

**Universität für Bodenkultur  
Department für Nachhaltige Agrarsysteme  
Institut für Nutztierwissenschaften**



In Kooperation mit  
Veterinärmedizinische Universität Wien  
Institut für Tierernährung



# **Effekte von Milchsäurebehandlungen der Gerste auf die Pansenfermentation *in vitro***

Masterarbeit zur Erlangung des akademischen Grades  
Diplom-Ingenieur (Dipl.-Ing.)

**Vorgelegt von Maria Geng**

Betreuer:

Univ.-Prof. Dr. sc. agr. Quedrim Zebeli

Ao. Univ.-Prof. Dipl.-Ing. Dr. nat. techn. Wilhelm Friedrich Knaus

Wien, Mai 2013

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>4</b>
<b>2. Literaturübersicht</b>	<b>6</b>
<b>2.1 Vormagensystem und metabolische Störungen</b>	<b>6</b>
2.1.1 Pansenphysiologie	6
2.1.2 Die Pansenmikroben	7
2.1.3 Fermentation von Kohlenhydraten	9
2.1.4 Pansenazidose	10
<b>2.2 Gerste und Gerstebehandlungen</b>	<b>13</b>
2.2.1 Merkmale der Gerste	13
2.2.2 Stärke und ihre Verdauung	14
2.2.3 Behandlungen mit Milchsäure	15
2.2.4 Behandlungen mit Milchsäure und Hitze	16
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>17</b>
3.1 Futterkomponenten	17
3.2 Rusitec	18
3.3 Rusitec Analysen	20
3.4 Statistische Auswertung	22
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>23</b>
4.1 Gehalte an resistenter Stärke	23
4.2 pH-Wert, Redoxpotential und NH <sub>3</sub> -Konzentration	23
4.3 Gasvolumen und –zusammensetzung	24
4.4 Anzahl der Mikroben	25
4.5 SCFA-Konzentrationen	26
4.6 Zusammenfassung	27

<b>5. Diskussion</b>	<b>28</b>
5.1 Gehalte an resistenter Stärke	28
5.2 NH <sub>3</sub> -Konzentration	28
5.3 Gasvolumen und –zusammensetzung	29
5.4 Zusammensetzung der Mikroben	30
5.5 SCFA-Konzentrationen	31
<b>6. Schlussfolgerung</b>	<b>33</b>
<b>7. Zusammenfassung</b>	<b>34</b>
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	<b>35</b>
<b>9. Verzeichnisse</b>	<b>40</b>
9.1 Abbildungsverzeichnis	40
9.2 Tabellenverzeichnis	41

# 1. Einleitung

Eine nachhaltige und erfolgreiche Milchproduktion ist von der Gesundheit und dem Wohlbefinden der Tiere abhängig. Neben einer bedarfsgerechten Fütterung und einem stabilen Pansenmilieu ist die Reduzierung von verdauungsphysiologischen Stoffwechselerkrankungen die Grundvoraussetzung dafür (KHOL-PARISINI UND ZEBELI, 2012). Dabei spielt die Futterzusammensetzung eine wichtige Rolle, um diesen metabolischen Erkrankungen vorzubeugen (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012).

Der hohe Energiebedarf der Hochleistungskühe wird in der Milchproduktion durch große Mengen an schnell abbaubaren Kohlenhydraten gedeckt. Diese Fütterungsstrategie ist sinnvoll für hohe Leistungen, aber entspricht nicht der Verdauungsphysiologie des Wiederkäuers. Die großen Mengen an Krafffutter, die hauptsächlich aus schnell abbaubarer Stärke bestehen, verursachen eine Reduzierung des pH-Wertes durch erhöhte Mengen an kurzkettigen Fettsäuren (SCFA = short-chain fatty acids) im Pansen. Daraus folgt eine Störung des Pansenökosystems mit reduziertem pH-Wert im azidotischen Bereich zwischen 5,6 und 5,8. Diese Art der Stoffwechselerkrankung wird als Pansenazidose bezeichnet und tritt als akute (acute ruminal acidosis, ARA) oder subakute (sub-acute ruminal acidosis, SARA) Form auf. Die subakute Pansenazidose ist eine gefährliche Stoffwechselkrankheit, die mit verringerter Futteraufnahme einhergeht und sowohl systemische Entzündungsreaktionen als auch metabolische Störungen wie Klauenrehe und Ketose verursacht. Des Weiteren hat die Pansenazidose gravierende Auswirkungen auf Leistungen, Wohlbefinden und Gesundheit der Tiere (KHOL-PARISINI UND ZEBELI, 2012).

Das Risiko an SARA zu erkranken kann durch die Verringerung der im Pansen verfügbaren Stärke reduziert werden (ZEBELI ET AL., 2008). Dies kann auf unterschiedliche Weise erfolgen: Reduktion der im Pansen verfügbaren Stärkemenge oder Erhöhung der Stärkemenge, die der Pansenverdauung entgeht (DEGHAN-BANADAKY ET AL., 2007). Es wurden bereits verschiedene Behandlungen zur Stärkeminifizierung untersucht, um die gesundheitsschädlichen Auswirkungen von hohen Krafffuttermengen zu verhindern. Die Behandlungen von Gerste inkludieren einerseits physikalische Methoden wie Pelletieren, Dämpfen oder Mahlen und andererseits chemische Methoden mit Natronlauge (NaOH), Formaldehyd oder Ammoniak (NH<sub>3</sub>). Chemische Behandlungen sind unter Praxisbedingungen aufgrund

der hohen Kosten und der gesundheitlichen Risiken für Mensch und Tier schwer durchführbar (DEHGHAN-BANADAKY ET AL., 2007). Die Behandlung der Gerste mit Milchsäure stellt eine kostengünstigere Methode dar, welche unter Praxisbedingungen durchführbar ist (IQBAL ET AL., 2009). Die Milchsäure ist eine milde organische Säure, die von Milchsäurebakterien produziert wird (IQBAL ET AL., 2010) und bereits erfolgreich in der Lebensmittelindustrie zur Modifizierung des Stärkeabbaus verwendet wurde (ÖSTMAN ET AL., 2002). Jedoch wurden bis jetzt nur wenige Studien mit Milchsäurebehandlungen in der Nutztierhaltung durchgeführt (IQBAL ET AL., 2012; IQBAL ET AL., 2011; IQBAL ET AL., 2010; IQBAL ET AL., 2009).

Aus diesem Grund ist das Ziel dieser Studie den Einfluss von Milchsäurebehandlungen der Gerste auf die  $\text{NH}_3$ -Konzentration, SCFA-Konzentration, Zahl der Bakterien und Protozoen sowie auf das Gasvolumen und die Gaszusammensetzung im Pansen zu ermitteln.

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1 Vormagensystem und metabolische Störungen**

Das Verdauungssystem des Wiederkäuers ist ein hoch entwickeltes System zur Verdauung faserreicher Futtermittel (z.B. Cellulose). Das voluminös ausgebildete Vormagensystem bietet Mikroorganismen wie Bakterien, Protozoen und Pilzen optimale Bedingungen für ihren Stoffwechsel. Durch den Ab- und Aufbau von Nährstoffen machen Mikroben diese für das Wirtstier nutzbar (STEINWIDDER UND KNAUS, 2007).

Das Vormagensystem bestehend aus Pansen, Haube und Blättermagen sowie der Labmagen füllen die gesamte linke Bauchhöhle aus. 80-90% des Gewichts der Mägen entfällt auf das Vormagensystem (Vormägen < Labmagen). Vormägen und Labmagen machen 50% des Gesamtgewichts des Magen-Darm-Kanals aus (MARTENS, 2010). Der Pansen spielt dabei eine zentrale Rolle im Verdauungssystem mit einem Fassungsvermögen von 150 bis 200 Litern (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012).

#### **2.1.1 Pansenphysiologie**

Der Pansen wird in den Pansenvorhof (Schleudermagen) und zwei Pansensäcke eingeteilt. Dieser ist für den mikrobiellen Aufschluss des Futters sowie die Aufnahme der dabei entstehenden SCFA in das Blut zuständig. Die durch Pansenzotten vergrößerte und stark durchblutete Pansenwand ermöglicht einen intensiven Nährstoffaustausch über die Schleimhaut (STEINWIDDER UND KNAUS, 2007).

Der Pansen ist eine großlumige Gärkammer und bietet bei einer konstanten Temperatur optimale Bedingungen für die mikrobielle Fermentation. Zur Pufferung des Panseninhaltes dient Natriumhydrogencarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) des Speichels. Des Weiteren wird durch regelmäßige Pansenkontraktionen eine intensive Durchmischung des Panseninhaltes ermöglicht und der regulierte Transport in den Psalter gewährleistet (7 bis 15 Kontraktionen in 5 Minuten). Die intensive Zerkleinerung der Futterpartikel wird durch das Wiederkauen ermöglicht. 30 bis 70 Minuten nach der Futteraufnahme wird der Vormageninhalt zurück in die Mundhöhle befördert (Rejektion), wird nochmals intensiv gekaut und abgeschluckt

(JEROCH ET AL., 2008). Die regelmäßige Abgabe der Gärgase wie Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) und Methan (CH<sub>4</sub>) wird durch den Ruktus ermöglicht. Die Gase werden in einer voluminösen Gasblase im dorsalen Pansensack gesammelt. Die Menge an produziertem Gas beträgt 500 bis 1500 Liter pro Tag. Der Ruktus tritt ein- bis zweimal pro Minute auf (KASKE, 2010).

Der Panseninhalt umfasst 2 Bestandteile: die Pansenmatte und den Pansensee. Die Bildung der Pansenmatte wird durch einen optimalen Faseranteil im Futter gewährleistet. Die Pansenmatte besteht hauptsächlich aus unverdauten Bestandteilen und hat die größte Dichte und Diversität an Mikroben und stellt damit den Ort der stärksten Faserfermentation dar, welche über dem Pansensee lokalisiert ist. Der Pansensee inkludiert den flüssigen Bestandteil des Panseninhaltes mit größtenteils fermentierten Bestandteilen (JEROCH ET AL., 2008).

### **2.1.2 Die Pansenmikroben**

Durch die mikrobielle Besiedlung findet ein Großteil der Fermentation von Nährstoffen im oberen Verdauungstrakt statt. Die Mikroben leben in Symbiose mit dem Nutztier und ermöglichen mit ihren Enzymen die Verdauung von Nährstoffen, die durch körpereigene Verdauungsprozesse dem Wirtstier nicht nutzbar gemacht werden können. Die wichtigsten Fermentationsleistungen umfassen den mikrobiellen Abbau von pflanzlichen Zellwandbestandteilen wie Cellulose und anderen Kohlenhydraten zu SCFA. Des Weiteren sind sie an wichtigen Syntheseleistungen wie der Bildung von essentiellen und nichtessentiellen Aminosäuren, mikrobiellem Protein und wasserlöslichen Vitaminen beteiligt. Zusätzlich sind einige Mikroben in der Lage toxische Substanzen wie Nitrite, Phytoöstrogene, Pflanzen- und Pilztoxine zu neutralisieren (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010).

Die in den Vormägen vorkommenden Mikroorganismen umfassen Bakterien, Protozoen und Pilze. Zwischen den Mikroben bestehen metabolische Interaktionen durch die gegenseitige Nutzung bereitgestellter Stoffwechselprodukte. Dadurch bilden sie funktionelle Gemeinschaften. Die Zusammensetzung der Mikroben ist abhängig von der Rationszusammensetzung, Futteraufnahme und Fütterungshäufigkeit (KOTARSKI ET AL., 1992).

Die wichtigste Gruppe von Mikroorganismen sind anaerobe Bakterien mit einer Dichte von 10<sup>10</sup> bis 10<sup>11</sup> pro ml Pansensaft (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010).

