



Sveriges lantbruksuniversitet
Institutionen för husdjurens utfodring och vård
Avd. för foderkonservering
Kungsängens Forskningscentrum
753 23 Uppsala

Rapport

Tillsatsmedel för ensilering baserat på
natriumbensoat, kaliumsorbat och natriumnitrit

Av

Martin Knický

Rolf Spörndly

2009

Introduktion

Tillväxt av *Clostridium tyrobutyricum* och kort lagringsstabilitet är vanliga problem vid ensilering av vallfoder såväl som helsädesgrödor av havre, korn, vete eller majs. Tillväxt av *Clostridium tyrobutyricum* innebär förhöjda förluster av näringsämnen, bildning av oönskade föreningar som smörsyra samt inte minst orsakar de sänkt produktkvalitet genom kontamination av mjölken med så kallade smörsyrasporer. Kort lagringsstabilitet av ensilage, vilket först känns igen genom att ensilaget alltför snabbt tar värme vid utfodringen är associerat med tillväxt av jäst och mögel i ensilaget.

Den hämmande effekten av natriumbensoat, kaliumsorbit och natriumnitrit på mikrobiell tillväxt är väl känd och används därför som konserveringsmedel i livsmedel. För foderkonservering visade Woolford (1975) att kaliumsorbit var effektivt för inhibering av sporformande bakterier, jäst och mögel i ett pH-intervall mellan 3 till 6 medan den antimikrobiella verkan hos natriumbensoat var reducerad vid lite högre pH-värden. Natriumnitrit har också visat god effekt för att hämma sporformande bakterier, speciellt vid lågt pH. Effekten av natriumnitrit var emellertid speciellt tydlig i kombination med hexamin (Gross & Beck, 1972; Reuter & Weissbach, 1991; Kwella et al., 1993; Lingvall & Lättmäe, 1999; Lättmäe & Lingvall, 1996). Den bakteriehämmande effekten kan beror på att nitrat bryts ner till nitrit och nitrösa gaser vilket inhiberar tillväxten av bakterier i ensilage (Spoelstra, 1983). På grund av att nitrit i höga koncentrationer är toxiskt för djur är det emellertid viktigt att dels hålla nivåerna tillsatt natriumnitrit på en låg nivå och dessutom kontrollera förloppet av bildning och anrikning av nedbrytningsprodukterna av nitrat.

På den svenska marknaden finns redan kemiskt baserade tillsatsmedel för ensilering. De dominerande är Promyr och Kofasil Ultra. Promyr är baserat på myrsyra och propionsyra samt natriumformiat. Kofasil Ultra är består av natriumbensoat, natriumnitrit, natriumpropionat och hexamin. Vid utvärderingen av ett nytt ensileringsmedel har detta beaktats och som kontrollerad har därför förutom obehandlad grönmassa även dessa två produkter inkluderats.

Målsättning

- Att utvärdera effekten på bakteriefloran, speciellt *Clostridium tyrobutyricum*, samt jäst och mögel i ensilage när ett tillsatsmedel baserat på natriumbensoat, kaliumsorbit och natriumnitrit används som tillsatsmedel i ensileringen.
- Att studera omsättningen av nitrat och nitrit under ensileringsprocessen och därigenom uppskatta eventuell hälsorisk för djur som konsumerar ensilaget.

Metod

En vall av klöver och gräs i proportionen 8:92 slogs som tredjeskörd den 2:a oktober 2006 med en konventionell Taarup slåtterkross. Den slagna grönmassan förtorkades till två ts-halter, hög ts och låg ts. Målet för ledet med låg ts var 25-30 % ts och det förtorkades 12 timmar. Målet för hög ts var 40-45 % ts och det förtorkades 48 timmar,

delvis inomhus med ventilerat golv för att uppnå önskad ts-halt. Efter att önskad ts-halt uppnåtts hackades respektive led med en stationär hack till ca 5 cm genomsnittlig strållängd.

Tillsatsmedlet Safesil utgjordes av en vattenlösning där en liter innehöll 200 g natriumbensoat, 100 g kaliumsorbat och 50 g natriumnitrit. Tillsatsmedlet Promyr NF innehöll enligt tillverkaren en vattenlösning av myrsyra, propionsyra och salter av organiska syror till icke angivna mängder och tillsatsmedlet Kofasil Ultra innehöll enligt tillverkaren en vattenlösning av natriumbensoat, natriumnitrit, hexamin och natriumpropionat.

Tillsatsmedlen applicerades med sprayflaska på grödan som var placerad på plastfilm med en dos motsvarande 5 liter per ton grönmassa vid båda ts-nivåerna. Före appliceringen av tillsatsmedel inokulerades grönmassan med en suspension av sporer av *Clostridium tyrobutyricum* till en mängd av 10^3 per g färsk grönmassa. Tillsatsen av sporer skedde på samma sätt som med tillsatsmedlen. Grönmassan packades i PVC-rör med 4,5 liters volym och i glasbehållare med 1,7 liters volym till en densitet av 118 kg ts/m³ vid låg ts-halt och till 167 kg ts/m³ vid hög ts-halt. Grönmassan i PVC silorna ensilerades i ca 4 månader för analys av ensileringsresultatet och aerob lagringsstabilitet. Grönmassan in glassilorna öppnades efter 7 och 14 dagar främst för analys av nitratomsättningen. Allt utfördes i rumstemperatur. Varje behandling gjordes i tre replikat. Totalt omfattande därmed försöket 24 PVC-silor (4 tillsatsmedel x 2 ts-halter x 3 replikat) och 48 glassilor (4 tillsatsmedel x 2 ts-halter x 2 tidpunkter x 3 replikat).

Provtagning och analyser

Den kemiska sammansättningen av grönmassan bestämdes från totalt 4 prov (2 prov per ts-nivå) som togs före tillsatsen av tillsatsmedel. Proven analyserades på ts enligt Lingvall & Ericson (1981), aska efter 3 timmar i 550 °C, vattenlösliga kolhydrater (WSC) analyserades enzymatiskt efter sur hydrolys (Larsson & Bengtsson, 1983), råprotein (CP) med Kjeldahl teknik med CU som katalysator (Bremner & Breitenbeck, 1983), och buffertkapacitet. På den färska grödan bestämdes jäst, mögel, mjölksyrabakterier och klostridiesporer i två prov för varje ts-nivå. Bestämningen av klostridiesporer gjordes både före och efter kontaminationen med sporer.

