

# Einfluss von Tiefkühlagerung auf die Hefekeimzahlen in Silagen

---



**erstellt von:** Kathleen Brehmer  
Christine Hoffmann  
Stefan Hoy  
Luise König  
Antje Maschlanka

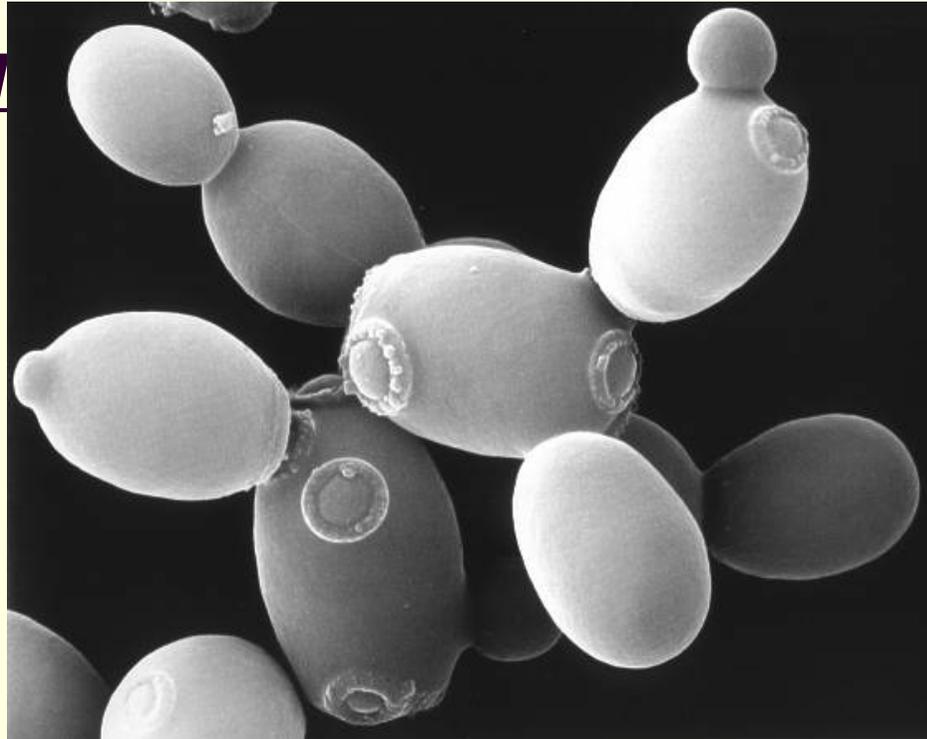
# Gliederung

---

- **Einleitung**
- **Allgemeines**
  - Hefen
  - Allgemeines
  - Keimgrößen
- **Tiefkühlagerung**
  - Allgemeines
  - Hefen
  - Ergebnisse KG 7
  - Ergebnisse KG 1 – KG 6
  - Fazit
- **Kühlschranklagerung**
  - Allgemeines
  - Ergebnisse KG 7
  - Fazit
- **Schockgefrieren**
  - Allgemeines
  - Gärkurve
  - Temperaturabhängigkeit von Hefen
  - Fazit
- **Schlussfolgerungen**

# Einleitung

## Einleitung



*Quelle: BB, 2004*

...und wie Hefen wirklich aussehen zeigt Ihnen die elektronenmikroskopische Aufnahme...

# Allgemeines

## Hefen



- gehören in geringer Keimzahl zum natürlichen Pilzbestand unserer Futterpflanzen
- Keimbesatz

KbE/gTM

Merkmal	Heu	Maissilage	Grassilage
Hefen	< 10.000	< 1.000.000	< 100.000

Quelle: Futterlabor Rosenau NÖ. LL WK

# Allgemeines

## Hefegruppen

Hefe- gruppen	Substrat <i>wasserlösliche Zucker</i>	Substrat <i>organische Zucker</i>	Sauerstoff- bedarf
<i>Feldhefen</i>	+	-	+
<i>Silagehefen Typ I</i>	+	-	+ / -
<i>Silagehefen Typ II</i>	+	+	+ / -

