

**CHEMISCHE ZUSAMMENSETZUNG, ANALYTIK UND BEDEUTUNG  
PFLANZLICHER GERÜSTSUBSTANZEN  
IN DER ERNÄHRUNG DER WIEDERKÄUER**

CHEMICAL COMPOSITION, ANALYSES AND RELEVANCE OF PLANT CELL  
WALLS IN NUTRITION OF RUMINANT LIVESTOCK

*von / by*

*L. Gruber*

**GLIEDERUNG**

- 1 Einleitung und historischer Überblick
- 2 Chemischer Aufbau der Gerüstsubstanzen
  - 2.1 Komponenten der Gerüstsubstanzen
    - 2.1.1 Grundlagen der Kohlenhydrate
    - 2.1.2 Zellulose
    - 2.1.3 Hemizellulosen
    - 2.1.4 Pektine
    - 2.1.5 Lignine
  - 2.2 Aufbau der Zellwand
- 3 Analyse der Gerüstsubstanzen
  - 3.1 Rohfaser (XF / Rfa)
  - 3.2 Detergenzien-Faser
    - 3.2.1 Neutral-Detergenzien-Faser (NDF)
    - 3.2.2 Säure-Detergenzien-Faser (ADF)
    - 3.2.3 Säure-Detergenzien-Lignin (ADL)
  - 3.3 Beziehungen zwischen der Rohfaser und der Detergenzien-Faser
- 4 Bedeutung der Gerüstsubstanzen in der Ernährung von Wiederkäuern
  - 4.1 Anwendung der Detergenzien-Analyse im Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS)
    - 4.1.1 Fraktionen der Kohlenhydrate und des Proteins
    - 4.1.2 Ruminale Fermentation
  - 4.2 Faser-Versorgung und -Bedarf von Milchkühen
- 5 Schrifttum

---

Univ.-Doz. Dr. Leonhard Gruber, LFZ Raumberg-Gumpenstein, Institut für Nutztierforschung, Gumpenstein, A-8952 Irdning, Österreich; Fax: +43-(0)3682-22451-210; e-mail: leonhard.gruber@raumberg-gumpenstein.at

\* Nach einem Vortrag auf dem 119. VDLUFA-Kongress in Göttingen, 18. - 21. 09. 2007

## ZUSAMMENFASSUNG

Die pflanzlichen Gerüstsubstanzen sind sehr heterogen und komplex zusammengesetzt, wobei die Pflanzenspecies und das Vegetationsstadium von großem Einfluss sind. Zellulose, Hemizellulose und Lignin sind die drei wichtigsten Komponenten. In geringerer Menge kommen auch Zellwandprotein, Mineralstoffe und Bestandteile der Cuticula vor. Unter dem Begriff „Faser“ werden die polymeren Substanzen verstanden, die von den Verdauungsenzymen der Wirbeltiere nicht gespalten werden können.

Zellulose ist ein Polysaccharid aus Tausenden von Glukosemolekülen, die unter Wasserabspaltung in  $\beta$ -1-4-glukosidischer Bindung mit einander verbunden werden. Die  $\beta$ -Stellung der OH-Gruppe am C<sub>1</sub>-Atom bestimmt, dass die polymerisierten Moleküle weitgehend linear zu Ketten angeordnet werden. Parallel angeordnete Ketten bilden Fibrillen, die untereinander Wasserstoffbrücken ausbilden. Die Hemizellulosen sind eine heterogene Gruppe von nichtzellulosischen Polysacchariden (Pentosane und Hexosane). Sie stellen die Hauptmasse der Zellwandmatrix dar und sind stark mit Lignin assoziiert. Das Pektin, ein Polymer aus verschiedenen sauren Polysacchariden (Galakturonsäure), bildet die Hauptmasse der Interzellularsubstanz und kommt besonders in der Mittellamelle vor. Lignine sind Mischpolymere aus Phenylpropanen (Cumaryl-, Coniferyl- und Sinapyl-Alkohol), die sich zu einem dreidimensionalen Gitter vernetzen und so die Zellwand durchdringen. In der Zellwand wird Lignin aus hochkondensierten Phenylpropan-Einheiten gebildet (sog. Kern-Lignin). Zwischen Kernlignin und Hemizellulose erfolgt eine Quervernetzung hauptsächlich über die beiden phenolischen Monomere p-Cumarsäure und Ferulasäure durch Ester- und Etherbindungen. Lignin ist verantwortlich für die verminderte Verdaulichkeit der Zellwand. Die Zellwand besteht aus mehreren Schichten (Mittellamelle vorwiegend aus Pektin, Primärzellwand aus Hemizellulose, Sekundärzellwand aus Zellulose). Lignin-Polymere sind in der Primärzellwand über Ether- und Ester-Bindungen der Ferulasäure mit Arabinoxylan verankert.

Die Analyse der Gerüstsubstanzen erfolgt mit neutraler Detergenz-Lösung (Na-Lauryl-Sulfat, EDTA). Die Ausführungen zeigen, dass die Analyse der Gerüstsubstanzen nach der Detergenzien-Methode einen wesentlichen Fortschritt darstellt, da so die Auftrennung der Kohlenhydrate in Faser- und Nichtfaser-Kohlenhydrate ermöglicht wird. Diese exakte Trennung ist gerade in der Ernährung der Wiederkäuer von großer physiologischer Bedeutung. Dagegen werden in der traditionellen Rohfaser-Bestimmung – bedingt durch nicht geeignete Lösungsmittel – gewisse Anteile der Gerüstsubstanzen (Hemizellulose und Teile des Lignins) gelöst und dadurch fälschlicher Weise den N-freien Extraktstoffen (d. h. Nichtfaser-Kohlenhydraten) zugeordnet. Die Umrechnung von Rohfaser in Gerüstsubstanzen ist streng genommen nicht möglich, da das Ausmaß der Lösung von Faserbestandteilen im Rahmen der Rohfaser-Analyse in den einzelnen botanischen Artengruppen (Gräser, Leguminosen, Korb- und Doldenblütler) unterschiedlich ist. Im Cornell Net Carbohydrate and Protein System erfolgt die Trennung in Faser- und Nichtfaser-Kohlenhydrate auf der Basis der Detergenzien-Methode, wobei NDF und ADL die entscheidenden Fraktionen darstellen. Auch die Aufteilung des Proteins in 5 Fraktionen erfordert die Analyse von NDF und ADF sowie des in diesen Fasern enthaltenen Stickstoffs. Dieser umfasst die im Pansen mittel, schwer und nicht abbaubaren Anteile des Proteins. Für die Beurteilung der Wiederkäuergerechtigkeit und der Versorgung mit „Struktur“ ist die physikalisch effektive NDF ein sehr geeigneter Parameter, da hiermit die tatsächliche und strukturwirksame Faser weitgehend beschrieben wird. Auch für die Regulation der Futteraufnahme spielt die NDF eine wichtige Rolle, da sie die Füllung des Pansens bestimmt.

**Schlüsselwörter:** Gerüstsubstanzen, chemische Zusammensetzung, Analyse, Fermentation, Faserversorgung

## SUMMARY

Plant structural carbohydrates (SC) are very heterogeneous and have a very complex composition, influenced greatly by the plant species and the stage of vegetation. Cellulose, hemicellulose and lignin are the most important components. Cell wall protein, minerals and cuticular components are also present in smaller amounts. Fibre encompasses polymer substances which cannot be split by vertebrates' digestive enzymes.

Cellulose is a polysaccharide made up of thousands of glucose molecules bound together in a  $\beta$ -1-4-glycosidic linkage formed via a dehydration reaction. The  $\beta$ -position of the OH-group at the C<sub>1</sub>-atom determines that the polymerized molecules are mainly ordered in linear chains. Parallel chains form fibrillae connected by hydrogen bridges between them. Hemicelluloses are a heterogeneous group of non-cellulosic polysaccharides (pentosans and hexosans). They make up the main portion of the cell wall matrix and are strongly associated with lignin. Pectin, a polymer made up of various acidic polysaccharides (galactouronic acid), represents the main component of the intercellular substance and is found mainly in the middle lamella. Lignins are a mix of polymers from phenylpropanes (cumaryl, coniferyl and sinapyl alcohols), which form a three dimensional linked structure to penetrate the cell wall. In the cell wall, lignin is formed by highly condensed phenylpropane fractions (so-called core lignin). Cross-linking occurs between core lignin and hemicelluloses mainly through the two phenolic monomers p-coumaric and ferulic acid via ester and ether links. Lignin is responsible for the reduced digestibility of cell wall substrate. The cell wall consists of several layers (the middle lamella consisting mostly of pectin, primary cell wall consisting of hemicellulose, secondary cell wall consisting of cellulose). In the primary cell wall lignin polymers are linked with arabinoxylan through ether and ester bondages of the ferulic acid.

The chemical analysis of SC is carried out by using a neutral-detergent solution (Na-lauryl-sulphate, EDTA). It has been shown that SC analysis by the detergent method represents a major improvement, because it allows the separation of fibre and non-fibre carbohydrates. This precise distinction is of great physiological relevance in ruminant nutrition. In contrast, in the crude fibre procedure certain SC constituents (hemicellulose and lignin fractions) are dissolved due to the use of improper solvents, and therefore erroneously added to the nitrogen-free extracts (i.e. non-fibre carbohydrates). Strictly speaking, it is not possible to calculate SC from crude fibre because the extent to which fibre fractions from the various botanical groups of species (grasses, legumes, composite, and umbel plants) are dissolved varies greatly. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) differentiates between fibre and non-fibre carbohydrates based on the detergent method, in which NDF and ADL play a major role. The division of protein into 5 fractions also requires the analysis of NDF and ADF, as well as of the nitrogen that is associated with these fibre constituents. This includes the protein fractions that are degraded in the rumen at medium and slow rates, as well as non-degradable protein. NDF includes the total fibre and can therefore be used as a means to judge the fibre supply and the fulfilment of fibre requirements of the ruminant animal. NDF supply also plays an important role in feed intake regulation, because it affects the rumen fill.

**Keywords:** Cell wall constituents, chemical composition, analysis, fermentation, fibre supply

## 1 EINLEITUNG UND HISTORISCHER ÜBERBLICK

Die Kohlenhydrate sind die primären Syntheseprodukte der pflanzlichen Photosynthese und bilden den mengenmäßig größten Anteil der organischen Substanz auf der Erde. Bei der Photosynthese wird die Strahlungsenergie des Sonnenlichtes absorbiert und in die Form einer chemischen Bindung überführt (in erster Linie Kohlenhydrate). In chemischer Hinsicht wird Wasser unter Freisetzung von elementarem Sauerstoff oxidiert, der abgespaltene Wasserstoff auf Kohlendioxid übertragen und als metastabile C-Verbindung festgelegt. Die für die Trennung von Wasserstoff und Sauerstoff erforderliche und in der chemischen Bindung der Syntheseprodukte enthaltene Energie wird von den Organismen im Stoffwechsel im Wege der Dissimilation genutzt, wobei neben dem Energiegewinn wieder Wasser und Kohlendioxid entstehen (NULTSCH 2001). Durch Polymerisation der Hexosen entstehen die Polysaccharide, die je nach Bindungsform entweder Speicherfunktion (Stärke) haben oder als wichtiger Bestandteil der Gerüstsubstanzen (Zellulose) dienen.

Die Gerüstsubstanzen sind sehr heterogen und komplex zusammengesetzt, wobei die Pflanzenspecies und das Vegetationsstadium der Pflanzen von größtem Einfluss sind. Zellulose, Hemizellulose und Lignin sind die drei wichtigsten Komponenten der Gerüstsubstanzen. In geringerer Menge kommen auch Zellwandprotein, Mineralstoffe und Bestandteile der Cuticula (Kutin, Suberin, Wachse) vor (VAN SOEST 1994, NULTSCH 2001). Unter dem Begriff „Faser“ werden die polymeren Substanzen verstanden, die von den Verdauungsenzymen der Wirbeltiere nicht gespalten werden können (VAN SOEST u. ROBERTSON 1980). Neben den Hauptkomponenten Zellulose, Hemizellulose und Lignin sind dies auch Pektin, Gummi und Galaktane.

Auf Grund der heterogenen und komplexen Zusammensetzung der Gerüstsubstanzen gestaltet sich deren Analyse schwierig. Die ersten Faser-Analysen verschiedener Grob- und Kraftfuttermittel werden EINHOF (1806; zit. nach VAN SOEST 1976) und GORHAM (1820; zit. nach VAN SOEST 1976) zugeschrieben. Die auf HENNEBERG und STOHMANN (1864) zurückgehende Weender Futtermittelanalyse war bis in die jüngste Vergangenheit das Standardverfahren zur näheren Charakterisierung der Futtermittel auf der ganzen Welt. Der in der Weender Analyse gebräuchliche Ausdruck „*Rohnährstoffe*“ (Rohprotein, Rohfett, Rohfaser, Rohasche) und auch die englische Bezeichnung „*proximate analysis*“ weisen darauf hin, dass diese Analysenmethode nicht die Erfassung einzelner Stoffe ermöglicht, sondern nur die von Stoffgruppen. Als wesentlicher Nachteil der Weender Analyse hat sich allerdings die unzureichende und teils chemisch nicht zutreffende Beschreibung der Kohlenhydrate – definiert als Rohfaser und N-freie Extraktstoffe – erwiesen. Bedingt durch die teilweise ungeeigneten Reagenzien (Schwefelsäure und Natronlauge) bei der Bestimmung der Rohfaser werden die Gerüstsubstanzen nicht vollständig erfasst, da die Hemizellulose und auch Teile des Lignins in Lösung gehen und dadurch fälschlicherweise den Nichtfaser-Kohlenhydraten zugeordnet werden. Die AOAC (Association of Official Agricultural Chemists) in den USA hat schon 1940 empfohlen, den Gehalt an N-freien Extraktstoffen nicht anzuführen (s. VAN SOEST u. ROBERTSON 1980). Einen entscheidenden Fortschritt brachten die Untersuchungen von VAN SOEST (Beltsville; USA), der mit der sog. Detergenzien-Analyse eine im Wesentlichen zutreffende Aufteilung der Futtermittel in Gerüstsubstanzen und Zellinhaltsstoffe erreichte und eine weitere Fraktionierung der Gerüstsubstanzen in Neutral- und Säure-Detergenzien-Faser sowie Lignin (NDF, ADF, ADL) durchführte und somit die Bestimmung der Hauptkomponenten der Zellwandsubstanzen ermöglichte, nämlich Zellulose,

Hemizellulose und Lignin (VAN SOEST 1963a, 1963b, 1965, VAN SOEST u. WINE 1967, GOERING u. VAN SOEST 1970).

In den folgenden Jahren wurde die Detergenzien-Analyse mehrmals modifiziert (VAN SOEST et al. 1991, MERTENS 2002); die NDF erlangte schließlich eine weltweite Akzeptanz als Analysenparameter zur Definition von Gerüstsubstanzen sowie als Parameter in der Fütterung der Wiederkäuer. Im *Cornell Net Carbohydrate and Protein System* (CNCPS) erfolgt die Trennung in Faser- und Nichtfaser-Kohlenhydrate auf der Grundlage der Detergenzien-Analyse (SNIFFEN et al. 1992). Auch bei der Aufteilung des Proteins in 5 Fraktionen spielen die Gerüstsubstanzen eine wesentliche Rolle, nämlich der N-Gehalt in der NDF und ADF zur Einschätzung des schwer bzw. nicht-verfügbaren Stickstoffs [NDIN, ADIN] (KRISHNAMOORTHY et al. 1982, SNIFFEN et al. 1992, LICITRA et al. 1996). Im *Rumen Submodel* des CNCPS wird zur Bestimmung der mikrobiellen Umsetzungen von Pansenmikroben ausgegangen, die entweder Faser-Kohlenhydrate (FC) oder Nichtfaser-Kohlenhydrate (NFC) fermentieren (RUSSELL et al. 1992). MERTENS (1994) verwendete die NDF zur Beschreibung der Futteraufnahmekapazität von Milchkühen (12,5 g NDF pro kg Lebendmasse), und zwar für Situationen, in denen die Regulation der Futteraufnahme physikalisch erfolgt. Sehr häufig wird die NDF auch zur Beschreibung der physikalischen Struktur bzw. der Wiederkäuergerechtheit von Rationen herangezogen (MERTENS 1997, DE BRABANDER et al. 1999, 2002, NRC 2001, ZEBELI et al. 2008).

In der folgenden Übersicht werden chemische Zusammensetzung und Analytik pflanzlicher Gerüstsubstanzen sowie deren Bedeutung in der Ernährung der Wiederkäuer beschrieben.

## **2 CHEMISCHER AUFBAU DER GERÜSTSUBSTANZEN**

Im Folgenden werden die Hauptkomponenten der Gerüstsubstanzen, nämlich Zellulose, Hemizellulose und Lignin sowie Pektin, näher beschrieben. Zellulose, Hemizellulose und Pektin sind Polysaccharide, daher werden einleitend wesentliche Aspekte des Aufbaus und der Bindungsformen der Kohlenhydrate kurz beschrieben, soweit sie dem Verständnis der Gerüstsubstanzen dienen.