Vid öppningen tömdes silorna i separate plastpåsar, blandades noggrant före uttagning av representativa prov. På prover tagna från silos efter 7 och 14 dagar analyserades ts, pH, NO₂-N och NO₃-N (ASN 110-01/92). På prover tagna från silos efter 120 dagar analyserades ts, pH, WSC, CP, mjölksyra, ättiksyra, smörsyra, etanol, 2-3butandiol, ammoniak-N (ASN 50-01/92), NO₂-N och NO₃-N (ASN 110-01/92). Antalet klostridiesporer och mjölksyraassimilerande jäst bestämdes också på prov från ensilage lagrat 120 dagar. En Metrohm 654 pH meter användes för pH-bestämning i pressaft från ensilaget. Syrorna, etanol och 2-3butandiol bestämdes på pressaft från ensilaget med HPLC enligt Andersson & Hedlund (1983). Jäst och mögel odlades och räknades på platta. Seriella utspädningar av prov odlades aerobt vid 25 °C på maltextrakt agar med penicillin G tillsats (30 mg/l) och streptomycin sulfat (30 mg/l). Klostridiesporer

bestämdes med odling på platta enligt Jonsson (1990). Mjölksyrabakterier bestämdes också med odling på platta enligt Pahlow (1990).

PVC silorna vägdes vid fyllningen och vid dag 3, 10, 30, 61 och 120 för att bestämma viktsförlusten. Viktminskningen antogs bestå av torrs substans från ensilaget i form av CO₂. Förlusterna uttrycktes som % av silons torrs substans vid fyllning.

Den aeroba stabiliteten bestämdes efter ensilering i 120 dagar genom att ensilage fylldes i 1300 ml PVC rör förslutna med ett luftgenomsläppligt nät av PE fiber i ändarna. Mängden ensilage som fylldes stod i relation till dess ts-halt så att fyllningen av våtvikt ensilage (g FM) = (-205.57 x ln(%ts)) + 1061). Rören placerades i värmeisolerande Stryrofoam block i ett konstantrum med 20° C och i varje rör med ensilage placerades temperaturgivare som mätte temperaturen i 6 dygn. Temperaturökning är ett mått på mikrobiell aktivitet i ensilaget och början på nedbrytningsprocessen av ensilaget.

Statistisk metod

En statistisk analys utfördes med GLM proceduren i SAS (SAS Institute Inc., 1990). Variansanalys i en fullständigt randomiserad design användes för att utvärdera effekten av tillsatsmedel på ensilagekvaliteten separat för varje ts-nivå. Skillnader mellan tillsatsmedlen beräknades med Tukey test och uttrycktes som Least Significant Difference (LSD, $P < 0.05$).

Statistisk modell använd vid båda ts-nivåerna:

$$Y_{ijk} = \mu + \text{Tillsatsmedel}_i + \text{error}_{ij}$$

(μ = medeltal; $i = 4$ tillsatsmedel $j = 3$ replikat; $N = 12$).

Resultat

Grönmassans sammansättning

Den kemiska och mikrobiella sammansättningen i grönmassan presenteras i Tabell 2. Ts-halten i den låga ts-nivån var något lägre än målsättningen på 25-30 % och ts-halten i den högre ts-nivån var något högre än målsättningen på 40-45 %.

Tabell 2. Kemisk och mikrobiell sammansättning av grönmassan (n=2).

| Analys | Enhet | Ts-nivå | |
|---------------------|---------------|------------|-------------|
| | | Låg | Hög |
| Ts | g/kg | 229±2.3 | 464±13.4 |
| aska | g/kg ts | 216.4±4.85 | 217.5±15.74 |
| CP | g/kg ts | 143.8±2.38 | 147.4±1.12 |
| WSC | g/kg ts | 59.7±1.10 | 64.0±0.21 |
| NO ₃ -N | mg/kg ts | 98.0±5.16 | 118.8±5.87 |
| NO ₂ -N | mg/kg ts | 13.9±5.01 | 6.7±0.01 |
| Buffertkapacitet | g LA/100 g ts | 5.5±0.08 | 5.5±0.07 |
| LAB | log cfu/g ts | 4.40±0.23 | 3.41±0,07 |
| Jäst | log cfu/g ts | 3.47±0.38 | 2.76±0.65 |
| Mögel | log cfu/g ts | 2.35±0.49 | 1.00±1.41 |
| Klostridiesporer | | | |
| före kontaminering | log cfu/g ts | 2.17±0.67 | 2.62±0.05 |
| efter kontaminering | log cfu/g ts | 2.71±0.01 | 2.70±0.16 |

Grönmassan höll ovanligt hög askhalt och lågt sockerinhåll (WSC) jämfört med grönmassa i allmänhet även om tredjescörd brukar ligga lågt i sockerinhåll. Buffringskapaciteten var låg. Analysvärdena i tabellen ger ett fermentationsindex på 32 respektive 56 för låg respektive hög ts-nivå. Halten av nitrit-N tenderade att vara högre och halten nitrat-N i lägre vid låg ts-nivå jämfört med hög ts-nivå. I grönmassa med hög ts-nivå hade jäst, mögel och LAB reducerats jämfört med grönmassan med låg ts-nivå. En generell bedömning är att grönmassan kan betraktas som svårensilerad, speciellt när man tar i beaktande att grödan kontaminerades med en extra tillsats av *Cl. tyrobutyricum*.

