



---

# Het toevoegen van kuiladditieven in graskuilen

---

*Erik van der Deure*  
*16 april 2021*

---

# Het toevoegen van kuiladditieven aan graskuilen

## *Afstudeeronderzoek Agrifirm*

**Auteur:**

Erik van der Deure

**In opdracht voor:**

Agrifirm

**Begeleidend docent:**

Teus van den Bout

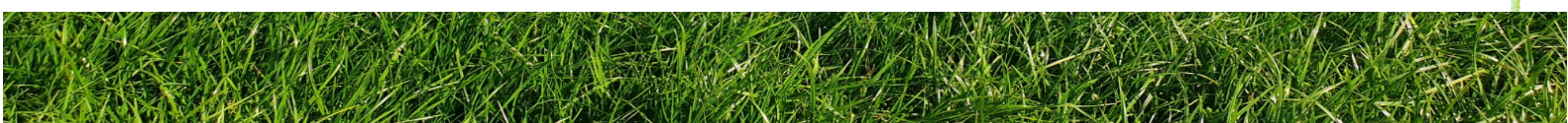
**Plaats/Datum:**

16 april, 2021

Dronten, Nederland

**DISCLAIMER**

Dit rapport is gemaakt door een student van Aeres Hogeschool als onderdeel van zijn/haar opleiding. Het is géén officiële publicatie van Aeres Hogeschool. Dit rapport geeft niet de visie of mening van Aeres Hogeschool weer. Aeres Hogeschool aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor enige schade voortvloeiend uit het gebruik van de inhoud van dit rapport.



# Contactgegevens

**Auteurs:**

Erik van der Deure  
Westerkoogdijk 1  
1476 NC, Schardam  
06-30070177  
3024345@aeres.nl

**In opdracht voor:**

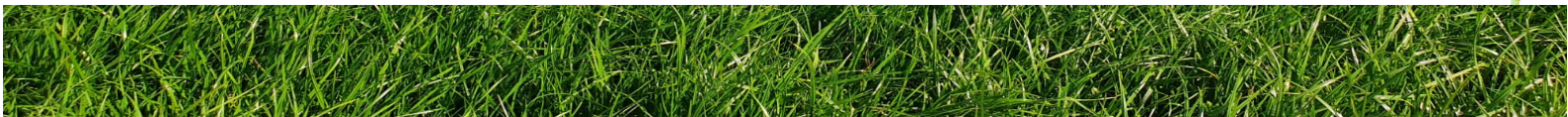
Royal Agrifirm Group  
Landgoedlaan 20  
7325 AW, Apeldoorn  
Leo Tjoonk  
06-53648894  
[l.tjoonk@agrifirm.com](mailto:l.tjoonk@agrifirm.com)

**In samenwerking met:**

Aeres Hogeschool  
Bezoekadres: De Drieslag 4, 8251 JZ, Dronten  
Postadres: Postbus 374, 8250 AJ, Dronten  
088-020 6000  
[info.hogeschool.dronten@aeres.nl](mailto:info.hogeschool.dronten@aeres.nl)

**Met begeleiding van:**

Teus van den Bout  
[t.van.den.bout@aeres.nl](mailto:t.van.den.bout@aeres.nl)  
P211



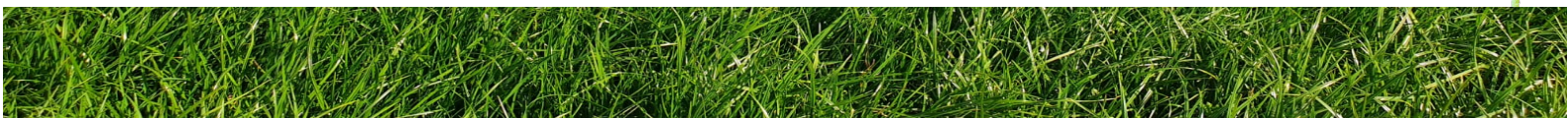
# Voorwoord

Beste lezer,

Voor u ligt het vooronderzoek naar het effect van kuiladditieven in graskuilen, welke is uitgevoerd in opdracht voor Agrifirm. In het voorjaar van 2021 heb ik, Erik van der Deure dit onderzoek opgesteld als onderdeel van mijn opleiding aan de Aeres Hogeschool te Dronten. Ik wil allereerst Agrifirm bedanken voor het willen meewerken aan mijn afstudeerwerkstuk en het beschikbaar stellen van een uit te voeren onderzoek. Een speciaal dankwoord gaat dan ook uit naar Leo Tjoonk, die mij vanuit Agrifirm heeft begeleid en van de nodige informatie heeft voorzien. De COVID-19 pandemie, brengt hopelijk niet te veel uitdagingen met zich mee, door tijdens de opzet van het onderzoek hier al enigszins rekening mee te houden hoop ik toch een mooi onderzoek uit te kunnen voeren. Vanuit mij gaat ook nog een groot dankwoord naar begeleidend docent Teus van den Bout, die mij vanuit de opleiding de benodigde begeleiding en adviezen heeft voorzien. Ik hoop met dit afstudeerwerkstuk een mooi cijfer te kunnen behalen waarmee ik een stapje dichterbij mijn diploma ben!

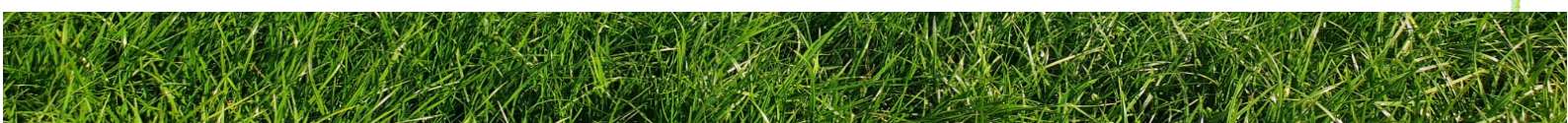
Ik wens u veel plezier bij het lezen van dit rapport,

Erik van der Deure

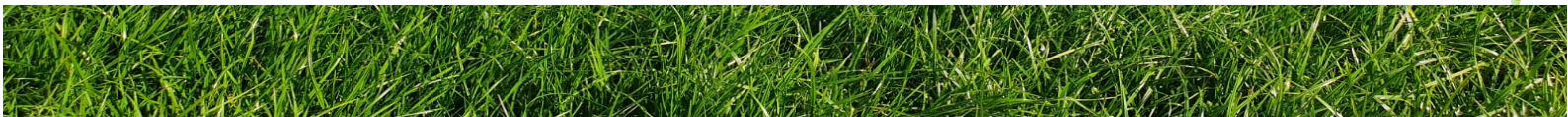


# Inhoudsopgave

|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Samenvatting .....</b>                                           | <b>7</b>  |
| <b>Summary.....</b>                                                 | <b>8</b>  |
| <b>1. Inleiding .....</b>                                           | <b>9</b>  |
| 1.1 Historie van kuiladditieven .....                               | 9         |
| 1.2 Bacteriën als kuiladditieven.....                               | 11        |
| 1.3 Homo- en hetero fermentatieve melkzuurbacteriën .....           | 12        |
| 1.4 Invloedsfactoren .....                                          | 13        |
| 1.5 Knowledge gap .....                                             | 13        |
| 1.6 Afbakening hoofd- en deelvragen .....                           | 14        |
| 1.7 Doelstelling onderzoek .....                                    | 14        |
| <b>2. Aanpak.....</b>                                               | <b>15</b> |
| 2.1 Interviews .....                                                | 17        |
| <b>3. Planning .....</b>                                            | <b>18</b> |
| 3.1 Planning startfase.....                                         | 18        |
| 3.2 Planning onderzoeksfase .....                                   | 18        |
| 3.3 Planning verwerkingsfase.....                                   | 18        |
| <b>4. Resultaten .....</b>                                          | <b>19</b> |
| 4.1 Deelvraag 1 .....                                               | 19        |
| 4.1.1 Natuurlijke melkzuur productie beïnvloeden .....              | 19        |
| 4.1.2 Droge stof als sturingsfactor .....                           | 19        |
| 4.1.3 Melkzuur hand in hand met suikers.....                        | 19        |
| 4.1.4 Oplopende temperatuur beïnvloed melkzuurbacteriën .....       | 20        |
| 4.1.5 Temperatuursverloop in verhouding tot melkzuurbacteriën ..... | 21        |
| 4.2 Deelvraag 2 .....                                               | 21        |
| 4.2.1 Homo fermentatieve bacterie <i>L.plantarum</i> .....          | 22        |
| 4.2.2 Hetero fermentatieve bacterie <i>L.buchneri</i> .....         | 23        |
| 4.2.3 Verhouding melkzuur tot azijnzuur.....                        | 24        |
| 4.3 Deelvraag 3.....                                                | 24        |
| 4.4 Deelvraag 4.....                                                | 26        |
| 4.4.1 Anaerobe fase gunstig voor melkzuur .....                     | 27        |
| <b>5. Discussie.....</b>                                            | <b>28</b> |
| 5.1 Aanpak.....                                                     | 28        |
| 5.2 Resultaten.....                                                 | 28        |
| <b>6. Conclusie en aanbevelingen.....</b>                           | <b>30</b> |
| 6.1 Conclusie.....                                                  | 30        |
| 6.2 Aanbeveling .....                                               | 31        |
| <b>Bibliografie.....</b>                                            | <b>33</b> |



|                                                  |           |
|--------------------------------------------------|-----------|
| <b>Competenties.....</b>                         | <b>36</b> |
| <b>Bijlagen .....</b>                            | <b>37</b> |
| <i>Bijlage I: Schriftelijk rapporteren .....</i> | <i>38</i> |
| <i>Bijlage II: Toestemmingsformulier.....</i>    | <i>39</i> |



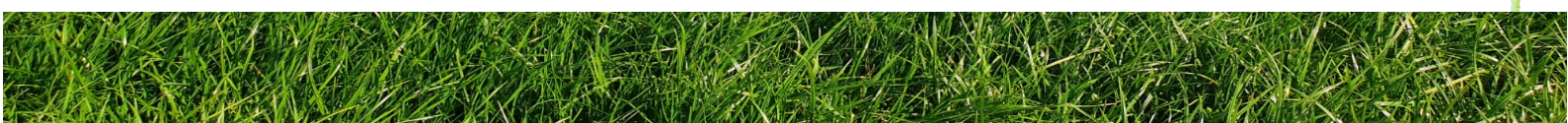
# Samenvatting

Dit onderzoek is geschreven met als doel een praktische vertaling te kunnen geven van het complexe onderwerp kuiladditieven. De populariteit van het toevoegen van de zogeheten melkzuurbacteriën groeit, maar de onwetendheid is nog groot. Het doel van dit onderzoek is dan ook om antwoord te gaan geven op praktische en individuele vragen van de melkveehouders. Dit heeft geresulteerd in de onderzoeksvraag “welke specifieke bacteriestammen kunnen als kuiltoevoegmiddel de kwaliteit van de graskuil verhogen?”

Om naar een duidelijk antwoord te werken op de onderzoeksvraag is er gebruik gemaakt van een kwalitatief onderzoek. In dit onderzoek wordt er zorgvuldig gebruik gemaakt van de literatuurstudie, waardoor er onder andere interessante en diepgaande studies uit het verleden zijn geraadpleegd. Over het jarenoude fenomeen kuiladditieven is dan ook veel bekend en te vinden en dat resulteert soms in bronnen van tientallen jaren oud.

Uit de literatuurstudie komen de twee dominantste melkzuurbacteriën naar voren die in hoofdstuk 4 zorgvuldig worden toegelicht. Het betreft de homo- en hetero fermentatieve variant, met ieder zijn eigen unieke kwaliteiten. De hetero fermentatieve variant *Lactobacillus buchneri* domineert hoofdstuk 4 door zijn unieke en krachtige werking onder zowel de aerobe als anaerobe fase. Zowel de kracht van de *L.buchneri* als de *L.plantarum* kunnen duidelijk worden toegelicht aan de hand van de uitgevoerde studies en onderzoeken. Om wel helder te houden dat de kuiladditieven geen wondermiddelen zijn, wordt er duidelijk ingegaan op de werking van de melkzuurbacteriën en bij wat voor type kuilen deze bacteriën ingezet kunnen worden. Het is dan geen wondermiddel, maar bij de juiste keuze dragen de bacteriestammen sterk bij aan een goed verlopen in- en uitkuilproces.

Als aanbeveling naar Agrifirm wordt met name gericht op twee punten. Eén daarvan is het gebruik van de hetero variant de *Lactobacillus buchneri*, die in combinatie met de *Lactobacillus plantarum* krachtig is in gebruik en die zowel het fermentatieproces als de aerobe fase domineert. Verder wordt er ingegaan op een stukje bewustzijn bij de melkveehouder wat de slagingskansen en tevredenheid van en over de kuiladditieven moet vergroten.



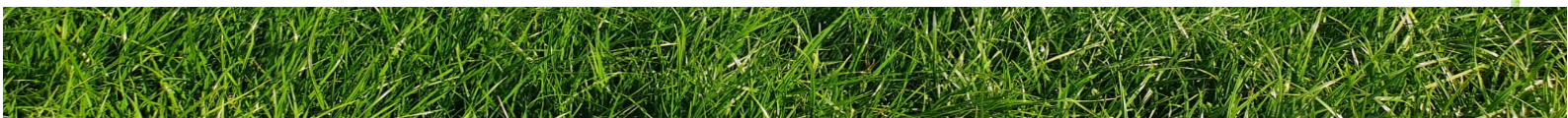
# Summary

This study was written with the aim of being able to provide a practical translation of the complex subject of silage additives. The popularity of adding the so-called lactic acid bacteria is growing, but the ignorance is still high. The purpose of this research is therefore to be able to answer practical and individual questions from dairy farmers. This has resulted in the research question "which specific strains of bacteria can increase the quality of the grass silage as a silage additive?"

To work towards a clear answer to the research question, a qualitative study was used. In this research, careful use is made of the literature review, so interesting and in-depth studies from the past were consulted. Therefore, a lot can be found about the years-old phenomenon of silage additives, resulting in sources that are decades old.

From the literature review, the two most dominant lactic acid bacteria emerge, which are carefully explained in Chapter 4. These are a homo- and hetero fermentative variant, each with its own unique qualities. The hetero fermentative variant *Lactobacillus buchneri* dominates Chapter 4 due to its unique and powerful action under both aerobic and anaerobic phases. Both the power of the *L.buchneri* and the *L.plantarum* can be clearly explained based on the studies and researches conducted. To keep it clear that silage additives are no panaceas, the functioning of the lactic acid bacteria and the types of silages for which these bacteria can be used are clearly explained. It is not a panacea, but when selected correctly, the bacterial strains make a strong contribution to a well-functioning ensilage process.

As a recommendation to Agrifirm, it focuses on two points. One is the use of the hetero variant the *Lactobacillus buchneri*, which in combination with the *Lactobacillus plantarum* is powerful in use and dominates both the fermentation process and the aerobic phase. Furthermore, a piece of awareness among the dairy farmer is discussed which should increase the success rate and satisfaction of and with silage additives.



# 1. Inleiding

Het gebruik van inkuilmiddelen is de laatste jaren ‘booming business’. Echter is de inzet van de invloedrijke bacteriestammen om kuilen onder slechte omstandigheden te corrigeren, al tientallen jaren oud (Corporaal et al., 1989). De inzet en ideologie achter de inkuilmiddelen is door de jaren heen niet veranderd. Goede conservering, broei verminderen en eiwitkwaliteit verhogen zijn de grootste drijfveren voor het inzetten van de verschillende middelen.

Het toevoegen van inkuilmiddelen heeft vaak tot gevolg dat er energie wordt verbruikt voor de vorming van bijvoorbeeld azijnzuur. Het is daarom van belang dat de gebruiker zich realiseert dat zomaar het toevoegen van een inkuilmiddel ook averechts kan werken. Een kuil die niet broeigevoelig is heeft geen azijnzuur nodig, dit zou alleen maar onnodig suikers gebruiken. Een melkzuur vormend inkuilmiddel kan daarentegen eenvoudiger blindelings in worden gezet. Een snelle pH daling die deze bacteriestammen in werking zetten, zorgt voor meer voederwinst dan het verbruik aan beschikbare suikers.

Door een verhoogde voederwinst kan er gestreefd worden naar meer ruwvoer van eigen land en daarmee meer eiwit van eigen land. Wat in de komende jaren steeds belangrijker wordt met het oog op grondgebondenheid.

Om naar het doel van het onderzoek te kunnen werken, worden belangrijke soorten kuilvoeradditieven besproken en daarmee het meest voorkomende kuilvoeradditief “de melkzuurbacteriën”. Door de verschillende bacteriestammen uit te lichten en de werking hiervan te bestuderen. Wordt er naar een advies gewerkt en hoe dit in de praktijk vertaald kan worden.

## 1.1 Historie van kuiladditieven

Waar men denkt dat inkuilmiddelen een trend is van de afgelopen jaren heeft dat fout. Sinds halverwege de vorige eeuw werd er al gebruikt gemaakt van chemische toevoegingen om de kuil beter benutbaar te maken en verliezen te minimaliseren. Dit is echter niet vergelijkbaar in de vorm waar dat hedendaags wordt toegepast, namelijk in de vorm van bacteriën.

Als toevoegingen werden er vroeger als eerst zuren, suikers en zouten toegepast.

Mierenzuur, Foraform, Kofasil Plus en

Rietmelasse waren populaire toevoegmiddelen. In de beginperiode van de jaren tachtig (1981-1985) werd er onderzoek gedaan (tabel 1) naar het inkuilen onder ongunstige omstandigheden. Het onderzoek was in de begin jaren 80 vooral gericht om bij slecht weer kuilen te maken van goede kwaliteit met weinig sporen van boterzuurbacteriën. Dit onderzoek is uitgevoerd door het Proefstation voor de Rundveehouderij, Schapenhouderij en Paardenhouderij in samenwerking met het instituut voor Voedingsonderzoek. (Corporaal et al., 1989).

| Object            | Controle | Melasse |         | Kofasil Plus |         |
|-------------------|----------|---------|---------|--------------|---------|
|                   |          | laag    | hoog    | laag         | hoog    |
| Droge stof (g/kg) | 240      | 226     | 248     | 235          | 234     |
| Dosering (kg/ton) | 0,0      | 19,3    | 50,4    | 2,3          | 3,6     |
| pH                | 4,64 a   | 4,43 ab | 4,28 b  | 4,44 ab      | 4,44 ab |
| NH3 fractie       | 13,2 a   | 13,2 a  | 10,2 ab | 8,9 bc       | 6,3 c   |
| Boterzuur (g/kg)  | 7,3 a    | 4,7 b   | 2,6 c   | 2,5 c        | 2,7 c   |
| Azijnzuur (g/kg)  | 4,5 a    | 5,6 bc  | 6,5 c   | 5,4 a        | 4,5 a   |
| Melkzuur (g/kg)   | 10,5 a   | 15,5 c  | 17,9 d  | 12,4 ab      | 13,3 b  |
| Sporen/g (X 1000) | 209 a    | 245 a   | 105 a   | 177 a        | 148 a   |
| VEM/kg ds         | 724 a    | 780 b   | 786 b   | 772 b        | 773 b   |
| vre (g/kg ds)     | 112 a    | 117 ab  | 123 bc  | 123 bc       | 127 c   |

Tabel 1: Gemiddelde van drie proeven waarbij Melasse en Kofasil werden toegevoegd (Corporaal et al., 1989).



