	R3	56.2
-	R5	60.8
-	R7	52.1
LSD		1.2
Effect oogsttijdstip		***
Effect ras		***
Oogsttijdstip * ras		***

NS : $P \geq 0.1$, # : $P < 0.1$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

De gevriesdroogde en gemalen kolfmonsters werden 1 uur geïncubeerd met pepsine-HCl en vervolgens 3 uur met pancreatine om respectievelijk de maag en de dunne darm van éénmagige dieren te simuleren. De resultaten in Tabel 17 geven eenzelfde beeld als in Tabel 17, namelijk dat naarmate er later geoogst wordt de afbreekbaarheid van zetmeel afneemt. Tabel 18 laat ook significante ($p < 0.001$) verschillen tussen de vier onderzochte rassen zien.

2.3.5. Afbraak maïsmonsters na inkuilen

Maïs werd geoogst met een hakselaar (6 mm) en vervolgens ingekuuld in laboratoriumsilos. Het materiaal werd gedurende 8 weken ingekuuld bij kamertemperatuur en vervolgens bewaard in de koeler bij 4 °C tot de analyses. Na uitkuilen werd het materiaal gevriesdroogd en gemalen over een 1 mm zeef. Materiaal werd ingekuuld van de rastypen R1, R3, R5 en R7, geoogst op T1, T3 en T5. De gasproductieparameters staan weergegeven in Tabel 19. Ook hier werd de zetmeelfermentatie na 10 uur incubatie berekend uit het zetmeelgehalte en de gasproductie na 10 uur (Chai et al., 2004).

Tabel 19. Gasproductieparameters en berekende zetmeelfermentatie na 10 uur incubatie (%), formule uit publicatie Chai et al., 2004) van snijmaïskuil.

Oogsttijdstip	Ras	Zetmeel g/kg DS	GP20	A1	A2	B2	Rmax2	Zet. ferm. na 10 h
T1	R1	178	220.9	36.5	184.4	8.72	0.218	61.6
	R3	192	231.3	34.9	196.4	8.47	0.217	65.9
	R5	147	235.3	37.4	197.9	8.53	0.211	79.6
	R7	199	229.2	29.9	199.3	8.35	0.256	67.9
T3	R1	339	252.8	23.8	229.0	8.37	0.308	61.6
	R3	343	241.1	21.4	219.7	8.23	0.312	56.9
	R5	314	251.4	26.2	225.3	8.18	0.306	64.3
	R7	329	241.2	26.5	214.7	8.00	0.324	62.8
T5	R1	364	246.4	20.0	226.4	8.38	0.329	57.0
	R3	343	247.3	18.6	228.7	8.20	0.325	59.7
	R5	347	258.1	23.7	234.5	8.02	0.313	65.1
	R7	354	234.5	21.4	213.2	7.96	0.305	56.8
LSD		-	11.8	5.7	11.1	0.65	0.025	9.7
T1	-	179	229.1	34.7	194.5	8.51	0.225	68.7
T3	-	331	246.6	24.4	222.2	8.19	0.312	61.4
T5	-	352	246.6	20.9	225.7	8.14	0.318	59.6
LSD		11	5.9	2.8	5.5	0.32	0.013	4.9
-	R1	294	240.0	26.8	213.3	8.49	0.285	60.0
-	R3	293	239.9	25.0	214.9	8.30	0.284	60.8
-	R5	269	248.3	29.1	219.2	8.24	0.277	69.7
-	R7	294	234.9	25.9	209.0	8.10	0.295	62.5
LSD		13	6.8	3.3	6.4	0.37	0.015	5.6
Effect oogsttijdstip		***	***	***	***	#	***	**
Effect ras		**	**	#	*	NS	NS	*
Oogsttijdstip * ras		-	#	NS	*	NS	*	NS

NS : $P \geq 0.1$, # : $P < 0.1$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

Tabel 20. Enzymatische zetmeelafbraak van snijmaïskuilmonsters na 1 uur voorincubatie met pepsine-HCl en 3 uur incubatie met pancreatine (%).