Sie kommen vor allem in der Flüssigkeit, dem wandnahen Bereich und der Oberfläche von Futterpartikeln vor. 70-80% der Bakterien sind an der Partikeloberfläche der Strukturbestandteile oder dem Pansenepithel lokalisiert. Bakterien haben wichtige Aufgaben bei der Pansenfermentation. Dazu zählen der Abbau von Stärke, Cellulose und anderen Nicht-Stärke-Polysacchariden. Des Weiteren sind sie an der Verwertung von Sauerstoff zur Aufrechterhaltung des anaeroben Milieus beteiligt (JEROCH ET AL., 2008). Der Pansen stellt ein Redoxsystem mit reduzierenden und oxidierenden Reaktionen dar. Durch die überwiegend reduzierenden Reaktionen liegt das Redoxpotenzial zwischen -250 und -300 mV. Das negative Redoxpotenzial macht es möglich, dass der Abbau von Kohlenhydraten nur bis zur Stufe der SCFA stattfindet und somit die darin enthaltene Energie dem Wirtstier zur Verfügung steht. Darüberhinaus wird die Zusammensetzung der Bakterienflora von den Futterkomponenten bestimmt. Durch stärkereiche Rationen reduziert sich die Zahl der cellulolytischen Bakterien während die Zahl der amylolytischen und laktatverwertenden Bakterien steigt (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010).

Eine weitere physiologisch wichtige Gruppe sind die Methanbildner. Sie kommen in einer Dichte von  $10^8$  bis  $10^9$  pro ml Pansenflüssigkeit vor. Die wichtigste Funktion ist die Bildung von  $\text{CH}_4$  aus  $\text{CO}_2$  und Wasserstoff ( $\text{H}_2$ ). Dadurch wird der  $\text{H}_2$ -Partialdruck niedrig gehalten. Dies verhindert eine zu starke Bildung von Ethanol und Laktat während der Vormagenfermentation (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010).

Neben den Bakterien bilden die obligat anaeroben Protozoen eine weitere Gruppe der Mikroorganismen im Pansen (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010). Dabei handelt es sich überwiegend um Ciliaten (Wimpertierchen) (JEROCH ET AL., 2008). Deren Dichte liegt bei  $10^5$  bis  $10^8$  pro ml Pansensaft. Durch ihre Größe von 20 - 200  $\mu\text{m}$  machen sie die Hälfte der gesamten mikrobiellen Biomasse aus (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010). Die Protozoen werden in holotriche und entodiniomorphe Protozoen unterschieden. Holotriche Protozoen nehmen lösliche Zucker auf und können Konzentrationen bis  $10^4$  pro ml Pansensaft erreichen. Hingegen sind entodiniomorphe Protozoen in der Lage Stärkeköerner und Pflanzenpartikel aufzunehmen. Sie erreichen eine Konzentration bis  $10^6$  pro ml Pansenflüssigkeit (JEROCH ET AL., 2008). Eine weitere Gruppe der Protozoen bilden die Flagellaten (Geißeltierchen) mit einer Konzentration von  $10^3$  bis  $10^4$  pro ml

Pansenflüssigkeit. Sie stellen nur einen geringen Teil der Protozoen-Biomasse dar bedingt durch ihre geringe Größe von 4 – 14 µm (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010). Protozoen ernähren sich hauptsächlich durch die Aufnahme von Bakterien (KOTARSKI ET AL., 1992). Als Abbauprodukte entstehen SCFA, Aminosäuren und NH<sub>3</sub> (JEROCH ET AL., 2008). Zusätzlich spielen die Protozoen bei stärkereichen Rationen eine wichtige Rolle, da sie in der Lage sind durch die Aufnahme von ganzen Stärkekörnern eine schnelle mikrobielle Fermentation und damit verbundene starke pH-Wert Absenkung zu verhindern. Eine starke pH-Wert Absenkung führt zu einer fast vollständigen Elimination der Protozoen aus dem Vormagensystem (Defaunierung), da viele Protozoen pH-Werte unter 6,0 nicht überleben (KOTARSKI ET AL., 1992).

Eine weitere mikrobielle Gruppe sind die Pilze. Im Gegensatz zu den Bakterien und Protozoen liegen zum Vorkommen und ihrer physiologischen Funktion im Pansen weniger umfangreiche Daten vor. Alle bislang nachgewiesenen Pilze sind obligat anaerob. Deren Konzentration liegt bei 10<sup>4</sup> bis 10<sup>5</sup> pro ml Pansenflüssigkeit. Die obligat anaeroben Pilze kommen als Zoosporen in der Pansenflüssigkeit oder in vegetativer Form, dem Sporangium, in Verbindung mit Pflanzenpartikeln vor. Pilze sind in der Lage Zellwände von Pflanzenbestandteilen aufzulockern und erleichtern damit den Zellwandabbau. Des Weiteren können sie ein weites Spektrum von löslichen Kohlenhydraten und pflanzlichen Polysacchariden metabolisieren (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010).

### **2.1.3 Fermentation von Kohlenhydraten**

Kohlenhydrate werden durch mikrobielle Enzyme in den Vormägen zuerst in Poly-, Oligo-, und Disaccharide und letztendlich in Monosaccharide zerlegt und anaerob zu SCFA wie Acetat, Propionat und Butyrat fermentiert. Weitere Endprodukte der Fermentation stellen CH<sub>4</sub> und CO<sub>2</sub> dar (JEROCH ET AL., 2008).

Die Fettsäuren werden über die Pansenschleimhaut resorbiert oder direkt verstoffwechselt. Die Pansengase (40-70% CO<sub>2</sub> und 20-40% CH<sub>4</sub>) hingegen werden über den Ruktus abgegeben (JEROCH ET AL., 2008, BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010). Die CH<sub>4</sub>-Bildung hat zwei wichtige physiologische Funktionen: das Abfangen des H<sub>2</sub>-Überschusses sowie die Reduktion der Gasbildung auf ein Fünftel. Allerdings gehen mit der CH<sub>4</sub>-Bildung auch Verluste an Futtermittelenergie in Höhe von 2-18%

einher. Die Abgabe von CH<sub>4</sub> liegt beim Wiederkäuer bei 50 bis 200 Liter pro Tag (JEROCH ET AL., 2008). Diese CH<sub>4</sub>-Ausscheidung ist mitverantwortlich für die Treibhausgasproduktion und globale Erwärmung (WRIGHT UND KLIEVE, 2011). Von den gesamten CH<sub>4</sub>-Emissionen in der Atmosphäre werden 50% von der Landwirtschaft verursacht (KARAKURT ET AL., 2012), wovon 70-73% auf die mikrobielle Fermentation im Magen-Darm-Trakt der Nutztiere zurückzuführen sind (WRIGHT UND KLIEVE, 2011). Durch die Treibhausgase steigt die globale Temperatur (bis 2030 um 1-2°C) sowie der globale mittlere Meeresspiegel. Zusätzlich hat die globale Erwärmung Auswirkungen auf die Wasserversorgung (MOSS ET AL., 2000). Die Minimierung dieser CH<sub>4</sub>-Emissionen kann einerseits durch verbesserte Effizienz der Pansenfermentation und andererseits durch die Steigerung der Produktivität der Tiere bei Reduktion der Tieranzahl erreicht werden (KARAKURT ET AL., 2012).

#### **2.1.4 Pansenazidose**

Unter physiologischen Bedingungen variiert der pH-Wert während des Tages und wird durch homöostatische Mechanismen im Bereich zwischen 5,5 und 7,0 gehalten (KRAUSE UND OETZEL, 2006). Durch Aufnahme von großen Mengen an Kraftfutter oder anderen leicht verdaulichen Nebenprodukten (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012) entsteht eine Imbalance zwischen Resorption und Bildung der SCFA im Pansen. Dies führt zu einer Akkumulation der SCFA, was eine Reduktion des pH-Wertes zur Folge hat (KRAUSE UND OETZEL, 2006). Diese Störung der Pansenfermentation wird als subakute Pansenazidose bezeichnet (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012). In der Literatur gibt es unterschiedliche Angaben zu den pH-Werten, welche zur Entwicklung einer SARA führen. Diese entsteht bei pH-Werten unter 6,0 (STONE, 2004), 5,8 (BEAUCHEMIN ET AL., 2003) oder zwischen 5,5 und 5,0 (KRAUSE UND OETZEL, 2006). Andere Studien zeigen, dass nicht nur der pH-Wert von Relevanz ist, sondern auch die Dauer der pH-Wert Absenkung. Dabei ist zur Entwicklung einer SARA eine Dauer der pH-Wert Absenkung von täglich 3 bis 5,4 Stunden notwendig (KRAUSE UND OETZEL, 2006, ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012).

Die Pansenazidose wird in 3 Formen eingeteilt: akute, subakute und chronische Pansenazidose. Die akute Pansenazidose tritt nach einer übermäßigen Aufnahme von schnell verdaulichen Kohlenhydraten auf. Diese führt zu einem Rückgang des

pH-Wertes unter 5,2 (KRAUSE UND OETZEL, 2006). Daraufhin produzieren die laktatproduzierenden Bakterien große Mengen an Milchsäure, welche die Tiergesundheit gefährden (STONE, 2004). Hingegen ist die subakute Pansenazidose durch Perioden mit pH-Werten zwischen 5,5 und 5,0 definiert (KRAUSE UND OETZEL, 2006). Bei der chronischen Pansenazidose kommt es zu einer pH-Wert Absenkung in mehreren kurzen Perioden. Die klinischen Symptome treten erst Wochen bis Monate nach Störung der Pansenbedingungen auf (KRAUSE UND OETZEL, 2006).

Die Reduktion des pH-Wertes während der Pansenazidose stört das Pansenmilieu, welches für Mikroben und biologische Prozesse von Bedeutung ist. Die SARA verändert die Zusammensetzung der Pansenmikroben. Durch kraftfutterreiche Rationen steigt die Zahl der laktatproduzierenden Bakterien an, während die Zahl der Bakterien für den Faserabbau reduziert wird. Durch die erhöhte Menge an laktatproduzierenden Bakterien wird die Absorption der SCFA durch die Pansenschleimhaut reduziert (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012). Des Weiteren steigt während der Pansenazidose die Zahl der gram-negativen Bakterien (GNB) wie *Escheria coli* im Panseninhalt. Dies verursacht einen Anstieg von Lipopolysacchariden (LPS), die als bioaktive Zellwandkomponenten der gram-negativen Bakterien gelten. Zusätzlich spielen die Protozoen eine wichtige Rolle bei der Pansenfermentation bei kraftfutterreichen Rationen. Sie beeinflussen die Stärkeverdauung indem die Verdauungsrate verlangsamt und in den Dünndarm verschoben wird. Die mikrobiellen Veränderungen sind eng mit Konzentrationsveränderungen der Metaboliten verbunden. Laktat und Acetat liegen in geringeren Konzentrationen vor, während Propionat und Valerat höhere Konzentrationen aufweisen (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012).

Durch die Akkumulation von SCFA im Pansen (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012) wird das Pansenepithel geschädigt, da die Zellen nicht gegen chemische Schädigungen geschützt sind. Der geringe Pansen-pH-Wert verursacht daher eine Entzündung der Pansenschleimhaut (Ruminitis), was zu Erosion und Ulzeration des Pansenepithels führt (KRAUSE UND OETZEL, 2006). Durch das geschädigte Pansenepithel können Endotoxine und Bakterien in den Blutkreislauf gelangen. Die Bakterien und deren Endotoxine können unter anderem Leber, Lunge, Herz, Niere und Gelenke besiedeln (KRAUSE UND OETZEL, 2006) und verursachen metabolische Krankheiten wie Fettleber, Lungenentzündung, Endokarditis, Arthritis und Klauenrehe (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012).

