

Om kvalitetsbestemmelser af ensilage med særligt henblik på tilstedeværelse af smørsyre.

Af J. Find Poulsen.

Ved alle ensileringsforsøg, der udføres af statens eller landbrugsorganisationernes forsøgsvirksomhed, bliver den fremstillede ensilages kvalitet bedømt ved de af Statsforsøgenes Ensilageudvalg (1) i 1952 — indtil videre — godkendte og bl. a. i 484. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur omtalte kvalitetsbestemmelser.

Da disse bestemmelser, der omfatter 4 kvalitetstal, er forholdsvis let gennemførlige, var de også tænkt anvendt i stor udstrækning på den i praksis fremstillede ensilage. Skal man her opnå et virkeligt fremskridt i retning af bedre ensilage, må det anses for påkrævet, at såvel det vejledende arbejde som de af den enkelte landmand indhøstede erfaringer på ensileringsområdet bliver underbygget gennem en objektiv og rationel kvalitetsbestemmelse.

Ved en kvalitetsbedømmelse får man oplysninger om arten af de omdannelser (gæringer og forrådnelse) der er foregået i ensilagen.

Kvalitetstallenes benævnelse og den betydning, man har tillagt dem, er følgende:

Reaktionstal (Rt): Undersøgelser og praktiske erfaringer har vist ret nøje sammenhæng mellem Rt og ensilagens kvalitet. Når Rt hurtigt bringes ned til 3,8—3,5, kan man regne med, at ensilagen er af god kvalitet, og Rt alene er da et tilstrækkeligt mål for kvaliteten. Da det i praksis —

især når der ikke anvendes A.I.V.-syre — er svært at bedømme, hvor hurtigt Rt-sænkningen er sket, vil det være af betydning, om Rt-bestemmelsen kan suppleres med en bestemmelse af At, Fst og St.

Ammoniaktal (At) angiver ammoniakkvælstof i pct. af totalkvælstof og er et mål for omfanget af proteinnedbrydningen. Jo højere At, desto større har nedbrydningen været, og da proteinnedbrydningen ønskes begrænset mest muligt, bør At være lavt. Efter hidtidige erfaringer bør At ikke være over 7, når ensilagen skal betegnes som god.

Flygtigsyretal (Fst) er et mål for den totale mængde af flygtige syrer (f. eks. eddike- og smørsyre, men ikke mælkesyre). Højt tal for flygtige syrer tyder på et stort gæringstab, men det er ikke så meget mængden af flygtige syrer som disses art, der er afgørende for ensilagens kvalitet, og smørsyretallet må derfor altid tages i betragtning. Efter hidtidige erfaringer bør Fst ikke være over ca. 20, hvis ensilagen skal betegnes som god.

Smørsyretallet (St) er udtryk for, hvor stor en del af de flygtige syrer, der udgøres af smørsyre og lignende uønskede syrer. God ensilage indeholder praktisk taget ikke smørsyre og har derfor St 0. Er St væsentlig over 5, er ensilagen utilfredsstillende. I dårlig ensilage kan St stige til 25—30.

Da der til ensilage her i landet anvendes forskellige afgrøder, der hver især kan være af forskellig beskaffenhed, og man desuden ved ensileringen anvender forskellige fremgangsmåder, giver reaktionstallet alene kun i de færreste tilfælde fornøden oplysning om kvaliteten. Først når man ser det i sammenhæng med de 3 andre kvalitetstal — At, Fst og St — får man et godt udtryk for, i hvor høj grad det ved ensileringen er lykkedes at undgå dannelsen af stoffer og organismer (smørsyre, smørsyrebakterier og sporer af smørsyrebakterier), som erfaringsmæssigt — ved opfodring af ensilage til malkekøer — har en skadelig indflydelse på mælken og de heraf fremstillede mejeriprodukter.

Det er nævnt, at de 4 kvalitetsbestemmelser er forholdsvis let gennemførlige. Analysearbejdet er dog forbundet med visse

udgifter, men udgiften til en kvalitetsbestemmelse er dog så lille, at den ikke bør afholde den enkelte landmand fra at få sin ensilage kvalitetsbestemt. Udgiften pr. foderenhed er ganske minimal.

Det er derimod næppe sandsynligt, at der til det almindelige vejledningsarbejde på ensileringens område kan skaffes de fornødne midler, såfremt den analysekontrol, der hidtil har indskrænket sig til en reaktionstalsbestemmelse og en skønsmæssig vurdering af ensilagekvaliteten, skulle suppleres med de øvrige 3 kvalitetstal. Det har jo her drejet sig om mange tusinde ensilageprøver årligt.

Her opstår da spørgsmålet, om en kvalitetsbestemmelse i tilknytning til vejledningsarbejdet kan blive mere fyldestgørende end hidtil uden derved at blive uoverkommelig i arbejdsmæssig og økonomisk henseende.