### **2.1 KOMPONENTEN DER GERÜSTSUBSTANZEN**

#### **2.1.1 GRUNDLAGEN DER KOHLENHYDRATE**

In chemischer Hinsicht sind Kohlenhydrate primäre Oxidationsprodukte von mehrwertigen Alkoholen (KARLSON et al. 2005), wobei durch Dehydrierung die sog. Carbonyl-Gruppe (Oxo-Gruppe, C=O) entsteht. Sie ist die funktionelle Gruppe der Kohlenhydrate (NULTSCH 2001, KARLSON et al. 2005) und bestimmt im Wesentlichen deren chemische Eigenschaften.

Die mengenmäßig bedeutendsten Zucker bestehen aus 5 bzw. 6 C-Atomen (Pentosen, Hexosen). Von den C5-Zuckern haben die Xylose und die Arabinose als Bausteine des Xylans und Arabans in pflanzlichen Zellwänden praktische Bedeutung (sog. Pentosane). Universelle Bedeutung haben die Pentosen Ribose und Desoxyribose als Bestandteile von Nukleinsäuren (RNA, DNA) als Träger der genetischen Information. Die wichtigsten C6-Zucker sind Glukose, Galaktose, Fruktose und Mannose. Die Glukose ist Bestandteil der Speicherkohlenhydrate Stärke, Amylose und Amylopektin sowie des Gerüstkohlenhydrates

Zellulose. Galaktose kommt in Laktose und Agar vor, Fruktose in Saccharose und Inulin (MENKE u. HUSS 1987).

Die Monosaccharide Glukose, Galaktose und Mannose unterscheiden sich nicht in ihrer Summenformel ( $C_6H_{12}O_6$ ), wohl aber durch die Position des oxidierten C-Atoms ( $C_1$ ) und die sterische Anordnung der OH-Gruppen an den C-Atomen  $C_2$ ,  $C_3$  und  $C_4$ . Dadurch ergeben sich unterschiedliche chemische Eigenschaften dieser Zucker. Die Stellung der OH-Gruppe am  $C_1$ -Atom wird durch  $\alpha$  oder  $\beta$  gekennzeichnet. Die  $\alpha$ -Position bedeutet, dass sich die OH-Gruppe von  $C_1$  auf gleicher Ebene wie in  $C_4$  befindet, in der  $\beta$ -Position auf der gegenüberliegenden Seite (NULTSCH 2001, BERG et al. 2003). Dieser scheinbar geringe Unterschied ist biologisch von großer Bedeutung (daher Unterscheidung in  $\alpha$ - und  $\beta$ -Glukose) und führt zu gänzlich unterschiedlichen Eigenschaften der bei der Polymerisation entstehenden Polysaccharide Stärke ( $\alpha$ -glukosidische Bindung) und Zellulose ( $\beta$ -glukosidische Bindung). Neben der Art der Bindung ( $\alpha$  bzw.  $\beta$ ) beeinflussen innermolekulare Kräfte (durch die sterische Anordnung der Substituenten, nämlich äquatorial bzw. axial), die Bindungen zwischen den Ketten, das Molekulargewicht und das Lösungsmedium das Ausmaß und die Geschwindigkeit, mit der Polysaccharide durch Säuren oder Enzyme hydrolysiert werden können (VAN SOEST 1994). In ernährungsphysiologischer Hinsicht ist die Chemie der Kohlenhydrate somit vorwiegend eine Beschreibung des Abbaues der Struktur- und Nichtstruktur-Kohlenhydrate und der Faktoren, die deren Verfügbarkeit für Tiere und Mikroben beeinflussen.

In Abbildung 1 sind Glukose-Moleküle in unterschiedlicher Weise dargestellt. Die sog. Projektionsformel-Schreibweise (nach Fischer) stellt die tatsächlichen Verhältnisse nicht befriedigend dar (KARLSON et al. 2005). Die Zucker liegen nämlich vorwiegend nicht als Aldehyde bzw. Ketone vor, sondern – wenn sie gelöst sind – in Halbazetalform, die das Ergebnis innermolekularer Umlagerungen ist, indem die OH-Gruppe des  $C_5$ -Atoms mit der C=O-Gruppe des  $C_1$ -Atoms reagiert, wobei eine weitere OH-Gruppe und ein O-haltiger Sechsring (Pyran) entstehen (NULTSCH 2001, BERG et al. 2003, KARLSON et al. 2005). Dies kommt in der sog. Ring-Schreibweise (nach Haworth) klar zum Ausdruck. Das ursprünglich die Oxo-Gruppe tragende  $C_1$ -Atom unterscheidet sich jedoch auch weiterhin von den übrigen C-Atomen in seiner Reaktionsfähigkeit (sog. glukosidisches C-Atom, an dem die OH-Gruppe in  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Stellung positioniert ist). Auch die Ring-Schreibweise nach Haworth vereinfacht die tatsächliche Anordnung der Elemente im Glukose-Molekül. In Wirklichkeit sind die Atome in Form eines Sessels angeordnet (sog. „Sessel-Schreibweise“, engl. chair). Dies bedingt die besondere Eigenschaft der C-Atome, sich gegenseitig bindend Ketten bzw. Ringe zu bilden (NULTSCH 2001). Als Folge können sich große Moleküle bilden, wobei eine überaus große Vielfalt verschiedener Stoffe möglich ist. Auf diesen Eigenschaften des Kohlenstoffs beruht letztlich die Evolution des Lebens auf der Erde. Der Kohlenstoff tritt in allen seinen Verbindungen vierwertig auf, er bindet also 4 einwertige Atome über sog. kovalente Bindungen. Die Bindungen des Kohlenstoffs sind allerdings nicht geradlinig, sondern zickzackförmig (NULTSCH 2001), da sich dessen Valenzen nicht auf einer Ebene befinden, sondern die Form eines Tetraeders mit dem Kohlenstoff als Mittelpunkt bilden. Die Ursache dafür sind Abstoßungskräfte der (gleich geladenen) Elektronenwolken, um eine möglichst hohe Stabilität zu erreichen (Elektronenpaar-Abstoßungs-Modell nach GILLESPIE u. NYHOLM; zit. nach BAARS u. CHRISTEN 1995). Auch den Kohlenhydraten liegt diese Anordnung zu Grunde.

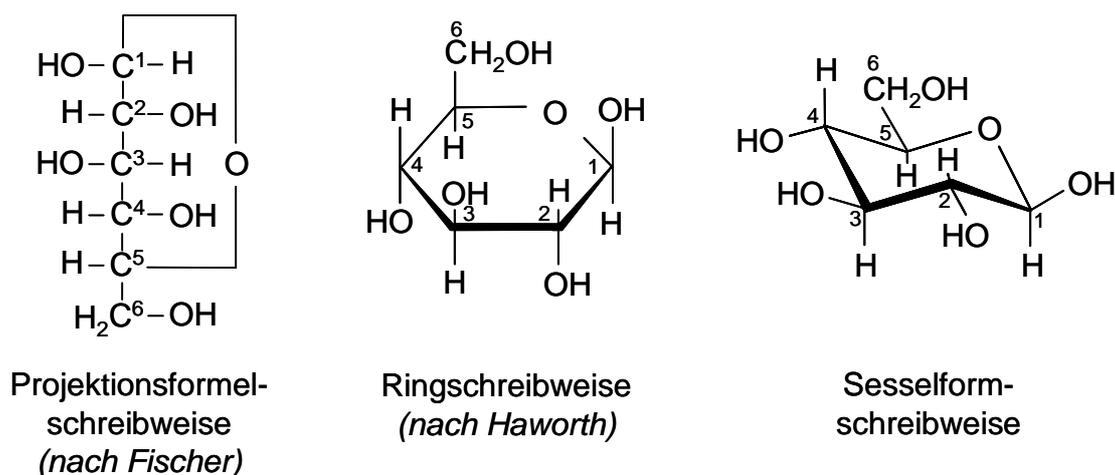


Abbildung 1: Darstellung von  $\beta$ -D-Glukose in verschiedenen Schreibweisen  
(nach NULTSCH 2001, KARLSON et al. 2005)

Figure 1: Diagram of  $\beta$ -D-glucose displayed in different notations  
(based on NULTSCH 2001, KARLSON et al. 2005)

### 2.1.2 ZELLULOSE

Die Zellulose ist ein Polysaccharid, das aus mehreren tausend Glukosemolekülen besteht. Ein Glukosemolekül beansprucht etwa 0,5 nm; dies ergibt eine Moleküllänge von etwa 7,5  $\mu$ m (NULTSCH 2001). Im Prinzip ist der Grundbaustein von Zellulose das Disaccharid Zellobiose, bestehend aus zwei Glukose-Molekülen, die unter Wasserabspaltung in  $\beta$ -1-4-glukosidischer Bindung mit einander verbunden sind (s. Abb. 2). Die  $\beta$ -Stellung der OH-Gruppe am C<sub>1</sub>-Atom bestimmt die Anordnung des zweiten Glukose-Moleküls. Es wird dadurch um 180 Grad um die Längsachse gedreht und das resultierende Molekül ist weitgehend linear (VAN SOEST 1994). Die  $\beta$ -Konfiguration ermöglicht der Zellulose die Bildung sehr langer Ketten. Parallel angeordnete Ketten bilden Fibrillen, die untereinander Wasserstoffbrücken ausbilden (BERG et al. 2003). Dagegen ergibt sich bei der  $\alpha$ -glukosidischen Bindung der Maltose (Grundbaustein der Stärke) zwischen den beiden Glukose-Molekülen ein Winkel (s. Abb. 2). Dies führt zu einer völlig unterschiedlichen Anordnung und damit biologischen Funktion der aus diesen Disacchariden gebildeten Polysaccharide Zellulose (aus Zellobiose) bzw. Stärke (aus Maltose). Durch die  $\beta$ -glukosidische Bindung sind die Glukose-Bausteine in langen, geradlinigen Ketten nach Art eines Faltblattes angeordnet (MENKE u. HUSS 1987). Sie eignen sich daher hervorragend für die Bildung von Zellwänden und Gerüstsubstanzen mit hoher Zugfestigkeit. Durch die  $\alpha$ -glukosidische Bindung ist das Stärke-Molekül nicht langgestreckt, sondern regelmäßig schraubig in Spiralforn gewunden. Es bildet sich eine hohle Helix (BERG et al. 2003). Mit dieser Molekülform kann Stärke keine Funktion als Gerüstsubstanz übernehmen. Die Pflanze kann jedoch Glukose dadurch ohne größere Veränderungen in eine unlösliche und somit osmotisch unwirksame Form überführen. Daher ist Stärke der am weitesten verbreitete Reservestoff der Pflanzen (NULTSCH 2001). In der Natur kommt Zellulose nicht isoliert in reiner Form vor (mit Ausnahme der Baumwollhaare), sondern in Verbindung mit Pentosanen, Kutin und Silicium (VAN SOEST 1994), wie sie in der Zellwand anzutreffen sind

(s. Kap. 2.2). Diese „Kontaminanten“ können nicht von Zellulose getrennt werden, ohne sie zu zerstören.

Die Enzyme zur Verknüpfung bzw. Spaltung sind für die  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -glukosidische Bindung spezifisch. Wirbeltiere haben kein eigenes Enzymsystem zur Spaltung der  $\beta$ -glukosidischen Bindung der Gerüstkohlenhydrate, sodass Wiederkäuer auf die Symbiose mit ihren Pansenmikroben angewiesen sind. Die Verdaulichkeit der Zellulose hängt stark von deren Lignifizierung ab. Der Abbau der Zellulose geht in mehreren Schritten vor sich, die durch unterschiedliche Enzyme bewerkstelligt werden. Zuerst greifen Oxidasen die Wasserstoffbrücken an und zerstören damit die Grundstruktur. Die Fasern werden gekürzt und Schichten aufgebrochen, erst danach können Zellobiasen ( $\beta$ -1-4-Glykosidasen) die Polymere spalten. Abschließend wirken Endoglukanasen (COUGHLAN 1991; zit. nach VAN SOEST 1994).

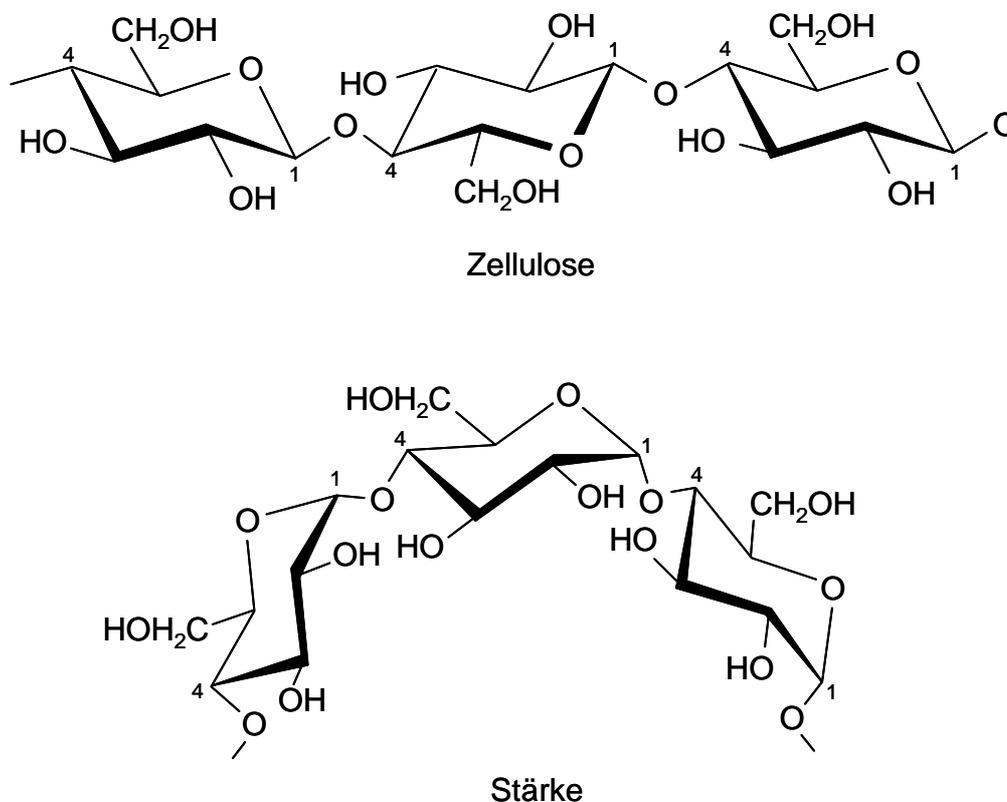


Abbildung 2: Darstellung von Zellulose ( $\beta$ -1-4-Bindung) und Stärke ( $\alpha$ -1-4-Bindung)  
(nach NULTSCH 2001, KARLSON et al. 2005)

Figure 2: Diagram of cellulose ( $\beta$ -1-4-linkage) and starch ( $\alpha$ -1-4-linkage)  
(based on NULTSCH 2001, KARLSON et al. 2005)

### 2.1.3 HEMIZELLULOSEN

Die Hemizellulosen sind eine heterogene Gruppe von nichtzellulosischen Polysacchariden (Zellulosane; NULTSCH 2001). Es kommen sowohl Pentosane als auch Hexosane vor, d. h. sie sind Polysaccharide, deren Makromoleküle aus Pentosen (z. B. Xylose, Arabinose) bzw. Hexosen (z. B. Glukose, Mannose, Galaktose) aufgebaut sind. Häufig treten sie als

Heteroglykane auf (als Verbindungen verschiedener Zucker), wie z. B. Xyloglukane, Arabinogalaktane, Rhamnogalakturonane und Glukomannane (NULTSCH 2001). Kleinere Moleküleinheiten wiederholen sich und können auch verzweigt sein. Die Hemizellulosen bilden die Hauptmasse der Zellwandmatrix (Grundsubstanz) und erscheinen im elektronenmikroskopischen Bild strukturlos (NULTSCH 2001).

Die Zusammensetzung der Hemizellulosen hängt stark von der Pflanzenspecies ab und auch von den Teilen innerhalb einer Pflanze (Stängel, Blätter). Hemizellulosen sind im nativen Zustand *unlöslich*, jedoch löslich in Säure oder Lauge. Sie sind mit Lignin assoziiert und bilden gemeinsam das Inkrustierungsmaterial der Sekundärzellwand (VAN SOEST 1994). In Grobfutterpflanzen kommt Hemizellulose vorwiegend in den lignifizierten Zellwänden vor. Wird Hemizellulose durch Lösung des Lignins mit Lauge oder oxidierenden Reagenzien isoliert, wird auch die molekulare Struktur der Hemizellulose verändert bzw. abgebaut. Dadurch bleibt ihre Struktur im Dunkeln (VAN SOEST 1994). Kein Polysaccharid ist enger mit Lignin assoziiert als die Hemizellulose (SULLIVAN 1966), und von dieser Lignifizierung hängt auch ihre Verdaulichkeit ab.