- Substrate:                   + = wird verwertet  
                                      - = wird nicht verwertet
- Sauerstoffbedarf:       + = erforderlich  
                                      - = nicht erforderlich

+ / - = nicht unbedingt erforderlich

Quelle: PAHLOW, 1991

## ***Hefen***

---

- anfällige Futtermittel
  - vor allem Feuchtfuttermittel, Silagen  
z.B. Maissilage
    - enthält i.d.R. zu wenig Essigsäure, um Hefen zu unterdrücken
  - nitratarmer Silagen (z. B. Maissilage)  
enthalten bis zu 10 x höhere  
Hefekeimzahlen

# Allgemeines

## ***Allgemeines***

---

- Projekt mit der LALLF M-V
- Untersuchungsmethode:  
Amtliche VDLUFA- Methode 28.1.1. und 28.1.2  
(Oberflächenspatelverfahren)  
Untersuchungen der KG 1- KG 7
- besondere Bedeutung: KG 7 (Hefen)

# Allgemeines

## *Keimgruppen*

---

KG 1	Produkttypische Bakterien
KG 2	Verderbanzeigende Bakterien
KG 3	Streptomyzeten
KG 4	Produkttypische Pilze
KG 5	Verderbanzeigende Pilze
KG 6	Mucorarten
KG 7	Hefen

# Tiefkühlagerung

## ***Allgemeines***

---

- Methode: Tiefkühlagerung von Silagen
- Lagerung:  $-18^{\circ}\text{C}$
- schonendes Auftauen bei  $+4^{\circ}\text{C}$

# Ergebnisse der Tiefkühlagerung

Futtermittel	KG 7	
	frisch	nach Tiefkühlagerung
AWS	6,5E+04	5,0E+02
Biertreber	4,7E+04	2,6E+07
Maissilage	1,9E+05	5,0E+02
Maissilage	1,7E+05	5,0E+02
Maissilage	2,0E+05	5,0E+02
Maissilage	2,3E+06	6,5E+06
AWS	1,3E+05	4,9E+04
AWS	2,7E+06	1,5E+04
Maissilage	3,1E+05	5,0E+02
Maissilage	6,8E+05	5,0E+02
Futterwaagenreste	1,1E+06	8,2E+05
Maissilage	4,0E+05	4,0E+04
AWS	1,2E+05	4,9E+05
Maissilage	3,9E+05	2,5E+03
Maissilage	3,3E+07	6,0E+06
Maissilage	1,3E+06	9,9E+05
AWS	2,9E+07	5,3E+06
AWS	2,5E+04	5,0E+02
AWS	3,9E+04	1,9E+04
AWS	2,0E+04	2,5E+04
Mittelwert	3,61E+06	2,31E+06
Varianz	8,87E+13	3,56E+13
t-Test		0,57

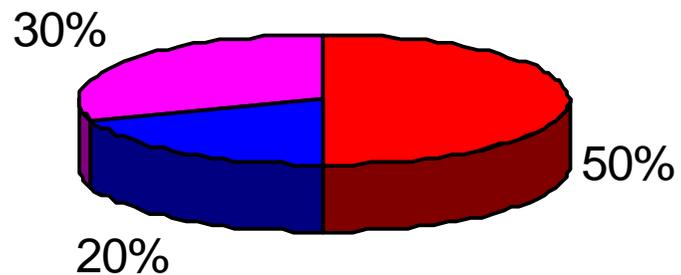
- > 1 log weniger nach Tiefkühlagerung
- > nach Tiefkühlagerung
- >< 1 log nach Tiefkühlagerung

nicht signifikant

# Tiefkühlagerung

## *Prozentualer Anteil der Veränderungen*

KG 7



- > 1 log weniger nach Tiefkühlagerung
- > nach Tiefkühlagerung
- >< 1 log nach Tiefkühlagerung