Ved overvejelsen af dette spørgsmål er man kommet tilbage til den papirkromatiske påvisning af flygtige syrer, specielt smørsyren, i ensilager, idet man i henhold til A. I. Virtanen (3) har kunnet simplificere den i 484. beretning (2) omtalte metode ganske betydeligt.

Som det ses af den anførte betydning af kvalitetstallene Fst og St, er det navnlig smørsyren, der afgiver et vægtigt kriterium for ensilagekvaliteten. En påvisning af om den er tilstede i ensilage, og i givet fald om den er tilstede i større eller mindre mængde, vil derfor i en meget væsentlig grad forøge værdien af kontrollen med den i praksis fremstillede ensilage.

Den i det følgende beskrevne fremgangsmåde tager kun sigte på en påvisning af smørsyre og en bestemmelse af reaktionstallet i ensilageprøver. I tilslutning hertil omtales de opnåede resultater samt udgifterne pr. ensilageprøve til papir og kemikalier.

I. Påvisning af smørsyre i ensilage ved papirkromatografi.

Der presses saft ud af ensilageprøven til direkte afsætning på papiret. Kromatogrammet dannes derefter opstigende i en lukket beholder og i en atmosfære med vand, butylalkohol og ætylamin. Som fremkaldervædske benyttes en alkoholisk opløsning af bromkrezolgrønt.

a. Apparatur.

1. Beholder af glas $30 \times 30 \times 40$ cm (fig. 1)¹⁾
2. Glaceret lerkrukke diam. 27 og 23, højde 32,5 cm (fig. 2)
3. Skruepresser af fajance (fig 3)
4. Stativ med centrifugeglas, pyrex, ca. 2,5 ml. (fig. 4)
5. Forstøversprøjte (fig. 5)
6. Kapillarpipette 10μ l.
7. Nylonpose
8. Papir 29×60 cm — 2043 B.
9. Beholder med komprimeret luft
10. Stativ til formning af papircylinderen (fig. 6)

b. Kemikalier.

1. Butylalkohol, normal, ren vare (mættes med vand)
2. Ætylamin. 33 pct. holdig
3. Bromkrezolgrønt, 1 pct. opløsning i 96 pct. alkohol.

Ensilageprøven tages i arbejde, som den er modtaget, idet man efter en omhyggelig blanding bringer en passende portion over i en nylonpose af lignende art, som de nylon-kaffeposer, der fås i handelen. Ved disse undersøgelser har vi benyttet sidstnævnte poser. Posen snøres og anbringes i en skruepresse. Ved en forsigtig presning får man som regel tilstrækkelig saft både til en pH-måling, der forudsættes bekendt, og til kromatografi. Man kan eventuelt udpresse saft fra mere end een portion af samme ensilage. Ved denne udpresning gennem nylon bliver saften af roetop-, kløver- og lucerneensilage af en sådan beskaffenhed, at den uden vanskelighed kan opsuges med kapillarpipetten til afsætning på papiret. Pressesaften fra ensilage af roeaaffald har man derimod i nogle tilfælde måttet filtrere nogle gange gennem en anden nylonpose.

Nylonposerne er nemme at rengøre og tørrer hurtigt. Det vil dog være praktisk at have så mange poser, som svarer til det antal ensilageprøver, der kan tages i arbejde i løbet af en formiddag.

¹⁾ Alle fotografier er optaget af Landbrugets Informationskontor, som vi herved bringer vor bedste tak.