Das Pansenmilieu wird durch homöostatische Mechanismen reguliert. Durch die aufgeführten mikrobiellen und metabolischen Veränderungen im Pansen während der Pansenazidose wird die Homöostase der Tiere geschädigt. Die gestörte Homöostase bewirkt die Aktivierung der Akute-Phase-Reaktion (APR) und damit verbundenen Aktivierung der Akute-Phase-Proteine Serum-Amyloid A-Proteine (SAA), Haptoglobin (Hp) und Lipopolysaccharide (LPS) durch das Immunsystem (EMMANUEL ET AL., 2008). Diese Entzündungsreaktion dient der Neutralisierung von Endotoxinen und der Wiederherstellung der Homöostase (ZEBELI UND METZLER-ZEBELI, 2012).

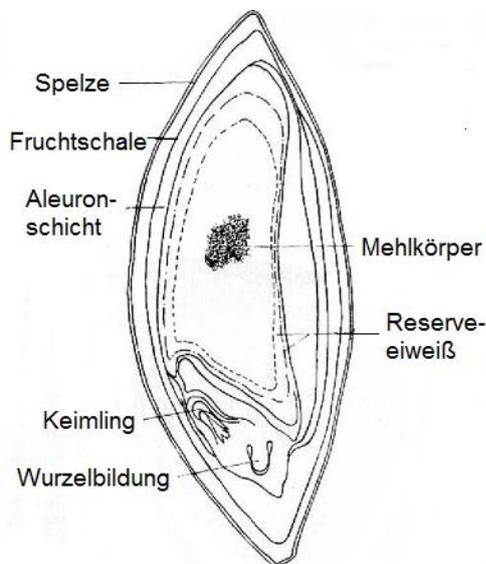
Neben den gesundheitlichen Schäden der Tiere kommt es auch zu wirtschaftlichen Einbußen. Die Verluste entstehen aufgrund der verringerten Milchproduktion, der hohen Tierarztkosten sowie erhöhter Tierverluste. Die Kosten dafür liegen in den USA bei US \$ 1,12 pro Tag und Kuh (ENEMARK, 2007).

## 2.2 Gerste und Gerstebehandlungen

### 2.2.1 Merkmale der Gerste

Gerste (*Hordeum vulgare vulgare L.*) ist mit einer jährlichen Erntemenge von 661.000 t nach Mais und Weizen eine der wichtigsten Getreidearten in Österreich (AMA, 2012). Der hohe Nährwert von Gerste (BAIK UND ULLRICH, 2008) entspricht dem hohen Nährstoffbedarf des Wiederkäuers (NIKKHAH, 2012).

Gerste wird in Sommer- und Wintergerste eingeteilt. Wintergerste wird von September bis Anfang Oktober als zweizellige Form (ca. 60%) und als mehrzellige Form (ca. 40%) angebaut. Die Produktionsfläche beträgt 78.000 ha mit einem durchschnittlichen Hektarertrag von 5,3 t (LEBENS MINISTERIUM, 2013). Die Wintergerste wird größtenteils als Futtergerste innerbetrieblich genutzt oder als Marktfrucht verwendet. Die Sommergerste hingegen wird ausschließlich in zweizelliger Form im Frühjahr kultiviert (AGES, 2012). Die Produktionsfläche beträgt 73.000 ha mit einem durchschnittlichen Hektarertrag von 3,4 t (LEBENS MINISTERIUM, 2013). Sommergerste wird hauptsächlich als Braugerste genutzt und zusätzlich als Futtergerste innerbetrieblich verwertet (AGES, 2012).



**Abbildung 1:** Morphologischer Aufbau der Gerste (FOODNEWS, 2005)

Abbildung 1 zeigt den morphologischen Aufbau der Gerste. Gerste ist eine Schließfrucht (Karopse) mit drei Hauptbestandteilen: Schale, Mehlkörper (Endosperm) und Keimling (Embryo). Das Gewicht der Spelze beträgt 9-13% des Gesamtgewichtes des Getreidekorns. Sie entsteht aus der Fruchtschale (Perikarp) und der Samenschale (Testa). Die Spelze besteht hauptsächlich aus Zellwandkomponenten, Lignin sowie Proteinen und Mineralstoffen. Der überwiegende Bestandteil des Getreidekorns ist der Mehlkörper, welcher sich aus der äußeren Zellschicht (Aleuronschicht) und dem

eigentlichen Mehlkörper (Stärkeendosperm) zusammensetzt. Die Aleuronschicht und das Stärkeendosperm unterscheiden sich aufgrund ihrer Inhaltsstoffe. Die Aleuronschicht enthält keine Stärke und ist reich an Proteinen, Fetten, Vitaminen und

Enzymen. Hingegen ist der wichtigste Inhaltsstoff des Mehlkörpers die Stärke. Ein weiterer essentieller Bestandteil der Gerste ist der Keimling, welcher 3% der gesamten Kornmasse ausmacht. Dieser enthält den größten Anteil an Rohfett und ist reich an Mineralstoffen, Vitaminen und Proteinen (JEROCH ET AL., 2008).

Das gesamte Korn hat folgende Inhaltsstoffe (bezogen auf die Trockenmasse): 57-58% Stärke (ZEBELI ET AL., 2010; HUNTINGTON, 1997), 9-15% Protein (JEROCH ET AL., 2008), 5-6%  $\beta$ -Glukane (AGES, 2012) und 1,5-2,5% Fett (JEROCH ET AL., 2008). Durch den hohen Stärkeanteil stellt Gerste ein geeignetes Krafftuttermittel für Nutztiere dar (JEROCH ET AL., 2008). Die komplexen Kohlenhydrate sowie Stärke decken den hohen Energiebedarf der Tiere. Der Fasergehalt von Gerste liegt bei 11 – 34% (BAIK UND ULLRICH, 2008). Dieser ist stark vom Spelzenanteil abhängig. Gerste nimmt dabei eine Mittelposition zwischen dem stark bespelzten Hafer und unbespelzten Getreidesorten ein (JEROCH ET AL., 2008). Unter allen Getreidesorten weist Gerste die höchsten Gehalte von Nicht-Stärke-Polysacchariden in Form von  $\beta$ -Glukanen (5-6%) auf. Diese sind aufgrund ihrer ungünstigen Wirkung auf den Verdauungstrakt unerwünscht (AGES, 2012). Die Wirkungen von  $\beta$ -Glukanen umfassen die Beeinträchtigung der Verdauung und Resorption sowie eine veränderte Darmmikroflora im vorderen Darmabschnitt (JEROCH ET AL., 2008).

### **2.2.2 Stärke und ihre Verdauung**

Stärke ist das wichtigste Speicherkohlenhydrat in Pflanzen. Dieses ist im Chloroplast der grünen Blätter sowie im Amyloplast von Samen und Knollen enthalten (SAJILATA ET AL., 2006). Stärke ist ein Polysaccharid, welches aus den Monosacchariden Amylopektin (70-80%) und Amylose (20-30%) aufgebaut ist (SAJILATA ET AL., 2006; PEREZ UND BERTOFT, 2010). Amylopektin besteht aus  $\alpha$ -D-(1-4) und  $\alpha$ -D-(1-6) verknüpften Glukosemolekülen. Es stellt eines der längsten Strukturen der Natur dar mit 20 bis 25 verknüpften Glukosemolekülen. Die Amylose hingegen ist ein lineares Polymer mit  $\alpha$ -D-(1-4) verknüpften Glucosemolekülen (SAJILATA ET AL., 2006). Neben den Hauptbestandteilen enthält Stärke zusätzlich geringe Mengen an Proteinen, Fetten und Phosphor (PEREZ UND BERTOFT, 2010).

Die Verdauung von Stärke beginnt im Pansen. Die aufgenommene Stärke wird mikrobiell im Pansen zu SCFA fermentiert. Die Stärke, welche den Abbau im Pansen übersteht, wird im Dünndarm fermentiert (KOCH UND PRIES, 2009). Aufgrund der

Verdaulichkeit wird die Stärke in zwei Typen eingeteilt: nichtresistente Stärke (non-resistant starch, NRS) und pansenresistente Stärke (ruminally resistant starch, RRS). NRS wird durch enzymatische Wirkungen der Pansenmikroben im Pansen zu SCFA abgebaut. Hingegen entgeht RRS der Pansenverdauung und wird im Dünndarm zu Glukose abgebaut (IQBAL ET AL., 2009).

### **2.2.3 Behandlungen mit Milchsäure**

Gerste ist ein sehr guter Protein- und Energielieferant und verfügt über Stärke, die sehr schnell im Pansen abgebaut wird. Diese schnell abbaubare Stärke spielt eine entscheidende Rolle bei Verdauungs- und Stoffwechselproblemen bei Hochleistungskühen. Aus diesem Grund ist es wichtig neue Technologien zu entwickeln, die sowohl die Gesundheit der Tiere verbessern, als auch die Milchleistung erhöhen. IQBAL ET AL. (2009 und 2010) konnten zeigen, dass die Behandlung von Gerste mit Milchsäure positive Effekte auf die Pansenfermentation hatte. In diesen Studien wurde die Gerste mit 0,5%-iger Milchsäure behandelt. Die mit Milchsäure behandelte Gerste (LA-Gerste) hatte positive Effekte auf die Pansenfermentation (Erhöhung des pH-Wertes und Reduzierung der SCFA-Konzentration) und die Leistung (Erhöhung des Milchfettgehaltes) der Tiere (IQBAL ET AL., 2009).

Durch die Behandlung der Gerste mit Milchsäure wurde ein reduzierter pH-Wert ermittelt (IQBAL ET AL., 2009). Dies resultierte aus einer erhöhten Laktatnutzung der laktatverwertenden Bakterien, was geringere Laktatkonzentrationen im Pansen und einen erhöhten Pansen-pH-Wert bewirkte (MAO ET AL., 2008). Neben dem pH-Wert war auch die Dauer der pH-Wert Absenkung für die Entstehung der Pansenazidose von Bedeutung. Die Verfütterung der mit Milchsäure behandelten Gerste bewirkte im Vergleich zur Kontrollgruppe eine verringerte Dauer der pH-Wert Absenkung unter 5,8 im Pansen der Tiere (IQBAL ET AL., 2009). Außerdem bewirkte die LA-Gerste eine Reduktion der SCFA-Konzentrationen im Pansen, was das Risiko der Entwicklung einer Pansenazidose verringerte (IQBAL ET AL., 2009). Des Weiteren wurde der Milchfettgehalt durch die Behandlung von Gerste mit Milchsäure erhöht (IQBAL ET AL., 2009). Der erhöhte Milchfettgehalt wies auf Verbesserung des Pansen-pH-Wertes und der Pansenbedingungen hin (ENJALBERT ET AL., 2008).

Zusätzlich hatte LA-Gerste positive Effekte auf den Energiestatus und die Immunität der Tiere. Die LA-Gerste bewirkte erhöhte Konzentrationen von Glucose, Insulin und Cholesterin im Plasma aufgrund der vermehrten Stärkeverdauung im Dünndarm. Dies wies auf einen verbesserten Energiestatus der Tiere hin (IQBAL ET AL., 2010). Durch geringere Konzentrationen von SAA und Hp bewirkte die Milchsäurebehandlung eine Vorbeugung von Entzündungsreaktionen (IQBAL ET AL., 2010).

#### **2.2.4 Behandlungen mit Milchsäure und Hitze**

IQBAL ET AL. (2011 und 2012) wies positive Effekte der mit Milchsäure und Hitze behandelten Gerste (LAH-Gerste) auf die Pansenbedingungen nach. Die Behandlungen führten zu Verbesserungen des pH-Wertes, der SCFA-Konzentration sowie des Milchfettgehaltes (IQBAL ET AL., 2011) und der Immunität (IQBAL ET AL., 2012).