# Tiefkühlagerung

## Proben - geringere Keimzahl

Wert	Futtermittel	KG 7	
		frisch	nach Tiefkühlagerung
	AWS	6,5,E+04	5,0,E+02
	Maissilage	1,9,E+05	5,0,E+02
	Maissilage	1,7,E+05	5,0,E+02
	Maissilage	2,0,E+05	5,0,E+02
	Maissilage	4,0,E+05	4,0,E+04
	AWS	2,7,E+06	1,5,E+04
	Maissilage	3,1,E+05	5,0,E+02
	Maissilage	6,8,E+05	5,0,E+02
	Maissilage	3,9,E+05	2,5,E+03
	AWS	2,5E+04	5,0E+02
Mittelwert		5,1,E+05	6,1,E+03
Varianz		6,3E+11	1,6E+08
Proben		10	10
t-Test		1,90	
kritischer t- Wert		1,89	

**signifikant**

# Tiefkühlagerung

## Proben mit erhöhter Keimzahl

Wert	Futtermittel	KG 7	
		frisch	nach Tiefkühlagerung
	Biertreber	4,7,E+04	2,6,E+07
	Maissilage	2,3,E+06	6,5,E+06
	AWS	1,2,E+05	4,9,E+05
Mittelwert		6,2,E+05	8,3,E+06
Varianz		1,3E+12	1,5E+14
Proben		3	3
t-Test		-1,32	
kritischer t- Wert		2,92	

**nicht signifikant**

# Tiefkühlagerung

## Proben - Keimzahl unverändert

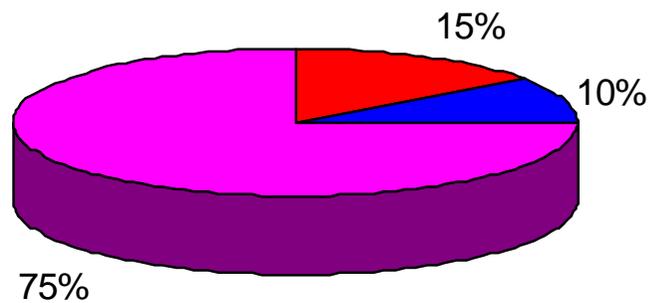
Wert	Futtermittel	KG 7	
		frisch	nach Tiefkühlagerung
	AWS	1,3,E+05	4,9,E+04
	Futterreste	1,1,E+06	5,2,E+05
	Maissilage	3,3,E+07	6,0,E+06
	AWS	2,0E+04	2,5E+04
	Maissilage	1,3,E+06	9,9,E+05
	AWS	2,9,E+07	5,3,E+06
	AWS	3,9E+04	1,9E+04
Mittelwert		9,2,E+06	1,8,E+06
Varianz		2,2E+14	6,9E+12
Proben		7	7
t-Test		1,33	
kritischer t- Wert		2,02	