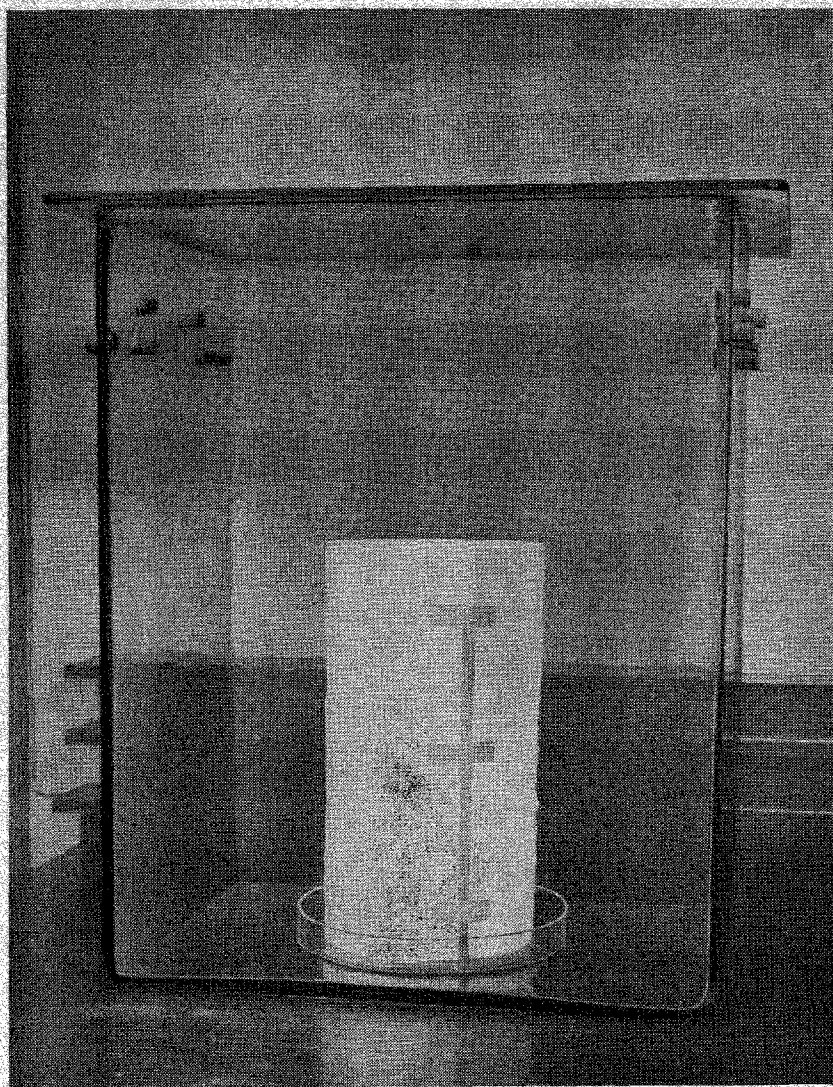


Fig. 1.

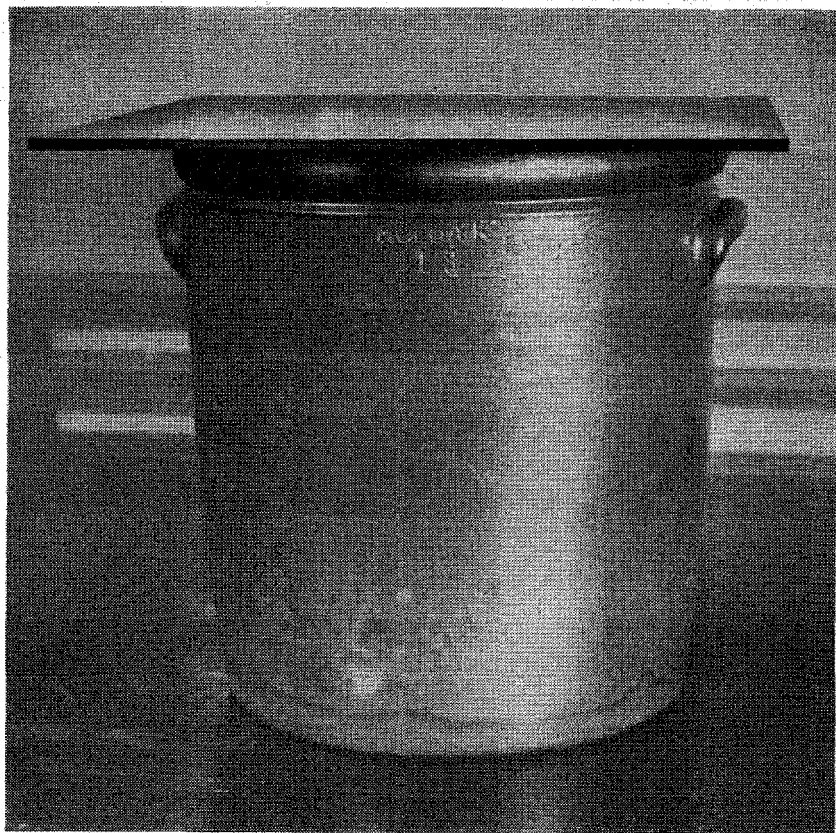


Fig. 2.

Pressesaften til kromatografi hældes over i et nummereret centrifugeglas, der bekvemt kan anbringes i et stativ. I stativet anbringes ligeledes 2 glas med henholdsvis 0,2 og 0,4 pct. ren smørsyre.

Parallelt med papirets længste side og 5 cm fra den nederste kant trækkes en blyantslinie, hvorpå der kan afsættes 18 punkter med 3 cm' mellemrum. Det første punkt i 4,5 cm' afstand fra ydersiden. Punkterne nummereres i overensstemmelse med ensilageprøverne og de 2 sammenligningsvædske.