Nadat er in het verleden ontdekt werd dat het inkuilen berust was op een microbiologisch gistingproces, ontstonden de eerste wetenschappelijke gefundeerde inkuilmiddelen. (De Haan & Wieringa., 1961) Onderzoeker A.I. Vertanen kwam met het toevoegen van een mineraalzuur. Het zuur was een mengsel van zoutzuur en zwavelzuur dat aangemengd moest worden met water (1 deel zuur aanmengen met 6 delen water). Het doel van het toevoegen van dit zuur was de conservering onafhankelijk te maken van de biologische gisting, waardoor bewaringsverliezen tot een minimum werden beperkt.

In veel landen werd er onderzoek gedaan naar het gebruik en effect van het mineraalzuur. In tabel 2 is er weergegeven welke doseringen er vanuit het onderzoek worden geadviseerd bij verschillende grasproducten. Mede dankzij dit onderzoek beschikt de huidige landbouwsector over een groot arsenaal aan verschillende inkuilmiddelen. Suikerrijke producten was er daar één van.

|                                                | AlV-zuur per 1000 kg |               | % melasse of melapo |                 | % melksuiker-melasse en weipasta (40 % ds) |    |
|------------------------------------------------|----------------------|---------------|---------------------|-----------------|--------------------------------------------|----|
|                                                | liter onverdund      | liter verdund | H <sup>1)</sup>     | M <sup>2)</sup> | H                                          | M  |
| vochtig, zeer jong gras (ca. 20 % ds)          | 9½                   | 65            | 6                   | 5               | 12                                         | 8½ |
| winddroog, zeer jong gras (ca. 25 % ds)        | 8                    | 55            | 5                   | 4               | 10                                         | 7  |
| droog, zeer jong gras (30 à 35 % ds)           | 6½                   | 45            | 4                   | 3               | 8                                          | 5½ |
| vochtig gras (ca. 20 % ds)                     | 8                    | 55            | 5                   | 4               | 10                                         | 7  |
| winddroog gras (ca. 25 % ds)                   | 6½                   | 45            | 4                   | 3               | 8                                          | 5½ |
| droog gras (30 à 35 % ds)                      | 5                    | 35            | 3                   | 2               | 6                                          | 4  |
| zeer jong, zwaar gekneusd zomer- en herfstgras | 8                    | 55            | 3                   | 2               | 6                                          | 4  |
| zwaar gekneusd zomer- en herfstgras            | 6½                   | 45            | 2                   | 1½              | 4                                          | 2½ |

Tabel 2: Doseringen zuren en suikers De Haan & Wieringa., 1961).

Door het toevoegen van suikerrijke producten, wordt de melkzuurproductie tijdens de conservering bevorderd. Melasse is één van deze producten, die in de hedendaagse landbouw nog steeds wordt gebruikt. Het toevoegen van suikers aan de kuil, luistert vrij nauwkeurig en is afhankelijk van het suikergehalte, eiwitgehalte en droge stofgehalte. Een te lage dosering leidt tot een trage ontwikkeling van de melkzuurbacteriën, waardoor de pH niet snel genoeg daalt. De boterzuurbacteriën blijven actief en zijn in staat om de aanwezige suikers te vergisten (De Haan & Wieringa., 1961). In tabel 2 is weergegeven welke doseringen er destijds werden gehanteerd.

Naast suikers werden er vroeger ook veelvoudig zouten ingezet om de concentratie aan oplosbare stoffen in gras te verhogen, dit remt de vorming van boterzuur en rottingsbacteriën. Om de bacteriën aan de oppervlakte tegen te gaan, wordt veelal gebruikt gemaakt van landbouwzout, om gisten en schimmels tegen te gaan. Als inkuilmiddelen zijn er ook middelen beschikbaar met het bestandsdeel "kaliumsorbaat" erin verwerkt, voor het tegengaan van schimmels.

De aanleiding van dit onderzoek is om in kaart te brengen welke bacteriestammen het best toegepast kunnen worden in verschillende graskwaliteiten bij inkuilprocessen. Om als melkveehouder de juiste keuzes te maken, worden de kosten van het inkuilmiddel zo goed mogelijk benut en zijn de juiste keuzes gemaakt om het in- en uitkuilproces tot een succes te laten verlopen. Dit alles resulteert in goed kwalitatief ruwvoer met zo min mogelijk verliezen. Met oog op meer eiwit van eigen land en besparing op buitenlandse krachtvoerders zijn dit interessante tools.

Vanwege de hype die er heerst rondom het gebruik van inkuilmiddelen, is het van belang om te onderzoeken wanneer en vooral welke bacteriën er aan de kuil toegevoegd moeten worden. Zo kan er onderscheid gemaakt worden tussen de azijnzuur en melkzuurvormende bacteriën. Maar ook tussen de verschillende melkzuurbacteriën, omdat de één meer en agressiever melkzuur vormt dan de ander. De bacteriën gebruiken suikers voor de omzetting richting melkzuur en azijnzuur, dit kost energie en daarmee VEM. Dit houdt in dat bij een onjuiste keuze of onder het motto "baat het niet, dan schaadt het niet" er simpelweg onnodige voederwaarde verloren gaat.



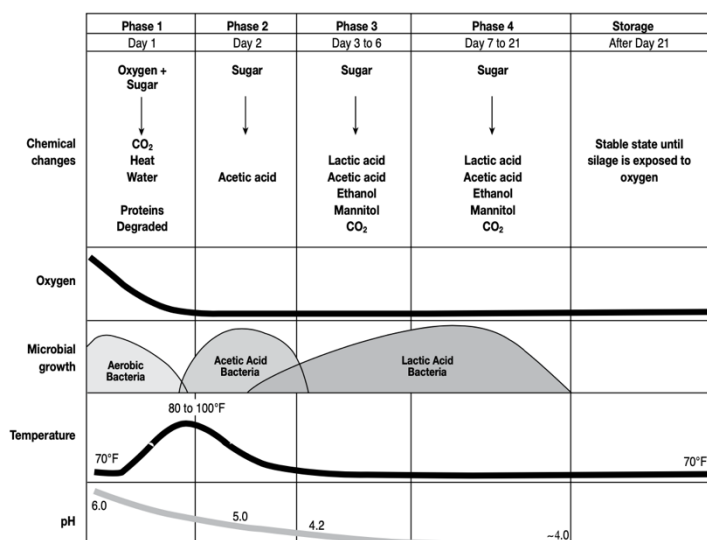
## 1.2 Bacteriën als kuiladditieven

Er zijn verschillende bacteriën die invloed hebben op het conserveringsproces binnen de graskuil. Twee belangrijke bacteriën zijn de melkzuurbacteriën en de boterzuurbacteriën. Om het inkuilproces te laten slagen moeten de goede bacteriën, in dit geval de melkzuurbacteriën, de overhand krijgen.

Boterzuurbacteriën produceren boterzuur uit melkzuur en suikers. In de beginfase van het inkuilproces kunnen de bacteriën actief worden door een gunstig klimaat, zoals een laag drogestof gehalte van het gras en te weinig suikers voor de vorming van melkzuur door de melkzuurbacteriën. In een later stadium van het conserveringsproces is de kans op boterzuurvorming nog steeds aanwezig. Als er na een snelle start van de melkzuurvorming een tekort aan suikers optreedt, daalt de pH niet voldoende om alle boterzuurbacteriën inactief te houden. In een langzaam tempo begint weer de vorming van boterzuur en gebruikt hiervoor ook het aanwezig melkzuur. De pH stijgt weer en kunnen ook rotingsbacteriën weer een kans krijgen.

In dit rapport wordt vooral aandacht gegeven aan de melkzuurbacteriën en de verschillende stammen waar deze bacterie uit bestaat. Deze melkzuurbacteriën worden onderverdeeld in homo- en hetero fermentatieve melkzuurbacteriën. Binnen deze homo- en hetero bacteriën worden van ieder twee groepen twee belangrijke bacteriestammen uitvergroot. Er wordt ingegaan op de bijdrage van deze specifieke bacterie en de invloed op het grasproduct.

Melkzuur is een belangrijk zuur dat wordt gevormd tijdens de conservering. Dit is echter niet het enige zuur dat wordt gevormd. Azijnzuur is de eerste zuur die ontstaat tijdens de conservering van de kuil, gevolgd door melkzuur, welke actief blijft tot de pH te zuur wordt voor de bacterie zelf. Melkzuur is een smakelijk zuur en kenmerkt een goed verlopen conserveringsproces. Een goed conserveringsproces gaat echter hand in hand met het aandeel suikers. Suikers fungeren als brandstof en zijn nodig voor een goede omzetting. Melkzuurbacteriën gebruiken met name koolhydraten als nutriënten en zetten deze om in andere organische zuren zoals melkzuur, azijnzuur, propionzuur, boterzuur, alcohol en koolstofdioxide (Prescott et al., 1996). Bij de melkzuurfermentatie worden de aanwezige suikers voor het grootste deel omgezet in melkzuur.



Figuur 1: Verschillende fases inkuilproces. (Jones et al., 2004)

Waar suikers het inkuilproces gunstig beïnvloeden vertraagd eiwitten dat juist weer. Eiwitten bestaan namelijk uit aminozuren, een belangrijk eigenschap van de aminozuren is de bufferende werking. Omdat eiwitten opgebouwd zijn uit aminozuren, bezitten ook de eiwitten deze eigenschap. Aminozuren kunnen zich ten opzichte van andere deeltjes, als zuur of base gedragen. Afhankelijk van de aanwezig pH ontstaat een positief zuurion, een negatief base-ion of een neutraal zwitterion. Door de aanwezigheid van zowel een zuur als een base-functie vertonen de aminozuren een bufferende werking. In een neutraal midden komt vooral het zwitterion voor. Hieruit volgt de belangrijke eigenschap van de aminozuren, namelijk de bufferende werking. Omdat eiwitten opgebouwd zijn uit aminozuren bezitten ook de eiwitten deze eigenschap. (Leuven, 2008).



### 1.3 Homo- en hetero fermentatieve melkzuurbacteriën

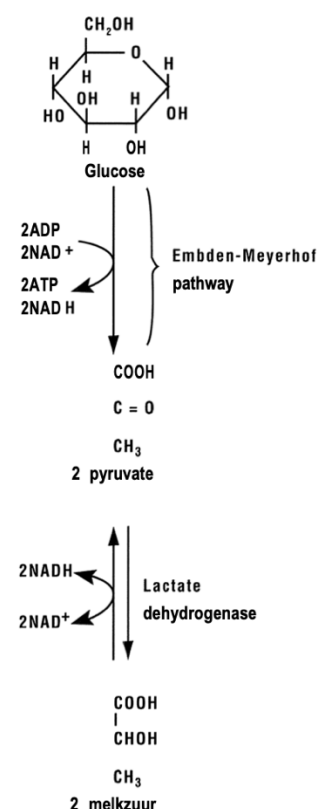
Het aanbod van inkuilmiddelen is groot en op het eerste oog lijken de toevoegmiddelen allemaal hetzelfde te doen. Toch zit er veel verschil tussen de middelen, maar werken wel veelal volgens hetzelfde basisprincipe. De homo fermentatieve melkzuurbacteriën zijn ervoor om de pH zo snel mogelijk te laten dalen, totdat de kuil stabiel is en vormt hier melkzuur voor. De hetero fermentatieve melkzuurbacteriën vormen naast melkzuur ook azijnzuur. Het voordeel hiervan is dat gisten zich ook voeden vanuit melkzuur, maar worden gedood door het azijnzuur. Wanneer een inkuilmiddel wordt ingezet om broei te voorkomen, is het van belang dat het middel hetero fermentatieve melkzuurbacteriën bevat.

Binnen de homo fermentatieve melkzuurbacteriën worden er per glucosemolecuul twee melkzuur moleculen gevormd. Op den duur worden de suikers volledig omgezet in melkzuur omdat dit de meeste energie oplevert voor deze bacteriën. De *Lactobacillus plantarum* en *lactococcus lactis* zijn binnen de homo fermentatieve melkzuurbacteriën belangrijke bacteriestammen. Binnen de homo fermentatieve melkzuurbacteriën is de *plantarum* een dominante en belangrijke variant. Het zet snel en effectief de suikers om in enkel melkzuur. Deze bacterie is hierdoor goed om abrupt de pH te verlagen, waardoor ongewenste bacteriegroei wordt geremd. *Plantarum* is hierdoor in staat om de kwaliteit van de fermentatie te verhogen, door de *Lactobacillus* concentratie aanzienlijk te verhogen en de pH te verlagen. In het onderzoek uitgevoerd door (Mu et al., 2020) is ook de combinatie met enzymen onderzocht.

De homo fermentatieve melkzuurbacteriën braken met behulp van de enzymen glucose af tot melkzuur (Rijnen & Scholten, 1998). Bij deze afbraak ontstaat er pyrodruivenzuur als intermediair. Naast het melkzuur worden er ook kleine hoeveelheden vluchtige vetzuren en alcohol gevormd. Afhankelijk van de hoeveelheid zuurstof die voorhanden is, wordt er als eindproduct 90% melkzuur gevormd.

Enzymen die complexe plantaardige koolhydraten kunnen verteren zoals cellulose en pectine, kunnen worden toegevoegd om de fermentatie van het kuilgras te bevorderen. Deze enzymen kunnen worden gecombineerd met melkzuurbacteriën. Enzymen verteren vezels om oplosbare suikers te leveren welke de melkzuurbacteriën weer kunnen gebruiken. Vezel verterende enzymen kunnen celwanden gedeeltelijk verteren om de verteerbaarheid van kuilvoer te verbeteren. De combinatie van cellulase en *plantarum* is gebruikt om cellulose af te breken tot monosachariden of oligosachariden voor *Lactobacillus* groei om de fermentatiekwaliteit te verbeteren.

De hetero fermentatieve melkzuurbacteriën zorgen naast melkzuur uit suiker ook voor azijnzuur en ethanol. In de heterofermentatie wordt er per molecuul glucose één molecuul melkzuur gevormd. De vorming van azijnzuur krijgt voor de bacteriën de voorkeur boven ethanol, omdat dit de meeste energie oplevert voor de microben. (Rijnen & Scholten, 1998). Binnen de hetero fermentatieve bacteriën zijn er bacteriestammen in staat om van de aanwezige suikers zowel melkzuur als azijnzuur te vormen. Belangrijke bacteriestammen binnen de hetero fermentatieve zijn *Lactobacillus buchneri* en *Lactobacillus hilgardii*.

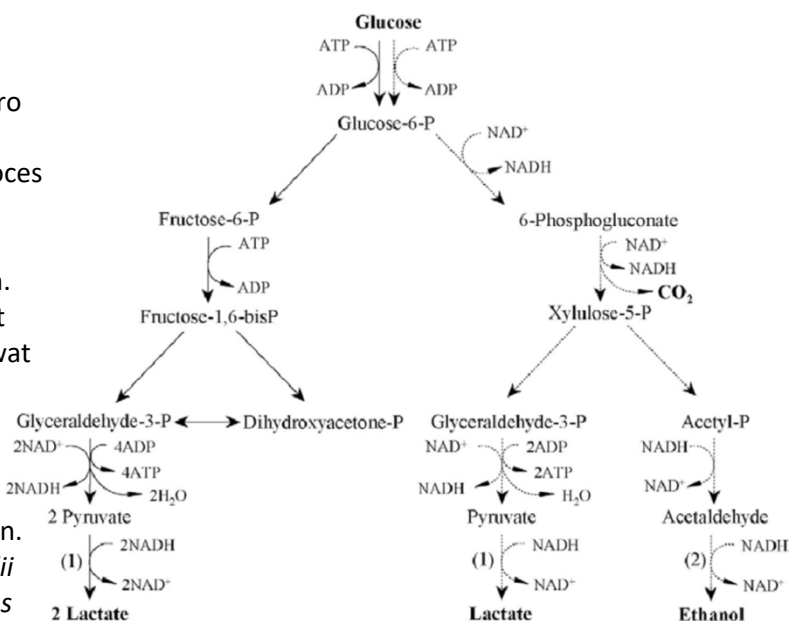


Figuur 2: Homo fermentatie van suiker naar melkzuur (Rijnen & Scholten., 1998)



De *buchneri* is een belangrijke schakel binnen de aerobe stabiliteit van de graskuil. De unieke hetero melkzuur vormende bacterie is in staat om naast melkzuur ook azijnzuur te vormen. Binnen dit proces wordt naast CO<sub>2</sub> ook propaanglycol gevormd. Dit levert directe propionzuur voor de koe en is daarmee een goede netto leverende energiebron. Bij de vorming van azijnzuur en propionzuur staat wel een kanttekening voor de vorming van CO<sub>2</sub> wat daarmee voor verliezen zorgt.

De *Lactobacillus hilgardii*, een melkzuur- en azijnzuurvormende bacterie, is effectief tegen broei en daarmee verschillende micro-organismen. Uit onderzoek werd aangetoond dat de *L. hilgardii* de groei van micro-organismen als *A. pasteurianus* en *K. humilis* kan voorkomen (Wang et al., 2020). Hierdoor is deze bacterie goed toepasbaar in kuilen die gevoelig zijn voor broei.



Figuur 3: Hetero fermentatie

(Kleinschmit & Kung JR, 2006)

## 1.4 Invloedsfactoren

Melkzuurvormende bacteriën komen onder normale omstandigheden voldoende voor op het gras en komen met inkuilen terecht in de kuil. Bij hogere temperaturen zijn er voldoende melkzuurbacteriën aanwezig om de kuil stabiel te krijgen. Is het een koud voorjaar of later in het jaar dan is het aandeel melkzuurvormende bacteriën veel lager. Dit komt door het lage aandeel aan beschikbare suikers op de plant. Ook wanneer het ruweiwitgehalte boven de 16 procent uit lijkt te komen is er extra melkzuur nodig om de kuil stabiel te krijgen, want wanneer het conserveringsproces te lang duurt, zet een deel van het eiwit om in ammoniak. (Jacobsen, 2016)

Broei in de kuil is afhankelijk van meerdere factoren dan alleen de klimatologische factoren en de mate waarin het gras geconserveerd wordt. De temperatuur van het verse gras product kan snel stijgen. Dit is het gevolg van de ademhaling door het nog levende product. Ook leveren de aerobe micro-organismen warmte door de activiteit in de kuil. In beide processen worden koolhydraten en suikers afgebroken tot koolzuurgas en water. Wanneer er na het luchtdicht afdekken opnieuw zuurstof in de kuil komt, begint dit proces weer opnieuw en wordt er weer koolzuurgas en water gevormd van koolhydraten (Van Dijk, 1995).