**nicht signifikant**

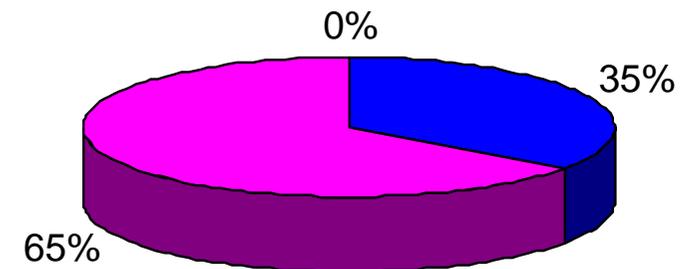
# Tiefkühlagerung

## Keimgruppen 1-3

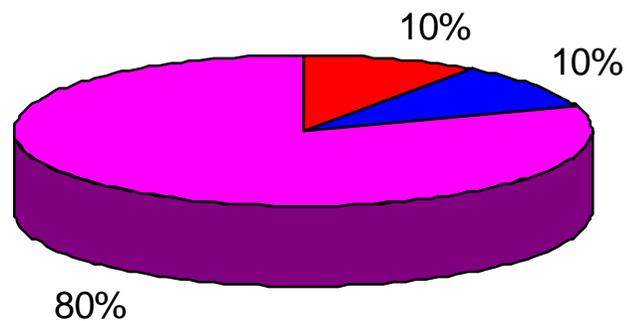
KG 1



KG 2



KG 3

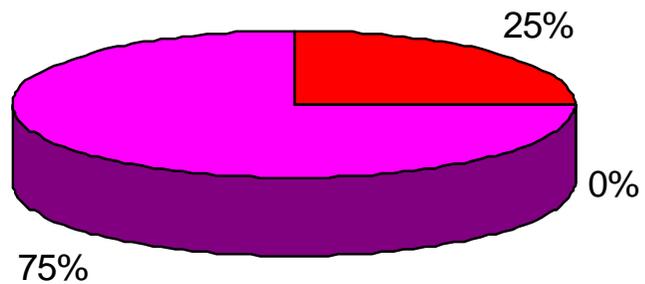


- > 1 log weniger nach Tiefkühlagerung
- > nach Tiefkühlagerung
- >> 1 log nach Tiefkühlagerung

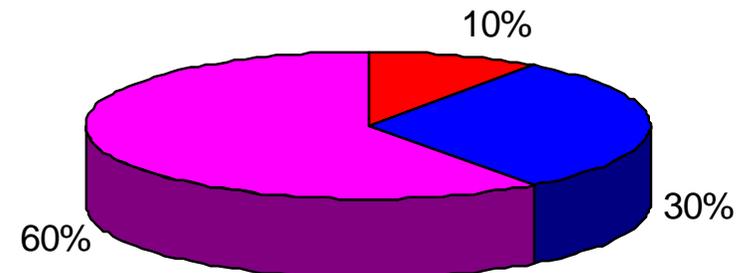
# Tiefkühlagerung

## Keimgruppen 4-6

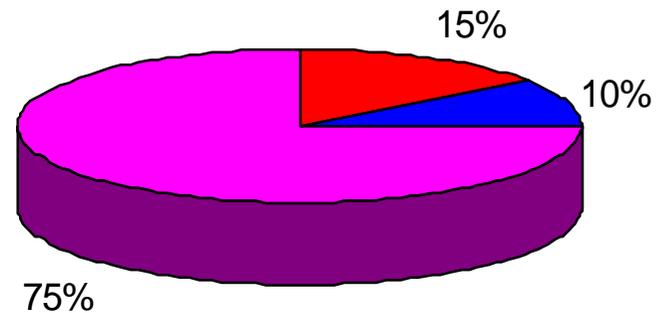
KG 4



KG 5



KG 6



- > 1 log weniger nach Tiefkühlagerung
- > nach Tiefkühlagerung
- >< 1 log nach Tiefkühlagerung

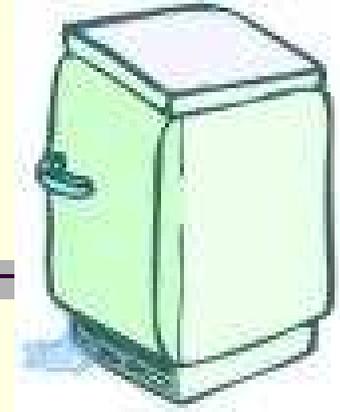
# Tiefkühlagerung

## ***Fazit***

---

- Tiefkühlagerung ist keine geeignete Methode für die KG 7
- ab  $-16^{\circ}\text{C}$  → Einstellen der Enzymaktivität
- ab  $-18^{\circ}\text{C}$  → Absterben eines Teils der Hefezellen
- ab  $-24^{\circ}\text{C}$  → Absterben aller Zellen
- für Labore ist es wichtig: Lagerungsmethode darf Ergebnisse (Hefekeimgehalte) nicht beeinflussen
- mögliche Alternativen: Kühlschrankschlagerung  
Schockgefrieren