Af hver prøve, f. eks. fra 16 ensilageprøver og 2 sammenligningsprøver, afsættes i hurtig rækkefølge 10 μ l—1/100 ml — på den inddelte blyantslinie på papiret, og umiddelbart efter denne

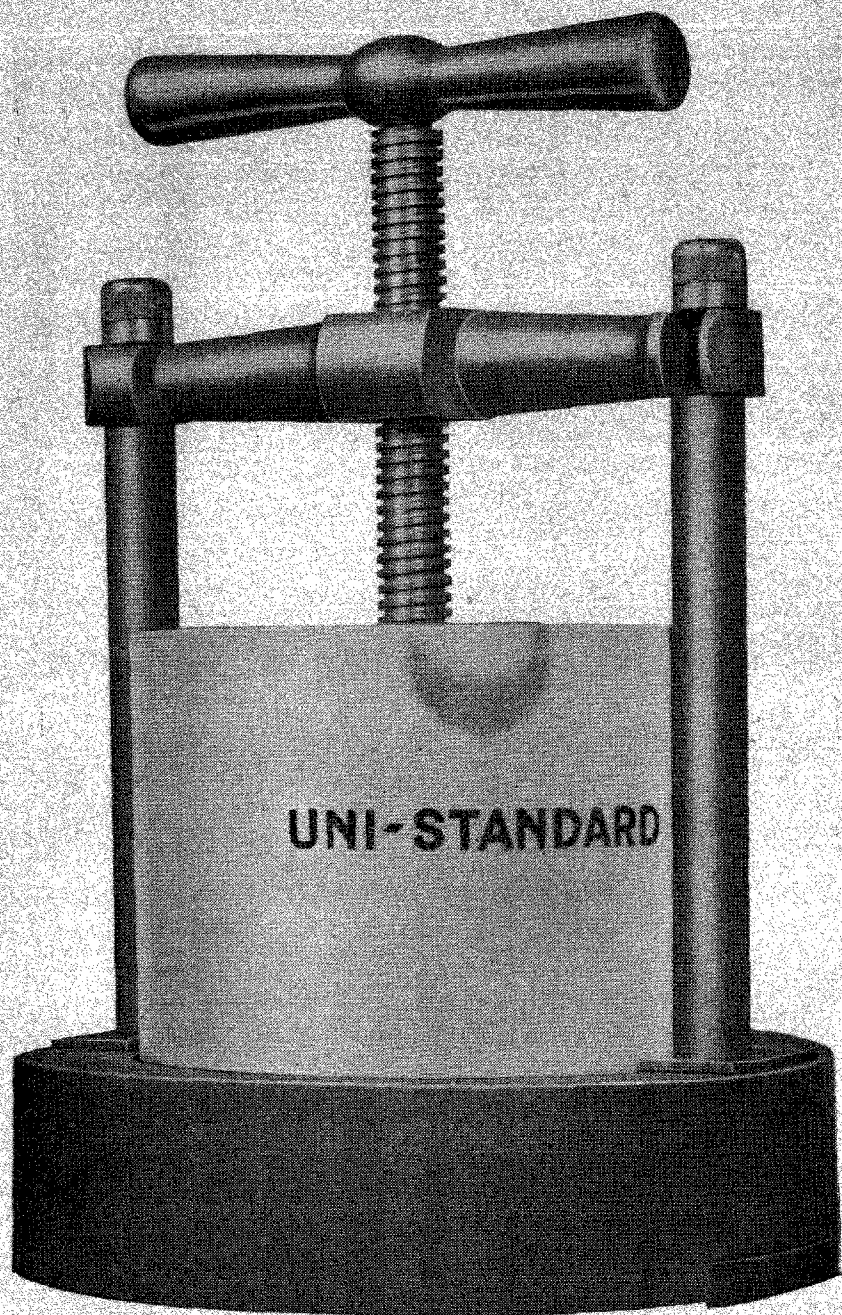


Fig. 3.

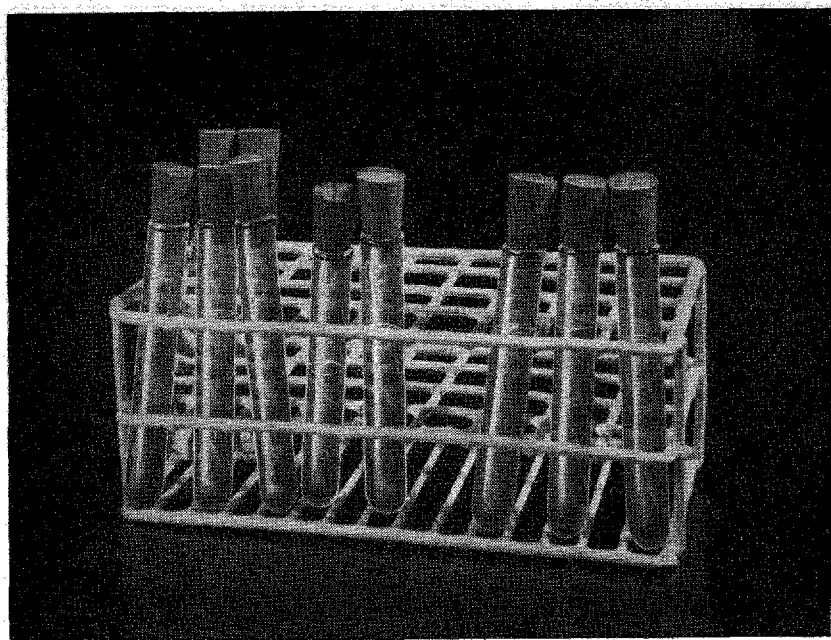


Fig. 4.