Oogsttijdstip	Ras	Zetmeelafbraak
T1	R1	11.3
	R3	17.0
	R5	2.3
	R7	31.8
T3	R1	58.6
	R3	57.3
	R5	62.7
	R7	56.1
T5	R1	58.6
	R3	62.7
	R5	64.0
	R7	52.7
LSD		4.5
T1	-	15.6
T3	-	58.7
T5	-	59.5
LSD		2.3
-	R1	42.8
-	R3	45.7
-	R5	43.0
-	R7	46.9
LSD		2.6
Effect oogsttijdstip		***
Effect ras		*
Oogsttijdstip * ras		***

NS : $P \geq 0.1$, # : $P < 0.1$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

De resultaten laten zien dat er een significant ($p < 0.001$) effect was van het oogsttijdstip op de gasproductie na 20 uur incubatie (GP20), op A1 en A2. A1 werd negatief beïnvloed door het later oogsten, terwijl A2 positief werd beïnvloed door veroudering. Er was een matig significant ($p < 0.1$) effect van oogsttijdstip op B2, hetgeen een maat is voor de afbraaksnelheid. Opvallend is dat er een meer significant ($p < 0.001$) effect was van oogsttijdstip op Rmax2, eveneens een maat voor de snelheid van afbraak. Voor de kuilmonsters was er alleen een duidelijk significant effect van het rastype op GP20 ($p < 0.05$) en A2 ($p < 0.1$). Er was geen significant ($P < 0.05$) effect van het oogsttijdstip x rastype.

Voor de kuilmonsters was er een significant ($p < 0.01$) effect van het oogsttijdstip op de berekende zetmeelfermentatie na 10 uur incubatie. Het effect van rastype was minder duidelijk significant ($p < 0.1$).

De resultaten van de kuilmonsters in Tabel 19 kunnen vergeleken worden met de resultaten van de niet-ingekuilde monsters van de gehele plant in Tabel 14. Vergelijking van de resultaten laat zien dat het oogsttijdstip dezelfde effecten had op het verse materiaal als op het ingekuilde materiaal. Ook de effecten van het rastype waren vergelijkbaar. Deze resultaten laten zien dat de verschillen in eigenschappen tussen verschillende monsters blijven bestaan na het inkuilen.

Ook van de ingekuilde monsters werd de zetmeelafbreekbaarheid enzymatisch bepaald door 1 uur te incuberen met pepsine-HCl en vervolgens 3 uur met pancreatine. De resultaten staan weergegeven in Tabel 20. Opvallend is de lage afbraak van zetmeel bij de jonge monsters (T1). Het is onduidelijk wat hier de oorzaak van is geweest. Voor het overige komen de resultaten in Tabel 20 redelijk overeen met de resultaten voor de niet ingekuilde monsters in Tabel 18.

Het was in het ingekuilde materiaal niet mogelijk om het korrelmateriaal te scheiden van de restplant. De opbrengst aan korrelmateriaal na dagen scheiden was te laag om zinvolle experimenten mee uit te voeren. De afzonderlijke incubaties van korrelmateriaal en restplant met de gasproductietest en met pancreatine zijn daarom niet uitgevoerd.

2.4. Conclusies

Uit het onderzoek naar de invloed van ras en oogsttijdstippen op de afbraakkenmerken kan geconcludeerd worden dat er in alle gevallen een grote invloed was van het oogsttijdstip. Hoewel minder uitgesproken was er in vele gevallen ook een significante invloed van het rastype. De invloed van de interactie tussen ras en oogsttijdstip was beperkt. Veroudering van de planten leidt tot een lagere fermentatie van de oplosbare fractie en tot een hogere fermentatie van de niet-oplosbare fractie. Bij veroudering wordt de niet-oplosbare fractie, de celwanden en het zetmeel, minder snel afbreekbaar.