#### 2.1.4 PEKTINE

Die Pektine bilden die Hauptmasse der Interzellulärsubstanz, sie kommen besonders in der Mittellamelle vor (VAN SOEST 1994, NULTSCH 2001). Sie sind Polymere aus verschiedenen sauren Polysacchariden. Hauptbestandteil ist die Galakturonsäure, deren Carboxyl-Gruppen zum Teil methyliert sind und die mit Rhamnose in  $\alpha$ -1-2-Position verbunden ist. Zusätzlich sind Galaktose und Arabinose vorhanden (NULTSCH 2001). Die Unterscheidung zwischen Hemizellulose und Pektinen ist nicht ganz klar, ein wichtiges Kriterium ist die Löslichkeit. Pektine sind in heißen neutralen Lösungen von Ammoniumoxalat oder EDTA löslich, während Hemizellulose Säuren oder Laugen zur Lösung benötigt (VAN SOEST 1994). Die Ketten sind untereinander vernetzt, indem jeweils zwei COOH-Gruppen durch zweiwertige Ionen ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) miteinander verbunden sind. Dadurch entsteht ein elastisches, leicht veränderliches Gerüstwerk, das die Eigenschaften der Pektine ausmacht. Es ist gelartig, sehr plastisch und hydrophil (NULTSCH 2001). Pektine sind im Pflanzenreich bei den Dikotyledonen wesentlich häufiger anzutreffen als bei den Einkeimblättrigen.

#### 2.1.5 LIGNINE

Nach NULTSCH (2001) sind die Lignine Mischpolymere aus Phenylpropanen (Cumaryl-, Coniferyl- und Sinapyl-Alkohol), die sich zu einem dreidimensionalen Gitter vernetzen und so die Zellwand durchdringen (s. Abb. 3). Diese Bausteine des Lignins gehören als Phenole zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen. Phenole besitzen am aromatischen Ring mindestens eine OH-Gruppe oder deren funktionelle Derivate (OESTMANN et al. 1995).

Allerdings ist die genaue Struktur dieser Polymere bis heute nicht vollständig bekannt, da die oxidative Polymerisation der jeweiligen Phenylpropan-Monomere zu einem Verlust der Identität ihrer Vorläufer führt. Die Polymerisationsprodukte haben eine kondensierte, dreidimensionale Struktur, hauptsächlich aus Ether- und C-C-Bindungen zwischen den Phenylpropanen. Dies macht Lignin sehr widerstandsfähig gegen eine Hydrolyse (VAN SOEST 1994). Dagegen benötigt die chemische Analyse definierbare Rückstände, die extrahiert und abgetrennt werden können. Die meisten dieser Produkte sind allerdings

unlöslich und können nicht extrahiert werden, ohne sie zu zerstören; daher ist ihre Identifizierung problematisch (VAN SOEST 1994). Durch spektrometrische Verfahren werden die Veränderungen des Lignins vermieden, die bei gravimetrischen Analysemethoden auftreten. Dabei nutzt man die Eigenschaft der Phenole, Licht bestimmter Wellenlänge zu absorbieren. Dadurch kann die komplexe Struktur der Zellwand eher aufgeklärt werden (OESTMANN et al. 1995).

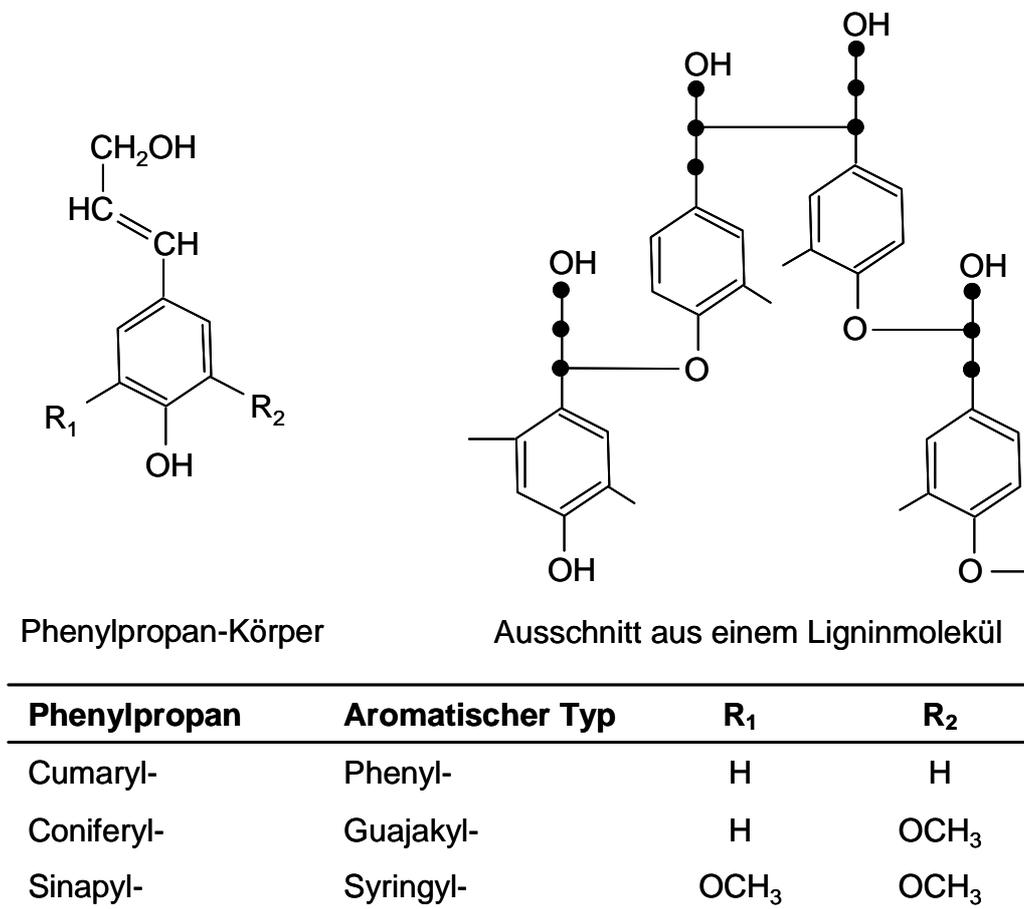


Abbildung 3: Struktur und Substitutionsmuster der Lignin-Monomere sowie Lignin-Molekül (nach OESTMANN et al. 1995 und NULTSCH 2001)

Figure 3: Structure and pattern of substitution of lignin monomers as well as lignin molecule (based on OESTMANN et al. 1995 and NULTSCH 2001)

Die heutigen Modellvorstellungen von diesem komplexen Makromolekül mit hohem Molekulargewicht gehen davon aus, dass in der Zellwand Lignin aus hoch-kondensierten Phenylpropan-Einheiten gebildet wird (sog. Kern-Lignin, engl. core lignin). Zwischen diesem Kernlignin und den Gerüstkohlenhydraten (Hemizellulosen, sehr wahrscheinlich jedoch nicht Zellulose) erfolgt eine Quervernetzung (cross linking) hauptsächlich über die beiden phenolischen Monomere p-Cumarsäure und Ferulasäure durch Ester- und Etherbindungen. Diese Monomere sind Zwischenstufen bei der Synthese der Phenylpropane aus Shikimisäure und werden als Nichtkern-Lignin (noncore lignin) bezeichnet (JUNG 1989, JUNG u. DEETZ

1993, OESTMANN et al. 1995). Die p-Cumarsäure und Ferulasäure besitzen zwei funktionelle Gruppen, eine OH- und eine COOH-Gruppe, mit denen sie gleichzeitig eine Ether- und eine Ester-Bindung eingehen können. Bei der Quervernetzung besteht zu Lignin eine Ether-Bindung über die phenolische Gruppe und über die Carboxyl-Gruppe eine Ester-Bindung mit den Hemizellulosen (JUNG 1989, s. Abb. 4). JUNG u. DEETZ (1993) haben dieses Modell erweitert und gehen davon aus, dass zwischen den Lignin/Zimtsäure-Verbindungen auch eine solche mit phenolischen Dimeren bestehen (z. B. Di-Ferulasäure, Truxillsäure). Neben p-Cumarsäure und Ferulasäure gibt es noch eine Reihe weiterer phenolischer Monomere, wie Kaffeesäure, p-Hydroxy-Benzoessäure, Salizylsäure, Sinapinsäure etc. (JUNG u. FAHEY 1983b). Die Begriffe core und noncore lignin gehen auf GORDON (1975) und JUNG (1989) zurück. Einige Autoren folgen dieser Unterteilung des Lignins allerdings nicht (RALPH u. HELM 1993, VAN SOEST 1993), sondern sprechen von einem Lignin/Hydroxy-Zimtsäure-Komplex, der auf einer kovalenten Bindung zwischen Lignin und Hydroxy-Zimtsäure beruht.

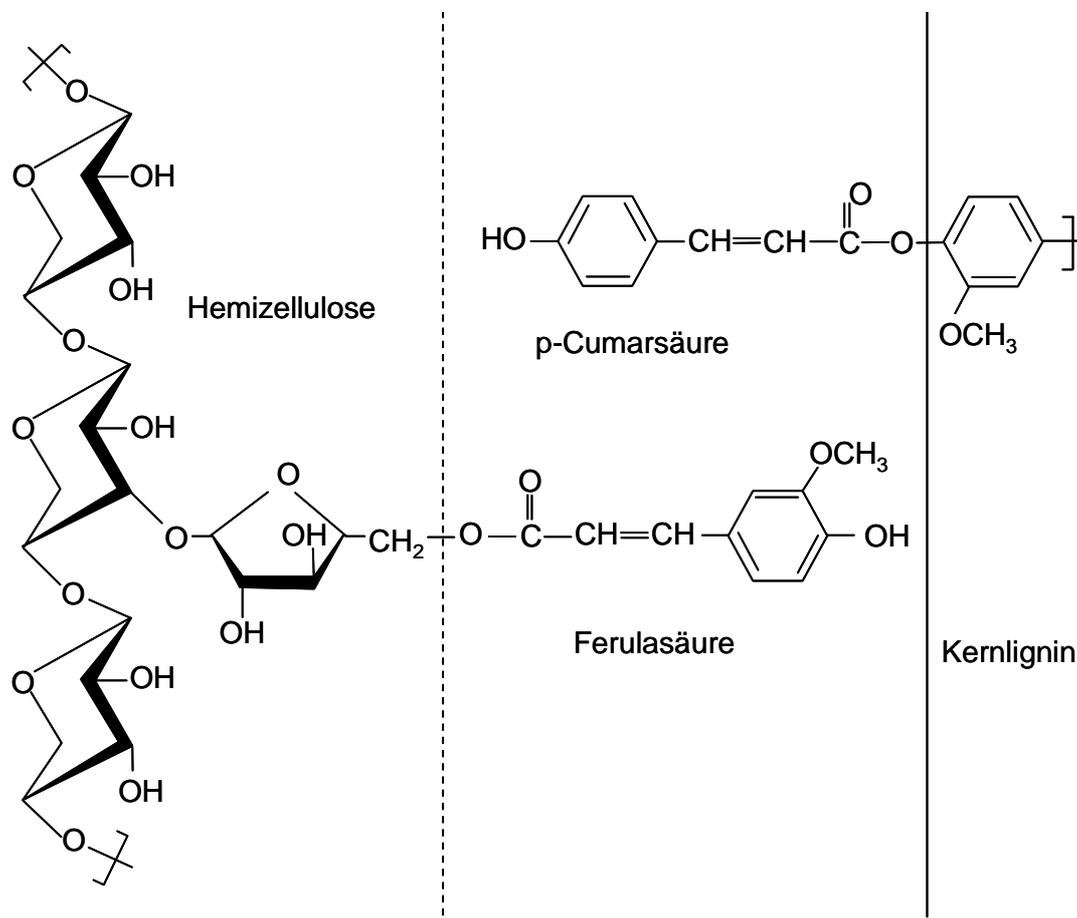


Abbildung 4: Bindungen von p-Cumarsäure und Ferulasäure zu anderen Zellwandkomponenten (nach JUNG 1989)

Figure 4: Linkage of p-coumaric acid and ferulic acid to other cell wall components (based on JUNG 1989)

Die Biosynthese des Lignins beginnt mit der Shikimisäure, aus der vorerst über Zwischenstufen die aromatischen Aminosäuren Phenylalanin sowie Tyrosin gebildet werden.

Durch Desaminierung von Tyrosin entsteht p-Cumarsäure und von Phenylalanin die Zimtsäure. Über die Kaffeesäure entsteht durch eine erste Methoxylierung die Ferulasäure und daraus durch eine zweite Methoxylierung die Sinapinsäure. Aus der p-Cumarsäure entsteht der Cumaryl-Alkohol, aus der Ferulasäure der Coniferyl-Alkohol und aus der Sinapinsäure der Sinapyl-Alkohol. Die einzelnen Schritte dieser Biosynthese sind in Abbildung 5 dargestellt (JUNG u. FAHEY 1983a, IJAMA et al. 1993, VAN SOEST 1994, OESTMANN et al. 1995). Der Anteil der drei Phenylpropane hängt von der Pflanzenspecies ab. VAN SOEST (1994) gibt für Gräser 22 % Cumaryl-Alkohol, 44 % Coniferyl-Alkohol und 34 % Sinapyl-Alkohol an, für Luzerne entsprechend 7, 39 bzw. 54 %, also signifikant weniger Cumaryl-Alkohol, jedoch wesentlich mehr Sinapyl-Alkohol.

Lignin ist der Hauptfaktor, der die Verfügbarkeit der pflanzlichen Zellwand für Pflanzenfresser und anaerobe Verdauungssysteme begrenzt (VAN SOEST 1994). Die Zellinhaltsstoffe (Zucker, Stärke, Protein, Fett) sind von diesem negativen, verdauungshemmenden Einfluss des Lignins nicht betroffen, wie VAN SOEST (1967) durch Anwendung des sog. Lucas-Tests gezeigt hat. Lignin selbst ist unverdaulich und die Lignifizierung vermindert die Verfügbarkeit der Zellulose und Hemizellulosen. Aus der Übersichtsarbeit von JUNG und FAHEY (1983a) über den Einfluss von phenolischen Monomeren und Lignin geht klar hervor, dass freie Phenole die Futteraufnahme senken und mehrere Wirbeltier-Enzyme *in vitro* behindert werden. Auch Lignin behindert mikrobielles Wachstum und die enzymatische Verdauung. Die Beziehung zwischen Lignin und Verdaulichkeit der Gerüstsubstanzen ist nicht linear, der negative Einfluss des Lignins ist bei niedrigem Lignin-Gehalt nämlich relativ größer (VAN SOEST 1967, JUNG u. VOGEL 1986). Diese nicht-lineare Beziehung zwischen Lignin und Verdaulichkeit lässt sich auch aus der Energie-Schätzformel von CONRAD et al. (1984) ablesen, in die Lignin mit einem Exponenten von 0,66 (und nicht 1,0) eingeht. Obwohl Lignin nur mit Hemizellulosen chemische Bindungen eingeht, ist Zellulose im gleichen Ausmaß von der Reduktion der Verdaulichkeit betroffen (JUNG u. VOGEL 1986). Es werden vor allem drei molekulare Mechanismen diskutiert, durch welche Lignin und die phenolischen Monomere die Abbaubarkeit der pflanzlichen Zellwand beeinträchtigen (JUNG u. DEETZ 1993):

1. toxische Effekte des Kern- und Nichtkern-Lignins auf die Pansenflora;
2. Sterische (d. h. räumliche) Behinderung der fibrolytischen Enzyme, verursacht durch Lignin-Polysaccharid-Bindungen. Diese behindern den Zugang der fibrolytischen Enzyme zu den Faserkohlenhydrat-Molekülen;
3. Durch das polymere Lignin wird eine hydrophobe Umgebung geschaffen, welche die funktionelle Aktivität der hydrophilen Enzyme im wässrigen Medium mindern.