Het voorkomen van broei, kan in dit geval sterk beïnvloed worden door niet boven de 50% droge stof in te kuilen, omdat het aanrijden lastiger wordt en er meer zuurstof in de kuil achterblijft. Snel luchtdicht afdekken heeft ook positieve effecten op het voorkomen van broei. Wanneer een kuil eenmaal gebroeid heeft, is deze bij het voeren ook broeigevoeliger. Zijn bovenstaande Invloedsfactoren mislukt dan kan door voldoende voersnelheid de broei voor worden gebleven (minimaal 1,5 meter per week).

## 1.5 Knowledge gap

Naar voren komt dat de bacteriestammen de conservering bevorderen. Nog niet onderzocht is op welke wijze de afzonderlijke bacteriestammen invloed hebben op het aangeboden grasproduct. Welke bacteriestammen kunnen als kuiltoevoegmiddel de kwaliteit verhogen en wanneer gedijen deze bacteriën het best. Essentieel is om te onderzoeken waar de werking afhankelijk van is. Om de bovenstaande probleemstellingen helder te krijgen, kan er op een praktische vraag van de melkveehouder antwoord worden gegeven.



## 1.6 Afbakening hoofd- en deelvragen

Om niet te verdwalen in de literatuur en te werken richting een concrete doelstelling, is dit onderzoek gespecificeerd voor graskuilen. Het verschil in eiwit, energie en zuren maakt het al snel te breed voor een advies voor zowel gras- en maïskuilen. In dit onderzoek worden de verschillende bacteriestammen in kaart gebracht, wat de bijdrage is van deze bacteriën aan het in- en uitkuilproces, in welke mate de bacteriën aanwezig zijn en door welke omgevingsfactoren de bacteriën worden beïnvloed.

Om de bacteriestammen in kaart te brengen wordt er allereerst onderscheid gemaakt tussen de homo- en hetero fermentatieve melkzuurbacteriën. Vanuit daar wordt het onderscheid gemaakt tussen de vier dominantste homo- en fermentatieve melkzuurbacteriën (*Lactobacillus*); *plantarum*, *buchneri* en *hilgardii* (Drouin et al., 2019). Dit onderzoek wordt daarop uitgebreid met de vorming van de azijnzuurvormende bacteriën, welke een deel van het melkzuur gebruiken voor de vorming van azijnzuur.

Aan de hand van de verzamelde informatie kan er een passend hoofd- en deelvraag worden geformuleerd om naar het gewenste onderzoek te werken. In hoofdstuk 2 wordt de aanpak geschetst hoe de informatie wordt gewonnen om naar heldere en betrouwbare antwoorden op de deelvragen te werken. Deze antwoorden geven de handvaten om het uiteindelijke antwoord op de hoofdvraag te kunnen formuleren en over te gaan naar de discussie en conclusie. Op het einde van dit rapport wordt vervolgens de bibliografie weergegeven met de ontwikkelde competenties.

Naar aanleiding van de literatuurstudie en de knowledge gap volgt de volgende hoofdvraag:

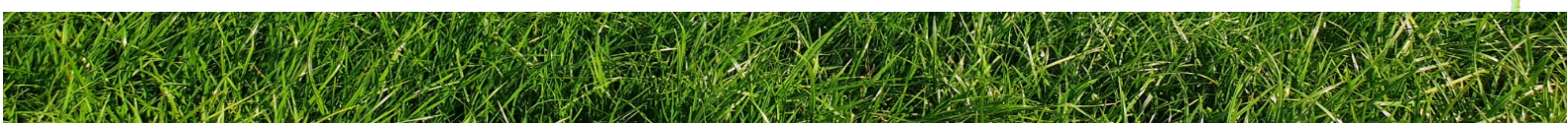
**Welke specifieke bacteriestammen kunnen als kuiltoevoegmiddel de kwaliteit van de graskuil verhogen?**

Om deze hoofdvraag goed en duidelijk te kunnen beantwoorden zijn er een aantal deelvragen opgesteld, de antwoorden op deze deelvragen geven vervolgens gezamenlijk het antwoord op de gestelde hoofdvraag. De deelvragen die in dit rapport worden gehanteerd zijn:

1. Wat is de oorzaak van een tekort aan melkzuurbacteriën in sommige graskuilen?
2. Wat zijn de dominantste en effectiefste bacteriestammen voor de vorming van melkzuur en azijnzuur in graskuilen?
3. Wat is de werking en invloed van de verschillende homo- en hetero fermentatieve bacteriën?
4. Onder welke omstandigheden gedijen de verschillende melkzuurbacteriën het best?

## 1.7 Doelstelling onderzoek

Het doel waarnaar wordt gestreefd is een praktische vertaling te creëren van het effect van de verschillende bacteriestammen. Op deze manier kan er een advies worden gegeven richting de melkveehouder over het effect van verschillende inkuilmiddelen bij het op dat moment inkuilende product. Aan de hand van dit onderzoek, is het doel antwoord te kunnen geven op de volgende vraag; "Een kuil van 4000 kilo droge stof, 48% DS, niet gehakseld en doorgeschoten gras", welke bacteriestammen moet ik gebruiken.



## 2. Aanpak

In dit hoofdstuk wordt beschreven hoe het onderzoek zal plaatsvinden. Hierin wordt vermeld hoe de data verzameld gaat worden en welke methode hiervoor wordt gebruikt.

### **Deelvraag 1: Wat is de oorzaak van een tekort aan melkzuurbacteriën in sommige graskuilen?**

Deze deelvraag is aan de hand van kwalitatief onderzoek beantwoord. Dit is gedaan aan de hand van literatuurstudie. Eerst is er via deskresearch onderzoek gedaan naar de factoren die invloed hebben op de natuurlijke vorming van melkzuurbacteriën. Om de benodigde informatie te verzamelen is er veelal gebruik gemaakt van zoekmachines als "sciencedirect" en "journal of dairy science." Om de zoekresultaten niet te beperken tot enkel het Nederlands, werd er voornamelijk gezocht in het Engels.

Bruikbare grafieken zijn met elkaar vergeleken om op die manier de trend van de ontwikkeling van de melkzuurbacteriën te achterhalen. Zo zijn de weerstatistieken uit 2009 vergeleken met een bestaand grafiekverloop van de melkzuurbacteriën aanwezig op gras. De betrouwbaarheid wordt gewaarborgd doordat er gebruik gemaakt wordt van objectieve literaire bronnen. De bronnen welke voor deze deelvraag worden gebruikt is onder andere het boek "*From Harvest to Feed: Understanding Silage Management*" (Jones et al., 2004) en (Van dijk., 1995)

### **Deelvraag 2: Wat zijn de dominantste en effectiefste bacteriestammen voor de vorming van melkzuur en azijnzuur in graskuilen?**

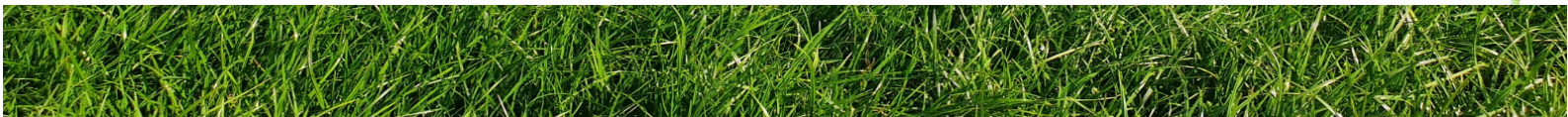
Deze deelvraag is aan de hand van kwalitatief onderzoek beantwoord. Er is veel onderzoek gedaan naar de verschillende bacteriestammen, wat allemaal terug te vinden was in de literatuur. Om deze theoretische kennis te vertalen naar de praktijk, is er onderzoek gedaan naar welke bacteriestammen het dominantste en effectiefst zijn in de graskuilen. Hierbij is scherp gelet op het gebruik van de verschillende studies, aangezien er veel onderzoeken zijn verricht naar de werking in snijmais. Het risico hiervan is de verschillen in omgeving op het gebied van pH en brandstof voor de bacteriën. De onderzoeken en studies uitgevoerd door (Driehuis et al., 2001) en (Rooke et al., 1988) zijn beide gespecificeerd richting graskuilen en zijn daarbij betrouwbaar en actueel om te gebruiken bij het beantwoorden van deze deelvraag.

De betrouwbaarheid wordt gewaarborgd doordat er enkel gebruik gemaakt wordt van wetenschappelijke artikelen. Websites als "google scholar" en "sciencedirect" worden gebruikt voor het vergaren van de benodigde kennis. In de afgelopen jaren zijn er veel onderzoeken afgerond naar de invloed van de verschillende bacteriestammen. Door de individuele eigenschappen uit te lichten en te onderzoeken hoe de homo- en hetero fermentatieve bacteriën op elkaar reageren, kan er een beeld worden geschetst welke stammen het dominantste en effectiefst zijn.

De bronnen welke voor deze deelvraag worden gebruikt zijn peer-reviewed bronnen waarnaar wordt verwezen in de tekst en terug te vinden zijn in de literatuurlijst.

### **Deelvraag 3: Wat is de werking en invloed van de verschillende homo- en hetero melkzuurbacteriën?**

Deze deelvraag is aan de hand van kwalitatief onderzoek beantwoord. Websites als "science direct" en "journal of dairy science" worden geraadpleegd voor de benodigde informatie. De bronnen van (Knaap., 2013) en (Filya., 2003) hebben een sterke bijdrage kunnen leveren aan de benodigde informatie. Bij het zoeken naar met name naar de homo fermentatieve variant de *L.plantarum* werd continu gestuit op één artikel die helaas niet toegankelijk was voor studenten van de Aeres Hogeschool. Na de samenvatting gelezen te hebben van het artikel en verder gezocht te hebben naar



andere bruikbare artikelen, is ervoor gekozen om het artikel te kopen om op die manier toegang te krijgen. Aan de voorkant was dit een risico omdat er niet 100% vanuit gegaan kon worden dat het bruikbaar was, maar het was een goed informatief stuk die de homo variant *L.plantarum* goed uitlichtte met sterke en bruikbare onderzoeken, tabellen en afbeeldingen (Filya., 2003).

Door deskresearch gedaan te doen naar de werking van de verschillende homo- en hetero fermentatieve melkzuurbacteriën, kan er met een goede kennis achtergrond antwoord worden gegeven op de deelvraag.

#### Deelvraag 4: Onder welke omstandigheden gedijen de verschillende melkzuurbacteriën het best?

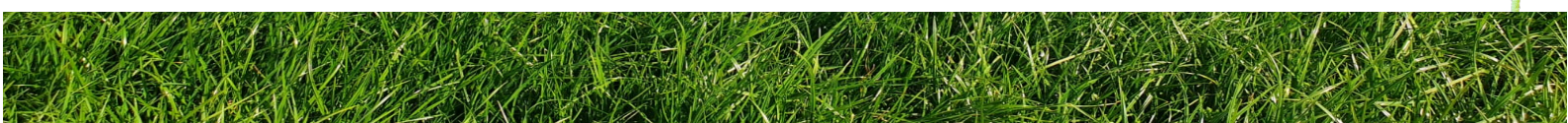
Deze deelvraag is aan de hand van kwalitatief onderzoek beantwoord. Voor het zoeken van de benodigde kennis en informatie werd gebruikt gemaakt van websites als "science direct, journal of dairy science en wur." Met name bronnen van het Wageningse rapport van (Knaap., 2013) zijn gebruikt voor het veragere van de kennis.

Om inzichtelijk te krijgen welke omstandigheden de verschillende melkzuurbacteriën nodig hadden, om zich voldoende te ontwikkelen en vermeerderen, werd de betrouwbaarheid vergroot voor de inzet van de bacteriestammen. Zo kan het antwoord op deelvraag twee zijn "de hetero fermentatieve *L.buchneri* is dominanter", maar als de omgeving voor deze specifieke bacterie niet geschikt is dan zal deze niet gedijen en verliest daarmee zijn effectiviteit.

Om de effectiviteit goed in kaart te brengen zijn de verschillende omgevingen aan de hand van wat er bekend is in de literatuur per melkzuurbacterie weergegeven, waar het wel en niet tegen kan. Dit is vervolgens toegelicht aan de hand van de literatuur.

Tabel 3: Mogelijke zoektermen ter beantwoording van de deelvragen

| Mogelijke zoektermen ter beantwoording van de deelvragen |                                                                   |                                                                                                                                        |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1)                                                       | Invloedsfactoren op melkzuurvorming                               | Proportion of sugars on grass<br>Lactic acid bacteria in grass silage                                                                  |
| 2)                                                       | Invloed en werking van de homo- en hetero fermentatieve bacteriën | Homo fermentative lactic acid bacteria<br>Hetero fermentative lactic acid bacteria                                                     |
| 3)                                                       | Vorming van melkzuur en azijnzuur en de effectiviteit daarvan     | Influence of bacterial strains on grass silage<br>Formation of acetic acid in grass silage<br>Formation of lactic acid in grass silage |
| 4)                                                       | Omstandigheden en omgeving melkzuurbacteriën                      | Environment lactic acid bacteria grass<br>environment acetic acid bacteria grass                                                       |

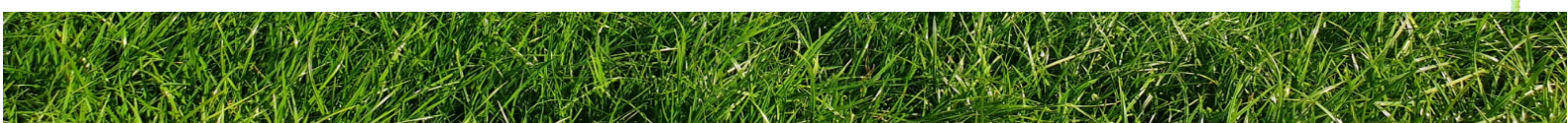


## 2.1 Interviews

Met het afnemen van interviews kunnen er nieuwe inzichten worden verzameld. Op deze manier wordt er van de kans gebruik gemaakt om de diepte in te duiken. Er wordt een semigestructureerde interview vorm toegepast. Aan de voorkant worden er een aantal vragen opgesteld, zodat de rode lijn helder is, maar er ruimte is voor doorvragen om de gewenste diepgang en specifieke kennis van elke sector specialist optimaal te benutten. De kwalitatieve onderzoek kracht van het afnemen van interviews leent zich goed voor dit rapport.

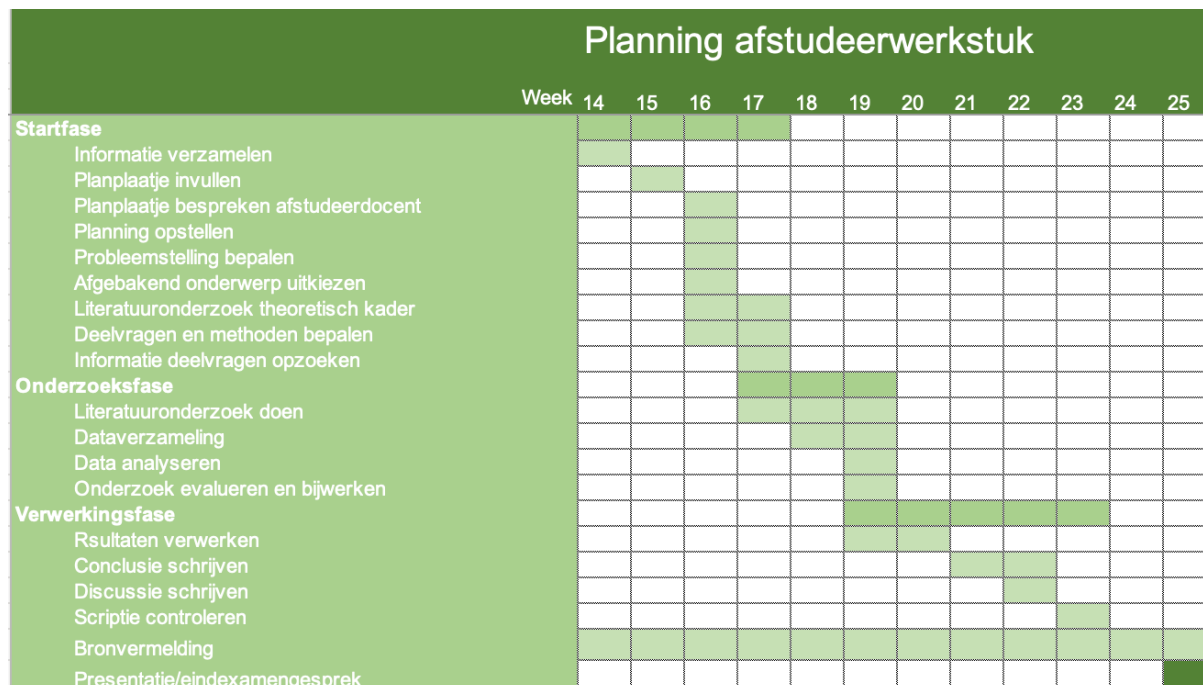
Er wordt gestreefd naar tien interviews onder verschillende sector specialisten. Om zoveel mogelijk diepgang en praktijkkennis te verzamelen, wordt er gezocht naar specialisten met verschillende ervaringen en kennis binnen de ruwvoertak. De geïnterviewde specialisten moeten met name kennis hebben van het grasproduct, bacteriestammen, inkuilmiddelen en het conserveringsproces. Bij het benaderen van specialisten wordt er allereerst teruggevallen op het netwerk van de onderzoeker om vanuit daar in contact te komen met meerdere sector specialisten.

1. Henk valk (onderzoeker & docent Aeres)
2. Piet Riemersma (ruwvoerspecialist bij van Iperen)
3. Gert Middelveld (ruwvoerspecialist bij ForFarmers)
4. Leo Tjoonk (hoofd nutrition Agrifirm)
5. Jan Roothaert (product manager Limagrain)
6. Antoon Verhoeven (ruwvoerspecialist Limagrain)
7. Tom Niehof (Barenbrug Holland)
8. Edward Ensing (docent Aeres & werkzaam geweest bij Barenbrug)



# 3. Planning

Door inzichtelijk te maken hoe de activiteiten zijn verdeeld in de aankomende weken, wordt hieronder in figuur 3 de planning weergegeven en in de gevolgde paragrafen een toelichting gegeven.



Figuur 4: Planning afstudeerwerkstuk

## 3.1 Planning startfase

In de startfase is in samenspraak met afstudeercoach Teus van den Bout een onderwerp gekozen voor het afstudeerwerkstuk. De probleemstelling is geschetst en de hoofdvraag is geformuleerd. Om duidelijk en overzichtelijk naar de hoofdvraag toe te werken zijn er vier deelvragen opgesteld. Deze worden besproken en bekeken door de dhr. Van den Bout om stappen om aan de verwachtingen van het resultaat te kunnen voldoen. Om de startfase af te sluiten is er een vooronderzoek gemaakt om in grote lijnen te schetsen waarernaartoe wordt gewerkt en hoe dit gedaan wordt.