Deel 3. Invloed van haksellengte

3.1. Inleiding

In de praktijk wordt meestal gehakseld tot een lengte van 6 mm. In dit deel van het onderzoek werd onderzocht wat het effect is van twee verschillende haksellengtes (6 en 15 mm) op de fermentatiekarakteristieken, zoals bepaald met de gasproductietechniek. Van de monsters werden labkuiltjes gemaakt en de monsters werden vervolgens geanalyseerd met de gasproductietechniek. Het was de bedoeling om van deze monsters ook de korrels en de restplant afzonderlijk te analyseren.

3.2. Materiaal en methoden

Planten werden geoogst en gehakseld tot 6 mm en tot 15 mm. Van de monsters werden labkuiltjes gemaakt en de monsters werden vervolgens geanalyseerd met de gasproductietechniek. De monsters werden 8 weken ingekuild en daarna in de vriezer bewaard. Het materiaal werd niet gemalen en gedroogd voor analyse. Het was de bedoeling om van deze labkuiltjes ook de korrels en de restplant te scheiden en afzonderlijk te analyseren, maar dit bleek echter technisch onmogelijk te zijn. Bij dit deel van het onderzoek werd aangesloten bij het onderzoek van PV, zodat alleen op T3 de vergelijking tussen verschillende haksellengtes (6 en 15 mm) werd onderzocht. Om aan 8 objecten te komen werden alle rastypen (R1 t/m R8) onderzocht.

	T1	T2	T3	T4	T5
R1 t/m R8 – gehakseld, 6 mm			X		
R1 t/m R8 – labsilo, 6 mm			2		
R1 t/m R8 – gehakseld, 15 mm			X		
R1 t/m R8 – labsilo, 15 mm			2		

3.3. Resultaten

De resultaten van de gasproductie-experimenten staan weergegeven in Tabel 21. Hieruit blijkt dat hakselen tot 6 mm of tot 15 mm en vervolgens 8 weken inkuilen geen effect had op de fermentatiekarakteristieken, zoals gemeten met de gasproductietechniek. Omdat het hier gaat om niet gemalen materiaal werden wel veel grotere waarden van LSD verkregen dan bij de gedroogde en gemalen monsters.

Er werden wel significante ($p < 0.05$) raseffecten waargenomen voor A1, Rmax2 en de berekende zetmeelafbraak na 10 uur incubatie.

3.4. Conclusies

Haksellengte (6 en 15 mm) bleek geen wezenlijke invloed te hebben op fermentatiekarakteristieken, zoals gemeten met de gasproductietechniek.

Tabel 21 Gasproductieparameters en berekende zetmeelfermentatie na 10 uur incubatie (%), formule uit publicatie Chai et al., 2004) van ingekuilde snijmais geoogst op T3.

Haksellengte	Ras	Zetmeel g/kg DS	GP20	A1	A2	B2	Rmax2	Zetmeel afbraak na 10 h
6 mm	R1	355	219	23.6	195	10.30	0.193	32
	R2	299	199	28.0	171	10.23	0.172	29
	R3	362	193	22.6	170	10.35	0.176	26
	R4	321	245	24.1	221	10.59	0.187	37
	R5	329	251	27.5	223	10.16	0.222	42
	R6	220	234	36.4	197	10.01	0.175	46
	R7	347	249	24.3	225	10.64	0.194	36
	R8	322	218	29.2	188	10.95	0.148	30
15 mm	R1	355	231	22.5	209	10.50	0.201	32
	R2	299	253	28.9	224	10.73	0.182	38
	R3	362	164	24.1	140	11.11	0.124	17
	R4	321	196	23.7	173	10.72	0.166	23
	R5	329	269	24.9	244	10.46	0.203	44
	R6	220	255	37.7	217	10.35	0.162	50
	R7	347	191	26.4	165	10.09	0.179	27
	R8	322	239	29.5	209	10.48	0.173	37
LSD	-	-	61	3.0	60	0.57	0.033	17
6 mm	-	319	226	26.9	199	10.40	0.183	35
15 mm	-	319	225	27.2	198	10.55	0.174	34
LSD	-	-	21	1.0	21	0.20	0.012	6
-	R1	355	225	23.0	202	10.40	0.197	32
-	R2	299	226	28.5	198	10.48	0.177	33
-	R3	362	178	23.3	155	10.73	0.150	21
-	R4	321	220	23.9	197	10.65	0.177	30
-	R5	329	260	26.2	233	10.31	0.212	43
-	R6	220	244	37.0	207	10.18	0.168	48
-	R7	347	220	25.3	195	10.36	0.186	31
-	R8	322	228	29.4	199	10.71	0.161	33
LSD	-	-	43	2.1	42	0.40	0.024	12
Effect haksellengte	-	-	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Effect ras	-	-	#	***	#	#	**	**
Haksellengte * ras	-	-	NS	NS	NS	*	#	NS