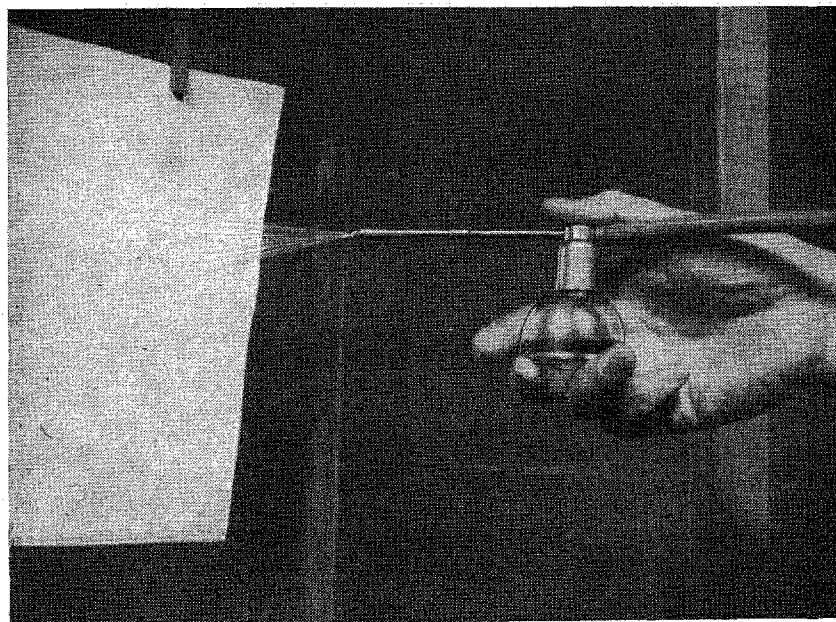


Fig. 5.

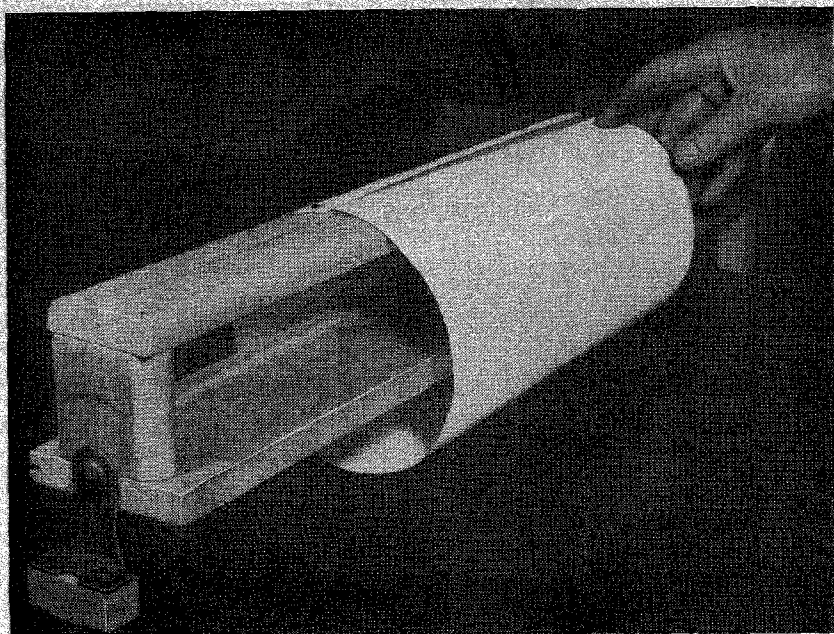


Fig. 6.

pletvise afsætning holdes hver plet i ca. 10 sekunder over en åben flaske med koncentreret ammoniakvand. Ved denne behandling over ammoniakflasken må kun papiret omkring pletterne udsættes for ammoniakdampe. Papiret formes derefter til en cylinder, hvis form fastholdes med 3 klæbestrimler således, at papirets lodrette sider ikke berører hinanden.

I beholderens bund anbringes 2 petriskåle med en diameter på henholdsvis ca. 24 og ca. 9 cm. I den største skål hældes 125 ml butylalkohol (mættet med vand) og i den mindre, der anbringes i midten af den store skål, 10 ml af en blanding af lige mængder ætylamin, 33 pct., og destilleret vand. Beholderen gøres lufttæt ved hjælp af en svær 4—5 mm glasplade, idet berøringsfladerne er fedtet godt ind med vaseline.

Efter ca. 1 time, når atmosfæren i beholderen er stabiliseret, sættes papircylinderen, med de afsatte vædske nederst, ned i den store skål og uden om den mindre, der placeres i centrum af cylinderen. Papiret henstår i den lukkede beholder ved stue-

temperatur i ca. 18 timer eller fra om eftermiddagen til næste dags formiddag.