Die LAH-Gerste führte zu erhöhten pH-Werten in Perioden der intensiven Pansenfermentation (8 Stunden nach der Fütterung). Der Pansen-pH-Wert fiel nicht unter 5,8 (IQBAL ET AL., 2011), was entscheidend für die Vorbeugung gegen Pansenazidose und zur Aufrechterhaltung der Pansengesundheit ist (ZEBELI ET AL., 2008). Zusätzlich bewirkte die behandelte Gerste eine Reduktion der gesamten SCFA-Konzentration, welche bei Erhöhungen des Pansen-pH-Wertes eine entscheidende Rolle spielt (IQBAL ET AL., 2011). Des Weiteren bewirkte die LAH-Gerste durch Verschiebungen der Stärkeverdauung in den Dünndarm eine Erhöhung des Milchfettgehaltes (IQBAL ET AL., 2009). ZEBELI ET AL. (2008) ermittelte bei erhöhten Milchfettgehalten verbesserte Pansenbedingungen. Zusätzlich hatte die Milchsäure- und Hitzebehandlung positive Effekte auf die Immunität der Tiere. Die Endotoxinkonzentration sowie die Konzentrationen von SAA und Hp wurden durch die Fütterung mit LAH-Gerste durch die Verlagerung der Stärkeverdauung in den Dünndarm reduziert (IQBAL ET AL., 2011, IQBAL ET AL., 2012).

### 3. Material und Methoden

#### 3.1 Futterkomponenten

Die untersuchten Futtermischungen bestehen aus 40% Heu, 47% Gerste, 11,5% Sojaextraktionsschrot und 1,5% Mineralfutter (Biomim M 16, Biomim GmbH, Herzogenburg, Österreich)<sup>1</sup>. Die Versuchsrationen wurden auf Basis der Trockensubstanz kalkuliert. Jede Futtermischung enthält 12g Trockensubstanz. Daher ergeben sich unterschiedliche Frischmassegehalte der Versuchsrationen aufgrund der verschiedenen Trockenmassegehalte der unterschiedlichen Behandlungsmethoden der Gerste (Tab. 1).

**Tabelle 1:** Zusammensetzung der Versuchsrationen

	<b>Heu (in g)</b>	<b>Gerste (in g)</b>	<b>Sojaextraktions- schrot (in g)</b>	<b>Mineralfutter (in g)</b>	<b>Frischmasse (in g)</b>
<b>Kontrolle</b>	5.49	6.38	1.53	0.19	13,59
<b>1% Milchsäure</b>		6.67			13,88
<b>5% Milchsäure</b>		6.28			13,49
<b>1% Milchsäure und Hitze</b>		6.33			13,54

Als Kontrolle wurde die Gerste „Eufora“ verwendet. Diese ist eine 2-zellige Wintergerste und wird als Futtergerste verwendet. Neben der Kontrolle mit nativer Gerste (K) wurden folgende drei Behandlungen dieser Gerste mit Milchsäure (lactic acid = LA) durchgeführt: 1%-ige Milchsäure (LA1), 5%-ige Milchsäure (LA5) sowie



**Abbildung 2:** Vorbereitete Nylonsäckchen mit den Futtermischungen

1%-ige Milchsäure mit Hitze (LAH). Die Gerste wurde für 24 Stunden mit einer 1%-igen (LA1) bzw. 5%-igen (LA5) Milchsäurelösung bearbeitet und anschließend 3 Tage bei Raumtemperatur (RT, 20-22°C) getrocknet. Die LAH Behandlung umfasst die Tränkung der Gerste in 1%-iger Milchsäure mit gleichzeitiger Wärmebehandlung (55°C) für 48 Stunden und

nachfolgender Abkühlung bei RT. Um das Rusitec-Inkubationssystem mit den erwähnten Futtermischungen zu befüllen, müssen die Futterkomponenten zuerst auf eine Größe von 2mm gemahlen werden und in Nylonsäckchen (~120 x 65 mm, 150 µm Porengröße, Linker Industrie-Technik, Kassel, Deutschland) gefüllt werden (Abb. 2). Die Zuteilung der Nylonsäckchen mit den verschiedenen Futtermischungen auf die Fermenter 1-12 erfolgte mittels Randomisierung.

### 3.2 Rusitec

Rusitec (RUmen Simulation TEChnique) ist ein Pansensimulationssystem, welches 1976 von CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE entwickelt wurde. Das Rusitec-System ist ein geschlossenes und semi-kontinuierliches Durchflußsystem und erlaubt die Erfassung von mikrobiellen Stoffwechsellleistungen von Bakterien und Protozoen über einen Zeitraum von mehreren Wochen. Dadurch können Rückschlüsse auf *in-vivo* Verhältnisse gezogen werden. Der Pansensaft sowie feste Pansenbestandteile (Digesta) wurden bei einer konstanten Temperatur von 39°C unter anaeroben Bedingungen mit dem entsprechenden Versuchsfutter (12g TS) zur Fermentation gebracht (CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE, 1977). Zur Versuchsdurchführung wurde ein 12-Fermenter-System verwendet, wovon nur 8 Fermenter für diese Studie herangezogen wurden. Für die vorliegende Untersuchung fanden 3 Durchgänge zu je 10 Tagen statt. Je Durchgang waren zwei Wiederholungen pro Futtermischung möglich, was zu insgesamt sechs Wiederholungen je Futtermischung führte.

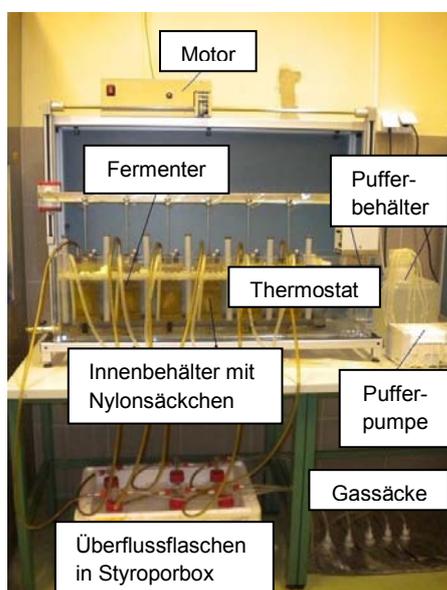


Abbildung 3: Aufbau des Rusitec

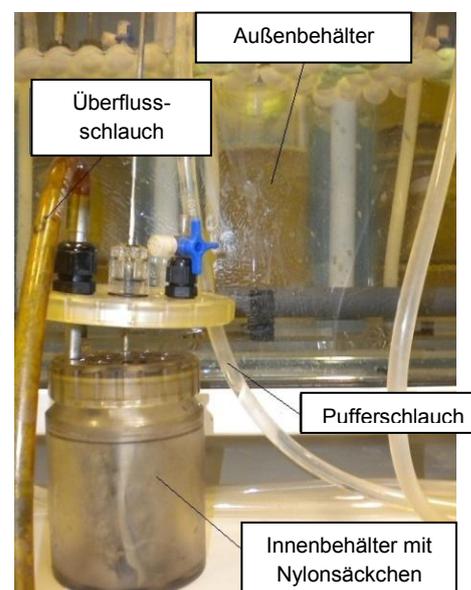


Abbildung 4: Fermenteraufbau

Abbildung 3 zeigt den Aufbau des Rusitec-Systems. Die Fermenter bestanden aus einem Außenbehälter mit einem Fassungsvermögen von 800 ml und einem perforierten Innenbehälter, der zwei Nylonsäckchen mit der jeweiligen Versuchsration beinhaltete (Abb. 4). Die Fermenter befanden sich in einem Wasserbad, das mittels eines Thermostates bei einer Temperatur von 39°C konstant gehalten wurde. Darüber hinaus wurde dieses System durch einen Motor angetrieben, welcher eine Auf- und Abbewegung der Innenbehälter bewirkte. Zur kontinuierlichen Pufferung wurden die Außenbehälter des Fermenter mittels Schlauch über eine 12-Kanal-Pumpe mit dem Pufferbehälter verbunden. Die tägliche Puffermenge lag bei 305,05 ml ( $\pm$  19,35 ml) pro Fermenter. Des Weiteren wurden die Fermenter mit den Überflussflaschen und weiterführend mit den Gassäcken verbunden. In den Überflussflaschen wurde der überschüssige Pansensaft gesammelt und die Fermentation durch zerstoßenes Eis in den Styroporboxen beendet. In den Gassäcken wurde das produzierte Gas gesammelt.

Die Versuchsdurchführung wird in 3 Phasen unterteilt: Tag 0 für die Inokulation des Systems, Tag 1 bis 5 stellt die Adaptionsphase und Tag 6 bis 10 die Analysephase dar. In der Vorbereitungsphase wurden für einen Durchgang 88 Nylonsäckchen (8 Säckchen für die Digesta am Tag 0, 8 Säckchen zur „Fütterung“ für jeden Versuchstag) genäht.

Am Tag der Inokulation wurden der Pansensaft und die Digesta von 2 pansenfistulierten Kühen der Klinik für Wiederkäuer der Veterinärmedizinischen Universität Wien entnommen. Während der Inokulation wurden die Außenbehälter der Fermenter zuerst mit 100 ml Puffer befüllt. Anschließend wurden 600 ml des zuvor filtrierten Pansensaftes in jeden Außenbehälter des Fermenters gefüllt. Die Digesta wurde nach guter Durchmischung in ein Nylonsäckchen gefüllt und zusammen mit einem Nylonsäckchen, gefüllt mit der Versuchsration, in den Innenbehälter des Fermenters gegeben. Nach dem Verschließen des Fermenters wurde dieser 3 Minuten mit Stickstoff (N<sub>2</sub>) gespült. Nach der Stickstoffspülung wurde der Gassack mit der Überflussflasche verbunden. Nach Beendigung der Inokulation aller Fermenter wurde die Pufferpumpe gestartet und die Styroporbox mit den Überflussflaschen mit gestoßenen Eis gefüllt.

Während der Adaptions- und Analysephase wurde das Rusitec-System jeden Tag um 10.00 Uhr „gefüttert“. Vor dem Öffnen des Fermenters wurde dieser für

30 Sekunden mit N<sub>2</sub> gespült, um die produzierten Gase im Gassack zu sammeln. Dazu wurde die Motorik des Systems ausgeschaltet und der Schlauch der Stickstoffflasche an ein Zwischenstück am Probenentnahmeventil am Fermenter montiert. Nach der Spülung wurde der Gassack geschlossen, abgehängt und weggelegt. Der neue Gassack wurde bereit gelegt und blieb noch verschlossen. Nach der Öffnung des Fermenters wurde der Innenbehälter herausgenommen. Das Nylonsäckchen, welches für 48 Stunden fermentiert wurde, wurde herausgenommen und durch ein neues Nylonsäckchen mit der Versuchsration ersetzt. Am ersten Tag wurde das Säckchen mit der Digesta ausgetauscht. Das alte Säckchen wurde mit 40 ml erwärmten Puffer über dem Außenbehälter des Fermenters ausgedrückt, um vorhandene Mikroben auszuspülen und danach entfernt. Das zweite Futtersäckchen wurde aus dem Innenbehälter genommen und zusammen mit dem neuen Futtersäckchen aneinander gedrückt, um das neue Säckchen mit Pansensaft und Mikroben zu durchtränken. Die beiden Futtersäckchen wurden wieder in den Innenbehälter gegeben. Der Fermenter wurde wieder verschlossen und die Überflussflasche gewechselt. Für die Stickstoffspülung wurde der Zuleitungsschlauch des Gassackes mit dem Schlauch der Stickstoffflasche verbunden. Ein dünner Schlauch wurde zur Gasdurchflusskontrolle an ein Zwischenstück des Probeentnahmeventils am Fermenter montiert und in ein Wasser gefülltes Becherglas gehalten. Der Fermenter wurde dann für 3 Minuten mit N<sub>2</sub> gespült. Nach der Spülung wurde der neue Gassack angeschlossen und geöffnet. Nach Beendigung der Fütterung aller Fermenter wurde die Styroporbox täglich mit zerstoßenen Eis gefüllt.