NS : P≥0.1, # : P<0.1, * : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001

Deel 4. Invloed van bewaarduur maïssilage

4.1. Inleiding

Om duidelijkheid te krijgen omtrent het verloop van de fermentatiekarakteristieken in maïskuilen werden de fermentatiekarakteristieken bepaald met de gasproductietechniek na verschillende inkuilperiodes. Hierdoor werd inzicht verkregen in het effect van de duur van conservering (ouderdom van de kuil) op de afbraakkarakteristieken.

Tabel 22. Chemische samenstelling (g/kg DS) van de kuilmonsters (praktijkkuilen en labkuilen) van maïs ras 2 (R2) en ras 3 (R3), geoogst bij 28 % DS (T2) en 36 % DS (T4), geopend na verschillende inkuilperiodes (in dagen). DS-gehalte in g/kg.

Ras	Oogst-tijdstip	Soort kuil	Inkuilduur	DS	OS	RE	RC	Zetmeel	Suiker	NDF
2	T2	Praktijk	0	319	965	63	192	292	94	407
2	T4	Praktijk	0	391	957	63	176	367	46	378
2	T2	Praktijk	14	328	961	57	226	261	8	466
2	T4	Praktijk	14	349	956	61	222	304	7	443
2	T2	Praktijk	42	237	951	78	234	282	<6	455
2	T4	Praktijk	42	365	939	62	202	319	<6	408
2	T2	Praktijk	180	312	956	77	181	324	13	368
2	T4	Praktijk	180	375	960	66	186	354	8	383
2	T2	Labkuil	14	310	960	68	195	315	8	384
2	T4	Labkuil	14	354	962	62	197	341	<6	411
2	T2	Labkuil	42	290	960	69	199	293	8	402
2	T4	Labkuil	42	363	956	59	208	335	<6	409
2	T2	Labkuil	180	281	956	65	224	278	7	437
2	T4	Labkuil	180	302	950	48	251	258	<6	504
3	T2	praktijk	0	287	957	61	198	294	111	403
3	T4	praktijk	0	364	944	58	184	328	56	400
3	T2	praktijk	14	303	955	66	204	281	26	419
3	T4	praktijk	14	338	953	62	179	373	<6	372
3	T2	praktijk	42	276	948	70	191	305	11	376
3	T4	praktijk	42	322	953	63	205	347	<6	403
3	T2	praktijk	180	277	956	65	216	259	15	417
3	T4	praktijk	180	338	954	61	199	345	7	390
3	T2	labkuil	14	248	949	65	211	284	14	422
3	T4	labkuil	14	354	957	64	184	383	<6	367
3	T2	labkuil	42	227	946	62	231	238	8	445
3	T4	labkuil	42	315	951	62	187	366	<6	369
3	T2	labkuil	180	290	955	67	192	314	7	387
3	T4	labkuil	180	369	951	63	165	392	<6	351

4.2. Materiaal en methoden

Van 4 praktijkkuilen (2 rastypes en 2 oogsttijdstippen) en de 4 bijbehorende labsilokuilen werden de fermentatie-karakteristieken van respectievelijk gehele plant, zetmeelhoudende korrels uit de kolf en restplant bepaald na respectievelijk 1 dag, 14 dagen, 6 weken en 6 maanden na inkuilen. De monsters werden gevriesdroogd en gemalen over 1 mm voor de analyses, conform de uitkomsten van deel 1 van het onderzoek.