JUNG und DEETZ (1993) kommen zur Schlussfolgerung, dass ein toxischer Effekt auf die Pansenmikroben wohl denkbar ist und unter *in vitro*-Verhältnissen auch festgestellt wurde (JUNG u. FAHEY 1983b, JUNG et al. 1983). Allerdings sind die Konzentrationen an gelösten phenolischen Monomeren unter praktischen Fütterungsverhältnissen sehr niedrig und die Pansenflora scheint diese zum Teil entgiften zu können (JUNG u. FAHEY 1983b). Auch die vollständige Abschirmung von Wasser an den Molekülen halten JUNG und DEETZ (1993) für unwahrscheinlich, sodass die sterische Behinderung des Zutritts der Enzyme zu dem Lignin-Kohlenhydrat-Komplex als die wichtigste Wirkungsweise des Lignins bei der Minderung der Verdaulichkeit anzusehen ist. Die Lignifizierung und der negative Einfluss des

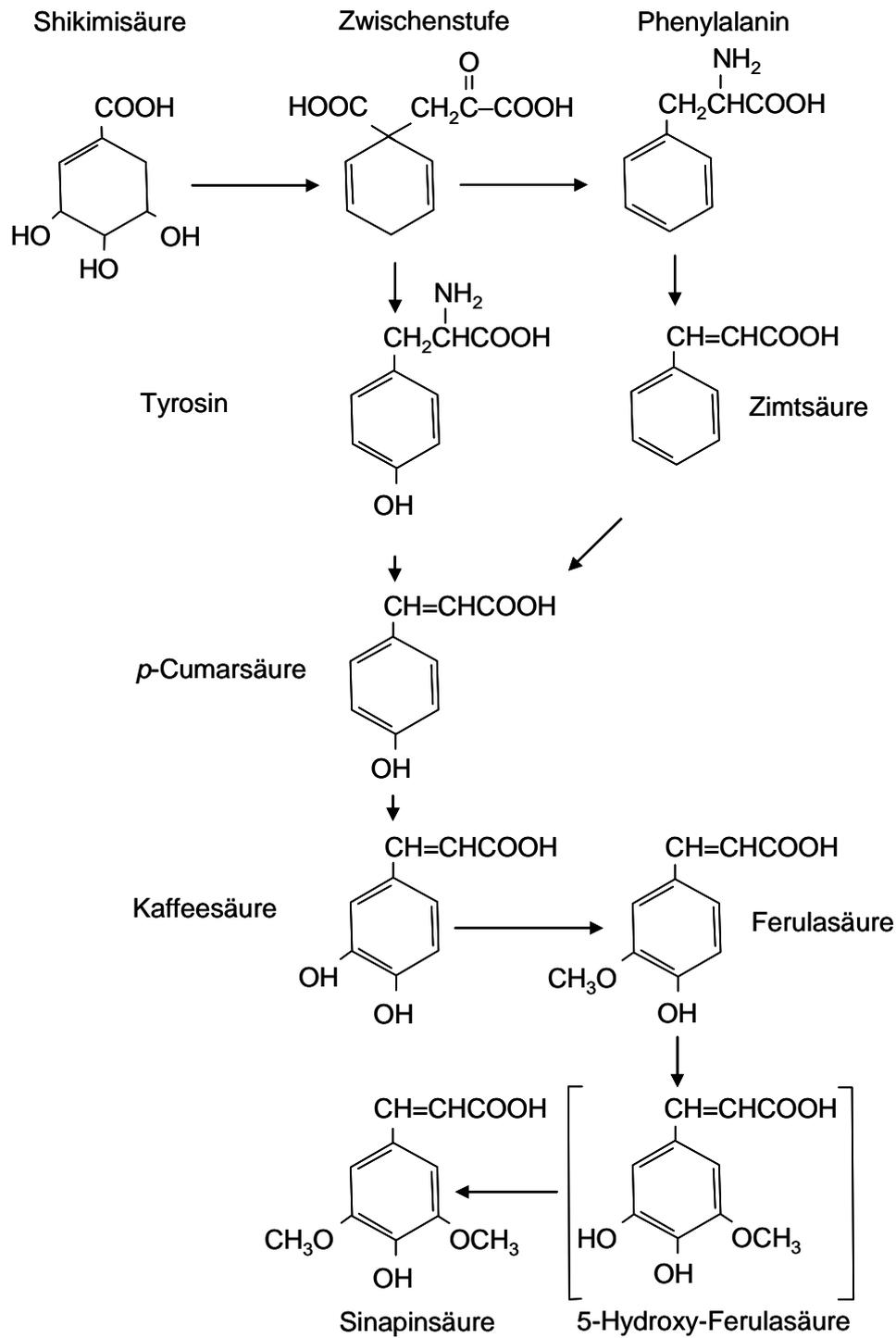


Abbildung 5: Synthese von Lignin-Monomeren über den Shikimisäure-Weg (nach OESTMANN et al. 1995)

Figure 5: Synthesis of lignin monomers via the shikimic acid pathway (based on OESTMANN et al. 1995)

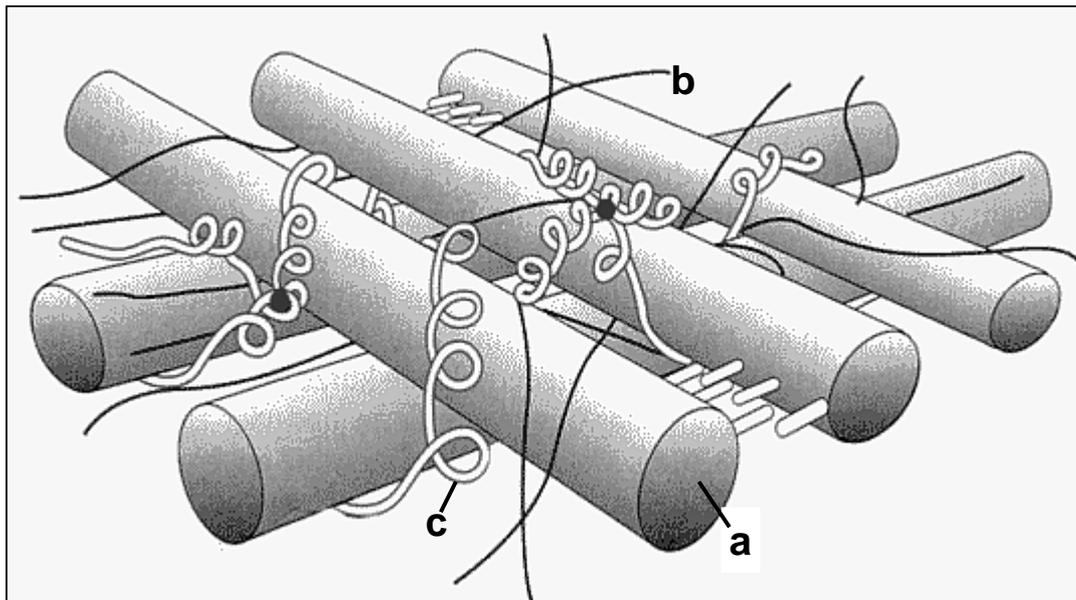
Lignins auf die Verdaulichkeit ist unterschiedlich je nach Zellwandkomponenten, Gewebetypen, Pflanzenarten und Pflanzenfraktionen. Besonders die Gewebe des Xylems und die Sklerenchymzellen werden stark lignifiziert, während die Zellwände des Phloems und des Mesophylls nur wenig Lignin einlagern (SÜDEKUM et al. 1995). Es bestehen auch starke Unterschiede zwischen Gräsern und Leguminosen, die vor allem auf die sehr unterschiedliche Morphologie dieser Pflanzen zurückzuführen sind. So enthalten die Blätter der Gräser wesentlich mehr Lignin als die der Leguminosen und das Gegenteil ist der Fall bei den Stängeln (VAN SOEST 1994). Bei einer annähernd gleichen Verdaulichkeit von 60 % hat VAN SOEST (1964) bei Gräsern (*Bromus*, *Dactylis*) einen Ligningehalt von 4,9 % und bei Luzerne von 7,6 % festgestellt. Der Anteil des Lignins an den Gerüstsubstanzen ist bei Leguminosen signifikant höher als bei Gräsern. Dagegen ist der Gehalt an Hemizellulose – bei ähnlichem Gehalt an Zellulose – bei den Leguminosen niedriger (VAN SOEST 1964).

## 2.2 AUFBAU DER ZELLWAND

Die Zellwand besteht aus mehreren Schichten, nämlich aus der Mittellamelle, der Primär-, Sekundär- und Tertiärwand (WILSON 1993, NULTSCH 2001). Die Mittellamelle bildet die Grenze zwischen benachbarten Zellen und ist der Ausgangspunkt für das Zellwachstum. Sie besteht vorwiegend aus Pektinen. Die Primärzellwand wird angelegt, wenn sich die Zellen teilen; sie besteht vorwiegend aus Hemizellulose und relativ wenig Zellulose. Die Primärzellwand ist elastisch und verformbar, was ein Wachstum der Zellen ermöglicht (NULTSCH 2001). Nach dem Aufbau der Primärwand bildet sich die Sekundärwand in das Innere der Zelle hinein. Der Abschluss zum Plasmalemma erfolgt durch die sehr dünne Tertiärwand. Die Sekundärwand ist überwiegend aus Zellulose aufgebaut, die in sog. Fibrillen angeordnet ist. Die kleinste Einheit stellen die Elementarfibrillen dar, die aus 50 – 100 Zellulosemolekülen aufgebaut sind und einen Durchmesser von etwa 3,5 – 5,0 nm haben. Diese Zelluloseeinheiten werden durch kovalente Bindungen und H<sub>2</sub>-Brückenbindungen zusammengehalten (NULTSCH 2001). Mehrere Elementarfibrillen werden zu Mikrofibrillen (10 – 30 nm Durchmesser) zusammengefügt, welche die strukturelle Grundeinheit der Zellwände darstellen. Mehrere Mikrofibrillen werden zu Makrofibrillen gebündelt.

Obwohl die chemische Zusammensetzung von Zellwänden gut bekannt ist, bestehen über deren räumliche Anordnung nur Modellvorstellungen. NULTSCH (2001) führt ein Modell an, das auf ALBERSHEIM und Mitarbeiter zurückgeht (s. Abb. 6). Demnach besteht die Primärwand einer Zelle gewebeartig aus zwei Polymeren, nämlich Zellulose-Mikrofibrillen, welche die Maschen eines Extensinnetzes (Zellwandprotein) durchdringen, eingebettet in ein hydrophiles Pektin-Hemizellulose-Gel, das als Matrix dient. Diese Extensinmoleküle tragen zwar Arabinose als Seitenketten, sie sind jedoch nicht mit Zellulose kovalent verbunden. Daraus kann abgeleitet werden, dass untereinander vernetzte Extensinmoleküle ein selbstständiges Gerüst bilden, das zusätzlich zum Gerüst der Zellulosefibrillen besteht und von diesem durchdrungen ist.

CHESSON (1993) bestätigt die Grundannahmen dieses Modells, führt aber an, dass genauere Analysen der Zellwandpolymere auf einige Unzulänglichkeiten hinweisen. So kann nicht von der im Modell ausgegangenen homogenen Zusammensetzung der Zellwandpolymere ausgegangen werden und dies verändert auch die Feinstruktur einzelner Polymertypen und die Verteilung der Polymere innerhalb der Zellwand. Das gilt besonders für Pektin-Polysaccharide.



a = Zellulose

b = Hemizellulose

c = Zellwandprotein

Abbildung 6: Modell der Zellwand nach ALBERSHEIM (nach NULTSCH 2001)

*Figure 6: Model of the cell wall according to ALBERSHEIM (based on NULTSCH 2001)*

JUNG und DEETZ (1993) haben daher ein Modell der Lignifizierung und der Abbaubarkeit von Zellwänden entwickelt, das der Zusammensetzung und den vielfältigen Bindungsarten zwischen den Molekülen eher Rechnung trägt. Die Grundzüge dieses Modells sind in Abbildung 7 dargestellt. Lignin-Polymere sind in der Primärzellwand über Ether-Bindungen der Ferulasäure mit Arabinoxylan verankert. Die Ferulasäure ist dabei mit dem Arabinose-Substitut des Arabinoxylans verestert. Die Primärzellwand enthält mehr verzweigte Lignin-Polymere, die einen hohen Guajakyl-Anteil aufweisen (aus Coniferyl-Alkohol, d. h. 1 Methoxy-Gruppe), während in der Sekundärzellwand eher unverzweigtes, lineares Lignin vorherrscht, das reich an Syringyl ist (aus Sinapyl-Alkohol, d. h. 2 Methoxy-Gruppen). Durch seine zweite Methoxy-Gruppe ist Syringyl nicht in der Lage, im gleichen Ausmaß Bindungen und Verzweigungen einzugehen wie Guajakyl. Infolgedessen ist das Lignin der Sekundärzellwand (mit hohem Syringyl-Anteil) nicht so nachteilig für die Abbaubarkeit der Zellwandkohlenhydrate. Dagegen führt Guajakyl zu mehr Verzweigungen und höherer Kondensation des Lignins mit dem Effekt, dass sich der Anteil und die Verzweigung des Lignins der Primärzellwand und der Mittellamelle erhöhen und durch die räumliche Behinderung des Enzymzutritts eine reduzierte Verdaulichkeit eintritt. Dies stimmt auch gut mit der Beobachtung überein, dass Primärzellwand und Mittellamelle von Pansenmikroben nicht angegriffen werden, wohingegen die Sekundärzellwand zum Teil abgebaut wird, obwohl auch diese lignifiziert (ENGELS 1989; zit. nach JUNG u. DEETZ 1993). Während der Vegetation ändert sich sowohl die Zusammensetzung der phenolischen Monomere (p-Cumarsäure/Ferulasäure) als auch der Anteil der Phenylpropane (Cumaryl-, Coniferyl- und

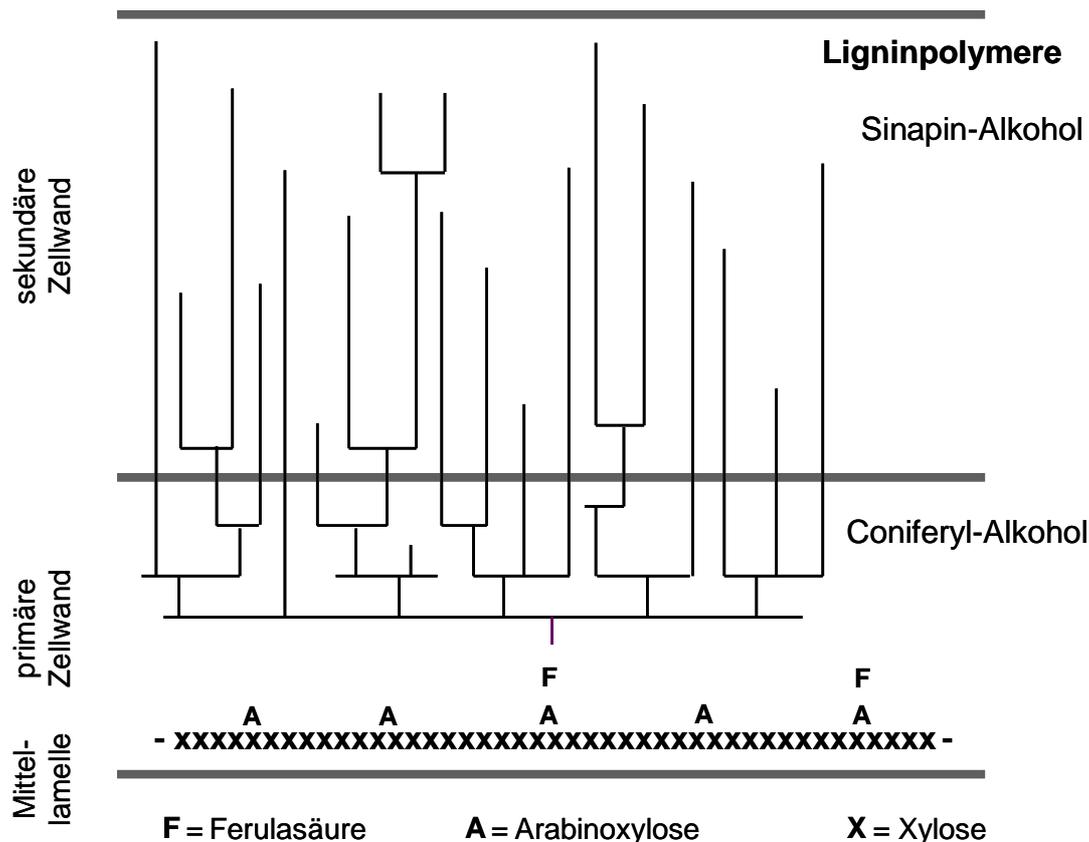


Abbildung 7: Modell der Zellwand-Lignifizierung (nach JUNG und DEETZ 1993)

Figure 7: Model of cell wall lignification (based on JUNG and DEETZ 1993)

Sinapyl-Alkohol) im Lignin. Die p-Cumarsäure wirkt sich nachteiliger auf die Abbaubarkeit der Zellwand aus als die Ferulasäure (JUNG 1989). Das Nichtkern-Lignin vermindert die Verdaulichkeit in zweifacher Weise:

1. Die vom Nichtkern-Lignin hergestellte Quervernetzung von Lignin und Polysacchariden über Ester- und Etherbindungen schafft eine enge Verbindung zwischen beiden. Dabei verhindert das Kernlignin einen räumlichen Zutritt der Enzyme an die Polysaccharide und senkt somit das Ausmaß der Verdauung.
2. Nichtkern-Lignin-Phenole, die nur mit Polysacchariden verestert, jedoch nicht mit Kern-Lignin quer vernetzt sind (d. h. Ferulasäure), können durch die räumliche Behinderung der Polysaccharidasen nur die Abbaurate der Gerüstkohlenhydrate mindern, jedoch nicht deren Ausmaß, da die Esterbindungen letztlich enzymatisch gespalten werden können.

Es wird davon ausgegangen, dass die Ferulasäure, die mit Arabinoxyylan verestert ist, als Ausgangspunkt für die Lignin-Polymerisation agiert. Das phenolische Hydroxyl der Ferulasäure geht eine Etherbindung mit den Vorläufern der Phenylpropan-Alkohole ein. Der Arabinoxyylan-Ferulasäure-Ester wird in der Primärzellwand in einem frühen Entwicklungszustand angelegt und Lignin an den Zellwand-Polysacchariden der Primärzellwand verankert. Auch mikroskopische Studien zeigen, dass die Lignifizierung von der Mittellamelle und der

Primärzellwand ausgeht, wo auch die höchste Ligninkonzentration auftritt. Danach wächst das Lignin-Polymer in die Sekundärzellwand hinein, allerdings bei geringer Quervernetzung mit Arabinoxylan, womit die stärkere Verdauungsdepression in der Primärzellwand zu erklären ist, weil durch diese Quervernetzung die räumliche Behinderung der Enzyme gegeben ist (siehe oben). Dagegen bietet die lineare Anordnung des Lignins (ohne Verzweigungen) den hydrolytischen Enzymen eine größere Angriffsfläche für die Zellwand-Polysaccharide, die zwischen den Lignin-Ketten liegen. Das vorliegende Modell der Zellwandstruktur und -lignifizierung von JUNG und DEETZ (1993) zeigt, dass vor allem die strukturellen Verhältnisse in der Zellwand, wie die Art der Quervernetzungen, die Abbaubarkeit der Gerüstsubstanzen beeinflussen und nicht so sehr die Konzentration einzelner Komponenten.