### **3.3 Rusitec Analysen**

Vor Beginn des Versuchs wurde der Gehalt an resistenter Stärke der verschiedenen Behandlungsmethoden mittels RS-Assay (Megazyme International, Wicklow, Ireland) analysiert.

Während des Versuchs wurden folgende Parameter analysiert: Überflussvolumen, pH-Wert, Redoxpotenzial, NH<sub>3</sub>-Konzentration, Gaszusammensetzung und -volumen, Zahl der Bakterien und Protozoen sowie die SCFA-Konzentration.

Zur Analyse des pH-Wertes, des Redoxpotenzials und der NH<sub>3</sub>-Konzentration wurde jeden Tag vor der Fütterung eine Probe des Pansensaftes entnommen. Diese 3

Parameter wurden mittels Elektroden ermittelt. Die pH- und Ammoniak-Elektroden (pH-Meter Seven Multi TM, Mettler-Toledo GmbH, Fa. Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland) wurden vor der Verwendung jeden Tag kalibriert. Das Überflussvolumen wurde jeden Tag während des Fütterns bestimmt, um den Pufferfluss zu kontrollieren und gegebenenfalls anzupassen. Aus dem täglichen Überflussvolumen wurde der durchschnittliche tägliche Pufferfluss aller Fermenter berechnet.



**Abbildung 5:** Messung der Gaszusammensetzung

Die Gaszusammensetzung wurde mit dem Infrarotdetektor (ATEX Biogas Monitor Check BM 2000, Ansyco, Karlsruhe, Deutschland) bestimmt (Abb. 5). Vor der Messung wurde das Gerät mit frischer Luft gespült. Das Gerät wurde mittels Schlauch über ein Durchflussmessgerät mit dem Gassack verbunden. Das Durchfluss-

messgerät kontrolliert die Menge des Gases, welches für die Messung der Gaszusammensetzung verwendet wird. Die Gaszusammensetzung wurde für 30 Sekunden bei möglichst konstanter Durchflussrate (40l/h) gemessen. Nach Messung aller Gassäcke wurde das Gerät wiederholt mit frischer Luft gespült.

Das gesamte Gasvolumen wurde wie folgt bestimmt: verbrauchte Menge für die Messung der Gaszusammensetzung (Durchflussrate mal verbrauchte Zeit der Messung) zuzüglich des Gasvolumens, das mittels der Wasserverdrängungsmethode (Abb. 6) gemessen wurde. Bei dieser Methode wurde der Gassack durch einen Schlauch mit einem abgedichteten Wasserbehälter verbunden (Schlauch 1). Ein weiterer Schlauch, an welchem sich ein Ventil befindet, verband den Wasserbehälter mit einem Messzylinder (Schlauch 2). Zuerst wurden die Ventile am Gassack und am Schlauch 2 geöffnet. Anschließend wurde das Gas aus dem



**Abbildung 6:** Messung des Gasvolumen

Gassack gedrückt, bis Wasser vom Wasserbehälter in den Messzylinder floss. Wenn der Gassack leer war, hörte das Wasser auf zu fließen. Dann wurde der Gassack

sowie das Ventil am Schlauch 2 geschlossen. Das Wasser im Messzylinder entsprach dem Gasvolumen.

Für die Analyse der SCFA wurde jeden Tag vor der Fütterung eine Probe aus dem Pansensaft entnommen und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Nach Abschluss des Experimentes wurden die SCFA mittels Gaschromatographie analysiert. Dabei wurden neben der Gesamtkonzentration der SCFA die molaren Anteile von Acetat, Propionat, Isobutyrat und Butyrat, Isovalerat und Valerat ermittelt.

### 3.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurden das Programm SAS 9.1 und das folgende statistische Modell verwendet:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = abhängige Variable

$\mu$  = gemeinsame Konstante

$\alpha_i$  = variabler Effekt des Durchgangs  $i$ ,  $i = 1, 2, 3$

$\beta_j$  = fixer Effekt der Behandlung  $j$ ,  $j = 1, 2, 3, 4$

$\varepsilon_{ij}$  = Resteffekt

Zur statistischen Analyse wurden jeweils die Mittelwerte der Tage 6 bis 10 aller drei Durchgänge verwendet. Die Auswertung wurde mittels eines randomisierten Verfahrens (CRD = complete random design) mit der mixed procedure durchgeführt. Das randomisierte Verfahren ist einfach anwendbar und eignet sich besonders für Experimente mit einer kleinen Anzahl an Behandlungen. Die Behandlungen wurden zufällig experimentellen Einheiten zugeordnet (NDSU, n.n.). Der multiple Mittelwertsvergleich erfolgte bei Signifikanz ( $p < 0,05$ ) mittels Tukey-Test.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Gehalte an resistenter Stärke

Der Gehalt an resistenter Stärke wurde durch die Milchsäurebehandlung sowie die Milchsäure- und Hitzebehandlung numerisch erhöht (Abb. 7). Die geringsten Gehalte lagen bei der Kontrollgerste vor (0,6% der Gerste-TS). Mit steigender Konzentration der angewandten Milchsäure wurden die Gehalte an resistenter Stärke gesteigert (LA1: 1,6% der Gerste-TS, LA5: 2,8% der Gerste-TS). Die zusätzliche Hitzebehandlung zeigte erhöhte Gehalte im Vergleich zur 1%-igen Milchsäurebehandlung ohne Hitze (LA1: 1,6% der TS, LAH: 2,1% der TS).

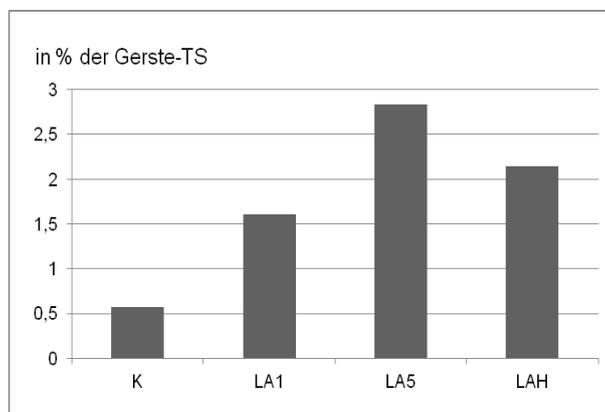


Abbildung 7: Gehalt an resistenter Stärke

### 4.2 pH-Wert, Redoxpotenzial und NH<sub>3</sub>-Konzentration

Hinsichtlich der Parameter pH-Wert, Redoxpotenzial und NH<sub>3</sub>-Konzentration ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Im Gegensatz zum pH-Wert und Redoxpotenzial waren bei der NH<sub>3</sub>-Konzentration numerische Unterschiede erkennbar (Abb. 8). Diese zeigte numerisch verringerte Konzentrationen mit steigender Milchsäurekonzentration (K: 13,9 mmol/L, LA1: 13,2 mmol/L, LA5: 12,2 mmol/L). Die zusätzliche Hitzebehandlung bewirkte eine weitere numerische Reduktion der NH<sub>3</sub>-Konzentration im Vergleich zur reinen Milchsäurekonzentration (LAH: 12,5 mmol/L).

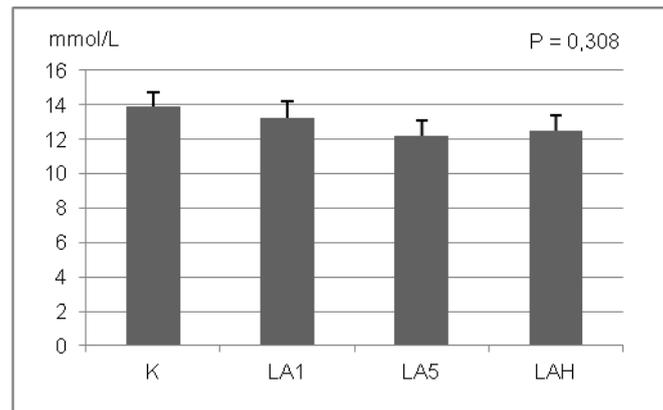


Abbildung 8: NH<sub>3</sub>-Konzentration

### 4.3 Gasvolumen und -zusammensetzung

Die Behandlung der Gerste hatte auch keinen signifikanten Effekt auf das entstandene Gasvolumen. Dennoch waren bei dem täglich gebildeten Gasvolumen ähnliche numerische Veränderungen (Abb. 9) wie bei der NH<sub>3</sub>-Konzentration erkennbar. Die Kontrollgruppe wies das numerisch höchste Gasvolumen auf (2,41 L/Tag). Mit steigender Milchsäurekonzentration ergab sich eine numerische Reduktion des Gasvolumens (LA1: 2,35 L/Tag, LA5: 2,24 L/Tag). Weiteres bewirkte die zusätzliche Hitzebehandlung ein numerisch geringeres Gasvolumen im Vergleich zur reinen Milchsäurebehandlung (LAH: 2,31 L/Tag).

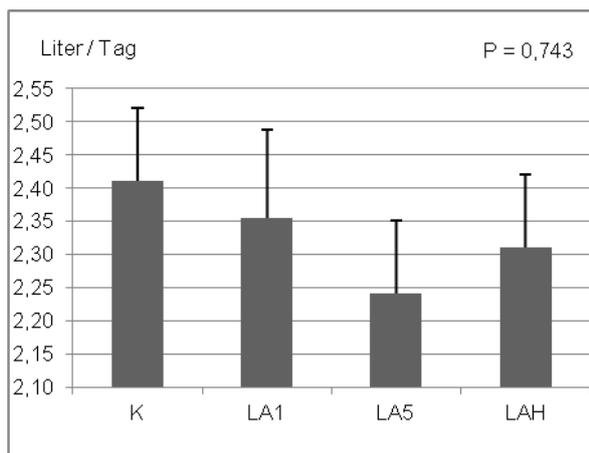


Abbildung 9: Gasvolumen

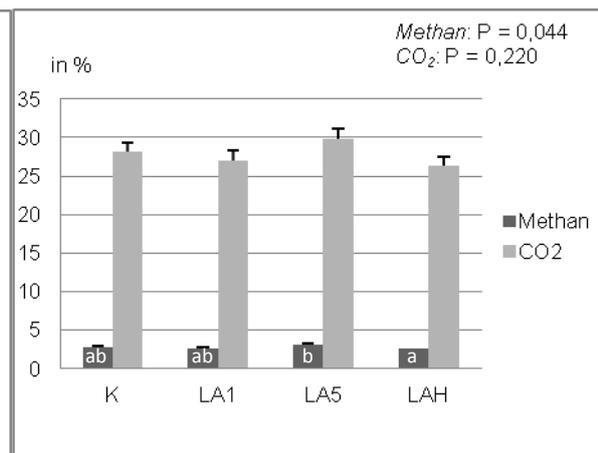


Abbildung 10: Gaszusammensetzung

Die Analyse der Gaszusammensetzung inkludierte die prozentualen Gehalte an CO<sub>2</sub> und CH<sub>4</sub> (Abb.10). Während der CO<sub>2</sub>-Gehalt keine signifikanten Veränderungen aufwies, ergab sich beim Methangehalt ein signifikant höherer Wert bei LA5 im Vergleich zu LAH ( $P > 0,044$ ). Den numerisch höchsten CO<sub>2</sub>-Gehalt wies LA5

(29,9%) auf, gefolgt von der Kontrolle (28,2%). Die numerisch niedrigsten CO<sub>2</sub>-Gehalte lagen bei LA1 (27,0%) und LAH (26,3%) vor.

## 4.4 Anzahl der Mikroben

Hinsichtlich der Zahl der Bakterien und der Protozoen wurden keine signifikanten Effekte durch die Behandlung der Gerste beobachtet, allerdings lassen sich numerische Veränderungen erkennen. Abbildung 11 zeigt die Konzentrationsänderung der Bakterien durch die Behandlung der Gerste mit Milchsäure. Je höher die Konzentration der zur Behandlung verwendeten Milchsäure, umso höher lag die Zahl der Bakterien (K:  $1,34 \times 10^9$ /ml, LA1:  $1,34 \times 10^9$ /ml, LA5:  $1,53 \times 10^9$ /ml). Die zusätzliche Hitzebehandlung bewirkte eine numerische Reduktion der Zahl der Bakterien ( $1,30 \times 10^9$ /ml).