## 3.2 Planning onderzoeksfase

Tijdens de onderzoeksfase wordt de literatuur uitgebreid onderzocht en uitgelicht. De data worden voor een groot deel vanuit de literatuur verzameld en aangevuld door de afgenomen interviews van de sector specialisten. Deze fase neemt veel tijd in beslag door het bestuderen en het contact met de geïnterviewde. Om aan de verwachtingen te voldoen en te polsen of er richting het gewenste eindresultaat wordt gewerkt zullen er tussentijdse besprekingen plaatsvinden met dhr. Van den Bout. Dit creëert de mogelijkheid om tussentijds bij te sturen waar nodig of met zekerheid op dezelfde manier door te blijven gaan.

## 3.3 Planning verwerkingsfase

In de laatste fase, namelijk de verwerkingsfase worden alle verzamelde gegevens verwerkt en geanalyseerd. De interviews worden getranscribeerd om duidelijke overeenkomsten goed en helder naar voren te brengen. Via deze manier kan er met de verwerkte gegevens uit de literatuur naar een gedegen advies worden gewerkt. Als afsluiting van het afstudeerwerkstuk, wordt er een discussie gemaakt en samenvatting gemaakt. In samenspraak met de afstudeercoach dhr. Van den Bout kan het afstudeerwerkstuk gepresenteerd worden.



## 4. Resultaten

In dit hoofdstuk worden de resultaten besproken waarnaartoe is gewerkt via een literatuurstudie. De deelvragen zoals besproken in hoofdstuk 2 worden beantwoord om uiteindelijk naar een antwoord op de hoofdvraag te werken.

### 4.1 Deelvraag 1

#### ***Wat is de oorzaak van een tekort aan melkzuurbacteriën in sommige graskuilen?***

Op gras zijn altijd melkzuurbacteriën aanwezig. Door het maaien en het bewerken van het gras neemt het aantal melkzuurbacteriën tijdens de veldperiode toe. Dit is afhankelijk van het soort gewas, seizoen, weersomstandigheden, het aantal en soort bewerkingen en de lengte van de veldperiode (Jones et al., 2004). Deze factoren beïnvloeden dan ook de van nature aanwezige melkzuurbacteriën op gras en kan hierdoor variëren van ongeveer 100 melkzuur per gram vers gras tot één miljoen bij het inkuilen.

#### 4.1.1 Natuurlijke melkzuur productie beïnvloeden

Wanneer gras gekneusd of gehakseld wordt, wordt de grasplant kapotgeslagen en komen de suikers sneller uit de cellen. Dit is gunstig voor de melkzuurproductie die daardoor sneller opgang komt dan bij onbewerkt materiaal (Van Dijk., 1995). Het kneuzen van gras kent daarbij wel een kanttekening want bij ongunstig weer tijdens het drogen leidt het tot meer verlies aan suikers. Het hakselen daarentegen kent enkel voordelen. Het hakselen zorgt namelijk voor een betere conservering door een goede menging van ongelijkmatig en onvoldoende voor gedroogd gras. De eventuele kuiladditieven worden ook gelijkmatiger en beter verdeeld over het product wat het effect van de toediening bevordert.

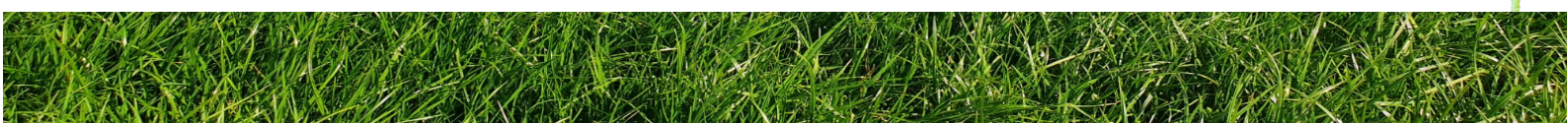
#### 4.1.2 Droge stof als sturingsfactor

Het aandeel melkzuur- en azijnzuur gaat hand in hand met het drogestof percentage van het ingekuilde gras. Bij droog gras krijgen rottingsbacteriën door het minder zure klimaat het moeilijk, maar ook melkzuurbacteriën gedijen niet goed onder die omstandigheden. Kuilen boven de 50% droge stof wordt nauwelijks meer extra melkzuur of azijnzuur gevormd. Kuilen onder de 30% hebben wel een gunstig zuur klimaat, maar daar gedijen de boterzuurbacteriën ook goed onder en krijgen rottingsbacteriën makkelijker de overhand. Een kuil tussen de 35% en 45% droge stof is daardoor dan ook optimaal om de melkzuurbacteriën gemakkelijker de overhand te laten krijgen. Kuilen tussen de 35% en 40% droge stof bevatten altijd zo'n 50 gram melkzuur per kilo. Bij kuilen die richting de 50% droge stof gaan, halveert het aandeel melkzuur per kilo. (BLGG, 2013)

#### 4.1.3 Melkzuur hand in hand met suikers

Suikers gaan hand in hand met droge stof en is daarmee ook leidend in de vorming van melkzuur. Vooral in vochtige kuilen <30% droge stof, is er vaak sprake van een laag aandeel aan suikers. Om dan voldoende melkzuur te vormen om de kuil stabiel te krijgen valt niet mee. Het aandeel aan suikers kan in gras variëren van 3% tot 25% in de drogestof. De reden van de grote schommelingen in suikergehalte in gras heeft o.a. te maken met de onderstaande factoren. (Van Dijk, 1995).

- **Groeistadium:** Ouder gras heeft een hoger suikergehalte dan jong gras.
- **Jaargetijde:** Voorjaars en in de zomer is suikergehalte hoger dan in het najaar door lichtintensiteit.
- **Groeisnelheid:** Snelgroeiend gewas heeft een lager suikergehalte.
- **Bemesting:** Hoe hoger de stikstofbemesting, des te lager het suikergehalte. Eiwit en suikers werken tegengesteld.
- **Tijdstip maaien:** In de namiddag is suikergehalte hoger dan 's morgens bij zonnig weer



- **Weer:** Gras dat bij bewolkt, regenachtig weer is gegroeid, heeft een lager suikergehalte dan gras dat bij zonnig, helder weer is gegroeid.

Koude nachten zijn gunstig voor het suikergehalte omdat het 's nachts nauwelijks suiker verbruikt omdat de groei nagenoeg stilligt.

- **Grasbestand:** Goede grassen bevatten meer suikers dan slechte (timotheegras, tegenover een veldbeemd)

Hoeveel suiker er precies nodig is voor een goede conservering hangt af van het drogestof- en eiwitgehalte in het gras. Om voor een goede conservering te gaan moet er minimaal 25-30 gram suiker beschikbaar zijn per kilo vochtig gras. De suikers komen pas beschikbaar voor de melkzuurbacteriën als de cellen zijn beschadigd of zijn afgestorven. Tussen het moment van maaien en het begin van de anaerobe fase in de kuil kan door ademhaling van het gras, door de activiteiten van de micro-organismen en door uitloging een belangrijk deel van de suikers verloren gaan. Daarom is een korte veldperiode ook voor de conservering belangrijk. (Van Dijk, 1995)

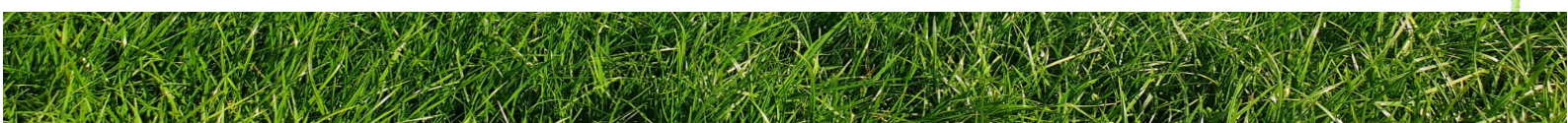
“Neem bijvoorbeeld de temperatuur in het voorjaar. Als het koud is, zijn de van nature aanwezige melkzuurvormende bacteriën nog niet of onvoldoende actief. En ook vervuiling met zand en/of mest hebben een grote invloed op het bacterieleven.” (Knaap., 2013)

Melkzuurbacteriën bevinden zich onder normale omstandigheden voldoende op het gras en komen op die manier in de kuil terecht. Bij warme temperaturen zijn er dan ook genoeg melkzuurbacteriën aanwezig om de kuil voldoende snel stabiel te krijgen. Is er een koud voorjaar aan vooraf gegaan, dan is het van nature aanwezige melkzuurbacteriën bestand veel lager en is het toevoegen van melkzuur gewenst. Bij hoge melkzuurgehalten (>80 per kg ds) in de kuil is er vaak sprake van een vochtig ingekuild product (<30% ds). Als in deze kuilen ondoordacht nog is extra melkzuurbacteriën aan toegevoegd worden, kan ervan uitgegaan worden dat gisten en schimmels alle vrijheid krijgen. Geen toevoegmiddel is in deze kuilen ook geen optie, daarom is een combinatie met azijnzuur nodig om broei te voorkomen en de gisten en schimmels tegen te gaan. Ook wanneer er over hoge ruw eiwitgehalten wordt gesproken is het toevoegen van melkzuurbacteriën gewenst. Bij kuilen boven de 16% ruw eiwit is er extra melkzuur nodig om de kuil stabiel te krijgen. Door de bufferende werking van de aminozuren kan het conserveren te lang duren en zet een deel van het eiwit om in ammoniak (Leuven., 2008).

#### 4.1.4. Oplopende temperatuur beïnvloed melkzuurbacteriën

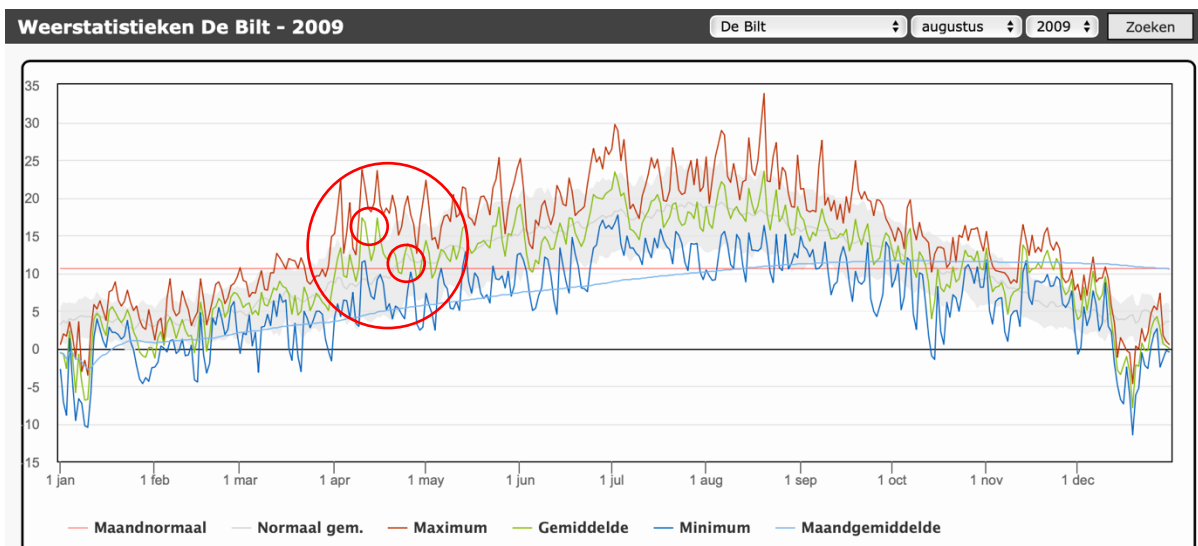
Binnen de melkzuurbacteriën zijn er twee groepen welke beide actief zijn in het kuilvoer. Deze twee groepen bestaan uit de “koude-minnende melkzuurbacteriën” en de “warmte-minnende melkzuurbacteriën”. De koude-minnende melkzuurbacteriën zijn actief bij temperaturen beneden de 40 graden. Deze groep melkzuurbacteriën is met name actief in de graskuilen. De warmte-minnende melkzuurbacteriën zijn actief bij temperaturen van 40-55 graden. Deze bacteriën komen met name voor in warme producten zoals perspulp en bierbostel. Bij een temperatuur van 40 graden worden de koude-minnende bacteriën dan ook inactief. Wanneer bijvoorbeeld perspulp voor het inkuilen sterk afkoelt en de warmte-minnende melkzuurbacteriën inactief worden verloopt het conserveringsproces dan ook slecht (Van Dijk, 1995).

De temperatuur van het moment van inkuilen is dan ook bepalend voor het slagen van het conserveringsproces. Zomers inkuilen wordt vaak gezien als het seizoen van makkelijk inkuilen door het stabiele weer, maar niks is minder waar. Door de hoge buitentemperaturen komt het gras zomers al warmer de kuil, wat eerder broei kan veroorzaken. Niet alleen de buitentemperatuur is hoger, maar ook de bodemtemperatuur (Jones et al., 2004). Het gras op het veld warmt op dat moment zowel van boven als van onderop. Op deze manier warmt het gras van het moment van maaien tot inkuilen met 10 graden op. Gras dat bij een temperatuur van 25 graden wordt gemaaid,



wordt 35 graden in de kuil en dat is geen uitzondering. Eenmaal in de kuil loopt de temperatuur nog harder, doordat de bacteriën hard aan het werk gaan om de kuil stabiel te krijgen. De warmte die dan wordt geproduceerd kan niet weg, aan de boven- en zijkanten zitten plastic en aan de onderkant zit beton.

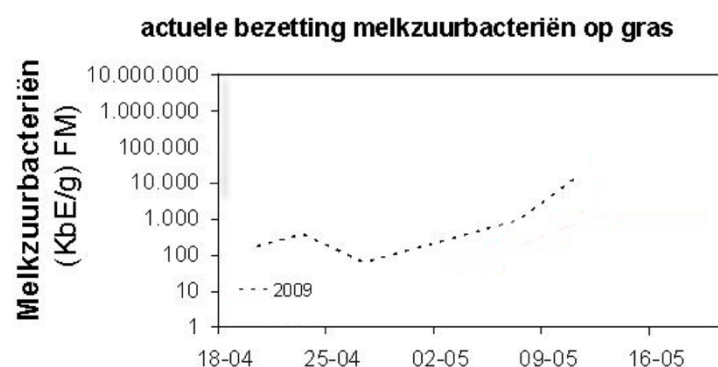
#### 4.1.5. Temperatuursverloop in verhouding tot melkzuurbacteriën



Figuur 5: Temperatuursverloop 2009

(Weerstatistieken, 2009)

Op afbeelding 6 hiernaast wordt het verloop van de van nature aanwezige melkzuurbacteriën weergegeven. Wanneer het temperatuursverloop van 2009 vergeleken wordt is het verloop duidelijk te koppelen aan de temperatuur. Het begin van april start warm en daardoor stijgen de melkzuurbacteriën mee. Rond half april bereikt de maand een piek waarna het weer terugzakt richting een temperatuur van 10 graden op eind april en deze daling is ook goed terug te zien aan de bezetting van de melkzuurbacteriën.



Figuur 6: Actuele bezetting melkzuurbacteriën (Rooke et al., 1988)

Het aantal van nature aanwezige melkzuurbacteriën op gras varieert aanzienlijk, maar in het algemeen ligt het aantal rond  $10^5$  eenheden cfu/g nat voedergras. Op basis van deze getallen moeten de bacteriële toevoegmiddelen ten minste 100.000 ( $1 \times 10^5$ ) cfu/g aan melkzuurbacteriën aan nat voedergras leveren om de fermentatie te domineren (Van Dijk., 1995).

## 4.2 Deelvraag 2

**Wat zijn de dominantste en effectiefste bacteriestammen voor de vorming van melkzuur en azijnzuur in graskuilen?**

De kuiladditieven die worden toegevoegd om het conserveringsproces te versnellen en verbeteren bevatten vaak één of meer soorten homo fermentatieve bacteriën. Deze bacteriën zetten snel en efficiënt suiker om in melkzuur zodat de snelheid waarmee een kuil stabiel is wordt versneld. De uiteindelijke pH en eiwitafbraak in de graskuilen worden hierdoor om laag gebracht. Bacteriestammen als *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* en *Enterococcus faecium* zijn de meest gebruikte soorten. De *Lactobacillus plantarum* is de meeste gebruikte in zijn soort van homo fermentatieve bacteriën en zet het snelst en efficiënt de beschikbare brandstof om in melkzuur. (Driehuis et al., 2001)



Het doel van het toevoegen van de homo fermentatieve melkzuurbacteriën is het verminderen van het risico op clostridium fermentaties en het verbeteren van de voedingskwaliteit. De resultaten van de studies besproken in het artikel van (Driehuis et al., 2001) gaven echter aan dat de homo fermentatieve bacteriën de aerobe stabiliteit kunnen schaden. De reden hierachter is dat de homo fermentatieve bacteriën het aandeel van azijnzuur in graskuilen verlaagt. In de afgelopen jaren zijn er dan ook veel studies gedaan om de aerobe stabiliteit te verbeteren en daardoor is de hetero fermentatieve bacterie opnieuw aan het licht gekomen.

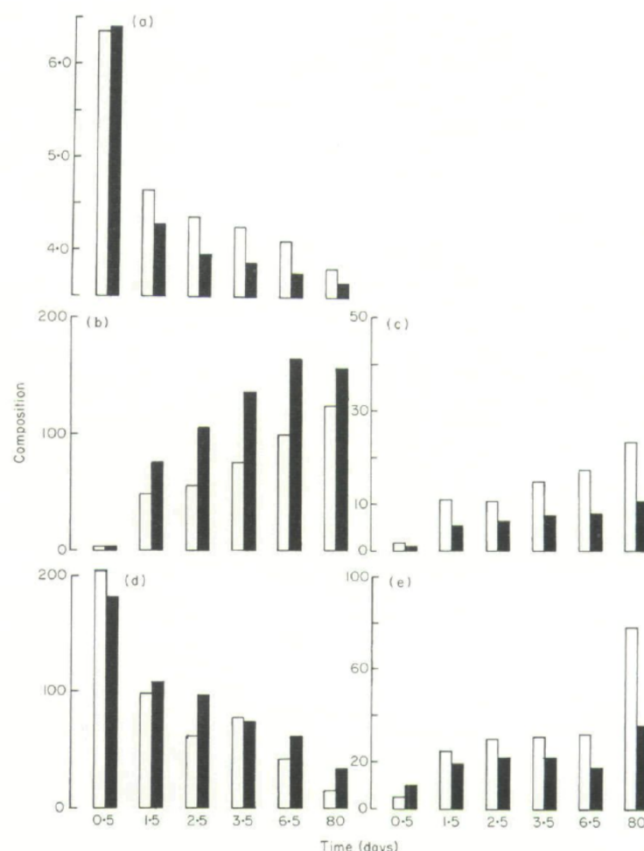
Het gebruik van hetero fermentatieve bacteriën is lang uitgesloten omdat deze bacteriën minder zuur produceren dan de homo varianten. De hetero bacteriën krijgen de kuilen dan ook niet zo snel stabiel als dat de homo bacteriën dat kunnen. In deze aannames wordt enkel uitgegaan van een kuil onder anaerobe omstandigheden en wordt niet ingegaan op het nut van de hetero bacteriën onder aerobe omstandigheden. Zo wordt er in het rapport van (Driehuis et al., 2001) en (Kung & Ranjit., 2001) ingegaan op de bijzondere variant *L.buchneri* die zo ver bekend de enige hetero variant is die melkzuur kan metaboliseren tot azijnzuur en 1,2-propaandiol onder anaerobe omstandigheden (Oude Elferink en Driehuis, ongepubliceerde waarnemingen). Hierdoor is de *buchneri* in staat om ten koste van melkzuur azijnzuur te produceren. Het resultaat hiervan is dat onder aerobe omstandigheden de gist- en schimmelgroei bij blootstelling aan lucht wordt geremd en de stabiliteit wordt verbeterd.