VAN SOEST (1994) bezeichnet daher folgerichtig die gröbere, räumliche Anordnung der Zellwandkomponenten als den übergeordneten Faktor für die Eigenschaften der Zellwand, wogegen die kovalenten Bindungen zwischen den Zellwandkohlenhydraten diese nicht vollständig erklären können. Er definiert die Zellwand als ein Riesenmolekül mit kovalenten Bindungen, die von  $\beta$ -Glukanen über Xylan und Araban zum Zellwandprotein (Extensin) laufen. Dabei spielen Querverbindungen mit Extensin und den phenolischen Mono- und Dimeren von Ferula- und p-Cumarsäure sowie Lignin eine wichtige Rolle. Die physikochemischen Eigenschaften, welche die Nährstoffabbaubarkeit bestimmen, hängen daher vor allem von der Art der Bindung zwischen den chemischen Komponenten ab. Auch ÅMAN (1993) bezeichnet die komplexe dreidimensionale Struktur der Zellwand als entscheidender für deren Eigenschaften als die einzelnen Komponenten.

Die mikrobiellen und molekular-biochemischen Mechanismen des Zellwandabbaues wurden von WEIMER (1993) beschrieben. Wesentliche Aspekte aus der Sicht der Mikrobiologie sind die Adhäsion der Mikroben an die Faserpartikel, die Wechselwirkungen und -beziehungen unter den Mikroben und die Enzymologie der Verdauungsvorgänge. Für den Abbau der Zellwand und den Zugang der Verdauungsenzyme ist die Verminderung der Partikelgröße wichtig sowie die Kinetik der Verdauung und Futterpassage durch den Verdauungstrakt. Einen wichtigen Einfluss übt auch das Fütterungsmanagement aus (GLENN u. WALDO 1993). Für weitergehende Information wird auf JUNG et al. 1993 (Kongressband: „*Forage Cell Wall Structure and Digestibility*“) verwiesen.

### 3 ANALYSE DER GERÜSTSUBSTANZEN

Die Weender Analyse (HENNEBERG u. STOHMANN 1864) dient seit vielen Jahrzehnten zur Charakterisierung der Futtermittel. Wie einleitend angeführt, entspricht die Rohfaser allerdings nicht der tatsächlichen Faser eines Futtermittels, wenn unter dem Begriff „Faser“ die polymeren Substanzen verstanden werden, die von den Verdauungsenzymen der Wirbeltiere nicht gespalten werden können (VAN SOEST u. ROBERTSON 1980). Dies führt in der Folge auch dazu, dass der Gehalt an Nichtfaser-Kohlenhydraten falsch eingeschätzt wird, der üblicherweise durch Differenz errechnet wird. Die Ursache liegt in den bei beiden Verfahren sehr verschiedenen Reagenzien, die zu einer unterschiedlichen Lösung der Futterinhaltsstoffe führen. Allen Methoden ist gemeinsam, dass in aufeinander folgenden Schritten der chemischen Behandlung die Nicht-Faserbestandteile gelöst werden und die Faser als Rückstand bestimmt wird. Die Vorgehensweise und die verwendeten Reagenzien werden nachfolgend kurz skizziert. Eine Übersicht über die wichtigsten Analysenschritte und die

verwendeten Reagenzien gibt Übersicht 1 (nach VDLUFA 1976, VAN SOEST et al. 1991, Foss Tecator 1997, MERTENS 2002). Um genaue und gut reproduzierbare Werte zu erhalten, sind in der Faseranalytik alle Maßnahmen entscheidend, eine repräsentative Probe zu erzielen (Probenziehung über mehrere Stufen, Probenzerkleinerung, Mahlfeinheit 1 mm-Sieb etc.). Auch die Entfettung (mit Azeton) und das Verhältnis Probe/Reagenzien spielen eine wichtige Rolle und beeinflussen das Ergebnis, wobei ein maximaler Kontakt der Reagenzien mit der Probe gewährleistet sein muss (VDLUFA 1976, Foss Tecator 1997). Ein zu hoher Gehalt an Karbonaten ist ebenfalls störend, da die Wirkung der Säuren herabgesetzt wird (Rohfaser, ADF).

Übersicht 1: Wesentliche Analysenschritte und verwendete Reagenzien bei der Analyse von Rohfaser (XF/Rfa), NDF, ADF und ADL (nach VDLUFA 1976, VAN SOEST et al. 1991, Foss Tecator 1997, MERTENS 2002)

Overview 1: Essential analytical steps and reagents used in the analysis of crude fibre (XF), NDF, ADF and ADL (based on VDLUFA 1976, VAN SOEST et al. 1991, Foss Tecator 1997, MERTENS 2002)

	<b>Rohfaser</b>	<b>NDF</b>	<b>ADF</b>	<b>ADL</b>
Probenmenge (g)	1,00 <i>Gew. Einwaage (W<sub>1</sub>)</i>	1,00 <i>Gew. Einwaage (W<sub>1</sub>)</i>	1,00 <i>Gew. Einwaage (W<sub>1</sub>)</i>	1,00 <i>Gew. Einwaage (W<sub>1</sub>)</i>
Schritt 1	Heißextraktion 1 100 ml 1,25 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 30 min Kochen	Heißextraktion 1 100 ml NDS kalt 60 min Kochen	Heißextraktion 1 100 ml ADS kalt 60 min Kochen	Heißextraktion 1 100 ml ADS kalt 60 min Kochen
Schritt 2	Heißextraktion 2 100 ml 1,25 % KOH 30 min Kochen Filterieren Waschen mit heißem H <sub>2</sub> O bis frei von Lösungsmitteln			
Schritt 3	Kaltextraktion 1 25 ml Azeton 10 min Filterieren (3-mal) Waschen mit H <sub>2</sub> O	Kaltextraktion 1 25 ml Azeton 10 min Filterieren (1-mal) Waschen mit H <sub>2</sub> O	Kaltextraktion 1 25 ml Azeton 10 min Filterieren (1-mal) Waschen mit H <sub>2</sub> O	Kaltextraktion 1a 25 ml Azeton 10 min Filterieren (1-mal) Waschen mit H <sub>2</sub> O Trocknen
Schritt 4				Kaltextraktion 1b 25 ml 72 % H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 3 h, Rühren Waschen mit H <sub>2</sub> O
Schritt 5				
Schritt 6				
Berechnung:				

XF / Rfa = Rohfaser      NDF = Neutral-Detergenzien-Faser      ADF = Säure-Detergenzien-Faser  
 ADL = Säure-Detergenzien-Lignin      NDS = neutral detergent solution      ADS = acid detergent solution

### 3.1 ROHFASER (XF / Rfa)

Unter Rohfaser ist der aschefreie Anteil eines Futtermittels zu verstehen, der nach Behandlung mit verdünnter Säure und Lauge zurückbleibt. Die Probe wird in zwei Schritten jeweils 30 Minuten mit 1,25 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und 1,25 % NaOH (oder KOH) gekocht. Danach wird die Probe mit Aceton entfettet und getrocknet sowie verascht (VDLUFA 1976)

Die Entfettung und Veraschung wird auch bei der Detergenzien-Analyse nach VAN SOEST angewendet.

Der organische Anteil des Rückstandes gibt den Gehalt an Rohfaser an. Diese sollte ursprünglich die weniger verdaulichen Kohlenhydrate beschreiben, während unter den N-freien Extraktstoffen (NfE) – als Differenz errechnet – die besser verdaulichen Kohlenhydrate verstanden wurden. Zur Zeit von HENNEBERG und STOHMANN (1864) war die Bezeichnung „Holzfaser“ üblich. In ihren „Beiträgen zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer“ empfahlen sie die Verwendung des Begriffes „Rohfaser“.

Die Untersuchungen von VAN SOEST (1977) haben allerdings gezeigt, dass die Behandlung der Futtermittel mit Säure und Lauge entsprechend der Rohfaser-Bestimmung nicht den vollständigen Gehalt an „Faser“ zum Ergebnis hat. Vielmehr werden ein Großteil der Hemizellulosen und auch des Lignins gelöst, auch Teile der Zellulose gehen in Lösung. Wie in Tabelle 1 angeführt, ist das Ausmaß der Lösung von Lignin, Hemizellulosen und Zellulose bei der Rohfaser-Analyse allerdings stark von der Zugehörigkeit zu botanischen Gruppen bzw. von der Pflanzenspecies abhängig. Im Durchschnitt werden vom Lignin bei Leguminosen 30 %, bei Gräsern 82 % und bei anderen Species (vor allem Korbblütler und Doldenblütler) 52 % gelöst. Von den Hemizellulosen gehen 63, 76 bzw. 64 % in Lösung und von der Zellulose 28, 21 bzw. 22 %.

Tabelle 1: Anteile (%) von Lignin, Hemizellulosen und Zellulose, die bei der Rohfaser-Bestimmung in Lösung gehen (VAN SOEST 1977)

Table 1: Percentages of lignin, hemicelluloses and cellulose dissolved in the crude fibre determination (VAN SOEST 1977)

Gruppe	Lignin	Hemizellulosen	Zellulose
Leguminosen	30 (8 – 62)	63 (21 – 86)	28 (12 – 30)
Gräser	82 (53 – 90)	76 (64 – 89)	21 (5 – 29)
Andere <sup>1)</sup>	52 (10 – 84)	64 (43 – 84)	22 (7 – 32)

<sup>1)</sup> hauptsächlich Korbblütler und Doldenblütler

Die Rohfaser-Analytik ist also nicht in der Lage, die Gerüstsubstanzen (als Summe von Zellulose, Hemizellulosen und Lignin) eines Futtermittels exakt zu erfassen. Die sehr nachteilige Folge davon ist, dass in den N-freien Extraktstoffen nicht nur hochverdauliche Kohlenhydrate enthalten sind, sondern auch schwer bis unverdauliche Kohlenhydrate und das Lignin. Die Folge davon kann sein, dass die Verdaulichkeit der Rohfaser höher ist als die der N-freien Extraktstoffe (VAN SOEST 1975). Das heißt, die klare und für die

Wiederkäuerernährung sehr wichtige Trennung in Faser- und Nichtfaser-Kohlenhydrate war und ist mit der Rohfaser-Bestimmung nicht möglich.

### 3.2 DETERGENZIEN-FASER

Um den tatsächlichen Gehalt der Pflanzen an Faserstoffen, d. h. an unlöslicher Zellwandmatrix, zu bestimmen, hat VAN SOEST die sog. Detergenzien-Analyse entwickelt (VAN SOEST 1963a,b, 1964, 1965, VAN SOEST u. WINE 1967, GOERING u. VAN SOEST 1970). Damit ist auch die zutreffende Trennung der Kohlenhydrate in Faserstoffe (Zellwand) und Nichtfaserstoffe (Zellinhaltsstoffe) möglich (VAN SOEST 1967). Die Zellinhaltsstoffe (lösliche Kohlenhydrate, Stärke, organische Säuren, Protein) sowie Pektin (Mittellamelle) sind mehr oder weniger vollständig verdaulich (90 - 100 %), während die Zellwände nur über die mikrobielle Fermentation in den Vormägen genutzt werden können. Das Ausmaß der Fermentierbarkeit hängt vom Grad der Lignifizierung ab. Die lignifizierte Fraktion selbst sowie Kutin, Silicium, Tannine etc. sind vollständig unverfügbar (VAN SOEST 1994).

Die Detergenzien-Analyse erlaubt auch die Aufteilung der Faser in ihre Hauptkomponenten, nämlich Zellulose, Hemizellulosen und Lignin. Das Haupthindernis, die pflanzlichen Zellwandrückstände aufzubereiten, in denen die unverdaulichen Rückstände enthalten sind, ist die Entfernung des kontaminierenden Proteins. Aus diesem Grund wird bei der Präparation der Rohfaser Natronlauge verwendet. Leider wird dabei aber nicht nur Protein entfernt, sondern auch Hemizellulose und Teile des Lignins. In der von VAN SOEST entwickelten Analyse werden Detergenzien angewendet, die in der Lage sind, lösliche Proteinkomplexe zu bilden (VAN SOEST 1994), so dass diese auch entfernt werden.

#### 3.2.1 NEUTRAL-DETERGENZIEN-FASER (NDF)

Die Gesamtheit der Gerüstsubstanzen, d. h. der Rückstand nach dem Kochen in neutraler Detergenzien-Lösung (NDS, neutral detergent solution) wird als Neutral-Detergenzien-Faser (NDF) bezeichnet (s. Übers. 1). Die Zellinhaltsstoffe werden dadurch gelöst. Die Detergenzien-Lösung besteht aus Na-Lauryl-Sulfat, Ethylen-Diamin-Tetraessigsäure (EDTA) und Triethylen-Glykol sowie den Puffern Na-Borat (Borax) und Na-Dihydrogen-Phosphat zur Einstellung des Milieus (pH = 7). Die genaue Einhaltung eines neutralen pH-Wertes ist entscheidend, da saure oder basische Bedingungen die Faser lösen können. Nach MERTENS (2002) ist hierbei ein pH-Bereich von 6,95 bis 7,05 einzuhalten.

Anionische Detergenzien, wie Na-Lauryl-Sulfat, formen polyanionische Komplexe mit Protein, deren Na-Salze bei einem pH > 6 löslich sind. Dadurch gelingt die Entfernung des Proteins zu einem hohen Prozentsatz (VAN SOEST u. ROBERTSON 1977, VAN SOEST 1994). Na-Lauryl-Sulfat ist ein Monoester der Schwefelsäure, bestehend aus einer langkettigen Alkylgruppe (C<sub>12</sub>) und einem modifizierten Sulfat-Anion mit einem Na-Kation. Die Wirkung auf Proteine basiert darauf, dass nichtkovalente Bindungen der Proteine unterbrochen und folglich deren Quartär- und Tertiärstruktur zerstört werden. Durch EDTA werden Erdalkali-Metalle und Schwermetalle gebunden, welche die Wirkung des Detergenz stören würden. EDTA ist ein Komplexbildner, der sehr stabile Chelat-Komplexe mit Kationen von einer Ladungszahl von  $\geq 2$  bildet. Triethylen-Glykol wirkt als Lösungsmittel und dient vor allem zur Entfernung von Stärke in Konzentraten.

Die Extraktion des Futters mit der neutralen Detergenzien-Lösung ergibt also einen Faserrückstand mit den wesentlichen Komponenten der Zellwand, nämlich Zellulose, Hemizellulose und Lignin. Außerdem sind als NebenkompONENTEN noch geringe Mengen an Protein und gebundenem Stickstoff enthalten sowie Mineralien (Erdverunreinigungen) und die Cuticula. Die Extraktion mit der neutralen Detergenzien-Lösung wirkt nicht hydrolytisch und führt daher zur Gewinnung der unlöslichen Zellwandmatrix (VAN SOEST 1994). Üblicherweise enthält der NDF-Rückstand noch Reste von Stärke, tierischem Keratin und Mineralstoffen.

Ursprünglich wurde die NDF-Methode zur Bestimmung der Gerüstsubstanzen in Grobfuttermitteln konzipiert. Die höheren Stärke-Gehalte in Kraffuttermitteln stören die NDF-Analyse bzw. führen zu überhöhten NDF-Werten. Daher ist bei hohen Stärkegehalten die Entfernung der Stärke mit einer hitze-stabilen Amylase während des Kochprozesses zusätzlich zu Triethylen-Glykol zwingend erforderlich (VAN SOEST et al. 1991). Sowohl die Art der verwendeten Amylase als auch ihre Anwendung während der Analyse beeinflussen den NDF-Wert (MERTENS 2002). Die Behandlung der Probe vor der Extraktion birgt die Gefahr, dass durch gewisse Nebenaktivitäten (Protease, Hemizellulase,  $\beta$ -Glukanase) zu niedrige NDF-Werte erzielt werden, da Teile der Faser angegriffen und gelöst werden. Daher hat sich die Verwendung einer hitzestabilen Amylase während des Extraktionsprozesses als die beste Lösung herausgestellt (MERTENS 2002). Die Verwendung von Amylase bei der Analyse der Gerüstsubstanzen wird mit dem Buchstaben „a“ angegeben, d. h. aNDF (UDEN et al. 2004).