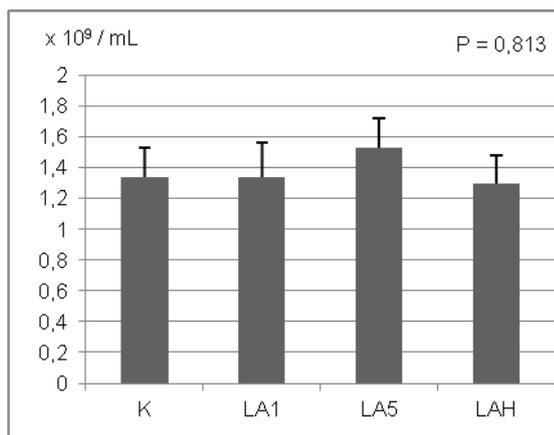


Abbildung 11: Bakterienkonzentrationen

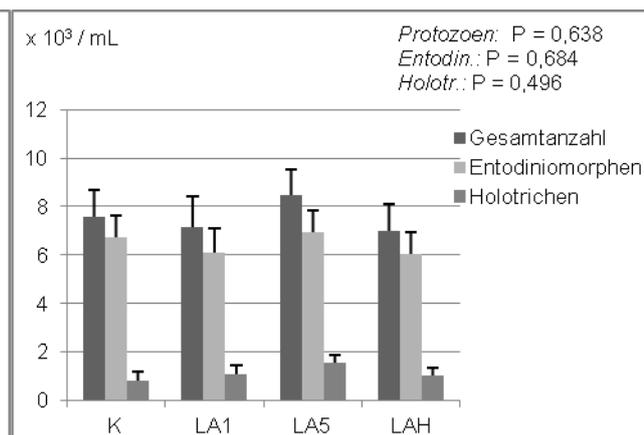


Abbildung 12: Protozoenkonzentrationen

Ähnliche numerische Veränderungen ergaben sich auch bei der Zahl der Protozoen (Abb.12). Die Milchsäurebehandlung der Gerste bewirkte bei höheren Milchsäurekonzentrationen eine numerische Steigung der Zahl der Protozoen (K: 7,58 mmol/L, LA1: 7,17 mmol/L, LA5:  $8,46 \times 10^3$ /ml). Die zusätzliche Hitzebehandlung ergab eine numerische Reduktion der Zahl der Protozoen ( $7,0 \times 10^3$ /ml). Die entodiniomorphen Protozoen wiesen dieselben numerischen Veränderungen, wie die Gesamtzahl der Protozoen auf. Die numerisch höchste Zahl der an entodiniomorphen Protozoen lag bei LA5 vor ( $6,93 \times 10^3$ /ml) während die zusätzliche Hitzebehandlung eine numerische Reduktion bewirkte ( $6,05 \times 10^3$ /ml). Holotriche Protozoen zeigten ebenfalls die numerisch höchste Zahl bei LA5

( $1,53 \times 10^3/\text{ml}$ ), jedoch lag die numerisch geringste Zahl der holotrichen Protozoen in der Kontrollgruppe vor ( $0,83 \times 10^3/\text{ml}$ ).

## 4.5 SCFA-Konzentrationen

Hinsichtlich der SCFA-Konzentrationen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Behandlungen (Abb. 13). Die numerisch höchste SCFA-Konzentration lag in der Kontrollgruppe (127,3 mmol/L) vor. Die steigende Milchsäurekonzentration bei der Behandlung von Gerste bewirkte eine numerische Senkung der SCFA-Konzentration (LA1: 118,5 mmol/L, LA5: 115,3 mmol/L). Die mit Milchsäure und Hitze behandelte Gerste wies im Vergleich zur reinen Milchsäurebehandlung eine numerisch erhöhte Konzentration auf (126,4 mmol/L). Die Konzentrationen von Acetat und Isobutyrat wurden mit steigender Milchsäurebehandlung numerisch verringert (Acetat K: 64,32 mmol/L, LA1: 58,6 mmol/L, LA5: 55,8 mmol/L; Isobutyrat K: 2,8 mmol/L, LA1: 1,4 mmol/L, LA5: 1,3 mmol/L). Die zusätzliche Hitzebehandlung führte zu einer numerischen Steigerung der Konzentrationen im Vergleich zur reinen Milchsäurebehandlung (Acetat: 62,1 mmol/L, Isobutyrat: 1,6 mmol/L). Die Propionatkonzentration wurde aufgrund der Milchsäurebehandlung kaum verändert, während die Hitzebehandlung zu einer numerischen Erhöhung führte (Propionat K: 26,5 mmol/L, LA1: 25,2 mmol/L, LA5: 25,8 mmol/L, LAH:29,8 mmol/L).

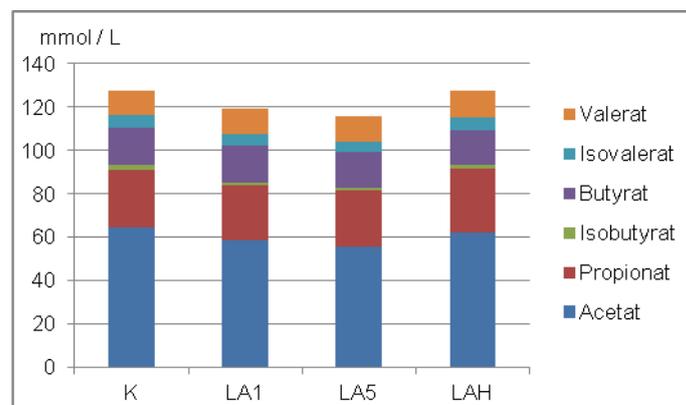


Abbildung 12: SCFA-Konzentrationen

## 4.6 Zusammenfassung

Tabelle 2 zeigt alle während des Rusitec-Versuchs ermittelten Ergebnisse. Diese wurden bereits in vorherigen Kapiteln genauer erklärt. Es wurden bei dem vorliegenden Versuch keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich pH-Wert, Redoxpotenzial, NH<sub>3</sub>-Konzentration, Zahl der Protozoen und Bakterien, Gasvolumen, CO<sub>2</sub>-Gehalt sowie SCFA-Konzentration ermittelt. Beim CH<sub>4</sub>-Gehalt wurden signifikant höhere Werte bei LA5 im Vergleich zu LAH beobachtet.

**Tabelle 2: Effekte der Milchsäurebehandlung auf die Pansenfermentation (n=6, außer \* n=5)**

Signifikante Unterschiede durch Buchstaben (a, b) gekennzeichnet (P < 0,05)

	Kontrolle	Milchsäure		Milchsäure und Hitze	Standardfehler	P-Wert
		1%	5%	1%		
<b>pH</b>	6,7	6,71	6,72	6,71	0,02	0,74
<b>Redoxpotenzial (mV)</b>	-204,4	-202,4	-203,2	-198,5	3,62	0,43
<b>Ammoniak (mmol/L)</b>	13,9	13,2	12,2	12,5	0,96	0,31
<b>Gasvolumen (L)</b>	2,41	2,35	2,24*	2,31	0,13	0,74
<b>Gaszusammensetzung (%)</b>						
<i>Methan</i>	2,75 <sup>ab</sup>	2,52 <sup>ab</sup>	3,1 <sup>a</sup>	2,51 <sup>b</sup>	0,17	0,04
CO <sub>2</sub>	28,2	27,0	29,9*	26,3	1,38	0,22
<b>Kurzkettige Fettsäuren (mmol/L)</b>	127,3	118,5	115,3	126,4	6,8	0,43
<i>Acetat</i>	64,3	58,6	55,8	62,1	4,34	0,44
<i>Propionat</i>	26,5	25,2	25,8	29,8	5,14	0,79
<i>Iso-Butyrat</i>	2,8	1,4	1,3	1,6	0,61	0,28
<i>Butyrat</i>	16,99	17,0	16,4	16,0	1,94	0,96
<i>Iso-Valerat</i>	5,5	5,1	4,7	5,4	0,55	0,40
<i>Valerat</i>	11,5	11,9	11,8	12,4	0,89	0,89
<b>Bakterien (x 10<sup>9</sup> / mL)</b>	1,341	1,338	1,5	1,3	0,23	0,81
<b>Protozoen (x 10<sup>3</sup> / mL)</b>						
<i>Gesamtanzahl</i>	7,6	7,1	8,5	7,0	1,26	0,64
<i>Holotrichen</i>	0,8	1,1	1,5	1,0	0,41	0,5
<i>Entodiniomorphen</i>	6,7	6,1	6,9	6,0	0,1	0,68

## 5. Diskussion

Aufgrund begrenzter Literatur zur Behandlung von Gerste mit Milchsäure wurden zum Vergleich Studien mit organischen Säuren verwendet. Organische Säuren stellen jedoch aufgrund der hohen Kosten sowie gesundheitlicher Risiken für Mensch und Tier (DEHGHAN-BANADAKY ET AL., 2007) keine Alternative zur Milchsäure dar.

### 5.1 Gehalte an resistenter Stärke

Der Gehalt an resistenter Stärke wurde durch die Milchsäurebehandlung sowie die Milchsäure- und Hitzebehandlung unwesentlich erhöht. Resistente Stärke entgeht vermehrt der Pansenverdauung und wird erst in späteren Verdauungsabschnitten abgebaut (IQBAL ET AL., 2009). Die Verschiebung der Stärkeverdauung in die Darmabschnitte lässt ein reduziertes Gasvolumen und einen reduzierten  $\text{CH}_4$ -Gehalt sowie reduzierte  $\text{NH}_3$ - und SCFA-Konzentrationen erwarten. In welchem Ausmaß eine Verschiebung der Stärkeverdauung in den Dünndarm zu erwarten ist, kann durch die Anwendung des Rusitec-Systems nicht beurteilt werden. Dafür sind *in situ* und *in vivo* Versuche notwendig.

### 5.2 $\text{NH}_3$ -Konzentration

Ammoniak entsteht als Endprodukt der mikrobiellen Fermentation von Futterproteinen im Pansen (JEROCH ET AL., 2008). Das von den Mikroben gebildete  $\text{NH}_3$  wird in die Pansenflüssigkeit abgegeben (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010). Ammoniak stellt bereits in geringen Konzentrationen ein Zellgift dar. Daher wird überschüssiges  $\text{NH}_3$  in der Leber in Harnstoff umgewandelt und entweder über den Urin und die Milch ausgeschieden oder in den Pansen rezirkuliert, um dort den Mikroben als Stickstoffquelle zur Verfügung zu stehen (ruminohepatischer Kreislauf). Hohe  $\text{NH}_3$ -Konzentrationen im Pansen führen daher zu Stoffwechselbelastungen des Tieres (KIRCHGEßNER, 2011). Dadurch verbessern reduzierte  $\text{NH}_3$ -Konzentrationen das Pansenmilieu (WOHLT ET AL., 1976) und könnten der Entwicklung einer Pansenazidose vorbeugen.

In der vorliegenden Studie konnte keine signifikante Veränderung der  $\text{NH}_3$ -Konzentration ermittelt werden. In einer Studie von KHAMPA UND WANAPAT (2007) führte die Zugabe der organischen Säure Malat zur Erhöhung der mikrobiellen Proteinbildung in semikontinuierlichen und kontinuierlichen Versuchssystemen. Andererseits konnte keine Veränderung der  $\text{NH}_3$ -N-Konzentration ermittelt werden. Diese Ergebnisse resultierten aus der Zusammensetzung der verschiedenen Versuchsrationen sowie den Unterschieden im Versuchsaufbau.