Ensilagets sammansättning

Ensilagekvaliteten vid *låg ts-nivå* återges i Tabell 3. Alla behandlingar inklusive obehandlad kontroll uppvisade ett lägre pH ($P < 0.001$) efter 7 dagar än Kofasil Ultra. Alla behandlingar med tillsatsmedel hade ett lägre pH ($p < 0.001$) än obehandlad kontroll efter 112 dagars lagring. Det Promyrbehandlade ledet hade det lägsta pH-värdet. Det Safesilbehandlade ledet hade lägre pH än de Kofasil-behandlade. En signifikant sänkning av ammoniakbildningen kunde ses i alla led som hade tillsatsmedel jämfört med obehandlad kontroll. Ökningen i mjölksyra och minskningen i smörsyra jämfört med obehandlad kontroll var en tydlig effekt av alla tillsatsmedel ($P < 0.001$). Koncentrationen av etanol och 2-3butandiol var också signifikant lägre i all led med tillsatsmedel jämfört med obehandlad kontroll. När det gäller etanol hade Promyr och Safesil signifikant lägre värden än Kofasil Ultra. Sockeranalyserna av ensilaget visar på att det mesta av sockret förbrukades i alla led utan betydande skillnader. En tydlig effekt var att ensilage behandlade med tillsatsmedlet Kofasil Ultra och Safesil innehöll en signifikant mindre mängd klostridiesporer ($P < 0.001$) än obehandlad kontroll och Promyr. Ingen jästtillväxt noterades i ensilagen med låg ts-halt.

Alla tillsatsmedel minskade ensileringsförlusterna ($P < 0.001$) i ensilagen med låg ts-halt. Promyr minskade förlusterna mest (Figur 1). Det fanns ingen skillnad mellan behandlingarna när det gäller lagringsstabilitet vid den låga ts-nivån.

Ensilagekvaliteten vid *hög ts-nivå* återges i Tabell 5. Obehandlad kontroll och ledet behandlat med Promyr hade lägre pH ($P < 0.001$) vid dag 7 än leden behandlade med Kofasil Ultra eller Safesil. Vid dag 119 hade dock obehandlad kontroll ett lägre pH ($P < 0.001$) än alla led med tillsatsmedel. Alla led med tillsatsmedel hade en högre sockerhalt kvar i ensilaget efter 119 dagar jämfört med obehandlad kontroll ($P < 0.001$) och klart högst sockerhalt hade Promyr. Förhållandet återspeglade sig i att obehandlad kontroll hade den högsta halten mjölksyra, signifikant högre än i samtliga led med tillsatsmedel och där Promyr-behandlat ensilage hade den lägsta halten. Koncentrationen av ättiksyra följde samma mönster som mjölksyra utom för Kofasil Ultra där ättiksyrahalten var i nivå med obehandlad kontroll. Signifikant ($P < 0.001$) lägre smörsyrahalter ($P < 0.001$), etanolhalter ($P < 0.001$) och halter av 2-3butandiol ($P < 0.001$) fanns i samtliga led behandlade med tillsatsmedel jämfört med obehandlad kontroll. Till skillnad från i ensilage vid låg ts-nivå fanns jästtillväxt i ensilaget med den höga ts-nivån. Signifikant mindre jäst fanns i led behandlade med Kofasil Ultra och Safesil jämfört med obehandlad kontroll och Promyr ($P < 0.001$). Ingen skillnad noterades mellan leden när det gäller förekomsten av klostridiesporer.

Tabell 3. Analys av ensilage vid *låg ts-nivå* efter 112 dagars lagring (medeltal av tre replikat).

| | <i>ts</i> | <i>pH vid dag</i> | | <i>NH3-N</i> | <i>WSC</i> | <i>Mjölk</i> | <i>Ättik</i> | <i>Smör</i> | <i>Etanol</i> | <i>2.3butan-</i> | <i>Klostridie</i> | <i>Jäst</i> |
|-----------------------|-----------|-------------------|-------------|----------------|----------------|--------------|--------------|-------------|---------------|------------------|-------------------|---------------------|
| <i>Behandling</i> | | 7 | 112 | | | <i>syra</i> | <i>syra</i> | <i>syra</i> | | <i>diol</i> | <i>sporer</i> | |
| | % | | | <i>g/kg TN</i> | <i>g/kg ts</i> | | | | | | | <i>log cfu/g FM</i> |
| Obeh. kontroll | 20.8 | 4.7 | 5.3 | 189.4 | 1.3 | 7.8 | 16.5 | 47.1 | 7.6 | 1.3 | 5.7 | <1,7 |
| Kofasil U | 22.9 | 5.1 | 4.4 | 47.6 | 1.1 | 77.0 | 17.6 | 0.6 | 4.4 | 0.4 | 2.0 | <1,7 |
| Promyr | 22.8 | 4.7 | 4.1 | 79.8 | 1.9 | 67.9 | 14.6 | 1.4 | 2.8 | 0.5 | 4.1 | <1,7 |
| Safesil | 22.6 | 4.7 | 4.3 | 75.4 | 2.3 | 81.1 | 16.0 | 1.5 | 2.7 | 0.4 | 1.7 | <1,7 |
| LSD0.05 | n=12 | 0.28 | 0.04 | 28.70 | 1.17 | 4.42 | 1.78 | 1.84 | 0.61 | 0.30 | 0.98 | - |
| P-value | | 0.002 | 0.001 | 0.001 | 0.04 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | n.s. |