Pektine werden durch Kochen mit neutralen Detergenzien vollständig gelöst, obwohl sie Bestandteil der Zellwand sind. Dies wird häufig als Schwachpunkt dieses Analyseverfahrens angesehen. Die Lösung des Pektins ist auf die Wirkung des EDTA zurückzuführen. Laut VAN SOEST et al. (1991) nehmen sie allerdings insofern eine Sonderstellung ein, als sie von Pansenmikroben rasch und vollständig abgebaut werden. Dies zeigt, dass sie – im Gegensatz zu Hemizellulose – nicht kovalent mit der lignifizierten Zellwandmatrix verbunden sind. Sie werden daher als Neutrale Detergenz-lösliche Faser (NDSF, neutral detergent-soluble fiber) bezeichnet (HALL 2003).

Bei Fettgehalten von über 10 % ist eine vorherige Entfettung mit Aceton oder Ethanol erforderlich (ohne Erhitzung, da durch Hitze der Stickstoffgehalt der Faser erhöht wird). Die Detergenzien sind in der Fettphase löslich und dadurch wird deren Konzentration in der wässrigen Phase erniedrigt, was zu einer zu niedrigen Lösung der Zellinhaltsstoffe und zu überhöhten Faserwerten führt (VAN SOEST u. ROBERTSON 1980).

Ein zu hoher Proteingehalt (> 30 % XP) kann die Analyse der Gerüstsubstanzen stören, indem die Kapazität des Detergenz überschritten wird, lösliche Komplexe zu bilden (VAN SOEST u. ROBERTSON 1980). In solchen Fällen soll der Proteingehalt durch Proteasen verringert werden. Ein gewisser Teil des Proteins kann nicht durch Proteasen angegriffen werden, nämlich tatsächlich unverdaulicher N, der sich in ADF und ADL befindet. Er stammt teils originär aus physiologisch reifen Pflanzen oder er ist auf Grund von Maillard-Reaktionen, Hitzeschädigungen sowie der Bildung von Tannin-Protein-Komplexen unverdaulich. Eine zu hohe Erhitzung (> 60 °C) bei der Probentrocknung führt daher zu Fehleinschätzungen bei der Beurteilung von ADIN (acid detergent unsoluble nitrogen, s. Kap. 4.1.1).

Um den Proteingehalt der NDF zu reduzieren, wird Na-Sulfit eingesetzt, außerdem auch zur Entfernung von Protein tierischer Herkunft in Futtermitteln bzw. Körperprotein in Kot (Haare, abgeschilfertes Darmepithel). Na-Sulfit spaltet Disulfid-Brücken zwischen Peptiden und löst dadurch das Protein. Leider löst Na-Sulfit teilweise auch Lignin und vermindert

dadurch den Gehalt an Gerüstsubstanzen. Es sollte nach VAN SOEST et al. (1991) und VAN SOEST (1994) nur eingesetzt werden, wenn es unbedingt (zur Entfernung von tierischem Protein) erforderlich ist und der Rückstand nicht für weitere Analysen verwendet wird (z. B. *in vitro*-Verdaulichkeit des Faserrückstandes, NDIN (= neutral detergent insoluble nitrogen), sequenzielle Analyse der Gerüstsubstanzen). In der von MERTENS (2002) vorgeschlagenen und nun als Standard geltenden Methode ist Na-Sulfit enthalten, da die Entfernung des Proteins (besonders in erhitzten Futtermitteln) als unumgänglich erachtet wird. Dies beruht auf einer umfangreichen und einen weiten Bereich an Futtermitteln abdeckenden Untersuchung zum Einfluss von Na-Sulfit auf den Gehalt an aNDF (HINTZ et al. 1996).

Die NDF-Methode hat seit ihrer Begründung mehrere Modifikationen erfahren. Diese waren erforderlich, da einige Reagenzien aus gesundheitlichen Gründen nicht mehr zulässig waren (Decalin eliminiert, Triethylen-Glykol anstelle von 2-Ethoxy-Ethanol) und da die ursprünglich für Grobfutter entwickelte Methode auch auf Kraftfutter ausgeweitet wurde. Zur Entfernung der im Kraftfutter enthaltenen, teilweise hohen Stärkegehalte ist die Behandlung mit Amylase zwingend erforderlich. Die wesentlichen Modifikationen sind bei VAN SOEST et al. (1991) und MERTENS (2002) beschrieben. Die Terminologie zur Definition der verwendeten NDF-Methode wurde von UDEN et al. (2005) veröffentlicht.

### 3.2.2 SÄURE-DETERGENZIEN-FASER (ADF)

Hemizellulosen sind in neutraler Detergenzien-Lösung (bei pH = 7) vollkommen unlöslich, gehen jedoch sowohl bei saurem als auch basischem pH-Wert leicht in Lösung (VAN SOEST u. ROBERTSON 1977, VAN SOEST 1994). Durch Behandlung der Probe mit dem kationischen Detergenz Cetyl-Trimethyl-Ammonium-Bromid (CTAB) in 1 N Schwefelsäure (Säure-Detergenzien-Lösung, acid detergent solution = ADS, s. Übers. 1) wird Hemizellulose und ein Großteil des Proteins gelöst. CTAB ist eine quartäre Ammonium-Verbindung mit einer langkettigen Alkylgruppe (C<sub>12</sub>) und dient als Komplexbildner. Der Rückstand wird als Säure-Detergenzien-Faser (ADF) bezeichnet. Das im Rückstand noch befindliche Protein (ADIN) ist als für die Pansenmikroben nicht verfügbar anzusehen (KRISHNAMOORTHY et al. 1982). Der Gehalt an Hemizellulose kann durch die Differenz NDF minus ADF rechnerisch ermittelt werden.

Die ADF enthält also nicht mehr die gesamte Faser, sondern dient dazu, diese in Ligno-Zellulose und Hemizellulose aufzuteilen. Die säurelösliche Fraktion enthält vorwiegend Hemizellulose und Zellwandprotein, während der Rückstand Zellulose, Lignin und die am wenigsten verdaulichen Nicht-Kohlenhydrate enthält (VAN SOEST 1994). Bei der ADF-Präparation werden viele Substanzen entfernt, welche die Analyse der Zellwandkomponenten stören. Daher ist der ADF-Rückstand sehr nützlich für die sequenzielle Bestimmung von Lignin, Kutin, Zellulose, unverdaulichem Stickstoff sowie Silicium.

Häufig wurde ADF anstelle von Rohfaser analysiert und auch in Regressionsgleichungen zur Vorhersage der Verdaulichkeit herangezogen. Da jedoch die ADF nur einen Teil der Faser darstellt, sind die Beziehungen zwischen ADF und Verdaulichkeit nach VAN SOEST (1994) primär statistischer Natur und beruhen nicht auf den biologischen Zusammenhängen zwischen den Parametern. Die Verdaulichkeit und die Zusammensetzung der Faser wird vielmehr durch die Umweltbedingungen während des Pflanzenwachstums (Temperatur, Licht, Breitengrad, Wasser, Düngung, Boden) bestimmt (VAN SOEST et al. 1978, VAN SOEST 1994, 1996).

### 3.2.3 SÄURE-DETERGENZIEN-LIGNIN (ADL)

Die Lignifizierung der pflanzlichen Zellwand entscheidet über die Verdaulichkeit des Futters (JUNG u. DEETZ 1993). Daher ist dessen exakte Analyse eine grundsätzliche Voraussetzung zur verlässlichen Bestimmung des Futterwertes. GIGER (1985) unterscheidet prinzipiell drei Möglichkeiten, nach denen Lignin analysiert werden kann:

1. Direkte gravimetrische Methoden durch Lösung der Zellulose (ausgehend von der ursprünglichen Klason-Methode),
2. Indirekte gravimetrische Methoden aus der Differenz nach Entfernung des Lignins,
3. Messung der Absorption in den Lignin-Oxidationsprodukten.

Im Folgenden wird auf die gravimetrischen Methoden eingegangen.

Die Klason-Methode besteht im Prinzip aus einer Behandlung mit Lösungsmitteln und einer daran anschließenden Lösung mit 72 % Schwefelsäure (THEANDER u. WESTERLUND 1986, VAN SOEST 1994). Lignin ist der unlösliche Rückstand. Die Klason-Methode wurde ursprünglich für die Holzanalyse entwickelt. Bei der Anwendung dieser Methode in der Analyse von Grobfuttermitteln besteht das Problem, dass Protein bei diesem Verfahren nicht eliminiert wird und daher im Lignin-Wert enthalten ist. (Der N-Gehalt von Holz ist sehr gering und zu vernachlässigen). Klason-Lignin enthält des Weiteren mehrere Nicht-Lignin-Komponenten wie Phenolaldehyd-Polymere, Tannin und Tannin-Protein-Komplexe, Maillard-Polymere bei Hitzeschädigung sowie Kutin (VAN SOEST 1994). Klason-Lignin-Werte sind bei Gräsern üblicherweise 2 bis 4 mal höher als ADL-Werte und nur 30 % höher in Leguminosen (JUNG et al. 1997). Dies spricht für unterschiedliche Ligninstrukturen in verschiedenen botanischen Gruppen. HATFIELD et al. (1994) vertreten die Ansicht, dass das Klason-Lignin dem tatsächlichen Ligningehalt besser entspricht. Andere Autoren führen an, dass beim ADF-Schritt der ADL-Methode säurelösliche Komponenten des Lignins verloren gehen können (KONDO et al. 1987, LOWRY et al. 1994). JUNG et al. (1997) haben Klason-Lignin und ADL an einem bezüglich Species und Gehalt an Gerüstsubstanzen breit gestreuten Datenmaterial hinsichtlich deren Beziehung zur Verdaulichkeit der TM und NDF verglichen und festgestellt, dass beide Analysenmethoden annähernd gleichwertig in der Vorhersage der Verdaulichkeit sind, obwohl die Ligninwerte sich deutlich unterscheiden.

Die ADL-Methode besteht aus zwei Schritten. Bei der Präparation mit AD-Lösung (acid detergent, s. ADF) wird Protein durch CTAB und weitere Zellinhaltsstoffe sowie Hemizellulose durch Säure eliminiert. Der ADF-Rückstand wird mit 72 % Schwefelsäure drei Stunden behandelt und Zellulose dadurch gelöst. Der getrocknete, organische Rückstand (festgestellt durch Veraschung) wird als ADL<sub>sa</sub> (sulfuric acid) bezeichnet. Wird Lignin indirekt bestimmt und durch K-Permanganat gelöst (ADL<sub>pm</sub>, permanganate), ergibt sich der Ligningehalt aus der Differenz ADF-Rückstand minus dem Kohlenhydratrest (VAN SOEST u. WINE 1968). Phenole sind wesentlich leichter zu oxidieren als Kohlenhydrate (VAN SOEST 1994). Die indirekten Differenzmethoden laufen Gefahr, dass bei der Oxidation des Lignins auch Nichtlignin-Kohlenhydrate (besonders Reste von Hemizellulosen und Pektin) gelöst werden. Andererseits werden bei der direkten Methode gewisse Komponenten des Lignins gelöst. Dadurch sind ADL<sub>pm</sub>-Werte etwa 20 % höher als ADL<sub>sa</sub>-Werte (VAN SOEST u. WINE 1968).

Die Differenz ADF minus ADL gibt den Gehalt an Zellulose an.

### 3.3 BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ROHFASER UND DETERGENZIEN-FASER

In Abbildung 8 sind die Beziehungen zwischen Rohfaser (XF/Rfa) und NDF, ADF bzw. ADL für die drei wesentlichen Futtermittelgruppen Wiesenfutter, Silomais und Kraftfutter aus systematisch angelegten Versuchen dargestellt. Das Wiesenfutter entstammt einem Grünland-Nutzungsversuch mit drei Standorten, drei Nutzungshäufigkeiten und drei Düngungsniveaus im alpinen Grünlandgebiet der Steiermark in Österreich, deckt also einen sehr weiten Bereich an Gerüstsubstanzen ab (GRUBER et al. 2006a). Der Silomais kommt aus Versuchen zum Einfluss von Vegetationsstadium, Sorte, Standort und Konservierung auf den Futterwert von Silomais mit einer weiten Spannbreite an Qualität der Restpflanze und an Kolbenanteil (GRUBER et al. 2006b). Beim Kraftfutter handelt es sich um die in der praktischen Fütterung wichtigsten Energie- und Proteinträger (Getreide, Nebenprodukte der Müllerei, Stärke- und Zuckerherstellung sowie der Gärungsindustrie, Wurzeln und Knollen, Leguminosen-Samen und Ölsaaten, Extraktionsschrote und Ölkuchen bzw. Expeller). Dadurch ergibt sich ebenfalls ein weiter Bereich an Gerüstsubstanzen und deren Zusammensetzung (GRUBER et al. 2005). Dieses Datenmaterial deckt einen Bereich an Rohfaser von 2 bis 37 % ab, an NDF von 6 bis 74 %, an ADF von 3 bis 47 % und an ADL von 1 bis 15 % der TM.

Die Beziehung Rohfaser vs. NDF zeigt, dass alle Futtermittelgruppen mehr oder weniger auf einer Linie liegen, mit ähnlichen Intercepts und Regressionskoeffizienten für die Kategorien Wiesenfutter, Silomais und Kraftfutter. Es darf allerdings nicht übersehen werden, dass die beiden Grobfutterkategorien Wiesenfutter und Silomais aus einer genau definierten Herkunft stammen und die botanische Zusammensetzung damit sehr ähnlich ist. Zahlreiche Untersuchungen von VAN SOEST (1964, 1994) haben gezeigt, dass das Verhältnis Rohfaser zu Gerüstsubstanzen stark von der botanischen Species abhängt. Gräser beinhalten bei vergleichbarem Gehalt an Zellulose wesentlich mehr Hemizellulose und damit auch NDF. Daraus ergibt sich bei Gräsern ein deutlich anderes Verhältnis von Rohfaser zu NDF als bei Leguminosen. Daher ist gerade bei vielfältig zusammengesetzten Wiesen aus dem Dauergrünland eine „Umrechnung“ von Rohfaser auf NDF *nicht* zulässig. Dazu kommt noch ein bei ähnlicher Verdaulichkeit höherer Grad an Lignifizierung in Leguminosen. Es ist noch hervorzuheben, dass die Beziehung Rohfaser vs. NDF bei den Kraftfuttermitteln wesentlich schwächer ist. Dies ist darauf zurückzuführen, dass diese Gruppe botanisch sehr heterogen zusammengesetzt ist und die Schalen je nach botanischer Herkunft und technologischer Verarbeitung (z. B. Ausmahlungsgrad) sehr unterschiedlich aufgebaut sind.

Ähnlich ist auch die Beziehung Rohfaser vs. ADF zu sehen. Besonders Wiesenfutter und Silomais liegen nahezu auf einer Linie. Und bei Kraftfutter ist  $R^2$  höher als bei der Beziehung Rohfaser vs. NDF. Dies deutet darauf hin, dass sich die Zusammensetzung der Gerüstsubstanzen in Kraftfuttermitteln vor allem im Gehalt an Hemizellulose unterscheidet.

Auch in der Beziehung Rohfaser vs. ADL heben sich die Grobfuttermittel Wiesenfutter und Silomais vom Kraftfutter ab. Beim Grobfutter ist die Korrelation wesentlich höher, während bei Kraftfutter vor allem im Bereich hoher Rohfaser-Gehalte, d. h. bei Nebenprodukten, sich relativ zum Rohfaser-Gehalt hohe ADL-Werte zeigen. Daraus ist zu schließen, dass durch die Verarbeitung die Zusammensetzung der Gerüstsubstanzen selektiv verändert wird.