Tabel 23. Gasproductieparameters A1, A2 en B2 van de kuilmonsters (praktijkkuilen en labkuilen) van maïs ras 2 (R2) en ras 3 (R3), geoogst bij 28 % DS (T2) en 36 % DS (T4), geopend na verschillende inkuilperiodes (in dagen).

Ras	Oogsttijdstip	Kuilmethode	Inkuilduur	A1	A2	B2
2	T2	Praktijk	0	34.8	229.6	7.45
2	T4	Praktijk	0	24.6	240.2	7.51
2	T2	Praktijk	14	30.2	215.9	7.50
2	T4	Praktijk	14	16.7	227.7	7.93
2	T2	Praktijk	42	12.8	216.2	7.80
2	T4	Praktijk	42	13.8	232.2	7.50
2	T2	Praktijk	180	30.9	230.3	7.30
2	T4	Praktijk	180	20.9	232.2	7.50
2	T2	Labkuil	14	27.7	232.8	7.18
2	T4	Labkuil	14	20.8	237.9	7.40
2	T2	Labkuil	42	34.0	227.9	7.35
2	T4	Labkuil	42	19.6	234.6	7.56
2	T2	Labkuil	180	25.5	213.2	7.21
2	T4	Labkuil	180	18.3	223.0	7.69
3	T2	praktijk	0	40.2	226.3	7.35
3	T4	praktijk	0	27.3	228.2	7.52
3	T2	praktijk	14	33.8	216.7	7.03
3	T4	praktijk	14	21.4	235.0	7.47
3	T2	praktijk	42	33.8	221.4	7.26
3	T4	praktijk	42	20.5	228.5	7.55
3	T2	praktijk	180	35.8	211.6	7.32
3	T4	praktijk	180	24.5	231.2	7.19
3	T2	labkuil	14	37.7	220.5	7.54
3	T4	labkuil	14	24.0	233.0	7.42
3	T2	labkuil	42	38.0	209.0	7.11
3	T4	labkuil	42	21.8	232.1	7.46
3	T2	labkuil	180	32.1	226.0	7.21
3	T4	labkuil	180	22.7	236.5	7.05
LSD (P=0.05)				5.6	13.9	0.46

Tabel 24. Effecten van rastype, oogsttijdstip, soort kuil en inkuilduur op de gasproductieparameters A1, A2 en B2.

Gemiddelde hoofdeffecten	A1	A2	B2
Ras 2	24.5 ^b	228.9	7.48 ^a
Ras 3	30.5 ^a	226.2	7.31 ^b
T2	32.9 ^a	222.1 ^b	7.32 ^b
T4	22.1 ^b	233.1 ^a	7.47 ^a
Praktijkkuil	28.6	228.7	7.35
Labkuil	26.3	226.4	7.45
Inkuilduur 0 dagen	32.8 ^a	232.2	7.41
Inkuilduur 14 dagen	26.5 ^b	227.4	7.43
Inkuilduur 42 dagen	24.3 ^b	225.2	7.45
Inkuilduur 180 dagen	26.3 ^b	225.5	7.31
Effect ras	***	NS	**
Effect oogsttijdstip	***	***	*
Effect kuiltipe	#	NS	NS
Effect inkuilduur	***	NS	NS

NS: P \geq 0.10, #: P<0.10, *: P<0.05, **: P<0.01, *** : P<0.001

4.3. Resultaten

Er bleken geringe verschillen te bestaan in fermentatiesnelheid tussen ras 2 (R2) en 3 (R3). R3 fermenteerde iets sneller dan R2. Conform eerdere resultaten was de fermentatiesnelheid van de jonge monsters (T2) iets hoger dan van de oudere monsters (T4). Bewaarduur van de kuilen had geen invloed op de mate van fermentatie (A1 en A2) en de snelheid van fermentatie (B2). Alleen de niet ingekuilde monsters (0 dagen inkuilen) hadden een iets hogere waarde voor A1, hetgeen verklaard kan worden doordat de suikers in deze kuilen nog niet verbruikt waren door het inkuilproces. Er waren geen verschillen aantoonbaar tussen de labsilo's en de praktijkkuilen.