Når papircylinderen tages op, foldes den ud, og papiret hænges til tørring ved stuetemperatur i ren luft. Det kan bekvemt fastholdes med 2 tøjklammer på et stativ. Efter mindst 2 timers tørring påsprøjtes fremkaldervædsken i støvform ved hjælp af forstøversprøjten, der sættes i forbindelse med beholderen med komprimeret luft. Der bruges af fremkaldervædsken 30—40 ml til hvert papir.

Bedømmelsen af ensilageprøverne med hensyn til smørsyre (eventuelt andre syrer) finder sted straks eller senest 1 time efter sprøjtning af papiret. Senere hen afbleges pletterne i nogen grad.

Det vil formentlig til det her omtalte formål være tilstrækkeligt at inddele ensilagerne i 3 klasser, nemlig ingen, indtil 0,2 pct. og over 0,2 pct. smørsyre, ved en umiddelbar sammenligning af en eventuel plet for smørsyre af ensilageprøven med pletterne af henholdsvis 0,2 og 0,4 pct. ren smørsyre på kromatogrammet.

II. Resultater.

Som det er nævnt, er den beskrevne metode tillempet og gennemprøvet i Finland, hvor den benyttes til en hurtig påvisning og vurdering af ensilagers indhold eller ikke indhold af smørsyre. Noget større materiale vedrørende metodens anvendelighed skal derfor ikke forelægges ved denne lejlighed, hvor det må være tilstrækkeligt at henvise til illustrationen af et kromatogram, figur 7, der er udført i tilslutning til de almindelige kvalitetsbestemmelser af de i den følgende oversigt anførte ensilager. På kromatogrammet blev endvidere afsat vædske af rene opløsninger — hvis koncentrationer fremgår af oversigten — af smørsyre, eddikesyre og mælkesyre.

Ingen, lidt eller megen smørsyre i henhold til den kromatografiske påvisning findes angivet ved 0, 1 plus og 2 plus.

De forskellige ensilager er i oversigten ordnet efter aftagende St-værdier. Ved en betragtning af disse værdier må det erindres, at St (smørsyretallet) er udtryk for smørsyre og lignende uønskede syrer f. eks. valerianesyre i ensilagen, men ikke

Nr.		Ensilagens og de rene syrsers art	Kvalitetsbestemmelser						
i journal	på kromatogram		almindelige				smørsyre, kromatografisk		
			Rt	St	Fst	At	0	+	+
107	1	majsensilage dækket med roeaffald	4,55	16	75	15			+
4	2	roeaffald	3,70	6	55	9			+
948	3	roetop	4,60	4	44	12			+
611	4	lucerne	3,72	2	51	6		+	
109	5	roetop	3,44	0	14	6	0		
963	6	roetop	4,10	0	21	13	0		
—	7	0,5 pct.s ren smørsyre	—	—	—	—			+
—	8	0,4 » » »	—	—	—	—			+
—	9	0,3 » » »	—	—	—	—			+
—	10	0,2 » » »	—	—	—	—		+	
—	11	0,1 » » »	—	—	—	—		+	
—	12	0,2 » » »	—	—	—	—		+	
—	12	0,4 » » eddikesyre	—	—	—	—		+	
—	13	1,5 » » mælkesyre	—	—	—	—	—	—	—

et absolut udtryk for mængden af smørsyre. Der henvises i øvrigt til, hvad der foran er anført om kvalitetstallenes betydning.

På kromatogrammet, figur 7, er af den udpressede ensilage-saft af de respektive ensilager — på figuren mrkt. 1—6 — afsat 0,01 ml.

Samme mængde, 0,01 ml, er afsat af rene opløsninger af smørsyre med koncentrationerne 0,5—0,1 pct. Disse er mrkt. 7—11.

Nr. 12 på kromatogrammet svarer til 0,01 ml af en blanding af 0,2 pct. smørsyre og 0,4 pct. eddikesyre, og nr. 13 til 0,01 ml af en 1,5 pct.s ren mælkesyre. Nr. 12 og 13 er afsat for at vise, at mælkesyre og eddikesyre »vandrer« omtrent lige langt på papiret. Af kromatogrammet får man således ikke noget pålideligt billede af henholdsvis eddike- og mælkesyre i ensilagen, idet de delvis dækker hinanden.

Man får derimod sikre udtryk for propionsyre, smørsyre, valerianesyre og kapronsyre, for så vidt disse syrer er tilstede i ensilagen. Beliggenheden af disse syrer på papiret i forhold til blyantslinien eller afsætningspunkterne fremgår af kromatogrammet, figur 7.