Die Gründe für die uneinheitlichen und unterschiedlichen Beziehungen zwischen Rohfaser und den Gerüstsubstanzen liegen im unterschiedlichen Ausmaß, mit dem Zellulose, Hemizellulose und Lignin in den botanischen Artengruppen Gräser, Leguminosen sowie Korbblütler und Doldenblütler bei der Bestimmung der Rohfaser (d. h. durch Säure und Lauge) gelöst werden (s. Tab. 1). Daher führt VAN SOEST (1976) an, dass „innerhalb einer

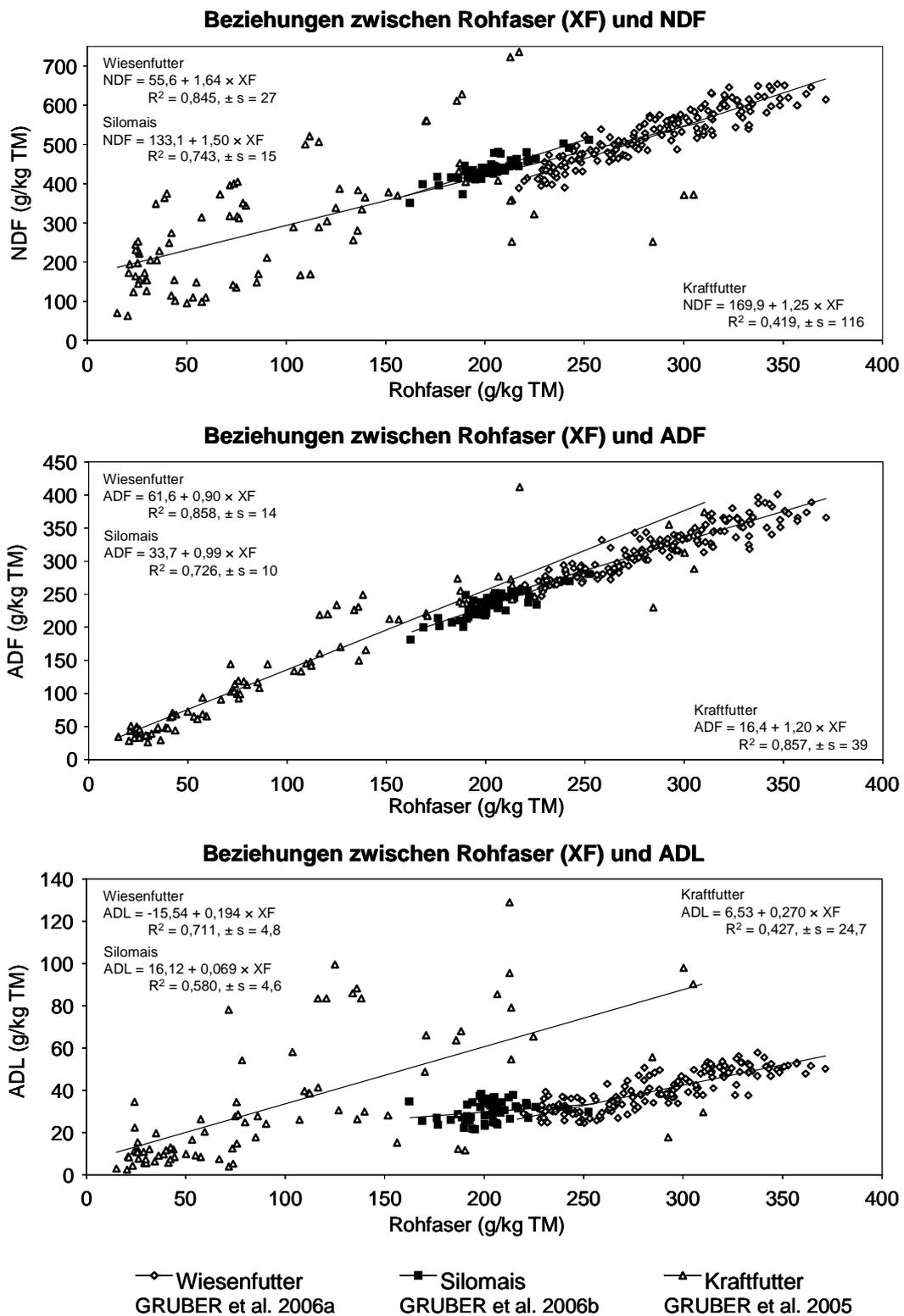


Abbildung 8: Beziehungen zwischen Rohfaser (XF) und NDF, ADF sowie ADL (nach GRUBER 2005, 2006a, 2006b)

Figure 8: Relationship between crude fibre (XF) and NDF, ADF as well as ADL (based on GRUBER 2005, 2006a, 2006b)

botanischen Art gewisse Beziehungen zwischen Rohfaser und der tatsächlichen Faserkonzentration bestehen. Dies führe aber zu Chaos, wenn agronomische Grenzen überschritten werden“.

#### **4 BEDEUTUNG DER GERÜSTSUBSTANZEN IN DER ERNÄHRUNG VON WIEDERKÄUERN**

Nachfolgend werden einige wesentliche Aspekte der Wiederkäuer-Ernährung behandelt, die ohne Kenntnis des Gehaltes an tatsächlicher Faser kaum zu verstehen bzw. zu vermitteln sind. Es geht hierbei um die Charakterisierung der Nährstoffe in Form von Kohlenhydrat- und Protein-Fractionen im Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS), die Quantifizierung der mikrobiellen Proteinsynthese im Pansen (Rumen Submodel des CNCPS) und die Versorgung der Milchkühe mit Faser.

##### **4.1 ANWENDUNG DER DETERGENZIEN-ANALYSE IM CORNELL NET CARBOHYDRATE AND PROTEIN SYSTEM (CNCPS)**

Das Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) wurde in den 1990er Jahren von D.G. FOX und Mitarbeitern an der Cornell University (USA) entwickelt und berücksichtigt drei verschiedene Sachverhalte (Pansenphysiologie/Futtermittelkunde/Bedarfsformulierung), nämlich:

1. Ruminale Fermentation (RUSSELL et al. 1992),
2. Verfügbarkeit der Kohlenhydrate und des Proteins (SNIFFEN et al. 1992),
3. Bedarf der Tiere und Rationsbewertung (FOX et al. 1992).

Das CNCPS wurde laufend weiter entwickelt, bisherige Modifikationen sind von FOX et al. (2004) und TYLUTKI et al. (2008) beschrieben. Das CNCPS ist ein mathematisches Modell, das einerseits den Bedarf der Tiere beschreibt und andererseits deren Nährstoffversorgung, und zwar unter Berücksichtigung des Leistungsniveaus und des physiologischen Status sowie der Zusammensetzung des Futters bzw. der Nährstoff-Fractionen. Das CNCPS verwendet Abbau- und Passage-Raten für Kohlenhydrate und Protein, um die Fermentation im Pansen, die mikrobielle Synthese sowie die post-ruminale Absorption zu beschreiben. Daraus wird die Gesamtversorgung an umsetzbarer Energie und umsetzbarem Protein kalkuliert (FOX et al. 2004).

##### **4.1.1 FRAKTIONEN DER KOHLENHYDRATE UND DES PROTEINS**

Das CNCPS geht davon aus, dass die Futtermittel aus Kohlenhydraten, Protein, Fett, Asche und Wasser bestehen. Kohlenhydrate und Protein werden dabei in 4 bzw. 5 Fraktionen unterteilt. Diese Unterteilung erfolgt auf der Grundlage unterschiedlicher Abbauraten einzelner Fraktionen im Pansen. Mit “A“ gekennzeichnete Fraktionen werden im Pansen vollständig und sofort abgebaut. Die Fraktionen “B“ werden im Pansen von den Mikroben mit unterschiedlicher Geschwindigkeit abgebaut, während die Fraktion “C“ im Pansen nicht abbaubar ist. Der tatsächliche, effektive Abbau der Fraktion “B“ hängt entscheidend von der Passagerate dieser Fraktion ab (SNIFFEN et al. 1992). Folgende Fraktionen werden unterschieden:

Die **Kohlenhydrate** (CHO) werden in Faser- (FC) und Nichtfaser-Kohlenhydrate (NFC) unterschieden. Die Faser-Kohlenhydrate werden mit der Detergenzien-Methode nach VAN SOEST analysiert und bestehen aus Zellulose, Hemizellulose und Lignin (s. Kap. 3.2).

Die Faser-Kohlenhydrate (FC) werden in nicht-abbaubare (C) und abbaubare Faser (B<sub>2</sub>) unterteilt. Die Nichtfaser-Kohlenhydrate (NFC) werden als Differenz errechnet und bestehen aus Zucker (A) sowie der Fraktion B<sub>1</sub> (Stärke/XS und Pektin).

Die Kohlenhydrate werden wie folgt ermittelt (SNIFFEN et al. 1992):

$$\begin{aligned} \text{CHO} &= \text{TM} - (\text{XP} + \text{XL} + \text{XA}) \\ &\quad \text{C} = \text{ADL} \times 2,4 \\ &\quad \text{B}_2 = \text{NDF} - (\text{NDIP} + \text{C}) \\ \text{FC} &= \text{C} + \text{B}_2 \\ \text{NFC} &= \text{CHO} - \text{FC} \\ &\quad \text{B}_1 = \text{XS} + \text{Pektin} \\ &\quad \text{A} = \text{NFC} - \text{B}_1 \end{aligned}$$

Zuerst werden die Kohlenhydrate rechnerisch durch die Subtraktion Trockenmasse (TM ; hier 1000) minus Rohprotein (XP), Rohfett (XL) und Rohasche (XA) errechnet. Die nicht-abbaubare Fraktion C wird aus  $\text{ADL} \times 2,4$  ermittelt. Die verfügbare Fraktion der FC (B<sub>2</sub>, langsame Abbaurate) ergibt sich aus der Differenz FC minus Fraktion C, wobei zusätzlich das an NDF assoziierte Zellwandprotein (NDIP = neutral detergent insoluble protein) abzuziehen ist.

Die NFC errechnen sich aus der Differenz CHO minus FC. Die Fraktionen B<sub>1</sub> (Stärke und Pektin) und A (Zucker und weitere lösliche CHO) werden üblicher Weise nicht analysiert, sondern Tabellen bzw. Literaturdaten entnommen. Die Fraktion A kann ebenfalls als Differenz (NFC minus B<sub>1</sub>) errechnet werden. Mit der Analytik sowie der Bedeutung von Zucker und Speicherkohlenhydraten in der Ernährung der Nutztiere befasst sich die Übersicht von SÜDEKUM (2009).

Die Fraktionierung der Kohlenhydrate wurde inzwischen verfeinert. LANZAS et al. (2007) unterscheiden dabei 8 *Fraktionen*:

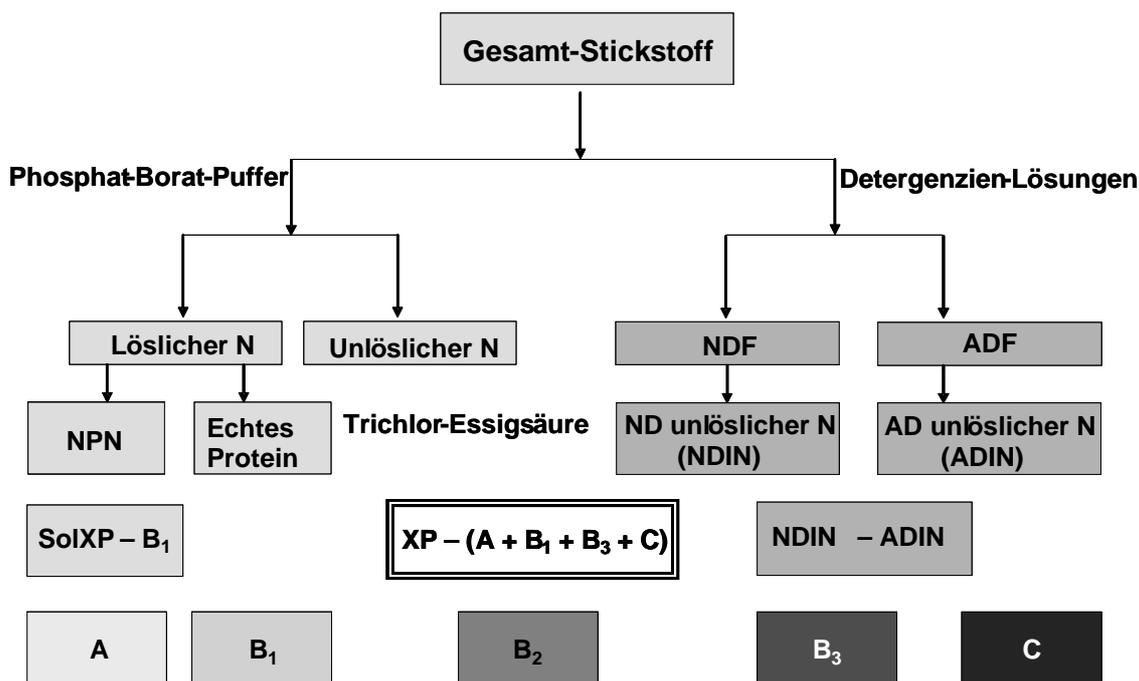
$$\begin{aligned} 4 \text{ A-Fraktionen:} &\quad \text{A}_1 = \text{flüchtige Fettsäuren, A}_2 = \text{Milchsäure,} \\ &\quad \text{A}_3 = \text{weitere organische Säuren, A}_4 = \text{Zucker} \\ 3 \text{ B-Fraktionen:} &\quad \text{B}_1 = \text{Stärke, B}_2 = \text{lösliche Faser, B}_3 = \text{abbaubare NDF} \\ 1 \text{ C-Fraktion:} &\quad \text{nicht-abbaubare NDF} \end{aligned}$$

Die erweiterte CHO-Fraktionierung ermöglicht die Berücksichtigung der Silagequalität und der tatsächlichen Zusammensetzung der NFC-Fraktion. Die NFC selbst bestehen aus mehreren Fraktionen, die sich im Ausmaß und der Rate ihrer Fermentation unterscheiden, des Weiteren in ihren Fermentationsprodukten sowie in ihrem Beitrag zur mikrobiellen Proteinsynthese und damit letztlich zur Leistung der Tiere (NOCEK u. TAMMINGA 1991, HALL u. HEREJK 2001). Die Berücksichtigung dieser Fraktionen erlaubt eine genauere Einschätzung der flüchtigen Fettsäuren und des pH-Wertes im Panseninhalt, der Versorgung mit umsetzbarer Energie und umsetzbarem Protein sowie der Futteraufnahme.

Das **Rohprotein** wird in 5 Fraktionen unterteilt, die unterschiedlichen Proteinabbauraten entsprechen (SNIFFEN et al. 1992). Zuerst wird das lösliche Protein (SolXP) mit einem Phosphat-Borat-Puffer ermittelt. Das darin enthaltene *echte* („fällbare“) Protein ( $B_1$ ) wird durch Trichlor-Essigsäure präzipitiert. Der Rest ist NPN (Fraktion A). Das in der ADF-Matrix enthaltene Protein (ADIP = acid detergent insoluble protein) wird als nichtverfügbares Protein betrachtet (Fraktion C). NDIP (= neutral detergent insoluble protein) minus ADIP stellt das langsam abbaubare Protein dar. Die Fraktion  $B_2$  (mittlere Proteinabbauraten) wird als Differenz zum Rohprotein ermittelt. Die Analyse dieser Protein-Fraktionen ist bei KRISHNAMOORTHY et al. (1982) sowie LICITRA et al. (1996) beschrieben (s. Abb. 9):

$$\begin{aligned} \text{Rohprotein (XP)} &= \text{Kjehldal-N} \times 6,25 \\ \text{SolXP} &= \text{A} + \text{B}_1 \\ \text{A} &= \text{SolXP} - \text{B}_1 && [\text{NPN}] \\ \text{B}_1 &= \text{SolXP} - \text{A} && [\text{Albumin, Globulin}] \\ \text{C} &= \text{ADIP} \\ \text{B}_3 &= \text{NDIP} - \text{ADIP} && [\text{Extensin, Prolamin}] \\ \text{B}_2 &= \text{XP} - (\text{A} + \text{B}_1 + \text{B}_3 + \text{C}) && [\text{Glutelin}] \end{aligned}$$

Aus den NPN-Verbindungen (Ammoniak, Aminosäuren, Peptide) entsteht im Pansen entsprechend rasch Ammoniak. Besonders in Silagen liegt SolXP mehr oder weniger vollständig als NPN vor, d. h. in der Fraktion A.



Gruber (2001)

Abbildung 9: Schema der Rohprotein-Fraktionierung nach dem Cornell Net Carbohydrate und Protein System (nach KRISHNAMOORTHY et al. 1982, LICITRA et al. 1996)

Figure 9: Scheme of crude protein fractionation according to the Cornell Net Carbohydrate and Protein System (based on KRISHNAMOORTHY et al. 1982, LICITRA et al. 1996)

Die Fraktion B wird entsprechend ihrer Abbaurrate dreifach unterteilt ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3 \triangleq$  hohe, mittlere, niedrige Abbaurrate). Konserviertes Grobfutter (Silage, Heu) enthält eher geringere Anteile des Proteins in Form von  $B_1$ , frische Grünfütter und Krafftütter dagegen mehr. Die Fraktion  $B_1$  wird im Pansen vollständig abgebaut.

Das nicht-abbaubare, gebundene Protein (Fraktion C) ist in Saure Detergenz-Lösung (AD-Lösung) nicht löslich (ADIP  $\triangleq$  acid detergent insoluble protein). Die Fraktion C enthält Lignin assoziiertes Protein, Tannin-Protein-Komplexe und Maillard-Produkte. Diese ist weder durch mikrobielle noch durch Wirbeltier-Enzyme zu spalten, ist also im Pansen nicht-abbaubar und liefert auch im unteren Verdauungstrakt keine Aminosäuren.

Die Fraktion  $B_3$  ist löslich in AD-Lösung, jedoch nicht in Neutraler Detergenz-Lösung (ND-Lösung; NDIP  $\triangleq$  neutral detergent insoluble protein). Sie ergibt sich aus der Differenz NDIP minus ADIP. Die Fraktion  $B_3$  wird im Pansen langsam abgebaut, da dieses Protein an die Zellwand gebunden ist (vor allem Extensin). Daher entgeht ein großer Teil der Fraktion  $B_3$  der Fermentation und gelangt in den nachgeschalteten Verdauungstrakt.

Die Protein-Fraktion  $B_2$  wird rechnerisch ermittelt, und zwar aus der Differenz des gesamten Proteins minus dem löslichen Protein sowie dem in der NDF enthaltenen Protein ( $B_2 = XP - [A + B_1 + B_3 + C]$ ). Ein Teil von  $B_2$  wird im Pansen fermentiert, ein Teil entgeht der Fermentation und gelangt in tiefere Abschnitte des Verdauungstraktes. Dies hängt vom Verhältnis der Abbaurrate zur Passagerate ab (SNIFFEN et al. 1992).