### **5.3 Gasvolumen und –zusammensetzung**

Das im Pansen gebildete Gas entsteht bei der Fermentation von Kohlenhydraten (JEROCH ET AL., 2008). Erhöhte Gehalte an resistenter Stärke und damit verbundener Verschiebung der Stärkeverdauung in spätere Verdauungsabschnitte würde auf eine Reduktion des Gasvolumens hinweisen. Dies konnte in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden.

Die während der Pansenfermentation gebildeten Gase  $\text{CO}_2$  und  $\text{CH}_4$  tragen maßgeblich zur globalen Erwärmung bei (MOSS ET AL., 2000). Die Landwirtschaft verursacht 21-25% der gesamten anthropogenen  $\text{CO}_2$ -Emissionen und 60% der anthropogenen  $\text{CH}_4$ -Emissionen (WATSON ET AL., 1992). Große Anteile landwirtschaftlicher  $\text{CH}_4$ -Emissionen entstehen bei der Pansenfermentation von Wiederkäuern. Daher ist eine Reduktion der  $\text{CH}_4$ -Bildung um 10-15% wichtig, um einer Steigerung der atmosphärischen  $\text{CH}_4$ -Konzentration vorzubeugen (MOSS ET AL., 2000).

Die Ergebnisse hinsichtlich des  $\text{CO}_2$ -Gehaltes der vorliegenden Studie decken sich nicht mit den Resultaten anderer Studien, in denen andere organischen Säuren zur Ration zugegeben wurden. Dabei wurde eine Reduktion des  $\text{CO}_2$ -Gehaltes durch die Zugabe von Malat und Fumarat ermittelt (CASTILLO ET AL., 2004). Dies resultiert aus der erhöhten  $\text{CO}_2$ -Bildung der Bakterien durch die Zugabe der organischen Säuren (MARTIN, 1998).

Der  $\text{CH}_4$ -Gehalt zeigt signifikante Unterschiede zwischen LA5 und LAH. Die reduzierte  $\text{CH}_4$ -Bildung resultiert aus der Verschiebung der Fermentation in hintere Verdauungsabschnitte und damit verbundener geringerer Fermentationsaktivität im Pansen (GARCIA-GONZALEZ ET AL., 2008). Dies erklärt sich durch einen erhöhten Gehalt an pansenresistenter Stärke, da diese der Pansenverdauung entgeht und erst

im Dünndarm abgebaut wird (IQBAL ET AL., 2009). Reduzierte CH<sub>4</sub>-Gehalte im Pansen konnten bereits durch die Zugabe von organischen Säuren gezeigt werden. Durch Zugabe von Malat und Aspartat wurde die CH<sub>4</sub>-Produktion um 20% (JALC ET AL., 2002) sowie von Fumarat um 17% reduziert (CASTILLO ET AL., 2004).

Des Weiteren wird die CH<sub>4</sub>-Bildung durch die SCFA-Muster beeinflusst. Während die Acetatkonzentration im Pansen die CH<sub>4</sub>-Bildung fördert, senkt die Propionatkonzentration die CH<sub>4</sub>-Bildung (MOSS ET AL., 2000). Dies konnte in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden, da die Acetat- und Propionatkonzentration keine signifikanten Unterschiede zwischen den 4 Futtermischungen aufwies. In anderen Studien konnte die Gerstebehandlung mit 0,5%-iger Milchsäure sinkende Acetatkonzentrationen und steigende Propionatkonzentrationen bewirken (IQBAL ET AL., 2009), während bei der Gerstebehandlung mit 1%-iger Milchsäure und zusätzlicher Hitze entgegengesetzte Ergebnisse ermittelt wurden (IQBAL ET AL., 2011). Dies könnte auf einen verringerten CH<sub>4</sub>-Gehalt bei 0,5%-iger Milchsäure und einen erhöhten CH<sub>4</sub>-Gehalt bei zusätzlicher Hitzebehandlung hinweisen. Dies deckt sich jedoch nicht mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie mit signifikant reduzierten CH<sub>4</sub>-gehalten im Falle einer Behandlung der Gerste mit Milchsäure und Hitze.

## 5.4 Zusammensetzung der Mikroben

Die Zusammensetzung der Mikroben wird durch die Fütterung beeinflusst. Bei raufutterreichen Rationen ist eine sehr vielfältige Gesamtflora anzutreffen, während bei kraffutterreicher Fütterung die Zahl der Mikroorganismen stark erhöht sein kann, dabei aber die Artenvielfalt vermindert ist (PFEFFER, 1987).

In der vorliegenden Studie konnten keine signifikanten Ergebnisse hinsichtlich der Mikrobenzahl gezeigt werden. Dies könnte auf unveränderte Lebensbedingungen der Mikroben durch die Milchsäurebehandlung hinweisen. Andere Studien zeigten bei der Zugabe von organischen Säuren entgegengesetzte Ergebnisse. Bei der Zugabe von Fumarat wurde die Anzahl der Protozoen im künstlichen Pansen reduziert (LOPEZ ET AL., 1999). Diese Ergebnisse wurden bei der Zugabe von Malat und Aspartat teilweise bestätigt. Dabei konnte eine signifikante Reduktion der *Entodinium spp.* bei Zugabe von Aspartat sowie der *D. Ruminantium* bei Zugabe von Aspartat

und Malat ermittelt werden (JALC ET AL., 2002). NEWBOLD ET AL. (1996) beobachteten in einem *in vivo* Versuch bei der Zugabe von täglich 100 mg Malat erhöhte Bakterienanzahlen. Darüberhinaus bewirkte die Zugabe von Fumarat eine erhöhte Zahl von cellolytischen Bakterien (LOPEZ ET AL., 1999).

## 5.5 SCFA-Konzentrationen

Kurzkettige Fettsäuren entstehen aus der mikrobiellen Fermentation von Kohlenhydraten im Pansen. Die Zusammensetzung der SCFA ist von der Rationszusammensetzung abhängig. Sie wird vor allem durch die Art und Menge der mit dem Futter aufgenommenen Kohlenhydrate beeinflusst. Stärkereiche Rationen reduzieren die Acetatkonzentration während die Propionatkonzentration steigt (BREVES UND LEONHARD-MAREK, 2010).

In der vorliegenden Studie wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich der SCFA-Konzentrationen in der Fermenterflüssigkeit aufgrund der Milchsäurebehandlungen ermittelt. Ähnliche Ergebnisse wurden bei Studien mit organischen Säuren wie Malat und Aspartat ermittelt. In diesem Experiment wurden auch keine Veränderungen der Gesamt-SCFA-Konzentration durch Zugabe der organischen Säuren beobachtet (JALC ET AL., 2002). Im Gegensatz dazu stehen signifikant reduzierte SCFA-Konzentrationen bei einer Gerstebehandlung mit 0,5%-iger Milchsäure sowie 1%-iger Milchsäure mit Hitze (K: 138,7 mmol/L, LAH: 134,8 mmol/L) (IQBAL ET AL., 2009 und 2010). Die reduzierten SCFA-Konzentration resultierte aus erhöhten RRS-Gehalten (+ 17,7%) und geringeren NRS-Gehalten (-8%). Der größte Anteil von RRS entgeht der Verdauung im Pansen und wird erst im Dünndarm verdaut, um dort Glukose und SCFA dem Tier zur Verfügung zu stellen (REYNOLDS, 2006). Dies bewirkt eine Reduktion der SCFA-Konzentrationen im Pansen, was auf ein verringertes Risiko für Pansenazidose hinweist (IQBAL ET AL., 2009).

Darüberhinaus decken sich die nicht signifikanten Ergebnisse hinsichtlich der einzelnen SCFA-Konzentrationen mit den Ergebnissen anderer Studien. JALC ET AL. (2002) haben durch die Zugabe von organischen Säuren wie Malat und Aspartat keine Veränderung der Acetat- und Butyratkonzentration beobachtet. Andere Studien zeigen entgegengesetzte Ergebnisse. Dabei konnten bei einer

Behandlung von Gerste mit 0,5%-iger Milchsäure sinkende Acetatkonzentrationen (von 67,0% auf 63,9% der gesamten SCFA) sowie steigende Propionatkonzentrationen (von 18,8% auf 21,4% der gesamten SCFA) festgestellt werden (IQBAL ET AL., 2009). Steigende Propionatgehalte konnten ebenfalls bei Zugabe von organischen Säuren wie Malat (CASTILLO ET AL., 2004, JALC ET AL., 2002), Fumarat (KHAMPA UND WANAPAT, 2007) sowie Aspartat (JALC ET AL., 2002) ermittelt werden. IQBAL ET AL. (2011) beobachteten beim Einsatz von mit Milchsäure und Hitze behandelte Gerste steigende Acetat-, (K: 78,3 mmol/l, LAH: 79,2 mmol/L) und Butyratkonzentrationen (K: 17,8 mmol/L, LAH: 20,9 mmol/L) sowie reduzierte Propionatkonzentrationen (K: 34,7 mmol/L, LAH: 27,4 mmol/L).

## 6. Schlussfolgerung

Die Behandlung der Gerste mit Milchsäure hatte keinen Einfluss auf die  $\text{NH}_3$ -Konzentration, das Gasvolumen, den  $\text{CO}_2$ -Gehalt, die Zahl der Bakterien und Protozoen sowie die SCFA-Konzentration. Die mit Milchsäure und Hitze behandelte Gerste hatte im Vergleich zur Gerste, die mit 5%-iger Milchsäure behandelt wurde, einen signifikant geringeren Methangehalt zur Folge.

Um besser beurteilen zu können, ob Behandlungstechnologien von Gerste unter Einsatz von Milchsäure das Risiko für die Entwicklung einer Pansenazidose verringern, müssen jedoch noch weitere *in situ* und *in vivo* Studien durchgeführt werden.

## 7. Zusammenfassung

**Schlagwörter:** *Pansenfermentation, subaktue Pansenazidose (SARA), Rusitec (Pansensimulationsmodell), Gerste, Stärkeverdauung, Milchsäure, Hitzebehandlung*

Zur Evaluierung der Effekte von mit Milchsäure und Hitze behandelter Gerste auf die Pansenfermentation wurde das Pansensimulationssystem Rusitec verwendet. Zur Versuchsdurchführung wurde ein 12-Fermenter-System verwendet, wovon nur 8 Fermenter für diese Studie herangezogen wurden. Für die vorliegende Untersuchung fanden 3 Durchgänge zu je 10 Tagen statt. Je Durchgang waren zwei Wiederholungen pro Futtermischung möglich, was zu insgesamt sechs Wiederholungen je Futtermischung führt. Die Behandlungsmethoden umfassen neben der Kontrolle mit der Gerste „Eufora“ folgende drei Behandlungen dieser Gerste mit Milchsäure: 1%-ige Milchsäure 24h (LA1), 5%-ige Milchsäure 24h (LA5) sowie 1%-ige Milchsäure mit zusätzlicher Hitzebehandlung bei 55°C 48h (LAH). Vor Beginn des Versuches wurde der Gehalt an resistenter Stärke der verschiedenen Behandlungsmethoden ermittelt. Zur Analyse der Pansenfermentation wurden während des Versuchs folgende Parameter analysiert: pH-Wert, Redoxpotenzial, NH<sub>3</sub>-Konzentration, Anzahl der Bakterien und Protozoen, Gasvolumen und -zusammensetzung sowie die Konzentrationen der kurzkettigen Fettsäuren (SCFA).

Die Ergebnisse zeigen geringe Veränderungen der Pansenfermentation durch die Milchsäurebehandlung sowie die Milchsäure- und Hitzebehandlung. Es konnten bei den folgenden Parametern keine signifikanten Unterschiede ermittelt werden: NH<sub>3</sub>-Konzentration, Gasvolumen, CO<sub>2</sub>-Gehalt, Zahl der Bakterien und Protozoen sowie SCFA-Konzentration. Die mit Milchsäure und Hitze behandelte Gerste hatte im Vergleich zur Gerste, die mit 5%-iger Milchsäure behandelt wurde, einen signifikant geringeren Methangehalt zur Folge.