De *L.buchneri* en *L.plantarum* zijn unieke bacteriestammen in de categorie van homo- en hetero fermentatieve bacteriën. De *L.plantarum* zet efficiënt de suikers om richting melkzuur en zorgt hier voor een snelle PH-daling waardoor de kuil snel stabiel is en er zo min mogelijk voeding waardes verloren gaan. De *L.buchneri* is de enige in zijn soort van de hetero fermentatieve bacteriën die melkzuur kan fermenteren onder anaerobe omstandigheden.

#### 4.2.1. Homo fermentatieve bacterie *L.plantarum*

De *L.plantarum* is de meest commerciële gebruikte homo fermentatieve melkzuurbacterie. Dat is met een reden, de *plantarum* is namelijk in staat om de suikers snel en efficiënt om te zetten in melkzuur en weet hierdoor snel een lage pH te bereiken, hoge melkzuur en een laag NH<sub>3</sub>-fractie. In afbeelding 6 hieronder wordt een proef weergegeven wat de werking van de *plantarum* goed weergeeft in vergelijking met een kuil zonder een toevoeging van de *plantarum*.

Afbeelding 7 hiernaast laat een proef zien van verschillende graskuilen geënt met *Lactobacillus plantarum* en de controle kuil waar geen additieven aan zijn toegevoegd. In de verschillende grafieken die worden weergegeven, zijn de staafjes van de controle kuil wit en de staafjes van de kuil geënt met de *plantarum* zwart gekleurd. Grafiek A laat de pH zien, grafiek B het melkzuur, grafiek C het azijnzuur, grafiek D wateroplosbare koolhydraten en grafiek E de NH<sub>3</sub>-fractie. De X-as laat het verloop in dagen zien.



Figuur 7: Kuilproeven geënt met *L.plantarum* (Rooke et al., 1988)



In tabel A van afbeelding 6 wordt het overzicht goed weergegeven en is in beide gevallen na 5 dagen de pH onder de 5. Alleen bij hetzelfde moment van monsternemen had de behandelde kuil een lagere pH van 4,3 tegenover 4,6. Ook het aandeel melkzuur neemt explosief toe in vergelijking tot de controle kuil.

| Silo size                                             | Laboratory |      |      | 2-t  |      |      | s.e. of mean |
|-------------------------------------------------------|------------|------|------|------|------|------|--------------|
|                                                       | C†         | I    | F    | C    | I    | F    |              |
| pH                                                    | 3.80       | 3.65 | 3.80 | 3.75 | 3.55 | 3.95 | 0.044        |
| Dry matter (g kg <sup>-1</sup> )                      | 200        | 216  | 204  | 197  | 208  | 216  | 5.0          |
| Water soluble carbohydrate (g (kg DM) <sup>-1</sup> ) | 14         | 31   | 23   | 13   | 23   | 44   | 3.3          |
| Ethanol (g (kg DM) <sup>-1</sup> )                    | 5.1        | 20.2 | 41.1 | 10.6 | 26.3 | 43.6 | 5.14         |
| Acetic acid (g (kg DM) <sup>-1</sup> )                | 22.1       | 9.8  | 9.0  | 19.2 | 10.8 | 6.9  | 1.38         |
| Lactic acid (g (kg DM) <sup>-1</sup> )                | 116        | 141  | 97   | 105  | 142  | 56   | 6.82         |
| Nitrogen (g (kg DM) <sup>-1</sup> )                   | 17.9       | 17.4 | 20.4 | 19.7 | 18.5 | 20.9 | 1.17         |
| Soluble nitrogen (g (kg N) <sup>-1</sup> )            | 494        | 549  | 552  | 597  | 588  | 419  | 55.6         |
| Ammonia nitrogen (g (kg N) <sup>-1</sup> )            | 80         | 38   | 60   | 78   | 47   | 31   | 10.3         |

† C, control silage; I, inoculated silage; F, formic acid-treated silage.

Figuur 8: Gras onbehandeld, behandeld met plantarum en behandeld met mierenzuur.

(Rooke et al., 1988)

Het gras geënt met *plantarum* laat een significant lagere pH, ammoniak en azijnzuur zien dan in de controle kuil. De droge stof, melkzuur en ethanol is in de geënte kuilen significant hoger.

#### 4.2.2 Hetero fermentatieve bacterie *L.buchneri*

De vorming van azijnzuur en propionzuur door de *L.buchneri* zorgt voor remming van gisten en schimmels. De kuilen die geënt waren met *L.buchneri* lieten namelijk een hoog aandeel aan azijnzuur en propionzuur zien.

|                                                 | Control | Inoculated |
|-------------------------------------------------|---------|------------|
| pH                                              | 3.76    | 4.38       |
| NH <sub>3</sub> -N (g kg <sup>-1</sup> total N) | 84      | 112        |
| LAB (log cfu g <sup>-1</sup> )                  | 8.3     | 9.2        |
| Yeasts (log cfu g <sup>-1</sup> )               | 5.7     | <2.0       |
| Acetic acid bacteria (log cfu g <sup>-1</sup> ) | <2.0    | <2.0       |
| Aerobic stability (h)                           | 43      | >792       |
| Composition of DM (mmol kg <sup>-1</sup> DM)    |         |            |
| lactic acid                                     | 768     | 99         |
| acetic acid                                     | 327     | 1005       |
| propionic acid                                  | 11      | 113        |
| ethanol                                         | 223     | 401        |
| 1-propanol                                      | 5       | 207        |

Figuur 9: Kuil geënt met *L.buchneri* (Driehuis et al., 2001)

De studie die wordt besproken in het rapport van Driehuis heeft aangetoond dat de *L.buchneri* in staat is om tijdens de fermentatie azijnzuur, 1-propanol en propionzuur te vormen van melkzuur onder anaerobe omstandigheden. (Driehuis et al., 2001) Om de effecten op de fermentatie van kuilvoer te onderzoeken werd het kuilvoer geënt met homo fermentatieve bacteriën welke onder



andere bestond uit de *plantarum*, met de *L.buchneri* en vergeleken met de controle kuil waar niks aan toegevoegd is. Naast de vergelijking tussen de verschillende bacteriestammen werd ook de dosering getoetst. Zo werden er verschillende hoeveelheden geënt van  $1 \times 10^5$ ,  $5 \times 10^5$  en  $1 \times 10^6$  cfu/gram.

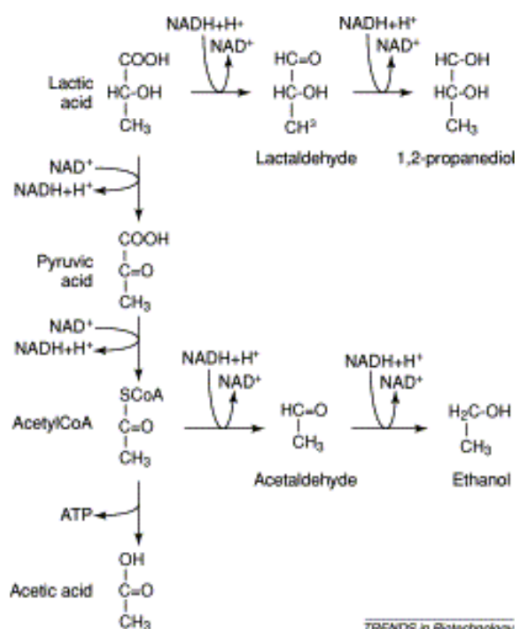
Door het tijdsverloop experiment werden de kuilen op verschillende tijdsfacetten bekeken en onderzocht. Zo kwam naar voren dat na 69 dagen na het inkuilen, de kuilen ingeënt met de *L.buchneri* een lagere pH, hogere concentraties azijnzuur, propionzuur en ethanol, maar lagere concentraties melkzuur bedroegen dan de onbehandelde controle kuil. Het kuilvoer behandeld met het homo fermentatieve variant bevatte een lagere pH, hogere concentraties melkzuur en lagere concentratie van  $\text{NH}_3$  dan de onbehandelde kuil. De hoeveelheid aan gisten waren in alle kuilen laag bij het openen van de kuilen, maar het laagst bij de kuilen die zijn geënt met de *L.buchneri*. Een opvallend resultaat van de proef is dat alleen de kuilen die geënt zijn met gelijk aan de  $5 \times 10^5$  of meer de aerobe stabiliteit van het kuilvoer verbeterde (Kung & Ranjit., 2001).

#### 4.2.2.1 Stamkarakterisering

De hetero fermentatieve variant *L.buchneri* die in de studies naar voren komt fermenteert de volgende koolhydraten: arabinose, ribose, xylose, fructose, galactose, gluconaat, glucose, maltose, melibiose, saccharose, melezitose en raffinose. De stam vormt melkzuur en ethanol als belangrijke fermentatie eindproduct uit glucose en kan het melkzuur vervolgens omzetten in azijnzuur en 1,2 propaandiol onder anaerobe omstandigheden (Driehuis et al., 2001).

#### 4.2.3. Verhouding melkzuur tot azijnzuur

Uit het artikel van (Knaap, 2013) is voormalig productmanager Edward Ensing van Barenbrug aan het woord over het voordeel van een goede verhouding tussen melkzuur en azijnzuur. Zo vertelt Ensing dat de verhouding van één deel azijnzuur op drie delen melkzuur garant staat voor de beste melkproducties. Deze filosofie wordt ook gedeeld door de hedendaagse inkuilmiddelen die de homo- en hetero fermentatieve bacteriën steeds vaker bundelen voor een zo gunstig mogelijk klimaat in de kuil.



Figuur 10: Anaërobe afbraakroute door de *L.buchneri* (Kleinschmit & Kung JR, 2006)

Wanneer er alleen gebruik gemaakt wordt van melkzuur wordt de smaak wel verbeterd, maar is er meer brandstof aanwezig voor gisten en schimmels en dit proces gaat melkzuur niet tegen. Bij alleen toevoegen van azijnzuur wordt de smaak te veel negatief beïnvloedt. Een combinatie van deze twee zuren zorgt dan ook voor een ideale combinatie van zowel een goede voeropname door de smakelijkheid van het melkzuur, als een goede stabiliteit en het tegengaan van gisten en schimmels door het azijnzuur. (Knaap, 2013)

### 4.3 Deelvraag 3

#### Wat is de werking en invloed van de verschillende homo- en hetero melkzuurbacteriën?

De werking van de homo- en hetero fermentatieve melkzuurbacteriën wordt mede toegelicht door het figuur 5 hieronder. De afbeelding is afkomstig uit het onderzoek van I. Filya. De *L. plantarum* vertegenwoordigd in dit onderzoek de homo fermentatieve variant en de *L. buchneri* de hetero fermentatieve variant. Naast de vergelijking tussen homo- en hetero fermentatieve met de controle



kuil, waar geen additieven zijn toegevoegd. Wordt er ook een combinatie gemaakt van de *L. plantarum* en *L. buchneri*. In de vijf monsters die zijn afgenomen op de verschillende tijdsvakken na het luchtdicht afsluiten van het gras, ontstaat er een duidelijke trend bij alle vijf de monsters.

| Days of ensiling | Forage type | Treatment                                | pH                  | DM    | WSC <sup>1</sup>   | Lactic acid         | Acetic acid       | Ethanol | NH <sub>3</sub> -N |
|------------------|-------------|------------------------------------------|---------------------|-------|--------------------|---------------------|-------------------|---------|--------------------|
| 2                | Corn        | Control                                  | 5.54 <sup>a,b</sup> | 23.3  | 5.88 <sup>a</sup>  | 2.28 <sup>b</sup>   | 0.65 <sup>b</sup> | 0.16    | 0.107 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>Lactobacillus buchneri</i>            | 5.67 <sup>a</sup>   | 23.3  | 5.41 <sup>a</sup>  | 1.75 <sup>b</sup>   | 1.96 <sup>a</sup> | 0.18    | 0.122 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 5.30 <sup>c</sup>   | 23.4  | 5.17 <sup>a</sup>  | 3.87 <sup>a</sup>   | 0.11 <sup>c</sup> | 0.13    | 0.080 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 5.44 <sup>b,c</sup> | 23.2  | 5.39 <sup>a</sup>  | 2.52 <sup>b</sup>   | 1.50 <sup>a</sup> | 0.15    | 0.087 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.038               | 1.412 | 1.287              | 0.433               | 0.293             | 1.448   | 0.015              |
|                  | Sorghum     | Control                                  | 5.76 <sup>a</sup>   | 22.0  | 14.27 <sup>a</sup> | 2.43 <sup>b</sup>   | 0.46 <sup>b</sup> | 0.16    | 0.115 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 5.75 <sup>a</sup>   | 22.1  | 13.63 <sup>a</sup> | 1.67 <sup>b</sup>   | 2.29 <sup>a</sup> | 0.20    | 0.136 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 5.52 <sup>b</sup>   | 21.9  | 13.32 <sup>a</sup> | 4.03 <sup>a</sup>   | 0.12 <sup>c</sup> | 0.14    | 0.092 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 5.63 <sup>a,b</sup> | 22.0  | 13.56 <sup>a</sup> | 2.84 <sup>b</sup>   | 1.55 <sup>a</sup> | 0.15    | 0.095 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.041               | 1.377 | 1.131              | 0.369               | 0.275             | 1.417   | 0.017              |
| 4                | Corn        | Control                                  | 5.28 <sup>a</sup>   | 22.8  | 5.43 <sup>a</sup>  | 2.97 <sup>b,c</sup> | 0.79 <sup>b</sup> | 0.21    | 0.134 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 5.37 <sup>a</sup>   | 22.7  | 5.01 <sup>a</sup>  | 2.11 <sup>c</sup>   | 2.47 <sup>a</sup> | 0.24    | 0.151 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 4.80 <sup>c</sup>   | 22.8  | 4.63 <sup>a</sup>  | 5.79 <sup>a</sup>   | 0.14 <sup>c</sup> | 0.19    | 0.102 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 5.04 <sup>b</sup>   | 22.5  | 4.80 <sup>a</sup>  | 3.57 <sup>b</sup>   | 1.97 <sup>a</sup> | 0.20    | 0.109 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.039               | 1.284 | 1.245              | 0.396               | 0.258             | 1.532   | 0.017              |
|                  | Sorghum     | Control                                  | 5.47 <sup>a</sup>   | 21.5  | 13.05 <sup>a</sup> | 3.26 <sup>b</sup>   | 0.57 <sup>b</sup> | 0.24    | 0.143 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 5.49 <sup>a</sup>   | 21.5  | 12.48 <sup>a</sup> | 2.10 <sup>c</sup>   | 2.76 <sup>a</sup> | 0.27    | 0.164 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 5.13 <sup>b</sup>   | 21.4  | 11.99 <sup>a</sup> | 5.83 <sup>a</sup>   | 0.27 <sup>c</sup> | 0.20    | 0.115 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 5.36 <sup>a</sup>   | 21.6  | 12.36 <sup>a</sup> | 3.99 <sup>b</sup>   | 2.08 <sup>a</sup> | 0.23    | 0.121 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.043               | 1.330 | 1.124              | 0.378               | 0.236             | 1.356   | 0.018              |
| 8                | Corn        | Control                                  | 4.80 <sup>a</sup>   | 22.2  | 4.69 <sup>a</sup>  | 4.06 <sup>b</sup>   | 1.06 <sup>b</sup> | 0.30    | 0.160 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 4.96 <sup>a</sup>   | 22.1  | 4.27 <sup>a</sup>  | 2.57 <sup>c</sup>   | 3.23 <sup>a</sup> | 0.32    | 0.186 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 4.41 <sup>c</sup>   | 22.0  | 3.85 <sup>a</sup>  | 8.04 <sup>a</sup>   | 0.24 <sup>c</sup> | 0.25    | 0.129 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 4.64 <sup>b</sup>   | 22.3  | 4.10 <sup>a</sup>  | 4.89 <sup>b</sup>   | 2.48 <sup>a</sup> | 0.28    | 0.137 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.041               | 1.546 | 1.009              | 0.381               | 0.264             | 1.319   | 0.016              |
|                  | Sorghum     | Control                                  | 5.06 <sup>a</sup>   | 20.9  | 10.84 <sup>a</sup> | 4.67 <sup>b</sup>   | 0.72 <sup>b</sup> | 0.35    | 0.176 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 5.10 <sup>a</sup>   | 21.0  | 10.35 <sup>a</sup> | 2.44 <sup>c</sup>   | 3.50 <sup>a</sup> | 0.38    | 0.205 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 4.70 <sup>b</sup>   | 20.8  | 9.88 <sup>a</sup>  | 8.61 <sup>a</sup>   | 0.45 <sup>c</sup> | 0.34    | 0.142 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 4.95 <sup>a</sup>   | 20.9  | 10.06 <sup>a</sup> | 5.37 <sup>b</sup>   | 2.71 <sup>a</sup> | 0.34    | 0.150 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.045               | 1.343 | 0.976              | 0.342               | 0.244             | 1.408   | 0.015              |
| 15               | Corn        | Control                                  | 4.48 <sup>a</sup>   | 22.0  | 3.99 <sup>a</sup>  | 5.29 <sup>c</sup>   | 1.13 <sup>b</sup> | 0.39    | 0.215 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 4.57 <sup>a</sup>   | 22.2  | 3.36 <sup>a</sup>  | 3.13 <sup>d</sup>   | 3.45 <sup>a</sup> | 0.42    | 0.240 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 4.02 <sup>c</sup>   | 22.1  | 3.17 <sup>a</sup>  | 11.33 <sup>a</sup>  | 0.27 <sup>c</sup> | 0.37    | 0.171 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 4.26 <sup>b</sup>   | 22.2  | 3.28 <sup>a</sup>  | 6.95 <sup>b</sup>   | 2.80 <sup>a</sup> | 0.38    | 0.178 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.044               | 1.451 | 1.144              | 0.324               | 0.246             | 1.368   | 0.013              |
|                  | Sorghum     | Control                                  | 4.73 <sup>a</sup>   | 20.6  | 9.07 <sup>a</sup>  | 6.01 <sup>c</sup>   | 0.83 <sup>b</sup> | 0.44    | 0.228 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 4.78 <sup>a</sup>   | 20.7  | 8.07 <sup>a</sup>  | 3.09 <sup>d</sup>   | 3.93 <sup>a</sup> | 0.46    | 0.257 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 4.26 <sup>c</sup>   | 20.5  | 7.56 <sup>a</sup>  | 12.46 <sup>a</sup>  | 0.56 <sup>c</sup> | 0.40    | 0.189 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 4.48 <sup>b</sup>   | 20.5  | 7.79 <sup>a</sup>  | 7.50 <sup>b</sup>   | 3.15 <sup>a</sup> | 0.43    | 0.196 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.047               | 1.347 | 0.955              | 0.316               | 0.211             | 1.381   | 0.011              |
| 90               | Corn        | Control                                  | 3.72 <sup>b</sup>   | 21.6  | 3.15 <sup>a</sup>  | 4.04 <sup>c</sup>   | 1.27 <sup>b</sup> | 0.47    | 0.262 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 4.13 <sup>a</sup>   | 21.4  | 0.64 <sup>b</sup>  | 2.76 <sup>d</sup>   | 3.89 <sup>a</sup> | 0.49    | 0.285 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 3.64 <sup>b</sup>   | 21.7  | 2.54 <sup>a</sup>  | 7.94 <sup>a</sup>   | 0.33 <sup>c</sup> | 0.42    | 0.211 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 3.80 <sup>b</sup>   | 21.5  | 1.03 <sup>b</sup>  | 5.55 <sup>b</sup>   | 3.17 <sup>a</sup> | 0.45    | 0.220 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.037               | 1.309 | 0.048              | 0.342               | 0.222             | 1.320   | 0.010              |
|                  | Sorghum     | Control                                  | 3.87 <sup>b</sup>   | 20.3  | 6.75 <sup>a</sup>  | 4.86 <sup>c</sup>   | 0.96 <sup>b</sup> | 0.50    | 0.281 <sup>b</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i>                       | 4.26 <sup>a</sup>   | 20.4  | 1.36 <sup>b</sup>  | 2.54 <sup>d</sup>   | 4.30 <sup>a</sup> | 0.53    | 0.308 <sup>a</sup> |
|                  |             | <i>L. plantarum</i>                      | 3.75 <sup>b</sup>   | 20.1  | 5.96 <sup>a</sup>  | 9.39 <sup>a</sup>   | 0.62 <sup>c</sup> | 0.47    | 0.234 <sup>c</sup> |
|                  |             | <i>L. buchneri</i> + <i>L. plantarum</i> | 3.88 <sup>b</sup>   | 20.3  | 2.02 <sup>b</sup>  | 6.18 <sup>b</sup>   | 3.49 <sup>a</sup> | 0.49    | 0.244 <sup>c</sup> |
|                  |             | SE                                       | 0.040               | 1.411 | 0.043              | 0.310               | 0.202             | 1.305   | 0.009              |