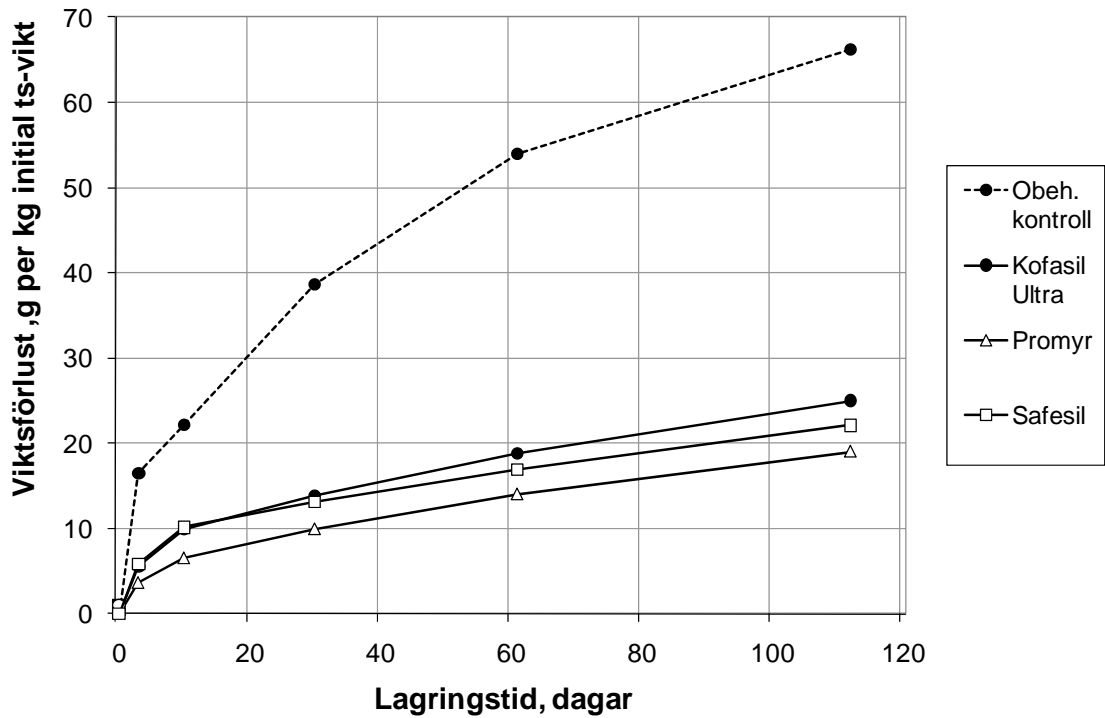
Tabell 4. Aerob lagringsstabilitet vid uttag för ensilage med *låg ts-nivå*

| Behandling | Dagar till temperaturen i ensilaget ökat över | | Max-temp (°C) | Max. temp- ökning (°C) |
|----------------|---|------|------------------|------------------------------|
| | 2°C | 5°C | | |
| Obeh. kontroll | 6,2 | 6,8 | 18,5 | 2,4 |
| Kofasil U | 6,6 | 6,8 | 18,9 | 2,1 |
| Promyr | 6,7 | 6,8 | 18,7 | 2,1 |
| Safesil | 6,8 | 6,8 | 18,3 | 1,7 |
| LSD | 0,85 | - | | 0,74 |
| P-value | 0,2 | n.s. | | 0,1 |

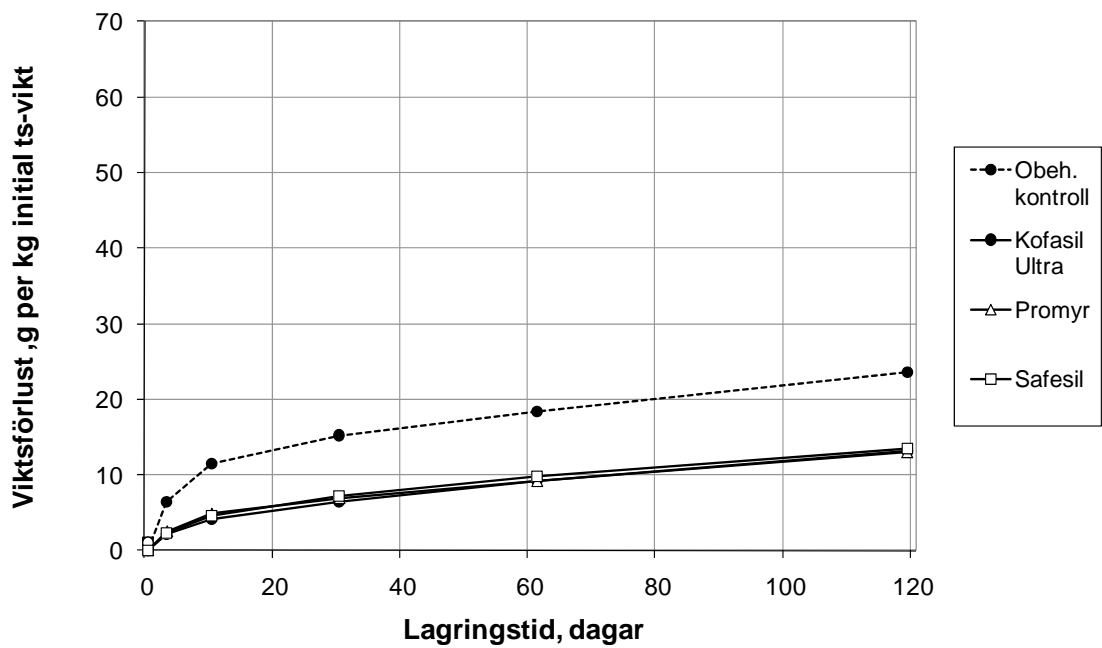
Tabell 5. Analys av ensilage vid **hög ts-nivå** efter 119 dagars lagring (medeltal av tre replikat).

| | <i>ts</i> | <i>pH vdi dag</i> | | <i>NH3-N</i> | <i>WSC</i> | <i>Mjölk</i> | <i>Ättik</i> | <i>Smör</i> | <i>Etanol</i> | <i>2.3butan-</i> | <i>Klostridie</i> | <i>Jäst</i> |
|-------------------|-----------|-------------------|------------|----------------|----------------|--------------|--------------|-------------|---------------|------------------|-------------------|---------------------|
| <i>Behandling</i> | | <i>7</i> | <i>119</i> | | | <i>syra</i> | <i>syra</i> | <i>syra</i> | | <i>diol</i> | <i>sporer</i> | |
| | <i>%</i> | | | <i>g/kg TN</i> | <i>g/kg ts</i> | | | | | | | <i>log cfu/g FM</i> |
| Obeh. kontroll | 44.0 | 5.7 | 4.9 | 90.9 | 15.1 | 42.9 | 5.5 | 0.3 | 5.1 | 2.7 | 2.2 | 4.7 |
| Kofasil U | 44.5 | 6.3 | 5.1 | 46.2 | 29.0 | 34.7 | 5.4 | 0.2 | 2.0 | 0.4 | 2.6 | <1.7 |
| Promyr | 46.2 | 5.7 | 5.1 | 67.2 | 41.0 | 18.5 | 3.5 | 0.2 | 3.0 | 0.4 | 2.5 | 5.0 |
| Safesil | 44.2 | 6.1 | 5.0 | 79.5 | 28.7 | 35.5 | 4.5 | 0.2 | 2.2 | 0.4 | 2.6 | <1.7 |
| LSD0.05 | n=12 | 0.30 | 0.13 | 41.00 | 5.22 | 5.45 | 0.58 | 0.09 | 1.33 | 0.35 | 0.33 | 0.91 |
| P-value | | 0.001 | 0.002 | 0.04 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.01 | 0.001 |