4.4. Conclusies

De duur van de inkuilperiode heeft geen invloed op de mate en snelheid van fermentatie, zoals in vitro gemeten met de gasproductietechniek.

5. Conclusies in-vitro-onderzoek

- Chemische analyse. Zetmeelgehalte op T1 = 167 g/kg DS, T3 = 341 g/kg DS en op T5 = 379 g/kg DS. Voor praktische toepassing lijkt T1 daarom minder voor de hand liggend dan T3 en T5.
- Uit het onderzoek naar de voorbehandeling bleek dat niet malen en niet drogen tot resultaten met een te grote spreiding leidde. De hoogste reproduceerbaarheid werd gevonden bij de gevriesdroogde en gemalen monsters. De kleine deeltjesgrootte maakt het mogelijk goed reproduceerbare bepalingen uit te voeren. De lage temperaturen tijdens het droogproces hebben waarschijnlijk geen invloed op de kwaliteit van het zetmeel.
- Effect oogsttijdstip. Voor zowel de gehele plant, de kolf (zetmeel) als de restplant (NDF) geldt dat de snelste fermentatie (laagste waarde van B2) werd waargenomen in het jongste materiaal (T1) en de langzaamste fermentatie in het oudste materiaal (T5). Er was een minder eenduidige invloed van oogsttijdstip op de mate van fermentatie. Een hogere zetmeelafbraak werd met de enzymatische methode gevonden bij de jongste monsters.
- Bij een langzamere fermentatie (hoge waarde B2 op T5) mogen we aannemen dat een groter deel van het zetmeel bestendig is en de pens onafgebroken verlaat. Op dit moment zijn er geen goede rekenregels om de zetmeelbestendigheid uit de gasproductietest af te leiden, daar een en ander ook afhankelijk is van de passagesnelheid die alleen in het dier gemeten kan worden. Als maat voor de bestendigheid kan ook de zetmeelafbraak na 10 uur incubatie in de pens genomen worden. Op T1 is de bestendigheid dan 22.9 % en op T5 38.1 %. Algemeen wordt aangenomen dat bestendig zetmeel in de dunne darm wordt afgebroken. Dat is echter niet zeker.
- Effect rastype. Er was geen eenduidig effect van rastype op zowel mate als snelheid van fermentatie, hoewel puur statistisch hier en daar wel significante verschillen werden waargenomen. Ook in zetmeelbestendigheid werden geen grote verschillen gevonden tussen de verschillende rastypen. Na inkuilen had R5 echter een lagere bestendigheid (30.3 %) dan de andere rassen (37.5 – 40 %), zoals berekend uit de afbraak na 10 uur incubatie.
- Na inkuilen werden geen significante verschillen meer waargenomen voor mate en snelheid van fermentatie tussen de verschillende oogsttijdstippen.
- Haksellengte (6 vs 15 mm) had geen invloed op zowel de mate als snelheid van fermentatie.
- Bewaarduur van de silages had geen invloed op de fermentatieparameters, zoals gemeten met de gasproductietechniek.
- Opgemerkt dient te worden dat het in-vitro-onderzoek heeft plaatsgevonden met alleen de maïsmonsters van de locatie Lelystad, geoogst in 2003. Ook zijn slechts de 4 zetmeelrijke rastypen onderzocht op slechts 3 oogsttijdstippen.

6. Referenties

Bergmeijer, H.U. (1970) Methoden der Enzymatischen Analysen, vol. 2., 2nd Ed. Verlag Chemie, Weinheim.

Chai, W.Z., Van Gelder, A.H., Cone, J.W. (2004) Relationship between gas production and starch degradation in feed samples. *Anim. Feed Sci. Technol.* 114, 195-204.

Cone, J.W., Vlot, M. (1990) Comparison of degradability of starch in concentrates by enzymes and rumen fluid. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 63, 142 - 148.

Cone, J.W., Van Gelder, A.H., Visscher, G.J.W., Oudshoorn, L. (1996) Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Anim. Feed Sci. Technol.* 61, 113-128.