De blå pletter på blyantslinien, hvor der er afsat ensilage-saft, hydrører fra stoffer i ensilagen, som ikke »vandrer« med den

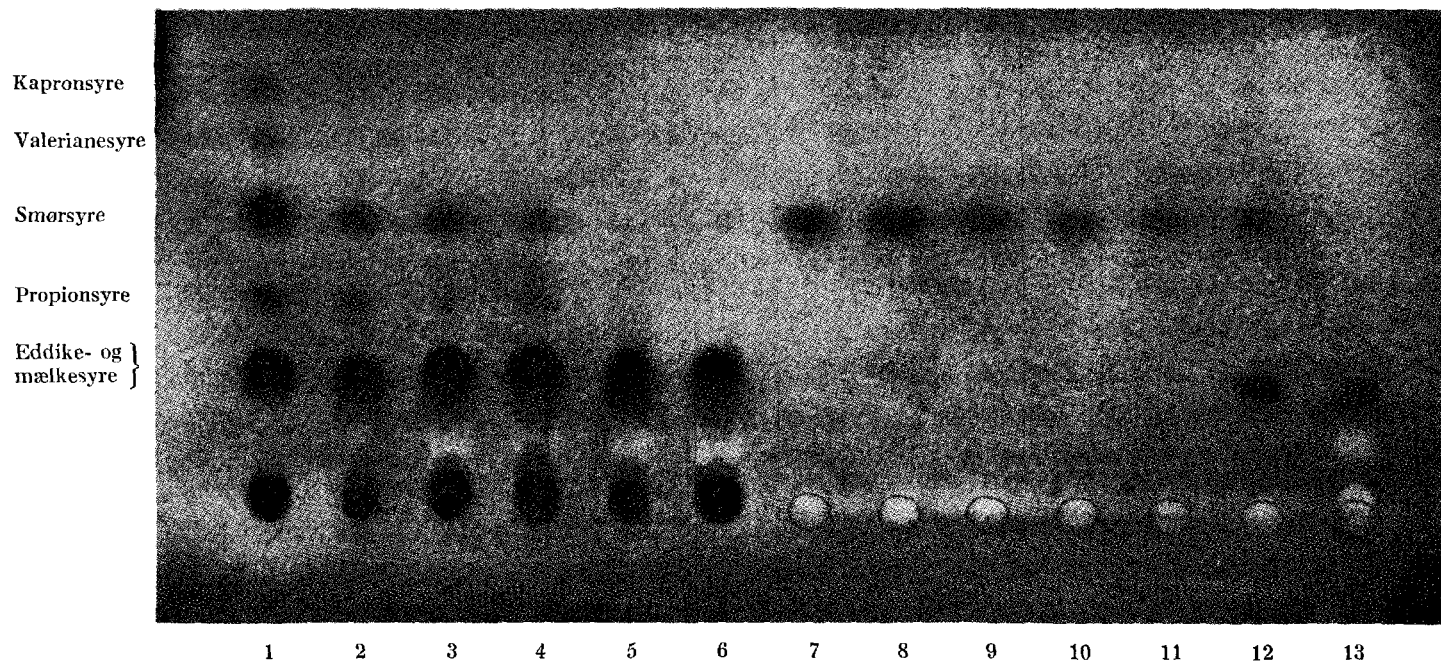


Fig. 7. Kromatografisk påvisning af flygtige syrer i ensilager.

benyttede udvikleropløsning, og er i denne forbindelse uden interesse.

Der kan i øvrigt udledes følgende af kromatogrammet:

Nr. 1, ensilage 107, indeholder en del propionsyre og megen smørsyre, ligesom der er en tydelig markering på papiret for indhold af valerianesyre og kapronsyre.

Nr. 2, ensilage 4, propionsyre og smørsyre.

Nr. 3, ensilage 948, indeholder smørsyre. Der er en antydning på papiret for et ringe indhold af propionsyre.

Nr. 4, ensilage 611, propionsyre og smørsyre.

Nr. 5 og nr. 6, ensilagerne 109 og 963, indeholder hverken propionsyre eller smørsyre.

Ensilagerne findes betegnet i oversigtstabellen i henhold til smørsyre påvisningen og den foran omtalte inddeling.

Ser man på, hvor lidt smørsyre i ensilager der kan påvises ad kromatografisk vej, vil det fremgå af nr. 11 på kromatogrammet, at der er en tydelig markering for smørsyre ved afsætning af 0,01 ml af den 0,1 pct.s opløsning af ren smørsyre. Den afsatte smørsyre på papiret svarer i vægt i dette tilfælde til $10 \mu\text{g}$ ($1000 \mu\text{g} = 1 \text{mg}$).

Ved afsætning på papiret af 0,01 ml af pressesaften fra en ensilage med 0,1 pct. smørsyre, vil man tilnærmelsesvis afsætte samme vægtmængde af smørsyre som fra den 0,1 pct.s smørsyreopløsning. Markeringen på papiret vil i begge tilfælde ret nøje stemme overens.