Figur 1. Viktsförluster i ensilage vid *låg ts-nivå*



Figur 2 Viktsförluster i ensilage vid *hög ts-nivå*



Resultaten av förluststudierna för ensilage vid den höga ts-nivån uppvisar signifikanta skillnader mellan leden som behandlats med tillsatsmedel och obehandlad kontroll (Figur 2) där tillsatsmedlen gett lägre förluster.

Resultatet av undersökningen av lagringsstabilitet för ensilagen med hög ts-nivå (Tabell 6) visade att temperaturstegring med 2 °C skedde signifikant fortare i obehandlad kontroll (P<0.001) än i leden med tillsatsmedel. Samma mönster sågs vid höjning med 5 °C, men här var inte skillnaden signifikant.

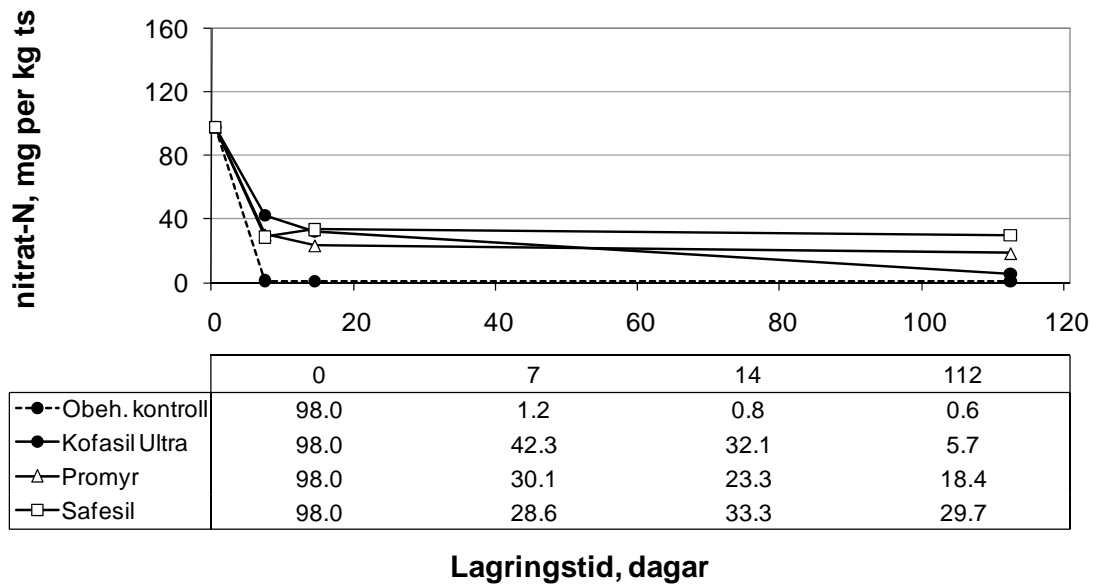
Table 6. Aerob lagringsstabilitet vid uttag för ensilage med *hög ts-nivå*

| Behandling | Dagar till temp. ökat över | | Max-temp (°C) | Max. temp- Ökning (°C) |
|---------------|----------------------------|------|------------------|------------------------------|
| | 2°C | 5°C | | |
| | Obeh. kontroll | 1,8 | 3,9 | 25,1 |
| Kofasil Ultra | 7,5 | 7,5 | 19,3 | 1,1 |
| Promyr | 5,5 | 5,8 | 21,6 | 3,6 |
| Safesil | 7,5 | 7,5 | 18,7 | 0,9 |
| LSD | 4,63 | 5,70 | | 7,15 |
| P-value | 0,01 | 0,2 | | 0,07 |