Figuur 11: Microbiologische analyse

Bron: (Filya., 2003)

### *L. buchneri*

- Realiseert een gelijke tot hogere pH dan de controle kuil
- Gebruikt de beschikbare suikers met name voor de vorming van azijnzuur en scoort daarmee significante verschillen tegenover de *L. plantarum* en combinatie van *L. plantarum* en *buchneri*.
- Het melkzuur is in alle gevallen lager dan de controle kuil
- Ethanol getal is in alle gevallen het hoogst bij de kuil geënt met *L. buchneri*

### *L. plantarum*

- Scoort in alle gevallen het hoogste melkzuur getal en laagste aandeel azijnzuur getal.
- Door de snelle conservering en snelle stabiliteit, is er het minst sprake van eiwitafbraak bij de *L. plantarum*, wat zich door ontwikkelt in het laagste NH<sub>3</sub>-fractie getal van de onderzochte monsters.
- Vormt het laagste Ethanol getal van de onderzochte monsters.



#### ***L. plantarum + L. buchneri***

- De combinatie van de twee bacteriestammen laten goed de sterke eigenschappen van beide bacteriestammen goed naar voren komen.
- Scoort een lager NH<sub>3</sub> getal dan de controle kuil en de kuil geënt met de *L. buchneri*.
- Scoort een hoger melkzuur getal dan de controle kuil en de kuil geënt met de *L. buchneri*
- Scoort een hoger azijnzuur getal dan de controle kuil en de kuil geënt met de *L. plantarum*

Kuilen met een hoog gehalte aan melkzuur en azijnzuur blijken het meest stabiel te zijn.

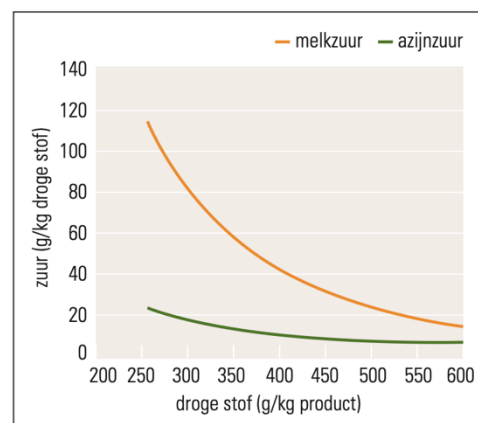
Voederwaarden in een tweede monsternamen waren sterk afgenomen door conserveringsverliezen bij kuilen met een laag azijnzuurgehalte. Azijnzuur gaat conserveringsverliezen tegen en beperkt op die manier de voederwaarden verliezen. In een proef van toenmalig productmanager Edward Ensing bij Barenbrug, werden de kuiltemperaturen op zes punten gemeten in het snijvlak en bij kuilen met voldoende hoog azijnzuur waren de metingen acht graden kouder. (Knaap, 2013)

#### **4.4 Deelvraag 4**

##### ***Onder welke omstandigheden gedijen de verschillende melkzuurbacteriën het best?***

Om de werking van de melkzuurbacteriën zo gunstig mogelijk te laten verlopen is de omgeving waarin de bacteriën actief zijn belangrijk. In het geval van de graskuilen gaat en staat alles met de droge stof percentage. In natte (<30% ds) kuilen kunnen melkzuurbacteriën prima gedijen, alleen voeren ze veel de strijd met schadelijke bacteriën. Een DS-gehalte tussen de 35 en 45% kan gezien worden als het optimum. De melkzuur- en azijnzuur bacteriën gedijen prima in dat klimaat en boterzuur- en rottingsbacteriën krijgen het dan een stuk moeilijker. De concurrentiepositie van de melkzuur- en azijnzuur bacteriën worden dan gunstiger en krijgen gemakkelijker de overhand.

In de studie uitgevoerd door voormalig productmanager Edward Ensing van Barenbrug werd een belangrijke constatering gedaan. De groep met lage waarden voor zowel de melk- als azijnzuur werden aangetroffen in kuilen waar de droge stof percentage het hoogst was. In de kuilen die droger zijn dan de 50% krijgen de gisten en schimmels volop de kans. In deze kuilen ontstaat er gemakkelijker broei en verdringen de schadelijke bacteriën de azijnzuur producerende bacteriën. Een droge stof percentage tussen de 35 en 45% droge stof is om deze redenen het meest ideaal. Kuilen zijn bij deze percentages nog goed aan te rijden en droog genoeg om geen persapverliezen te hebben. (Knaap, 2013)



Figuur 12: Relatie droge stofgehalte met melkzuur en azijnzuur in graskuilen Bron: (Knaap, 2013)

Wanneer het droge stofgehalte van gras hoger is, dan is de concentratie aan opgeloste stoffen en de osmotische druk in het resterende plantesap hoger. In gras dat gedroogd is tot minstens 35% drogestof komen boterzuur- en rottingsbacteriën nauwelijks voor. Bij gras lager dan 35% tot 30% kan de conservering nog steeds goed verlopen, maar dan moeten de overige omstandigheden wel gunstig zijn. Er moet dan voldoende suikers en melkzuurbacteriën aanwezig zijn, ook een lage temperatuur en kneuzen/hakselen zijn dan gewenst. Beneden de 30% drogestof is een toevoegmiddel altijd nodig om een goede conservering te krijgen.

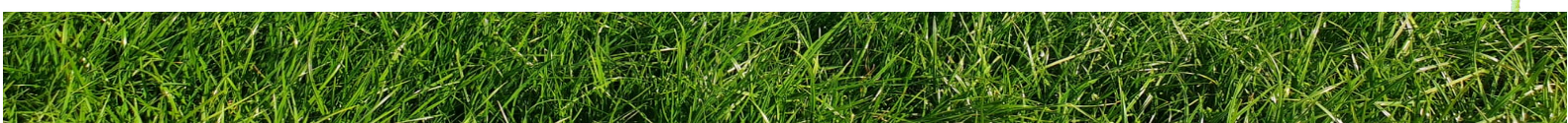
Bij een droger milieu wordt ook de werking van de melkzuurbacteriën geremd en is de eind-pH vaak hoger dan 4,2. Dat betekent echter niet dat deze kuilen niet stabiel zijn en gaan rotten. De reden dat deze kuilen niet gaan bederven, is omdat de boterzuur- en rottingsbacteriën in een droger milieu bij een hogere pH eerder inactief worden. In een kuil met minder dan 25% drogestof moet de pH dalen tot minstens 4,2 om een goede conservering te bereiken. Bij kuilen met meer dan 25% drogestof ligt



de maximum pH voor het verkrijgen van een goede kuil hoger dan 4,2. Kuilen met een droge stofgehalte van ongeveer 45% kunnen geslaagd zijn bij een pH van 5 (Van Dijk, 1995).

#### 4.4.1 Anaerobe fase gunstig voor melkzuur

De melkzuurbacteriën gedijen prima onder de anaerobe fase. Door het afsterven van het gras komen de celsappen met de opgeloste suikers beschikbaar voor de melkzuurbacteriën. Bij voldoende suikers ontwikkelde de melkzuurbacteriën zich dan ook snel. Ook in hele vochtige kuilen (<30%) kan de pH dan zo snel dalen dat schadelijke bacteriën als boterzuur- en rottingsbacteriën geen kans krijgen. Als er onder de anaerobe fase te weinig suikers of melkzuurbacteriën aanwezig zijn, komt de melkzuurvorming niet op gang en vooral in de vochtige kuilen krijgen de schadelijke bacteriën dan snel grip op het conserveringsproces. De conservering zal dan in meerdere of mindere mate mislukken en er ontstaan grote verliezen. De kuil blijft instabiel en daarom moeten alle maatregelen genomen worden om de melkzuurbacteriën in een zo gunstig mogelijke concurrentiepositie te brengen ten opzichte van de schadelijke bacteriën (Van Dijk, 1995).



# 5. Discussie

In dit hoofdstuk wordt de gekozen aanpak besproken en met name de andere aanpak dan in het vooronderzoek is benoemd. Daarnaast worden de resultaten uit het afstudeerwerkstuk bediscussieerd.

## 5.1 Aanpak

De aanpak die in het vooronderzoek is benoemd en ook is uitgewerkt richting de interviewvragen, is anders uitgevallen. In de aanloop richting het schrijven van het afstudeerwerkstuk zijn er verschillende belrondes aan vooraf gegaan met de zogeheten sector specialisten. Bij het benaderen van deze specialisten is met name gebruik gemaakt van het tot nu toe ontwikkelde netwerk in de sector. Specialisten van verschillende voer firma's zijn benaderd en de uitkomst was veelal hetzelfde. Meewerken aan een rapport geschreven voor Agrifirm maakte het lastiger en zagen de specialisten veelal niet zitten. De concurrentie tussen de voer firma's is groot en daardoor hadden de specialisten er zelf niet veel over te zeggen en was er goedkeuring nodig vanuit de hoofdkantoren. Een antwoord dat de angst heerste dat het een gekleurd rapport zou worden of dat er medewerking is verleend aan een rapport dat voor meerwaarde zou kunnen zijn voor Agrifirm werd vaak gegeven.

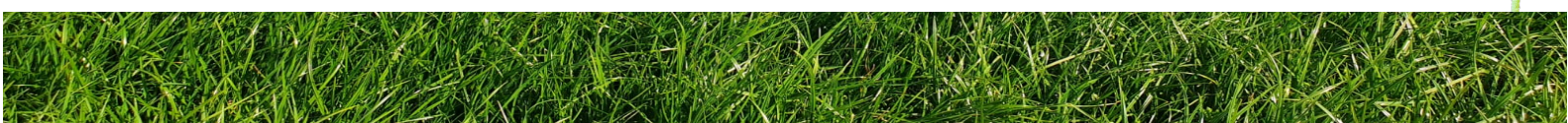
Na overleg met afstudeercoach Teus van den Bout en het voorgelegd te hebben aan de 2<sup>e</sup> beoordelaar Wietske van Dijk, is er een andere weg ingeslagen voor het afstudeerwerkstuk. Waar literatuurstudie aangevuld zou worden met de afgenomen interviews, is nu de literatuurstudie de enige informatiebron en leidend voor de resultaten van het afstudeerwerkstuk. Bij het schrijven van het vooronderzoek is het raadplegen van bronnen geen probleem geweest en is er dan ook veel bekend in de literatuur over de conserveringsbacteriën. Tijdens het schrijven van het afstudeerwerkstuk is dit dan ook geen probleem geweest, goede en nuttige bronnen werden gevonden om de deelvragen goed te kunnen beantwoorden om uiteindelijk naar de conclusie te kunnen werken.

## 5.2 Resultaten

Het onderzoek is er opgericht om de gunstige werking van de verschillende conserveringsbacteriën in kaart te brengen. Wat is de invloed van de verschillende bacteriegroepen en wat voor effect heeft dat voor de graskuilen. Hoewel het gebruik van de inkuilmiddelen de afgelopen jaren toeneemt en daarmee dus ook het vertrouwen, heerst nog steeds het gevoel dat het met name een commercieel oogpunt heeft. Om deze reden kan het van meerwaarde zijn dat de melkveehouder zelf over de juiste kennis beschikt en vooral waar op te letten bij het lezen van het etiket van het desbetreffende inkuilmiddel.

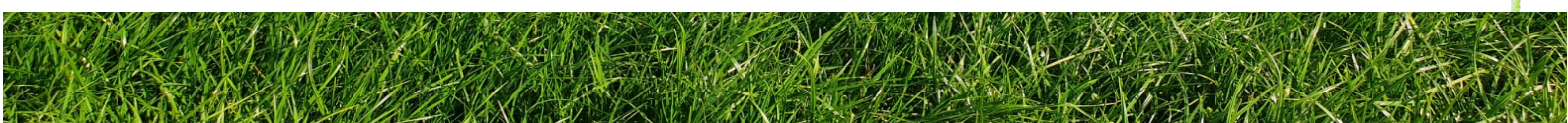
Een goed toevoegmiddel zal bij een onjuiste toepassing ook een onbevredigend resultaat geven. Denk hierbij aan kuilen die vochtig zijn en van nature veel melkzuur kunnen vormen. Als hier ondoordacht nog extra melkzuur aan toegevoegd wordt, kan dat averechts werken en krijgen gisten en schimmels bij uitkuilen vrij spel. Het toevoegen van een inkuilmiddel aan gras, droger dan 50% ds is niet zinvol. Het effect is dan gering en de kosten worden niet volledig vergoed. Het toevoegen moet dus vooral gezien worden als een noodmaatregel bij ongunstige inkuilomstandigheden of kwalitatief kuilvoer nog beter te maken door de verliezen te minimaliseren (Van Dijk, 1995).

De werking van conserveringsmiddelen is jarenlang gefocust geweest op de homo fermentatieve variant. Of deze focus nog wel voldoet bij de hedendaagse kennis en ontwikkeling van de hetero fermentatieve melkzuurbacteriën kan ter discussie worden gesteld. Agrifirm is één van de bedrijven die deze filosofie deelt en richten met name alle peilen op de "Ecosyl". De Ecosyl van Agrifirm bevat de unieke stam *Lactobacillus plantarum* en Agrifirm pleit bij het feit dat het snel en efficiënt grote



hoeveelheden melkzuurbacteriën produceert en inzetbaar is bij een brede pH, temperatuur en droge stof. Om te zeggen dat van deze filosofie niet klopt, is te kort door de bocht. De *Lactobacillus plantarum* is een uniek en sterk soort binnen de homo fermentatieve variant, maar melkzuur is en blijft een voedingsbron voor gisten en schimmels. Daarmee is de Ecosyl van Agrifirm maar geschikt voor een klein deel van de melkveehouders, namelijk melkveehouders die het gehele kuilproces onder controle hebben en nooit kampen met gisten, schimmels en broei. Of de Ecosyl wel voldoet aan het verwachtingspatroon van een inkuilmiddel om niet alleen het inkuilproces te bevorderen, maar ook een gunstige bijwerking te leveren bij het uitkuilproces kan dan ook ter discussie worden gesteld. Een combinatie van de *L.plantarum* en *L.buchneri* is dan ook een goed alternatief en besproken in hoofdstuk 4 paragraaf 2, waar de studie de kracht van de combinatie laat zien.

Een teveel aan melkzuur in een kuil is in dit rapport ook ter discussie gesteld. Bij te veel wordt er gesproken over +80 melkzuur per kg ds. De koe kan zich gaan beschermen tegen de opname aan zoveel zuren door minder te gaan eten. Hoe wel melkzuur een smakelijk zuur is en de opname vaak verhoogd, is te veel ook niet goed. Toch kan de koe een hoop hebben, juist door het aandeel melkzuur wordt het een smakelijk product en wil de koe veel opnemen. Bij genoeg opname aan ruwvoer komt pensverzuring niet snel om de hoek kijken. Alles draait dus om balans en een gerichte keuze van een toevoegmiddel. Een keuze tussen een combinatie van melk- en azijnzuur vertegenwoordigt een veiligere keuze dan alleen voor melkzuur te gaan (Knaap, 2013).



## 6. Conclusie en aanbevelingen

### 6.1 Conclusie

**'Welke specifieke bacteriestammen kunnen als kuiltoevoegmiddel de kwaliteit van de graskuil verhogen?**

Het hoofdstuk resultaten wordt geopend met de vraag waar een tekort aan melkzuurbacteriën vandaan komt. Op deze manier wordt er gekeken bij welke omstandigheden er een goede conservering plaatsvindt zonder eventuele toevoegmiddelen. Bij kuilen tussen 35 en 45% droge stof gedijen de van nature aanwezige melkzuurbacteriën uitstekend. Zijn er bij de eerste snede genoeg suikers aanwezig, zijn de temperaturen voorafgaand aan de eerste snede aangenaam geweest, is de temperatuur bij inkuilen niet te hoog (<25 graden) en wordt het gras gekneusd en/of gehakseld, dan kan het gras prima ingekuild kunnen worden zonder inkuilmiddel. In deze gevallen blijft de kuil bij een goed in- en uitkuilmanagement stabiel. Met name voor de voorjaarskuilen is een warm voorjaar gewenst. De twee grafieken die worden weergegeven in hoofdstuk 4 paragraaf 1 geven hier een goede weergave van.