Den beskrevne fremgangsmåde til påvisning af smørsyre i ensilager tager, som det er nævnt, sigte på en hurtig, sikker og let adskillelse af ensilagerne i 3 grupper, nemlig ensilager med ingen eller praktisk taget ingen smørsyre, ensilager med lidt smørsyre og ensilager med meget smørsyre. Denne klassificering kan gøres ved hjælp af een sammenligningsvædske f. eks. 0,2 pct. ren smørsyre, afsat på samme kromatogram som pressesaften fra ensilagerne. Det må dog tilrådes at benytte også en 0,4 pct.s smørsyreopløsning til sammenligning.

Der er her set bort fra udmåling af pletarealet til en nærmere bestemmelse af smørsyreindholdet i ensilagerne. En nøjagtig udmåling af arealet er forbunden med visse vanskeligheder. Det er forøvrigt ikke alene pletternes areal men også farve-

intensiteten, der er afgørende for mængden af den påviste smørsyre. Stigende smørsyremængde, afsat på papiret, markeres i højere grad ved farven end ved en forøgelse af plettens areal. Man får da også det bedste udtryk for indhold af smørsyre i ensilagerne, når de sammenlignes med standardvædske, hvis koncentration ikke er højere end 0,5 pct. smørsyre. Forekommer ensilager med mere end 0,5 pct. smørsyre, kan den udpressede saft, om fornødent, fortyndes med rent destilleret vand i forholdet 1:1 eller 1:2.

Miettinen og Virtanen (3) gør opmærksom på, at der i den rå pressesaft fra ensilage med smørsyre kan være visse forbindelser, som intensiverer farven af den på kromatogrammet fremkomne plet for smørsyre. Man får i så fald en for høj vurdering af smørsyreindholdet. Dette forhold synes dog ret underordnet og er i hvert fald uden betydning for den bedømmelse af ensilagekvaliteten, som her er tilsigtet.

III. Udgifter til papir og kemikalier.

(anslået pr. ensilageprøve)

Der kan på et papir, 2043 B, 29×60 cm, afsættes pressesaft af 16 ensilageprøver samt 2 sammenligningsvædske, 0,2 og 0,4 pct. ren smørsyre. For udvikling af et sådant kromatogram bliver udgiften til:

Papir, 29×60 cm	ca.	40	øre
Butylalkohol, 125 ml	»	90	»
Ætylamin, 5 ml	»	35	»
Bromkrezolgrønt, 0,4 g	»	200	»
Alkohol, 96 pct. 100 ml	»	35	»

ialt ca. 400 øre

hvad der fordelt på 16 ensilageprøver $400 : 16 =$ ca. 25 øre pr. prøve. Hertil kommer selvfølgelig arbejdsløn.

I den glacerede lerkrukke, anført under a:2, side 121, kan der være et papir på 29×46 cm, hvorpå der kan afsættes pressesaft fra 11 ensilageprøver samt 2 sammenligningsvædske, hvad der med de tilsvarende udgifter, som foran nævnt, giver ca. 37 øre pr. prøve.

Der er her regnet med priser, der gælder for indkøb af 500 stk. papir, en ballon butylalkohol a 45 kg, ætylamin og bromkrezolgrønt mindst 1 kg. Den anførte udgift til 96 pct.s alkohol er beregnet af prisen pr. l.

Det er indlysende efter dette overslag over udgifter til papir og kemikalier, at det vil være økonomisk fordelagtigt at kunne udnytte et papir på 29×60 cm fuldt ud.

Foreligger der imidlertid ikke 16 ensilager til undersøgelse på samme dag, men først i løbet af 3—4 dage, kan undersøgelsen efter vore erfaringer udføres på følgende måde: Så snart ensilageprøven er modtaget, udpresses den fornødne saftmængde til kromatografi og reaktionstalsbestemmelsen. Denne udføres straks, medens de ca. 2 ml saft til kromatografi hældes på centrifugeglasset, der anbringes tilproppet i stativet og hensættes i et kølerum ved en temperatur mellem 0 og 2° C. Behandlet på denne måde har pressesaft fra ensilager, kromatograferet den første dag og senere den tredje eller fjerde dag tilsyneladende givet samme markering på papiret.

LITTERATURHENVISNING

1. Kvalitetsbestemmelser af ensilage. Meddelt af Statsforsøgenes Ensilageudvalg. (Rolighedsvej 25, København V.).
2. *H. Land Jensen og J. Find Poulsen*: Orienterende forsøg og undersøgelser vedrørende Kofa-salt og andre saltstrømidler til ensilering. 484. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur, Tidssk. for Planteavl 58. bd. s. 1.
3. *Jorma K. Miettinen and Artturi I. Virtanen*: A rapid method for determination of fatty acids and ammonia in silage by means of paper chromatography. *Annales Acad. Scient. Fenn.* — Ser. A. — 2 — *Chémica*. 37—45. 1952.