# Kühlschranklagerung



## ***Allgemeines***

---

- Methode: Kühlschranklagerung von Silagen
- Lagerung: + 4°C
- nahezu luftdichte Verpackung

# Kühlschranklagerung

## Ergebnisse

Futtermittel	KG 7		
	frisch	nach Kühlschranklagerung 1 Woche	nach Kühlschranklagerung 2 Wochen
Maissilage	7,5E+07	4,1E+07	1,0E+08
AWS	1,4E+07	6,0E+07	2,5E+08
Maissilage	2,5E+07	1,4E+07	2,4E+07
AWS	1,7E+07	1,0E+08	9,4E+07
AWS	2,0E+03	5,0E+02	8,0E+03
Maissilage	2,5E+07	1,0E+08	1,6E+08
AWS	7,0E+06	1,6E+06	2,6E+07
AWS	1,5E+08	1,80E+08	3,00E+07
Maissilage	1,6E+05	5,10E+05	1,20E+07
Maissilage	1,8E+08	1,90E+08	1,70E+08
Mittelwert	4,9E+07	6,87E+07	8,66E+07
Varianz	4,22E+15	5,20E+15	7,02E+15
t-Wert		1,33	1,33
t-Test		0,14	0,25

> 1 log nach der Lagerung

> 1 log weniger nach Lagerung

>< 1 log nach der Lagerung

nicht signifikant

nicht signifikant

# Kühlschranklagerung

## **Fazit**

---

- Kühlschranklagerung bei  $+4^{\circ}\text{C}$  ist eine geeignete Methode für die KG 7
  - $< +7$  bis  $+8^{\circ}\text{C} \rightarrow$  keine Vermehrung
- Stoffwechsellätigkeit ist noch gegeben
  - ab  $-9^{\circ}\text{C} \rightarrow$  Einstellen der Stoffwechsellätigkeit
- $\Rightarrow$  keine Veränderung der Hefekeimzahlen

# Schockgefrieren

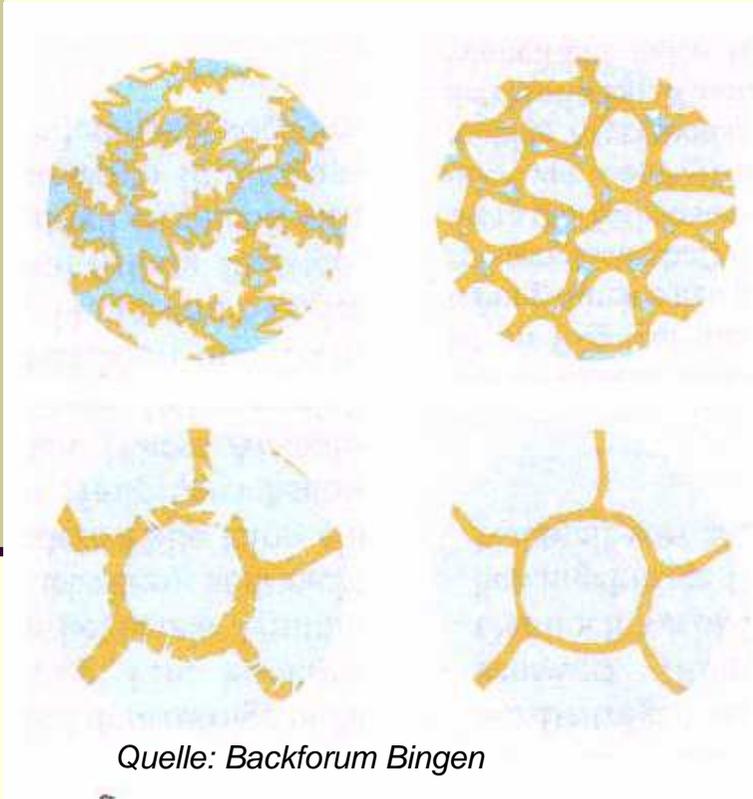
## ***Allgemeines***

---

- eventuell weitere Variante zur Lagerung von Silagen
- Lagerung: -18°C
- in kleinen, flachen Portionen
  - um einen schnellen Gefrierprozess bis in den Kern zu ermöglichen
- Untersuchungen dazu sind notwendig
  - (These aus der Literatur)

# Schockgefrieren

## Allgemeines



### Niedrige

### Gefriergeschwindigkeit

Große Eiskristalle schädigen Hefezellen und Klebermembranen.