## 8. Literaturverzeichnis

**AGES (Hrsg.), 2012.** Österreichische Beschreibende Sortenliste 2013 Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2013, ISSN 1560-635X.

**AMA (2013).** Marktbericht der Agrarmarkt Austria für den Bereich Getreide und Ölsaaten. 2.Auflage, 4-5.

**BAIK B.-K. UND ULLRICH S.E. (2008).** Barley for food: Characteristics, improvement, and renewed interest. *Journal of Cereal Science* 48, 233-242.

**BEAUCHEMIN K.A., YANG W.Z. UND RODE M.I. (2003).** Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, rumen fermentation and milk production. *Journal of Dairy Science* 86, 630-643.

**BREVES, G. UND LEONHARD-MAREK, S. (2010).** Verdauungsvorgänge in den Vormägen. In: VON ENGELHARDT, W. (Hrsg.). *Physiologie der Haustiere*. 3., vollständig überarbeitete Auflage, Hannover, Enke Verlag, 380-389.

**CASTILLO C., BENEDITO J.L., MÉNDEZ J., PEREIRA V., LOPEZ-ALONSO M., MIRANDA M. UND HERNÁNDEZ J. (2004).** Organic acids as a substitute for monensin in diets for beef cattle. *Animal Feed Science and Technology* 115, 101-116.

**CZERKAWSKI J.W. UND BRECKENRIDGE G. (1977).** Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *British Journal of Nutrition* 38, 371 – 384.

**DEHGHAN-BANADAKY M., CORBETT R. UND OBA M. (2007).** Effects of barley grain processing on productivity of cattle. *Animal Feed Science and Technology* 137, 1-24.

**EMMANUEL D.G.V., DUNN S.M. UND AMETAJ B.N. (2008).** Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91, 606-614.

**ENEMARK J.M.D. (2007).** The monitoring, prevention and treatment of sub-acute ruminal acidosis (SARA): A review. *The Veterinary Journal* 176, 32-43.

**ENJALBERT F., VIDEAU Y., NICOT M.C. UND TROEGELER-MEYNADIER A. (2008).** Effects of induced subacute ruminal acidosis on milk fat content and milk fatty acid profile. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92, 284-291.

**FOODNEWS (2005).** Braugerste – Rohstoffe für die Bierherstellung. [http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/30\\_produkte/Bier\\_Rohstoffe\\_Gerste.html](http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/30_produkte/Bier_Rohstoffe_Gerste.html) (16.04.2013).

**GARCIA-GONZALEZ R., LOPEZ S., FERNANDEZ M., BODAS R. UND GONZALEZ J.S. (2008).** Screening the activity of plants and spices for decreasing ruminal methane production *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology* 147, 36-52.

**HUNTINGTON G.B (1997).** Starch utilization by ruminants: From Basics to the Bunk. *Journal of Animal Science* 75, 852-867.

**IQBAL S., ZEBELI Q., MAZZOLARI A., DUNN S.M. UND AMETAJ B.N. (2012).** Barley grain-based diet treated with lactic acid and heat modulated plasma metabolites and acute phase response in dairy cows. *Journal of Animal Science* 90, 3143-3152.

**IQBAL S., TERRILL S.J., ZEBELI Q., MAZZOLARI A., DUNN S.M., YANG W.Z. UND AMETAJ B.N. (2011).** Treating barley grain with lactic acid and heat prevented sub-acute ruminal acidosis and increased milk fat content in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 172, 141-149.

**IQBAL S., ZEBELI Q., MAZZOLARI A., DUNN S.M. UND AMETAJ B.N. (2010).** Feeding rolled barley grain stepped in lactic acid modulated energy status and innate immunity in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93, 5147-5156.

**IQBAL S., ZEBELI Q., MAZZOLARI A., BERTONI G., DUNN S.M., YANG W.Z. UND AMETAJ B.N. (2009).** Feeding barley grain stepped in lactic acid modulates rumen fermentation patterns and increases milk fat content in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92, 6023-6032.

**JALC D., KISIDAYOVÀ S. UND NERUD F. (2002).** Effect of plant oils and organic acids on rumen fermentation *in vitro*. *Folia Microbiologica* 47, 171-177.

**JEROCH H., DROCHNER W. UND SIMON O. (2008).** Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere: Ernährungsphysiologie, Futtermittelkunde, Fütterung. Stuttgart, UTB, 2.Auflage, 125-131 und 199-207.

**KARAKURT I., AYDIN G. UND AYDINER K. (2012).** Sources and mitigation of methane emissions by sectors: A critical review. *Renewable Energy* 39, 40-48.

**KASKE M. (2010).** Vormagenmotorik und Ingestapassage. In: VON ENGELHARDT, W. (Hrsg.). Physiologie der Haustiere. 3., vollständig überarbeitete Auflage, Hannover, Enke Verlag, 379-389.

**KHAMPA S. UND WANAPAT M. (2007).** Manipulation of rumen fermentation with organic acids supplementation in ruminants raised in tropics. Pakistan Journal of Nutrition 6, 20-27.

**KHOL-PARISINI A. UND ZEBELI Q. (2012).** Die Milchkuh im Spannungsfeld zwischen Leistung, Gesundheit und Nährstoffeffizienz. 39.Viehwirtschaftliche Fachtagung 2012, 43-50.

**KIRCHGEBNER M., ROTH F.X. SCHWARZ F.J. UND STANGL G.I. (2011).** Tierernährung. Frankfurt, DLG-Verlag. 13., neu bearbeitete Auflage.

**KOCH C. UND PRIES M. DR. (2009).** Wie viel Stärke braucht die Kuh? <http://www.hofgut-neumuehle.de/035.Fachinformationen/01.Rinder/pdfs/2009-staerke-milchkuh.pdf> (29.03.2013).

**KOTARSKI S.F., WANISKA R.D. UND THURN K.K. (1992).** Starch hydrolysis by the ruminal microflora. The Journal of Nutrition 122, 178 – 190.

**KRAUSE K.M. UND OETZEL G.R. (2006).** Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. Animal Feed Science and Technology 126, 215-236.

**LEBENSMINISTERIUM (2013).** Getreideanbau und Getreidearten in Österreich. <http://www.lebensministerium.at/land/produktion-maerkte/pflanzliche-produktion/getreide/Getreide.html> (29.03.2013).

**LOPEZ S., VALDES C., NEWBOLD C.J. UND WALLACE R.J. (1999).** Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation in vitro. British Journal of Nutrition 81, 59-64.

**MAO S.Y., ZHANG G. UND ZHU W.Y. (2008).** Effect of disodium fumarate on ruminal metabolism and rumen bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis og 16S ribosomal DNA. Amino Acid Feed science and Technology 140, 293-306.

**MARTENS H. (2010).** Entwicklung der Vormägen. In: VON ENGELHARDT, W. (Hrsg.). Physiologie der Haustiere. 3., vollständig überarbeitete Auflage, Hannover, Enke Verlag, 379-380.

**MARTIN S.A. (1998).** Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: A review. Journal of Animal Science 76, 3123-3132.

**MOSS A.R., JOULANY J.-P. UND NEWBOLD J. (2000).** Methane production by ruminants: its contribution to global warming. Annales de Zootechnie 49, 231-253.

**NEWBOLD C.J., WALLACE R.J. UND Mc INTOSH F.M. (1996).** Mode of action of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a feed additive for ruminants. British Journal of Nutrition 76, 249-261.

**NIKKAH A. (2012).** Barley grain for ruminants: a global treasure or tragedy. Journal of Animal Science and Biotechnology 2012 vol. 3, 3-22.

**ÖSTMAN E.M., NILSSONT M., LILBERG H.G.M., MOLIN G. UND BJÖRCK I.M.E. (2002).** On the effect of lactic acid on blood glucose and insulin response to cereal products: mechanistic studies in healthy subjects and in vitro. Journal of Cereal Science 36, 339-346.

**PEREZ S. UND BERTOFT B. (2010).** The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. Starch Journal 62, 389-420.

**PFEFFER E. (1987).** Protein- und Energiestoffwechsel. In: SCHEUNERT A. und TRAUTMANN A. (Hrsg.). Lehrbuch der Veterinärphysiologie. 7.Aufl., Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey.

**REYNOLDS C.K. (2006).** Production and metabolic effects of site of starch digestion in dairy cattle. Animal Feed Science and Technology 130, 78-92.

**SAJILATA M.G., SINGHAL R.S. UND KULKARNI P.R. (2006).** Resistent starch – a review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 2006 vol. 5, 1-17.

**STONE W.C. (2004).** Nutritional Approaches to Minimize Subacute Ruminal Acidosis and Laminitis in Dairy Cattle. Journal of Dairy Science 87, E13-E26.

**STEINWIDDER A. DR. UND KNAUS W.F. AO. UNIV. PROF. DR. (2007).** Wiederkäuergerechte Fütterung – die Besonderheiten der Verdauung beim Rind. Sonderbeilage „Der fortschrittliche Landwirt“, Nr. 5, 1-8.

**WATSON R.T., MEIRA FILHO L.G., SANHUEZA E. UND JANETOS T. (1992).** Sources and Sinks. In: HOUGHTON J.T., CALLANDER B.A. und VARNEY S.K. (Hrsg.). Climate Change. Cambridge, Cambridge University Press 1992, 25 – 46.

**WOHLT J.E., CLARK J.H. UND BLAISDELL F.S. (1976).** Effect of sampling location, time and method of concentration of ammonia nitrogen in rumen fluid. Journal of Dairy Science 59, 459 – 464.

**WRIGHT A.-D. G. UND KLIEVE A.V. (2011).** Does the complexity of the rumen microbial ecology prelude methane mitigation. Animal Feed Science and Technology 166-167, 248-253.

**ZEBELI Q. UND METZLER-ZEBELI B.U. (2012).** Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle. Research in Veterinary Science 93, 1099-1108.

**ZEBELI Q., MANSMANN D., STEINGASS H. UND AMETAJ B.N. (2010).** Balancing diets for physically effective fibre and ruminally degradable starch: A key to lower the risk of sub-acute rumen acidosis and improve productivity of dairy cattle. Livestock Science 127, 1-10.

**ZEBELI Q., DIJKSTRA M., TAF AJ H. STEINGASS H., AMETAJ B.N. UND DROCHNER W. (2008).** Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. Journal of Dairy Science 91, 2046-2066.

## 9. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

### 9.1 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Morphologischer Aufbau der Gerste (FOODNEWS, 2005).....	13
<b>Abbildung 2:</b> <i>Vorbereitete Nylonsäckchen mit den Futtermischungen</i> .....	17
<b>Abbildung 3:</b> <i>Aufbau des Rusitec</i> .....	18
<b>Abbildung 4:</b> <i>Fermenteraufbau</i> .....	18
<b>Abbildung 5:</b> <i>Messung der Gaszusammensetzung</i> .....	21
<b>Abbildung 6:</b> <i>Messung des Gasvolumen</i> .....	21
<b>Abbildung 7:</b> <i>Gehalt an pansenresistenter Stärke</i> .....	23
<b>Abbildung 8:</b> <i>NH<sub>3</sub>-Konzentration</i> .....	24
<b>Abbildung 9:</b> <i>Gasvolumen</i> .....	24
<b>Abbildung 10:</b> <i>Gaszusammensetzung</i> .....	24
<b>Abbildung 11:</b> <i>Bakterienkonzentrationen</i> .....	25
<b>Abbildung 12:</b> <i>Protozoenkonzentrationen</i> .....	25
<b>Abbildung 13:</b> <i>SCFA-Konzentrationen</i> .....	26

## 9.2 Tabellenverzeichnis

**Tabelle 1:** *Zusammensetzung der Rationen* .....17

**Tabelle 2:** *Effekte der Milchsäurebehandlung auf die Pansenfermentation* .....27