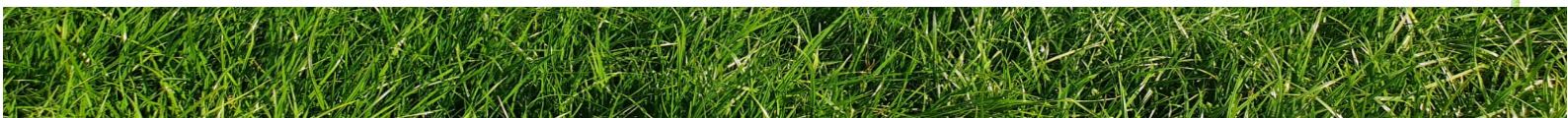
Het inschatten van het drogestof percentage op het veld lastig blijft echter lastig en het tijdsverloop van inkuilen varieert over de gehele dag en daarmee ook het drogestof percentage van het ingekuilde gras. Een inkuilmiddel gebruiken als verzekerpriem kan daarbij een goed uitgangspunt zijn. Bij de goede keuze aan bacteriestammen zal de kuil altijd positief worden beïnvloed. Kuilen beneden de 30% droge stof, daar is een inkuilmiddel altijd gewenst door de hogere druk aan slechte bacteriën. Ook bij een koud voorjaar wanneer er van nature minder melkzuurbacteriën op het gras aanwezig zijn, wordt het gebruik van een inkuilmiddel geadviseerd. Kortom om risico te vermijden is bij de eerste snede vanwege de relatief weinig zonuren een inkuilmiddel vereist.

Een inkuilmiddel gebaseerd op enkel homo fermentatieve melkzuurbacteriën moet altijd gericht worden gebruikt. Omdat 60% van de kuilen in Nederland kampt met broei en schimmels (Knaap, 2013), zal een inkuilmiddel in die gevallen met alleen vorming richting melkzuur averechts werken. Melkzuur is een voeding voor gisten en schimmels. Een melkveehouder die 100% zeker is van geen broei, inkuilt in een sleufsilo en niet boven de wanden uitkomt, zou hiervoor in aanmerking kunnen komen. Dan moet nog steeds het uitkuilen worden meegenomen en de belangrijke aspecten hierbij is de voersnelheid en de dichtheid wel hoog genoeg (zie figuur 13). Ook is belangrijk om de van nature aanwezige suikers en melkzuurbacteriën in te schatte. Bij vochtig gras (+30% ds) gedijen de melkzuurbacteriën al vlot en een inkuilmiddel op alleen homo fermentatieve bacteriën kan dan een te hoog melkzuur gehalte als gevolg hebben, wat en de opname van de koe remt en een bron voor gisten en schimmels is.

| Dichtheid in kg ds/m <sup>3</sup> | Indringing zuurstof/week | Gewenste voersnelheid/week |
|-----------------------------------|--------------------------|----------------------------|
| < 100 kg ds/M <sup>3</sup>        | 1,5 - 2,5 meter          | 3 – 5 meter                |
| 120 kg ds / M <sup>3</sup>        | 0,50 – 1 meter           | 1 – 2 meter                |
| 150 kg ds / M <sup>3</sup>        | 0,45 – 0,8 meter         | 0,90 – 1,60 meter          |
| 180 kg ds / M <sup>3</sup>        | 0,30 – 0,6 meter         | 0,60 – 1,20 meter          |
| 210 kg ds / M <sup>3</sup>        | 0,25 – 0,4 meter         | 0,50 – 0,80 meter          |
| 240 kg ds / M <sup>3</sup>        | 0,20 – 0,30 meter        | 0,40 – 0,60 meter          |
| 270 kg ds / M <sup>3</sup>        | 0,15 – 0,2 meter         | 0,30 – 0,40 meter          |

Figuur 13: Zuurstof-intrede en voersnelheid

(vaniperen, 2018)



In alle andere gevallen is een combinatie tussen een homo- en hetero fermentatieve bacterie verstandiger en minder risicovol. Ook voor de melkveehouders die het inkuilproces goed op orde hebben is er een kanttekening. Zuurstofinslag bij uitkuilen is namelijk onvermijdelijk en de *L. buchneri* zou daarin volstaan om de kuil langer stabiel te houden. Zo kwam uit onderzoek van Driehuis dat de groeisnelheid van de gistpopulatie in de kuilen die behandeld zijn met de *L. buchneri* beduidend lager waren dan die van de onbehandelde kuil. De behandelde kuil bleef na blootstelling aan zuurstof 11 dagen stabiel tegenover de onbehandelde kuil die na 2 dagen al was verslechterd. (Driehuis et al., 2001)

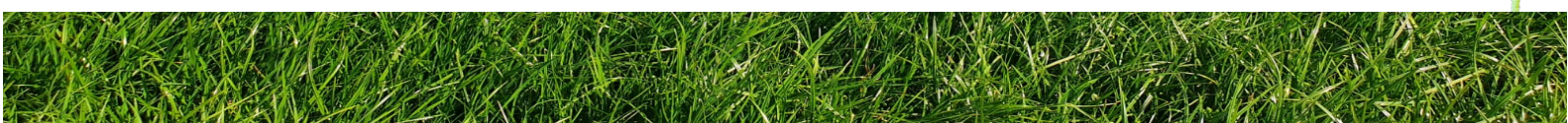
Bij eiwitrijker gras door hoge N-bemesting of later in het jaar door een combinatie met een laag aandeel suikers, wordt het toevoegen van de conserveringsbacteriën aangeraden. De bufferende werking van de aminozuren vertragen het conserveringsproces en daarmee ligt met name eiwitverlies op de loer. Bij dit gras volstaat een bacteriemengsel met alleen melkzuur vaak niet. Najaarsgras bevat een hoger Ruw-as gehalte en daarmee is de druk van ongewenste bacteriedruk groter. Om deze bacteriën bij uitkuilen geen kans te geven is een combinatie met een azijnzuur vormer onvermijdelijk. Door alleen melkzuur toe te passen in dit gewassoort kan de groei van schimmels en gisten alleen maar groter worden.

Bij gekneusd, gehakseld en gras tussen de 30-45% droge stof kan ervoor gekozen worden om een mindere dosering aan conserveringsbacteriën toe te voegen, doordat de celinhoud beter beschikbaar is voor de conservering en bij hakselen er een betere verdeling van het toevoegmiddel ontstaat. Een dosering van  $1 \times 10^5$  cfu/g zou in deze gevallen voldoende moeten zijn. Bij stengelig en droger product (tot 50% ds) is een dosering van  $1 \times 10^6$  cfu/g voldoende. Bij moeilijk inkuilbaar gras moet de dosering ook hoger zijn. Denk hierbij aan gras onder de 30%, weinig suikers en veel eiwit. Een dosering van  $1 \times 10^6$  cfu/g moet in deze gevallen voldoende zijn om het fermentatieproces te domineren.

De resultaten van de studie tonen aan dat het gebruik van de *L. buchneri* de aerobe stabiliteit verbeterd. De kuilen geënt met *L. buchneri* is de activiteit van gisten verminderd. De resultaten van het tijdsverlooponderzoek besproken in hoofdstuk 4 paragraaf 3 gaven aan dat gisten op twee manieren worden beïnvloed. Bij de geënte kuilen met *L. buchneri* was de overleving van gisten tijdens de fermentatie aanzienlijk verminderd, wat resulteerde in een lagere gisttelling dan in de controle kuil. Als tweede remde de *buchneri* de groei van gisten bij de blootstelling aan zuurstof bijna volledig. Naast het tegengaan van gisten en schimmels mede door het gevormde 1,2 propaandiol in de graskuilen door de *L. buchneri*, is de vorming richting propionzuur nuttig voor de melkkoe. Kuilen behandeld met de *L. buchneri* laten een 1,2 propaandiol gehalte zien van 3.0%. Dit resulteert zich in 30 gr/kg ds 1,2 propaandiol en levert een positieve bijdrage aan de energievoorziening van de koe.

## 6.2 Aanbeveling

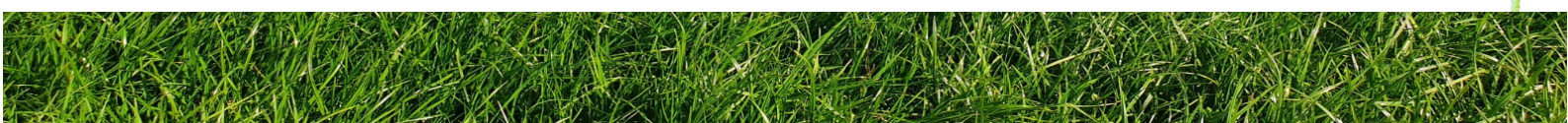
De filosofie die bij het gebruik van homo fermentatieve inkuilmiddelen heerst. Dat alleen het toevoegen van homo fermentatieve melkzuurbacteriën een beter resultaat behaald, dat komt na deze studie niet naar voren. De beredenering om alleen homo fermentatieve bacteriën toe te voegen om de kuil sneller te laten verzuren en de kuil dus eerder stabiel is, dat klopt wel. Alleen wordt hierin een belangrijk praktijk verhaal weggelaten, namelijk dat meer dan de helft van de kuilen nu eenmaal met broei kampt. Of dat door een te hoge aanvoersnelheid, te weinig druk op de kuil of een verkeerde manier van uitkuilen gebeurt, dat maakt niet uit. Een kuil met enkel homo fermentatieve melkzuurbacteriën zal in dat geval de gisten en schimmels vrij spel geven en een gunstig klimaat vol met voedingsstoffen voor de rottingsbacteriën. De onderzochte en unieke variant in dit rapport de *L. buchneri* produceert azijnzuur en 1,2 propaandiol onder aerobe en anaerobe omstandigheden. Bij zuurstof inslag produceert de *L. buchneri* ook propionzuur wat een broei verminderde werking geeft.



Dit resulteert in zowel een azijnzuur variant als een propionzuur variant wat de gisten en schimmels tegengaat.

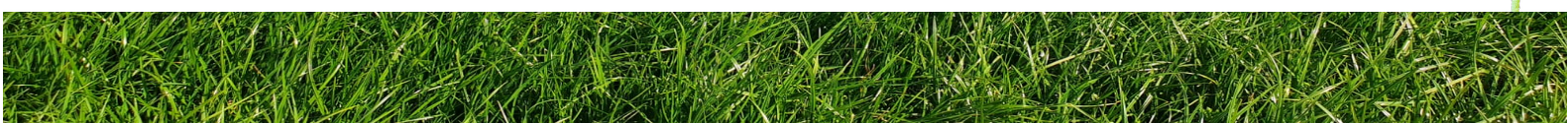
Maak de boer en loonwerker bewust van het gebruik van conserveringsmiddelen. Er wordt te veel de nadruk gelegd op vuistregels als “1 potje is genoeg voor 5 hectare” dit dekt niet de lading en kan ontevreden melkveehouders opleveren. De eerste snede van 2021 leent zich goed voor een voorbeeld. Doordat de vuistregels ervan uitgaan dat er 3000-3500 kg ds per hectare wordt geoogst bij een DS-gehalte van 35-40%, wordt er gerekend met een 7.500 – 10.000 ton versproduct per hectare. Dit volstaat in de situatie van de eerste snede begin juni in 2021 niet. Veel melkveehouders oogsten namelijk rond de 6 ton droge stof bij een DS-percentages van rond de 45% een 13.500 ton versproduct per hectare. Bij een advies van één potje of één zakje op 50 ton versproduct is het geen 5 hectare maar 3,8 hectare en juist bij een droger en grover product moet de dosering hoger zijn ( $1 \times 10^6$  cfu/g).

Door gesprekken met Leo Tjoonk, teamleider ruwvoer van Agrifirm is de voorkeur en reden voor de homo fermentatieve bacteriën duidelijk geworden. Het zo snel mogelijk stabiel maken van de kuil, met als resultaat zo min mogelijk voederwaarde verliezen krijgt de voorkeur boven het toevoegen van de hetero fermentatieve bacteriën. Deze denkwijze wordt ondersteund door de studie weergegeven in hoofdstuk 4 paragraaf 2, waar de kuilen geënt met enkel de *L.plantarum* de laagste NH<sub>3</sub>-fractie lieten zien. Maar over de argumentatie vanuit Agrifirm valt over te discussiëren, namelijk dat de hetero fermentatieve bacteriën bij het fermentatieproces voor extra inkuilverliezen zorgen, door de omzetting van melkzuur naar azijnzuur waar extra CO<sub>2</sub> bij vrijkomt. Deze omzetting en extra inkuilverliezen brengen de hetero bacteriën nu eenmaal met zich mee. Dit neemt niet weg dat uit het onderzoek van Driehuis blijkt dat de het DS-verlies tijdens de fermentatie ongeveer 5 g kg/ds bevat. Dit is een acceptabel verlies om het risico te verkleinen op grotere verliezen bij de aerobe fase. Want kuilen waar broei ontstaat, daar kunnen de verliezen aan voederwaarde wel 2 à 3% per dag bedragen. Daarnaast wordt het kuilvoer minder smakelijk en ligt een vermindering van de DS-opname op de loer, wat wel op kan lopen tot 10-20% per dag. Een ds-verlies van ongeveer 5 g kg/ds is in zo'n geval meer dan acceptabel (Driehuis et al., 2001). Een combinatie van de *L.plantarum* en de *L.buchneri* zal in de meeste situaties een gunstiger effect opleveren met minder risico voor broei, gisten en schimmels.



# Bibliografie

- BLGG. (2013, April). *Minder droog inkuilen*. Opgeroepen op Augustus 2021, van edepot.wur.nl: <https://edepot.wur.nl/256916>
- Jacobsen, S. (2016, September). *Inkuilmiddel kan averechts werken*. Opgeroepen op April 2021, van abzdiervoeding: <https://www.abzdiervoeding.nl/content/uploads/MVM9-blz.-3031.pdf>
- Knaap, J. v. (2013, Maart 1). *Melkzuur in kuilen onderschat*. Opgeroepen op Augustus 2021, van Wageningen universiteit: <https://edepot.wur.nl/252976>
- Koopman, W. (2014, Maart 2). *Inkuilmiddel als puntje op de i*. Opgeroepen op April 2021, van Wur: <https://edepot.wur.nl/297818>
- Researchgate. (sd). Opgehaald van Researchgate: [https://www.researchgate.net/figure/Metabolic-pathways-of-homofermentative-solid-line-and-heterofermentative-dotted-line\\_fig1\\_228357901](https://www.researchgate.net/figure/Metabolic-pathways-of-homofermentative-solid-line-and-heterofermentative-dotted-line_fig1_228357901)
- vaniperen. (2018, Januari). *Doelstellingen in-uitkuilmanagement*. Opgeroepen op Augustus 2021, van vaniperen: <https://www.iperen.com/wp-content/uploads/2018/01/Inkuilmanagement-verdiperingsdagen-2018.pdf>
- Weerstatistieken. (2009). Opgeroepen op Augustus 2021, van Weerstatistieken: <https://weerstatistieken.nl/de-bilt/2009>
- Randy, A.T., Bakken, A.K., (2021) *Effect of acid based additive treatment of low dry matter grass crops on losses and silage quality in bunker silos*. Animal feed science and technology, 275, 114869  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840121000559>
- Irawan, A., Sofyan, A., Ridwan, R., Hassin, H.A., Respati, A.N., Wardani, W.W., Sadarman., Astuti, W.D., Jayanegara, A., (2021) *Effects of different lactic acid bacteria groups and fibrolytic enzymes as additives on silage quality: A meta-analysis*. Bioresource technology report, 14, 100654  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2589014X21000311#!>
- Wu, Z., Luo, Y., Bao, J., Luo, Y., Yu, Z., (2020) *Additives affect the distribution of metabolic profile, microbial communities and antibiotic resistance genes in high-moisture sweet corn kernel silage*. Bioresource technology, 315, 123821  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852420310932>
- Wu, P., Li, L., Jiang, J., Sun, Y., Yuan, Z., Feng, X., Guo, Y., (2020) *Effects of fermentative and non-fermentative additives on silage quality and anaerobic digestion performance of Pennisetum purpureum*. Bioresource technology, 297, 122425  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852419316554>
- Queiroz, O.C.M., Ogunade, I.M., Weinberg, Z., Adesogan, A.T., (2018) *Foodborne pathogens in silage and their mitigation by silage additives*. Journal of dairy science, 101, 4132-4142  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203021830331X>



- Corporaal, J., Schooten, H.V., Spoelstra, S.F., (1989) *Invloed van toevoegmiddelen op de kwaliteit van slecht voor gedroogd kuilvoer*. Instituut voor voedingsonderzoek, 119  
<https://edepot.wur.nl/38674>
- Drouin, P., Tremblay, J., Chaucheyras-Durand, F., (2019) *Dynamic Succession of Microbiota during Ensiling of Whole Plant Corn Following Inoculation with Lactobacillus buchneri and Lactobacillus hilgardii Alone or in Combination*. Environmental Microbiology.  
<https://www.mdpi.com/2076-2607/7/12/595/htm>
- Mu, L., Xie, Z., Hu, L., Chen, G., Zhang, Z., (2020) *Cellulase interacts with Lactobacillus plantarum to affect chemical composition, bacterial communities, and aerobic stability in mixed silage of high-moisture amaranth and rice straw*. Bioresource technology, 325, 123772  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960852420310440>
- Wang, T., Teng, K., Cao, Y., Shi, W., Xuan, Z., Zhou, J., Zhang, J., Zhong, J., (2020) *Effects of Lactobacillus hilgardii 60TS-2, with or without homofermentative Lactobacillus plantarum B90, on the aerobic stability, fermentation quality and microbial community dynamics in sugarcane top silage*. Bioresource technology, 312, 123600  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852420308725#f0005>
- Gallo, A., Bernardes, T.F., Copani, G., Fortunati, P., Giuberti, G., Bruschi, S., Bryan, K.A., Nielsen, N.G., Witt, K.L., Masoero, F., (2018) *Effect of inoculation with Lactobacillus buchneri LB1819 and Lactococcus lactis O224 on fermentation and mycotoxin production in maize silage compacted at different densities*. Animal feed science and technology, 246, 36-45  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377840118304954>
- Rijnen, M.M.J.A., Scholten, R.H.J., (1998) *Fermentatie van bijvoeders en bijproducten tijdens opslag*.  
<https://edepot.wur.nl/29205>
- Van Dijk, H., (1995) *Voederwinning, conservering en bewaring*. Informatie en kenniscentrum landbouw.  
<https://edepot.wur.nl/424466>
- Jones, C.M., Heinrichs, A.J., Roth, G.W., Ishler, V.A., (2004) *From Harvest to Feed: Understanding Silage Management*.
- De Haan, S.J., Wieringa, G.W., (1961) *Inkuilen*.  
<https://edepot.wur.nl/217950>
- Leuven, K.U. (2008) *maakt verse ananas van pudding een soep?* Faculteit Wetenschappen.  
[https://wet.kuleuven.be/wetenschapinbreedbeeld/lesmateriaal\\_chemie/lesmateriaal-chemie.pdf](https://wet.kuleuven.be/wetenschapinbreedbeeld/lesmateriaal_chemie/lesmateriaal-chemie.pdf)
- Kung JR, L., Ranjit, NK., (2001) *The effect of Lactobacillus buchneri and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage*.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11384041/>
- Driehuis, F., Oude Elferink, SJWH., Spoelstra, SF., (2001) *Anaerobic lactic acid degradation during ensilage of whole crop maize inoculated with Lactobacillus buchneri inhibits yeast growth and improves aerobic stability*.  
<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1046/j.1365-2672.1999.00856.x>



Filya, I., (2003) *The Effect of Lactobacillus buchneri and Lactobacillus plantarum on the Fermentation, Aerobic Stability, and Ruminal Degradability of Low Dry Matter Corn and Sorghum Silages*. American Dairy Science Association, 3575–3581.