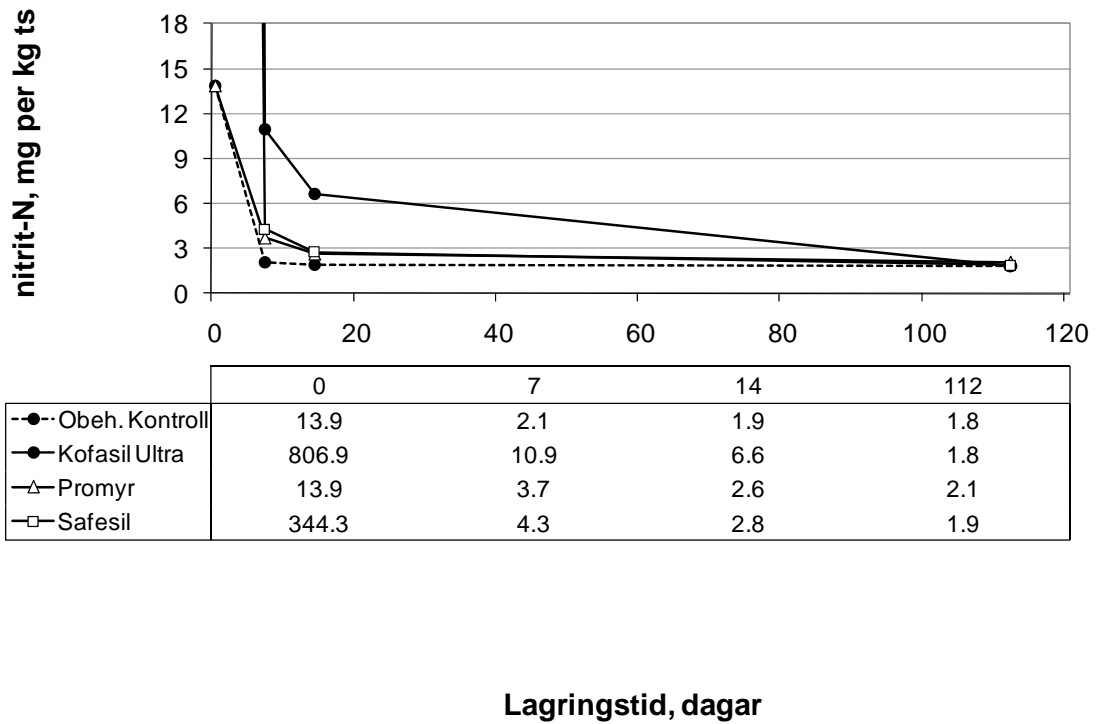
Nitrat och nitrit under ensileringen

Förändringen av halten nitrat och nitrit i ensilage vid *låg ts-nivå* illustreras i Figur 3 och 4. Man ser en betydande reduktion av halten av både nitrit och nitrat redan efter 7 dagar. Nitrit-halten var signifikant högre i ledet behandlat med Kofasil Ultra vid dag 7 och 14 (P<0,001) men vid slutet av ensileringen (dag 119) var det ingen skillnad mellan leden. Nitrathalten var signifikant högre för Safesil vid slutet av ensileringen (P<0.001).

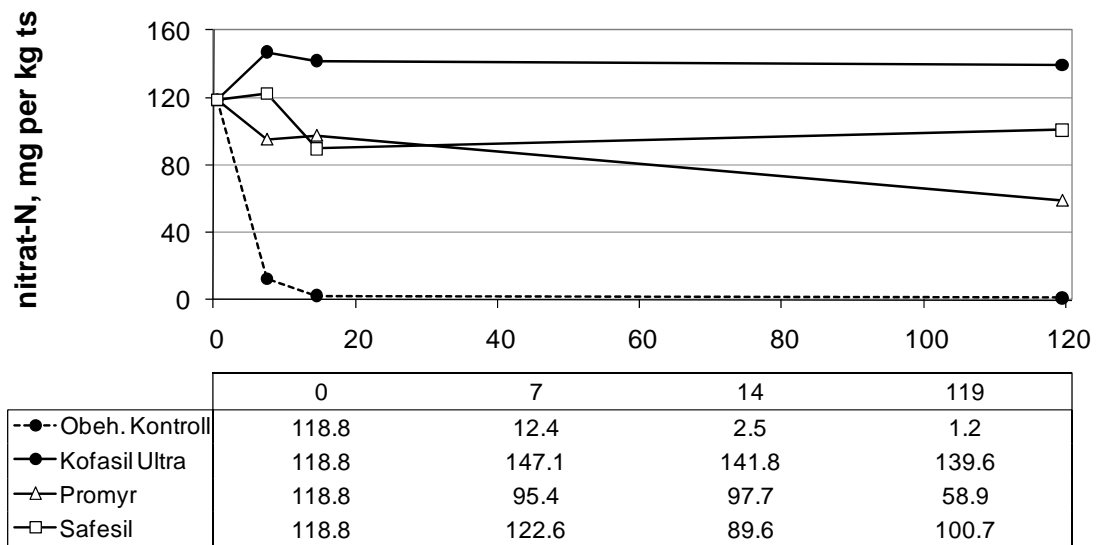
Figur 3. Koncentrasjon av nitrat-N i ensilage med *låg ts-nivå*.



Figur 4. Koncentrasjon av nitrit-N i ensilage med *låg ts-nivå*.

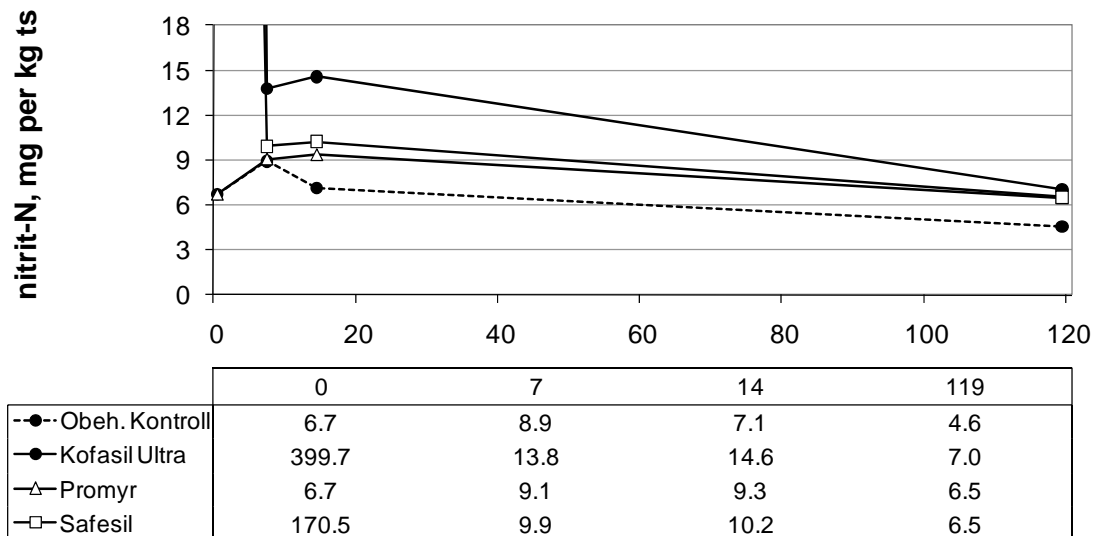


Figur 5. Koncentration av nitrat-N i ensilage med *hög ts-nivå*.



Lagringstid, dagar

Figur 6. Koncentration av nitrit-N i ensilage med *hög ts-nivå*.