### Hohe

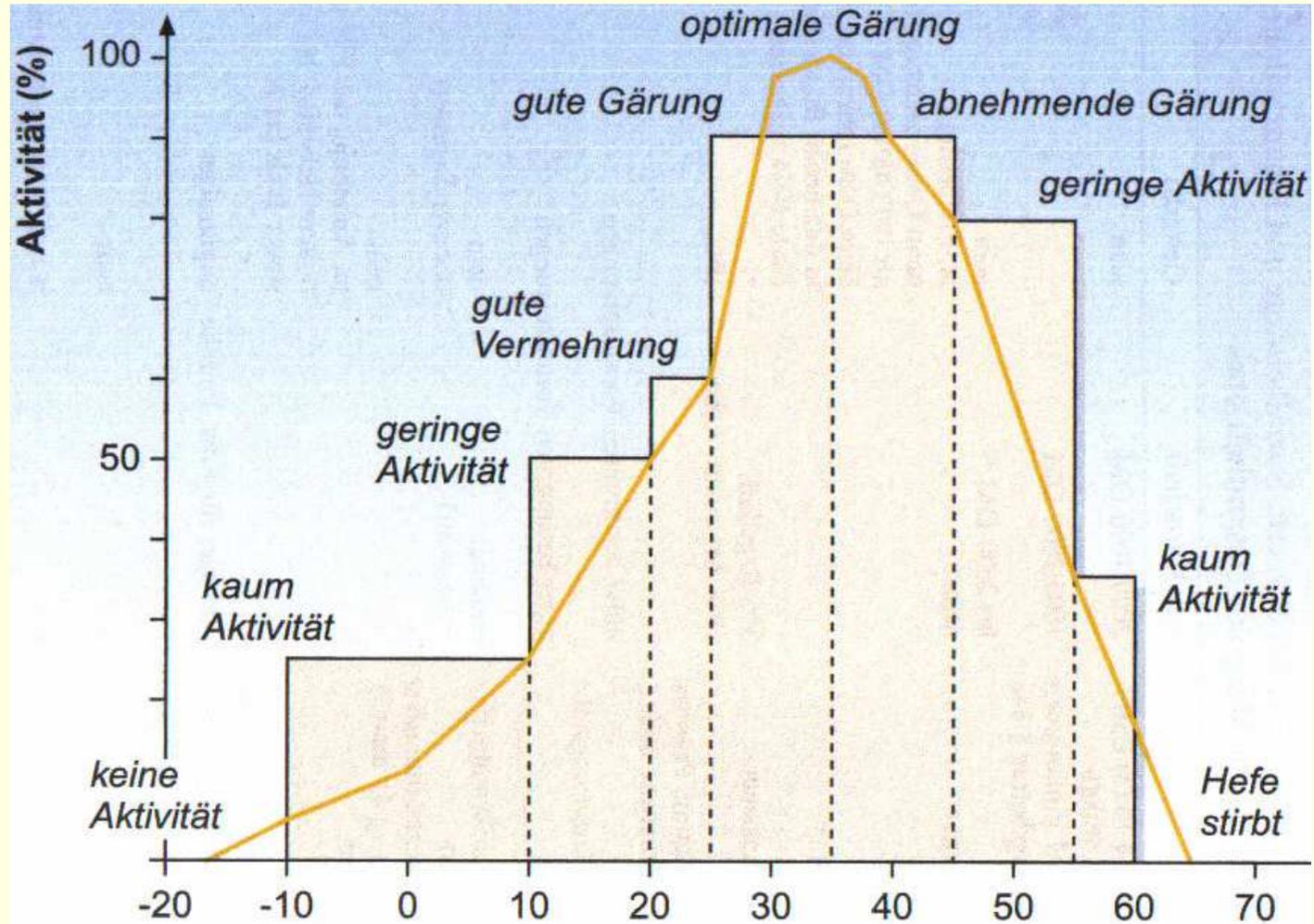
### Gefriergeschwindigkeit

Kleine Eiskristalle lagern sich in das Zellgefüge ein. Hefezellen und Klebermembranen werden weitgehend geschont.

→ Schockgefrieren ist vorteilhafter

# Schlussfolgerungen

## Gärkurve: Aktivität der Backhefe



# Schlussfolgerungen

## *Temperaturabhängigkeit von Hefen*

Prozesse	Temperatur in °C
Gärungsoptimum	+35
Hemmung der Gärung	> 50
Vermehrung	> +7 bis +8
Gefrierpunkt	-7
Stoffwechsellätigkeit wird eingestellt	ab -9
Enzymaktivität wird eingestellt	ab - 16
Hefezelle stirbt	-24

→ Temperatur hat großen Einfluss auf Hefen und ihre Stoffwechselaktivität

# Schlussfolgerungen

## ***Fazit***

---

- **Tiefkühlagerung:**
  - zur Hefekeimzahlbestimmung nicht geeignet
  - Hefezellen sterben ab
- **Kühlschranklagerung:**
  - gute Lagerungsmethode
  - annähernd vakuumverpackt
  - Hefezahlen bleiben relativ konstant
- **Schockgefrieren:**
  - wahrscheinlich gute Lagerungsmethode
  - weitere Untersuchungen notwendig
  - Voraussetzung: sehr kleine, flache Portionen lagern

**Vielen Dank**

**für die Aufmerksamkeit**

**und**

**für die Unterstützung des  
Projektes**



# Quellen

---

- Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung e.V. (AWT) (1999): Probiotika in der Tierernährung, URL: <http://www.awt-feedadditives.de/fileadmin/awt/pdf/Probiotika.pdf>, [Stand: 02.06.2006].
- BECKER, Thomas / Mitzscherling, Martin: Technologie der Brotherstellung, URL: [http://www.uni-hohenheim.de/150lt/pa/GT-Kapitel\\_7.pdf](http://www.uni-hohenheim.de/150lt/pa/GT-Kapitel_7.pdf), [24.05.2006].
- BRASSE, Helmut (2004), planet-wissen: Geschichte des Backens, URL: <http://www.planet-wissen.de/pw/Artikel,,,,,,,,,E90018F441D6413FE0340003BA5E0905,,,,,,,,,,,,,.html> [Stand: 31.05.2006].
- GALLER, Josef (2000), Silonachgärung, URL: [http://www.almwirtschaft.com/archiv/00/12\\_00\\_art5.pdf](http://www.almwirtschaft.com/archiv/00/12_00_art5.pdf) [Stand: 18.05.2006].
- GALLER, Josef (2001): Futterhygiene beeinflusst die Tiergesundheit, URL: [www.almwirtschaft.com/archiv/01/08\\_09\\_01\\_art1.pdf](http://www.almwirtschaft.com/archiv/01/08_09_01_art1.pdf) [Stand: 18.05.2006].
- GALLER, Josef (2005): Gärschädlinge in Schach halten, URL: <http://www.landwirtschaftskammer.de/fachangebot/tierproduktion/rinderhaltung/fueterung/nacherwaermung-grassilage.htm> [Stand: 18.05.2006].
- GARZA CA'ZARES, José Fernando (2001): Einfluss verschiedener Probiotika (*Bacillus cereus* u. *Saccharomyces cerevisiae*) auf den *in sacco* Abbau und die