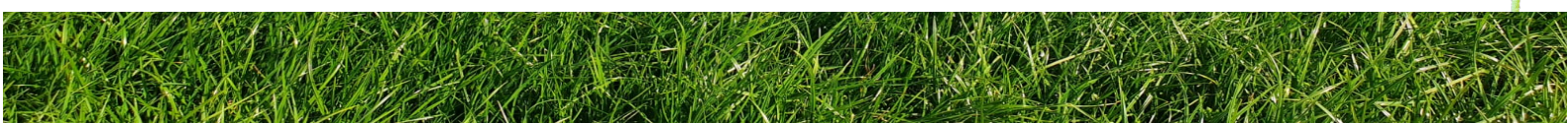
<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0022030203739630?token=4D22ACE9D0330EB6AF4CB83356B72FCE683427AB698BF55BE4177666E333CA006D74ADAE6ED645946E0619698D27B197&originRegion=eu-west-1&originCreation=20210731111540>

Kleinschmit, DH., Kung Jr, L., (2006) *A Meta-Analysis of the Effects of Lactobacillus buchneri on the Fermentation and Aerobic Stability of Corn and Grass and Small-Grain Silages*. Journal of dairy science, 89, 4005 – 4013.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030206724444#bib4>

Rooke, J.A., Maya, F.M., Arnold, J.A., Armstrong, D.G., (1988) *The chemical composition and nutritive value of grass silages prepared with no additive or with the application of additives containing either Lactobacillus plantarum or formic acid*. Grass and forage science, 43, 87 – 95.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2494.1988.tb02144.x>



# Competenties

In dit hoofdstuk worden er vier competenties belicht, welke doormiddel van het uitvoeren van het afstudeerwerkstuk worden verbeterd.

## Competentieontwikkeling

In het traject voor het uitvoeren van mijn afstudeerwerkstuk gaan veel competenties aanbod komen. Ik heb voor vier competenties gekozen die naar mijn mening het best aansluiten bij het afstudeerwerkstuk en waar ik een sterke verbetering kan doorvoeren. De vier competenties die ik hoop verder te ontwikkelen zijn: onderzoeken, zelfsturen, organiseren en ondernemen

### Onderzoeken

In de onderzoeksfase komt de competentie onderzoeken veel aanbod. De vragen voor de interviews zijn duidelijk en maken het werken naar het resultaat eenvoudiger. Dit moet nog wel omgezet worden in een goed onderzoek en het afnemen van het interview is daarvoor leidend. Door de tussentijdse evaluatie met zowel groepsgeenoot als stagebegeleider kan de competentie tussentijds worden verbeterd.

### Zelfsturen

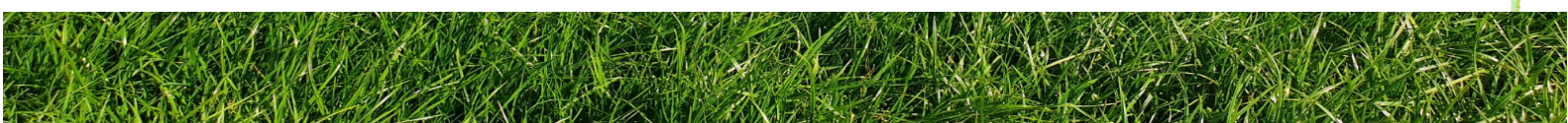
Mede door Corona is het afstudeerjaar anders gelopen dan aan de voorkant is geschetst. Dit heeft erin geresulteerd dat ik een deel van mijn afstudeerstage bij een ander bedrijf afrond. Het laatste halfjaar van mijn studie is daardoor allesbehalve rustig en daarom is een goede zelfsturing extra van belang. Dit hoop ik te kunnen behalen door openheid en alle vooropgezette doelen en deadlines te halen en een goede communicatie.

### Organiseren

Naast de vele informatie die online te vinden is via wetenschappelijke bronnen. Is de uitdaging om mijn netwerk te benutten via kennis informanten, voor een goede inbreng aan kennis en informatie. Als de mogelijkheid zich voordoet om het afstudeerwerkstuk deels vorm te geven door het afnemen van interviews, kan ik de competentie organiseren sterk verbeteren. Om een goed interview neer te zetten met de gewenste diepgang, output en geschikte informanten wordt de competentie organiseren voldoende gebruikt.

### Presenteren

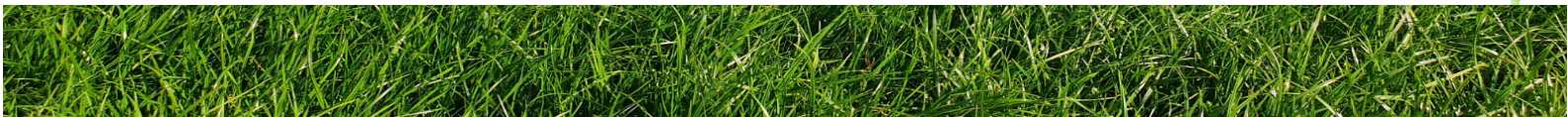
Wanneer er in samenspraak met dhr. Van den Bout niet wordt gekozen voor een presentatie van het afstudeerwerkstuk, wat voor mij wel de voorkeur krijgt. Zal het rapport evengoed gepresenteerd worden voor de afdeling nutrition van Agrifirm. Omdat het een complex onderwerp is met veel diepgang ligt de uitdaging en daarmee ook de verbetering in de competentie presenteren, in een helder, duidelijk en goed te begrijpen presentatie. De kern is een praktische vertaling te creëren en dat moet ook voortvloeien uit mijn presentatie. Wanneer dit is gelukt zijn er stappen gezet binnen de verbetering van de competentie presenteren.



# Bijlagen

Bijlage I: Schriftelijk rapporteren

Bijlage II: Toestemmingsformulier



## Bijlage I: Schriftelijk rapporteren

### Checklist Schriftelijk Rapporteren 2018

Naam:

Klas:

*De beoordelingscriteria die met een \* zijn aangegeven, zijn 'killing points'. Wanneer de beoordelaar daarvan meer dan vijf heeft aangekruist, dien je het rapport/verslag op alle onvoldoende onderdelen te verbeteren. In het afstudeerwerkstuk zijn geen 'killing points' toegestaan.*

#### 1. Het taalgebruik

- ☐ Bevat niet meer dan drie grammaticale, spel- en typefouten per duizend woorden; het rapport/verslag is dan afgekeurd\*
- ☐ Heeft een actieve schrijfstijl\*
- ☐ Is zakelijk, formeel en objectief\*
- ☐ Is coherent (verwijs- en verbindingswoorden)\*
- ☐ Heeft een adequate interpunctie\*
- ☐ Bevat niet de persoonlijke voornaamwoorden 'ik/mij/me, jij/je/jou, jullie, u, wij/we/ons'\*
- ☐ Is doelgroepgericht\*
- ☐ Heeft een uniforme stijl\*

#### 2. De ordening

- ☐ Het verslag/rapport heeft een logisch opbouw
- ☐ Elk hoofdstuk heeft een logische alineastructuur
- ☐ Elk hoofdstuk kent een introductie (m.u.v. H.1)

#### 3. Het rapport/verslag

- ☐ Is vrij van plagiaat\*
- ☐ De pagina's zijn genummerd\*
- ☐ Heeft een uniforme opmaak

#### 4. De omslag

- ☐ Bevat de titel
- ☐ Vermeldt de auteur(s)

#### 5. De titelpagina/het titelblad

- ☐ Heeft een specifieke titel\*
- ☐ Vermeldt de auteur(s)\*
- ☐ Vermeldt de plaats en de datum\*
- ☐ Vermeldt de opdrachtgever(s)\*

#### 6. Het voorwoord:

- ☐ Bevat de persoonlijke aanleiding tot het schrijven van het rapport/verslag
- ☐ Bevat persoonlijke bedankjes (persoonlijke voornaamwoorden toegestaan)

#### 7. De inhoudsopgave:

- ☐ Vermeldt alle genummerde onderdelen van het rapport/verslag\*
- ☐ Vermeldt de samenvatting en de bijlage(n)
- ☐ Is overzichtelijk/gestructureerd
- ☐ Heeft een correcte paginaverwijzing

#### 8. De samenvatting:

- ☐ Is een verkorte versie van het gehele rapport/verslag
- ☐ Bevat de conclusies
- ☐ Bevat suggesties voor verder onderzoek

- ☐ Bevat geen persoonlijke mening
- ☐ Staat direct na de inhoudsopgave

#### 9. De inleiding

- ☐ Is hoofdstuk 1\*
- ☐ Beschrijft het kader/de context en de aanleiding\*
- ☐ Geeft inhoudelijke relevante achtergrondinformatie\*
- ☐ Bevat de probleemstelling/de onderzoeksvraag\*
- ☐ Vermeldt het doel\*
- ☐ Bevat een leeswijzer voor het rapport/verslag\*

#### 10. Materiaal en methode

- ☐ Beschrijft de gevolgde onderzoeksmethode
- ☐ Motiveert de keuze voor de gevolgde onderzoeksmethode
- ☐ Past bij de probleemstelling/de onderzoeksvraag\*
- ☐ Beschrijft de variabelen/eenheden
- ☐ Beschrijft de methode van data-analyse

#### 11. De (opmaak van de) kern

- ☐ De hoofdstukken en de (sub)paragrafen met maximaal drie niveaus zijn genummerd\*
- ☐ De hoofdstukken en (sub)paragrafen hebben een passende titel
- ☐ Een hoofdstuk beslaat ten minste één pagina
- ☐ Een nieuw hoofdstuk begint op een nieuwe pagina
- ☐ De zinnen lopen door (geen 'enter' binnen een alinea gebruiken)
- ☐ De figuren zijn (door)genummerd en hebben een passende titel (onder de figuur)\*
- ☐ De tabellen zijn (door)genummerd en hebben een passende titel (boven de tabel)\*
- ☐ Tabellen en figuren zijn zelfstandig te begrijpen
- ☐ In de tekst zijn er verwijzingen naar figuren en/of tabellen\*
- ☐ De tekst bevat verwijzingen naar de desbetreffende bijlage(n)
- ☐ De tekst is ook zonder verwijzingen te begrijpen

#### 12. De discussie

- ☐ Vermeldt de interpretatie(s) van de resultaten
- ☐ Bevat een vergelijking met relevante literatuur
- ☐ Geeft de valide argumentatie weer
- ☐ Evalueert de gevolgde onderzoeksmethode
- ☐ Bevat een kritische reflectie op de eigen bevindingen

#### 13. De conclusies en aanbevelingen

- ☐ Bevatten antwoord(en) op de onderzoeksvraag
- ☐ Zijn gebaseerd op relevante feiten
- ☐ Bevatten geen nieuwe informatie\*

#### 14. De bronvermelding

- ☐ Verwijzingen in de tekst zijn conform de APA-normen\*
- ☐ De bronnenlijst is conform de APA-normen\*

#### 15. De bijlagen

- ☐ Zijn genummerd
- ☐ Zijn voorzien van een passende titel
- ☐ Bevatten geen eigen analyse
- ☐ Zijn overzichtelijk weergegeven

## Bijlage II: Toestemmingsformulier

Je staat op het punt je afstudeerwerkstuk in te leveren. Je hebt daarbij misschien wel dankbaar gebruik gemaakt van afstudeerwerkstukken van je voorgangers. Ook jouw afstudeerwerkstuk kan van belang zijn voor volgende afstudeerders of misschien wel voor jouw (inter)nationale vakgebied. Daarom willen we jouw product opnemen in een databank die full tekst toegang biedt aan derden. Daarvoor hebben we wel jouw toestemming als auteur nodig.

### **Let op!**

Gezien bovenstaande is elk afstudeerwerkstuk in principe openbaar. Tenzij er zwaarwegende argumenten voor geheimhouding zijn.

Aeres Hogeschool Dronten en Almere heeft een digitale kennisbank (repository) waarin Aeres Hogeschool Dronten en Almere afstudeerwerkstukken die door studenten in het kader van hun studie aan de Hogeschool hebben geschreven, toegankelijk worden gemaakt voor derden. Hierdoor wordt het proces van creatie, verwerving en deling van kennis binnen het onderwijs mogelijk gemaakt en ondersteund.

De in de kennisbank opgenomen afstudeerwerkstukken zullen gedurende minimaal zeven jaar in de kennisbank worden opgenomen en toegankelijk worden gemaakt voor potentiële gebruikers binnen en buiten Aeres Hogeschool Dronten en Almere. Om opname en beschikbaarstelling mogelijk te maken dient dit Toestemmingsformulier.

Door opname en beschikbaarstelling in de digitale kennisbank wordt het auteursrecht niet overgedragen. Daarom kan de student zijn of haar toestemming tot het beschikbaar stellen van zijn afstudeerwerkstuk intrekken.

### **Rechten en plichten student**

De student verleent aan Aeres Hogeschool Dronten en Almere kosteloos de niet-exclusieve toestemming om zijn afstudeerwerkstuk op te nemen in de digitale kennisbank en om dit afstudeerwerkstuk beschikbaar te stellen aan gebruikers binnen en buiten Aeres Hogeschool Dronten en Almere. Hierdoor mogen gebruikers het afstudeerwerkstuk geheel of gedeeltelijk kopiëren en bewerken. Gebruikers mogen dit alleen doen en de resultaten publiceren indien dit gebeurt voor eigen studie en/of onderwijs- en onderzoeksdoeleinden en onder de vermelding van de naam van de student en de vindplaats van het afstudeerwerkstuk.

Afstudeerwerkstukken die als vertrouwelijk moeten worden beschouwd, worden niet opgenomen in de repository.

De toestemming om de afstudeerwerkstuk aan derden beschikbaar te stellen, gaat in per onderstaande datum.

De student geeft Aeres Hogeschool Dronten en Almere het recht de toegankelijkheid van het afstudeerwerkstuk te wijzigen en te beperken indien daar zwaarwegende redenen voor bestaan.

De student verklaart dat de stage-biedende organisatie dan wel de opdrachtgever van het afstudeerwerkstuk geen bezwaar heeft tegen opname en beschikbaarstelling van het afstudeerwerkstuk in de repository.

Verder verklaart de student dat toestemming is verkregen van de rechthebbende van materiaal dat de student niet zelf gemaakt heeft om dit materiaal als onderdeel van de afstudeerwerkstuk op te nemen in de digitale kennisbank en aan derden binnen en buiten Aeres Hogeschool Dronten en Almere beschikbaar te stellen.



De student geeft Aeres Hogeschool Dronten en Almere het recht het afstudeerwerkstuk op te nemen in de digitale kennisbank en ter beschikking te stellen voor een periode van minimaal zeven jaar.

### Rechten en plichten Hogeschool

De door de student verleende niet-exclusieve toestemming geeft Aeres Hogeschool Dronten en Almere het recht het afstudeerwerkstuk aan gebruikers binnen en buiten Aeres Hogeschool Dronten en Almere beschikbaar te stellen.

Aeres Hogeschool Dronten en Almere mag verder het afstudeerwerkstuk voor gebruikers binnen en buiten Aeres Hogeschool Dronten en Almere vrij toegankelijk maken voor een gebruiker van de digitale kennisbank en mag deze gebruiker toestemming geven om het afstudeerwerkstuk te kopiëren en te bewerken. Gebruikers mogen dit alleen doen en de resultaten publiceren indien dit gebeurt voor eigen studie en/of onderwijs- en onderzoeksdoeleinden en onder de vermelding van de naam van de student en de vindplaats van het afstudeerwerkstuk.

Aeres Hogeschool Dronten en Almere zal ervoor zorgen dat vermeld wordt wie de schrijver is van het afstudeerwerkstuk waarbij zij tevens aangeeft dat bij gebruik van het afstudeerwerkstuk de herkomst hiervan duidelijk vermeld moet worden. Aeres Hogeschool Dronten en Almere zal duidelijk maken dat voor ieder commercieel gebruik van het afstudeerwerkstuk toestemming van de student nodig is.

Aeres Hogeschool Dronten en Almere heeft het recht de toegankelijkheid van het afstudeerwerkstuk te wijzigen en te beperken indien daar zwaarwegende redenen voor bestaan.

### Rechten en plichten gebruiker

Door dit Toestemmingsformulier mag een gebruiker van de digitale kennisbank het afstudeerwerkstuk geheel of gedeeltelijk kopiëren en/of geheel of gedeeltelijk bewerken. Gebruikers mogen dit alleen doen en de resultaten publiceren indien dit gebeurt voor eigen studie en/of onderwijs- en onderzoeksdoeleinden en onder de vermelding van de naam van de student en de vindplaats van het afstudeerwerkstuk.

### Inleveren bij Bureau Afstuderen

Lever dit formulier digitaal in bij Bureau Afstuderen: [afstuderen.hogeschool.dronten@aeres.nl](mailto:afstuderen.hogeschool.dronten@aeres.nl) (Dronten) of [afstuderen.hogeschool.almere@aeres.nl](mailto:afstuderen.hogeschool.almere@aeres.nl) (Almere).

### Toestemming:

Ik : Erik van der Deure

☒ geef toestemming voor opname van mijn afstudeerwerkstuk in repository  
☐ geef geen toestemming voor opname in repository. In dit geval wordt alleen intern gearchiveerd voor accreditatie doeleinden

Datum 08-08-2021

Opleiding Bedrijfskunde & Agrifoodbusiness

Major Bedrijfskunde & Agrifoodbusiness

Meer informatie over het auteursrecht is te lezen op <https://auteursrechten.nl/>