Lagringstid, dagar

Förändringen av halten nitrat och nitrit i ensilage vid *hög ts-nivå* illustreras i Figur 5 och 6. Till skillnad från låg ts-nivå sjunker inte nitrat-halten under ensileringsperioden för alla led. Obehandlad kontroll sjunker mot 0 snabbt och likaså sjunker det Promyr-behandlade ledet. Även Safesil sjunker något men inte till samma låga nivå. Nitrathalten i ensilaget behandlat med Kofasil Ultra stiger däremot till ett värde högre än initialhalten. Skillnaderna är signifikanta mellan alla led. Halten nitrit var tydligt reducerad redan efter 7 dagars lagring för tillsatsmedlen som innehåller natriumnitrit, nämligen Kofasil Ultra och Safesil. Nitrithalten i obehandlad kontroll och Promyr steg inledningsvis för att därefter sjunka. Vid slutet av lagringen (119 dagar) var nitrithalten signifikant lägre i obehandlad kontroll jämfört med leden som fått tillsatsmedel ($P > 0.001$). Det var dock ingen skillnad mellan tillsatsmedlen vid denna tidpunkt. Obehandlad kontroll stannade efter 119 dagar på en lägre nivå än i ursprungsgrödan medan de behandlade leden stannade på nivån hos ursprungsgrödan. Det är värt att notera att ursprungsgrödan höll en mycket hög halt nitrit, 6,7 mg nitrit-N/kg ts. Den högsta tillåtna nivån i svenska handelsfoder (helfoder) är 4,5 mg.

Diskussion

Weissbach (1974) föreslog en fermentationskoefficient (FC) för att beräkna hur lättensilerad en grönmassa är. Beräkningen av koefficienten omfattar grödans ts-halt, sockerhalt (WSC) och buffringskapacitet. Enligt ekvationen $FC = (ts\text{-halt i \%} + (8 \times (WSC\text{ i \%} / BC)))$ får grödan med låg ts-halt i denna undersökning $FC = 32$, vilket indikerar att den är svårensilerad. Grönmassan med hög ts-halt i denna undersökning $FC = 54$ som indikerar att den är lättensilerad. Detta manifesterades tydligt i undersökningen genom det mycket dåliga resultatet av ensileringen utan tillsatsmedel vid den låga ts-halten. Obehandlad kontroll var felfermenterad och hade höga förluster. Högt pH, hög smörtsyrahalt, och A-tal tillsammans med högt sportal indikerade mycket klart en klostridiefermentering av ensilaget. Den höga halten smörtsyra hjälpte sedan troligen detta ensilage till en helt acceptabel lagringsstabilitet, visat av Weissbach och Haacker (1988).

Vid den höga ts-nivån var ensilerbarheten bättre. Det hänför sig till att koncentrationen av lättlösliga kolhydrater stiger i vätskefasen i grödan då vatten torkas bort samt att *Clostridium tyrobutyricum* har svårare att klara sig i konkurrensen vid lägre vattenaktivitet (Pauly m.fl., 2008). Lågt A-tal, låga halter av smörtsyra, inga klostridiesporer och låga förluster visar på ett bättre ensileringsresultat. Men å andra sidan är detta ensilage mer känsligt vid öppningen med en klart försämrad aerob lagringsstabilitet. Orsaken är den högre jäst-aktiviteten vilken betraktas som den mikroorganism som sätter igång nedbrytningsprocessen av ensilage (Woolford, 1990).

I jämförelse med obehandlad kontroll är den huvudsakliga förbättringen med testade tillsatsmedlen ett ensilage med begränsad tillväxt av klostridiesporer, mindre smörtsyra och A-tal samt lägre förluster när det gäller låg ts-nivå i grönmassan. För grönmassa med hög ts-nivå är den främsta förtjänsten en begränsning av utvecklingen av jäst.

Tillsatsmedlet Promyr var det mest effektiva när det gäller minskning av torrsubstansförluster vid låg ts-nivå men det hade svag effekt mot klostridiesporer vid låg ts-nivå i grönmassan och mot jäst vid hög ts-nivå.

Undersökningen beträffande omsättningen av nitrit och nitrat under fermentationen visade på en snabb minskning av tillförd nitrit med tillsatsmedlet. Nitratkoncentrationen reducerades kraftigt då ts-nivån var låg medan så inte var fallet vid hög ts-nivå. Nitralhalten var högre i ensilaget efter 119 dagars lagring än i ursprungsgrödan när Kofaci Ultra, som innehåller högst halt natriumnitrit. För övriga tillsatsmedel var nitralhalten lägre efter ensileringen än i den obehandlade ursprungsgrödan, men inte ner på noll som i ledet obehandlad kontroll. En långsam nedbrytning och därav en högre kvarstående koncentration av nitrat och nitrit i ensilage vid hög ts-nivå än vid låg ts-nivå kan vara ett resultat av förtorkningen då förtorkning har visats minska nedbrytningen av nitrat (Mauko m. fl., 1981) och den påföljande nitritreduktionen (Spoelstra, 1983).

Den högsta halten nitrat-N som observerades i studien för de led som behandlats med natriumnitrit var 147 mg per kg ts efter 7 dagar i ledet behandlat med Kofasil Ultra och 123 mg per kg ts efter 7 dagar i ledet behandlat med Safesil. Det kan jämföras med den halt nitrat (NO_3) i ensilage som betraktas som helt ofarlig i alla situationer, 0.12 % av ts (Spörndly, 2003). Omräknat till mg nitrat-N per kg ts motsvarar det 276 gram per kg ts. Det innebär att den nitratnivå som förelåg 7 dagar efter tillsatsen ligger på ca halva den säkra nivån i detta försök, inte långt över nivån i den ursprungliga grönmassan (118 g per kg ts) men mycket över den nivån på nära 0 som ensilage utan tillsatsmedel håller.

När det gäller nitrithalten kan det konstateras att det inte förelåg någon skillnad i nitrithalt vid öppningen av ensilagen mellan led där tillsatsmedel med eller utan natriumnitrit använts. Nitrithalten i grödan var emellertid ovanligt hög redan från början.

Sammanfattning

- Alla tillsatsmedel förbättrade fermentationen och lagringsstabiliteten. Kofasil Ultra och Safesil hade den kraftigaste hämmande effekten på klostridiesporer vid låga ts-nivå. Dessa tillsatsmedel hade även störst hämmande effekt på jästtillväxten vid hög ts-nivå.
- Koncentrationen av nitrit-N vid båda ts-nivåerna och av nitrat-N vid låg ts-nivå reducerades snabbt under fermentationsprocessen. En ökning av nitrat-N konstaterades vid hög ts-nivå där tillsatsmedel innehållande natriumnitrit använts. Den slutliga koncentrationen av nitrat-N och nitrit-N befanns emellertid vara på en tillfredsställande låg och ofarlig nivå för samtliga tillsatsmedel i försöket
- Det nya tillsatsmedlet Safesil visade sig ha en minst lika god effekt som etablerade tillsatsmedel på den svenska marknaden. Försöket utfördes vid två ts-halter men med samma gröda. Upprepade tester på fler grödor krävs för en säker värdering av utfallet i jämförelsen mellan olika tillsatsmedel.

Referenser

- Andersson. R. & Hedlund. B. 1983. HPLC analysis of organic acids in lactic acid fermented vegetables. *Z. Lebensm.-Untersuch. Forsch.*. 176. 440-443.
- Bremner. J.M. & Breitenbeck. G.A. 1983. A simple method for determining ammonium in semi-micro Kjeldahl analysis of soil and plant materials using block digester. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*. 14. 905-913.
- Gross. F. & Beck. Th. 1972. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Silierhilfsmitteln (Comparative investigations on the effect of silage additives). *Das wirtschaftseigene Futter*. Band 18. Heft 3. 161-177. (In German)
- Knicky, M & Lingvall P. 2004. Ensiling of high wilted grass-clover mixture by use of different additives to improve the hygienic quality. *Acta Agr.Scandinavica, Section A*, 54 (4), 197-205.
- Kwella. M., Haaker. K. & Reuter. B. 1993. About Investigations on the Efficiency of Silage Additives. *Proc. 10th Int. Conference on Silage Research*. Dublin City University. Ireland. pp. 99-100.
- Lingvall. P. & Lättemäe. P. 1999. Influence of hexamine and sodium nitrite in combination with sodium benzoate and sodium propionate of fermentation and hygienic quality of wilted and long cut grass silage. *J. Sci. Food agric.*. 79. 257-264.
- Litell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D. 1996. SAS system for Mixed models. SAS institute Inc., Cary, N.C.
- Lättemäe. P. & Lingvall. P. 1996. Effect of hexamine and sodium nitrite in combination with sodium benzoate and sodium propionate on fermentation and storage stability of wilted and long cut grass silage. *Swedish J. agric. Res.*. 26. 135-146.
- Jonsson. A. 1990. Enumeration and confirmation of *C. tyrobutyricum* in silages using neutral red. D-cycloserine and lactate dehydrogenase activity. *J. Dairy Sci.*. 73. 719-725.
- Larsson. K., Bengtsson. S.. 1983. Bestämning av lätt tillgängliga kolhydrater i växtmaterial. (Determination of non structural carbohydrates in plant material) Method description no. 22. National Laboratory for Agricultural Chemistry. Uppsala. (In Swedish).
- Lingvall. P. & Ericson. B.. 1981. Dry matter determination of silage. *Proc. 6th Int. Silage Conference*. Edingburgh. UK. 63 pp.
- Masuko, T., Otani, T., Ishimado, Y., Kawasaki, N. & Awaya, K. 1981. Studies on the disappearance of nitrate in forage crops during ensilage. Effect of moisture levels on the disappearance of nitrate. *J. Japan. Soc. Grassl. Sci.*, 27, 227-232.

McDonald, P., Henderson, A. R. & Heron, S. J. E. 1991. The Biochemistry of Silage. Chalcombe Publications, 13 Highwoods Drive, Marlow Bottom, Marlow, Bucks, UK, 111 pp.

Pahlow G. 1990. Untersuchung des epiphytischen Besatzes von Siliergut mit Milchsäurebakterien (Determination of epiphytic LAB in ensiled forage). *Unpublished paper*. Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Institut für Grünland- und Futterpflanzenforschung, DE – 3300 Braunschweig. 6 pp. [in German]

Pauly T., de Paula Sousa D., Spörndly R., Christiansson A. 2008. Inoculation of experimental silages with different Clostridium spores. 22nd general meeting of the European Grassland Federation, Uppsala, Sweden, 9-12 June 2008, p 678-680

Reuter. B. & Weissbach. F. 1991. Results of testing chemical preservatives. In: Proc. of a Conference on Forage Conservation towards 2000 (eds.: Pahlow. G & Honig. H.). Institute of Grassland and Forage Research. Federal Research Center of Agriculture (FAL). Braunschweig-Völkenrode (Braunschweig. Germany). pp 338-341.

SAS Institute Inc. 1990. SAS/STAT User's Guide. Version 6. 4th Ed. SAS Institute Inc.. Cary. NC. USA.

Spoelstra, S. F. 1983. Inhibition of clostridial growth by nitrate during the early phase of silage fermentation. *J. Sci. Food Agric.*, 34, 145-152.

Spörndly, R. 2003. Fodertabeller för idisslare 2003 (Feeding tables for ruminants). Swedish University of Agricultural Sciences, Dept. of Animal Nutrition and Management, Uppsala 2003, Report 257. (In Swedish)

Weissbach, F., Schmid, L. & Hein, E. 1974. Method of anticipation of the run of fermentation in silage making based on chemical composition of green fodder. *Proc. 12th Inter. Grassland Congress*, Moscow, 3, 663-673.

Weissbach, F. & Haacker, K. 1988. On the causes of butyric acid fermentation in silages from whole crop cereals. *Zeitschrift das wirtschaftseigene Futter* 3, 88-99.

Woolford, M. K. 1975. Microbiological screening of food preservatives. Cold sterilants and specific antimicrobial agents as potential silage additives. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 229-237.

Woolford, M. K. 1978. The aerobic deterioration of silage. *ARC Res. Rev.*, 4, 8-12.