Der effektive Abbau der einzelnen Kohlenhydrat- und Protein-Fraktionen im Pansen wird im CNCPS nach dem Modell von WALDO et al. (1972) kalkuliert. Dieses Modell besagt, dass die Nährstoffe den Pansen entweder durch Fermentation oder durch Passage verlassen (RUSSELL et al. 1992, SNIFFEN et al. 1992). Der effektive Abbau (deg, degradability) errechnet sich aus den relativen Raten der Fermentation ( $k_f$ ) und der Passage ( $k_p$ ) entsprechend der Formel:

$$\text{deg} = k_f / (k_f + k_p)$$

Wenn also  $k_f$  und  $k_p$  gleich groß sind, ergibt sich eine effektive Abbaubarkeit von 50 %, unabhängig von der Höhe der Raten (z. B.  $0,07 / [0,07 + 0,07] = 0,50$ ). Wenn  $k_f$  groß ist (in den Fraktionen A und  $B_1$ ), wird ein hoher Anteil dieses Nährstoffs abgebaut, weil die Passage  $k_p$  nicht stark ins Gewicht fällt (z. B.  $0,15 / [0,15 + 0,07] = 0,68$ ). Umgekehrt entgeht bei niedriger Abbaurrate  $k_f$  (Fraktion  $B_2$ ) ein großer Teil der Fermentation, da die Passage  $k_p$  relativ stärker wirkt als die Fermentation (z. B.  $0,03 / [0,03 + 0,07] = 0,30$ ).

Die Passagerate hängt ab von der Partikelgröße, Dichte und Hydratation. Die Passagerate wird für Grobfütter, Krafftütter und Flüssigkeit getrennt mit Formeln errechnet, wobei die Futterraufnahme und der Grobfütteranteil eine große Rolle spielen. Mit steigender Futterraufnahme erhöht sich die Passagerate und sinkt folglich die effektive Abbaubarkeit. Dadurch wird die mit steigendem Futterniveau einhergehende Verminderung der Energiekonzentration gezielt berücksichtigt (GfE 2001, NRC 2001).

#### 4.1.2 RUMINALE FERMENTATION

Das CNCPS verfügt über ein kinetisches Submodell, das die Fermentations-Endprodukte (ME aus den flüchtigen Fettsäuren, Mikrobenprotein und  $\text{NH}_3$ ) und die unabgebauten Nährstoffe (Kohlenhydrate, Protein) quantitativ ermittelt (RUSSELL et al. 1992).

Es teilt das mikrobielle Ökosystem das Pansens in zwei Gruppen: (1) Mikroben, die FC (Zellulose, Hemizellulose) fermentieren und (2) Mikroben, die NFC (Stärke, Pektin, Zucker) bevorzugt fermentieren. Diese beiden Gruppen unterscheiden sich also einerseits in den Nährstoffen, die sie abbauen / Substraten, die sie nutzen (FC, NFC), andererseits auch in der N-Verwertung und der Wachstums-Effizienz. Die FC-Bakterien verwenden ausschließlich NH<sub>3</sub> als N-Quelle und fermentieren keine Peptide oder Aminosäuren. Dagegen verwerten NFC-Bakterien neben NH<sub>3</sub> auch Peptide und Aminosäuren. Die FC-Bakterien wachsen langsam und haben einen geringeren Substratbedarf für ihre Erhaltung (0,05 g CHO pro g Bakterien pro Stunde). Die NFC-Bakterien wachsen rascher und haben einen höheren Erhaltungsbedarf (0,15 g CHO pro g Bakterien pro Stunde).

Wenn ausreichend Stickstoff in geeigneter Form vorhanden ist, ist die Wachstumsrate beider Bakterien-Gruppen proportional der Abbaurate der Kohlenhydrate. Daraus erklären sich auch ihre unterschiedlichen Wachstumsraten. Die NFC werden wesentlich rascher fermentiert als die FC (VAN SOEST et al. 1991, SNIFFEN et al. 1992). Die Wachstums-Effizienz der FC-Bakterien ist höher gegenüber den NFC Bakterien, da ihr Erhaltungsbedarf geringer ist (VAN SOEST et al. 1991). Bei sehr geringen Wachstumsraten ist der Erhaltungsanteil relativ hoch, sodass eine geringere Nährstoffeffizienz und damit geringere Mikrobenmasse zu erwarten ist. In solchen Fällen wird ein großer Teil der Energie für Nichtwachstums-Funktionen aufgewendet, wie von Tieren bekannt ist (s. Abb. 10).

Der mikrobielle Ertrag bzw. die Synthese mikrobieller Masse ist nach Untersuchungen von ISAACSON et al. (1975) maximal 50 %, d. h. 0,5 g Mikrobenmasse pro g fermentierter CHO. Da Protozoen im CNCPS Modell nicht berücksichtigt werden, wird der maximale Mikrobenenertrag um 20 % auf 0,4 g pro g fermentierter CHO verringert (RUSSELL et al. 1992). Die mikrobielle Syntheseleistung ist geringer, wenn ungünstige pH-Verhältnisse vorliegen (pH-Wert < 6,3). Dies wird über den NDF-Gehalt aus Grobfutter geschätzt. Bei NDF-Gehalten aus Grobfutter < 20 % wird der Mikrobenenertrag pro NDF-Prozent < 20 % um 2,5 % reduziert. Dagegen verbessert sich die mikrobielle Leistung der NFC-Bakterien um bis zu 18,7 %, wenn Stickstoff in Form von Peptiden oder Aminosäuren vorliegt (bis zu einem Aminosäuregehalt von 14 % der organischen Masse).

Die mikrobielle Leistung wird im CNCPS nach dem doppelt reziproken Modell von PIRT (1965) errechnet (RUSSELL et al. 1992, FOX et al. 2004):

$$1 / \text{Effizienz} = (\text{Erhaltung}/\text{Wachstumsrate}) + (1/\text{theoretisch maximale Leistung})$$

$$\text{Effizienz} = 1 / [(\text{Erhaltung}/\text{Wachstumsrate}) + (1/\text{theoretisch maximale Leistung})]$$

Effizienz	= Wachstums-Effizienz (g Bakterienzellen pro g fermentierter CHO)
Erhaltung	= Erhaltungsbedarf der Bakterien
	FC = 0,05 g fermentierte CHO pro g Bakterien pro Stunde
	NFC = 0,15 g fermentierte CHO pro g Bakterien pro Stunde
theoretisch maximale Leistung der Bakterien	= 0,40
	0,50 × 0,8 = 0,40 g Bakterienzellen pro g fermentierter CHO

(nach ISAACSON et al. 1975 bzw. RUSSELL et al. 1992)

Dieses Modell berücksichtigt die Tatsache, dass auch Bakterien einen Teil ihrer Energie für Nichtwachstums-Funktionen aufwenden müssen. Dieser Aufwand entspricht dem Erhaltungsbedarf von tierischen Zellen und dient dem Erhalt der Zellintegrität (RUSSELL u. COOK 1995). Der Erhaltungsanteil ist umso höher und die Wachstums-Effizienz umso niedriger, je geringer die Wachstumsraten (d. h. Abbauraten der CHO) sind. Auf Grund des niedrigeren

Erhaltungsbedarfs der FC-Bakterien weisen diese immer einer höhere Wachstums-Effizienz auf. Dies gilt ganz besonders im Bereich niedriger Abbauraten der CHO. Bei einer Fermentationsrate von 5 % erreichen FC-Bakterien 71 % und NFC-Bakterien nur 45 % ihrer theoretisch maximalen Leistung von 0,40 g pro g CHO, bei einer Fermentationsrate von 20 % dagegen 91 bzw. 77 %. Allerdings unterscheiden sich FC und NFC grundsätzlich in ihren Abbauraten (VAN SOEST et al. 1991; s. Abb. 10).

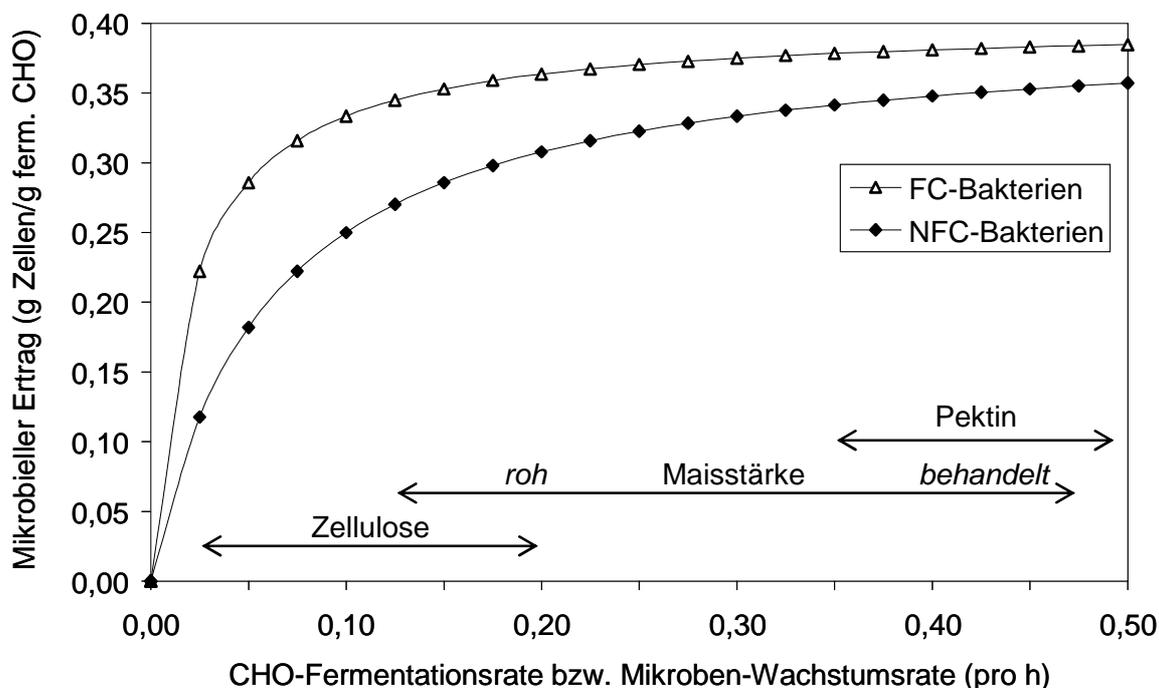


Abbildung 10: Einfluss der Kohlenhydrat-Fermentationsrate bzw. Wachstumsrate auf den Ertrag an Mikroorganismen-Masse im CNCPS (nach RUSSELL et al. 1992)

Figure 10: Effect of carbohydrate fermentation rate / growth rate on microbial yield in the CNCPS (based on RUSSELL et al. 1992)

Gegenüber anderen Modellen zeichnet sich das CNCPS dadurch aus, dass die mikrobielle Leistung von der tatsächlich im Pansen fermentierten Masse an Kohlenhydraten abhängt und *nicht* von der Gesamtverdaulichkeit oder Energieaufnahme (ME), welche die Versorgung des Wirtstieres und nicht der Mikroben beschreiben. Des weiteren wird die mikrobielle Wachstums-Effizienz nicht als konstant angenommen, sondern wird mit der Wachstumsrate (d. h. Abbaurate der CHO) und mit dem Erhaltungsbedarf der Mikroben verknüpft. Schließlich ist die Unterscheidung in FC- und NFC-Bakterien sehr bedeutsam, da sich diese nicht nur in ihren Substraten unterscheiden, sondern auch in ihrem Erhaltungsbedarf, ihrer Wachstumsrate und ihren N- bzw. Protein-Ansprüchen. Über die mikrobielle Syntheseleistung sowie die Abbauraten der Kohlenhydrate und des Proteins wird die N-Bilanz des Pansens kalkuliert. Schließlich sind diese Abbauraten des Futters nicht fix, sondern verändern sich in Abhängigkeit von der Futterraufnahme und Ingesta-Passage. Damit ist das CNCPS ein dynamisches Modell, dass den tatsächlichen Verdauungsabläufen weitestgehend entspricht (RUSSELL et al. 1992).

## 4.2 FASER-VERSORGUNG UND -BEDARF VON MILCHKÜHEN

Zu den verdienstvollen Arbeiten um eine bessere Charakterisierung der „strukturwirksamen“ Faser zählen die umfangreichen Untersuchungen von PIATKOWSKI et al. (1990), in denen die Dauer und Intensität des Wiederkauens als wesentliche Parameter und Kriterien dienten. In weiteren Arbeiten (HOFFMANN 1990) wurden dann den verschiedenen Futtermitteln Faktoren zugeordnet, die ihre Strukturwirksamkeit vergleichend bewerteten (z. B. Stroh = 1; gehäckseltes Weidegrünfutter = 0,5; Trockenschnitzel = 0).

Die NDF wird heute als der geeignetste Parameter zur Charakterisierung von Faserstoffen angesehen, da die NDF die wichtigsten Zellwandbestandteile (Zellulose, Hemizellulose und Lignin) enthält und somit die Unterteilung der Kohlenhydrate in Struktur- und Nichtstruktur-Kohlenhydrate (FC/NFC) ermöglicht (NRC 2001).

Die große Herausforderung in der Fütterung hoch leistender Milchkühe ist, sowohl den Energiebedarf zu decken als auch den Pansen ausreichend mit Faserstoffen zu versorgen, um eine normale, stabile Pansenfunktion zu ermöglichen. Darunter ist die Wiederkautätigkeit zu verstehen, welche die Bildung von Speichel bewirkt und somit über dessen Puffersubstanzen den pH-Wert im Panseninhalt steuert. Aufgrund der begrenzten Futteraufnahmekapazität sind Rationen für Hochleistungskühe reich an hochverdaulichen Nichtfaser-Kohlenhydraten (NFC), deren Fermentation im Pansen zu großen Mengen an Propionsäure mit starker Säurewirkung führt. Dagegen verläuft die Fermentation der NDF langsamer und auch in geringerem Ausmaß (NRC 2001). Der Gehalt an Faser und die Energiekonzentration sind *negativ* korreliert. Außerdem kommt der Faser eine wichtige Funktion bei der Schichtung des Panseninhaltes zu (Matte von gröberen Partikeln, die auf der Flüssigkeit mit kleinen Partikeln schwimmt, MERTENS 1997).

Ein Mindestgehalt an Faser von geeigneter Qualität und physikalischer Form ist insbesondere erforderlich für eine:

- maximale Futter- und Energieaufnahme,
- normale Pansenfermentation,
- günstige Milchfettsynthese und
- Prophylaxe von Gesundheitsstörungen nach der Abkalbung (= Hochlaktation).

Der Bedarf an Faser wird beeinflusst vom Leistungsniveau, der Beschaffenheit der Faser, deren Partikelgröße und Größenverteilung, der Höhe der Futteraufnahme, dem spezifischen Gewicht, der Pufferkapazität des Futters und der Fütterungsfrequenz. Wird ein kritischer Wert an strukturwirksamer Faser unterschritten, vermindert sich die Kauzeit und in der Folge die Speichelsekretion. Dadurch sinkt der pH-Wert und das Acetat/Propionat-Verhältnis, was zu einem Abfall des Milchfettgehaltes führt (NRC 1989).

Der Mindestgehalt an NDF in der Ration leitet sich hauptsächlich von der Gesundheit des Pansens und der Kuh ab. Kurzfristig äußert sich ein zu niedriger Fasergehalt in subakuter Azidose (KLEEN et al. 2003, KRAUSE u. OETZEL 2006) oder akuter Azidose (SLYTER 1976, OWENS et al. 1998). Langfristig führt eine unzureichende Faserversorgung evtl. auch zu Klauenproblemen (NOCEK 1997, STONE 2004) und zu Labmagenverlagerungen (SHAVER 1997). Der Gehalt an NDF und der pH-Wert des Panseninhaltes sind negativ korreliert, da die NDF (aus Grobfutter) einerseits strukturwirksam ist und die Speichelsekretion fördert. Andererseits wird die NDF langsamer und weniger fermentiert als die NFC (NRC 2001). Für typische Hochleistungsrationen in den USA (Fütterung als TMR, ausreichende Partikelgröße des Grobfutters, getrockneter Maisschrot als Kraftfutter) gibt das

NRC (2001) einen Mindestgehalt der NDF von 25 % in der TM und einen Höchstgehalt an NFC von 44 % in der TM an, unter der Voraussetzung, dass von den 25 % der NDF 19 Prozentpunkte aus dem Grobfutter kommen.

NDF:	≥ 25 % in der TM
	↳ dabei 19 Prozentpunkte aus dem Grobfutter
NFC:	≤ 44 % in der TM

Wird dieser Wert an Grobfutter-NDF unterschritten, so erhöht sich der Mindestgehalt an NDF (in der TM) pro Prozentpunkt um 2 % und vermindert sich der Höchstgehalt an NFC um ebenfalls 2 % (s. Tab. 2). Diese Grenzwerte an NDF sind das absolute Minimum, jedoch nicht das Optimum für die Milchkuh. Ein höherer Bedarf an NDF ist besonders in Situationen gegeben, wenn Kraftfutter mit geringerer Stärkebeständigkeit gefüttert wird, das Grobfutter eine geringe Partikelgröße / Faserlänge aufweist, von Grobfutter weniger als 19 Prozentpunkte NDF kommen und die Ration nicht als TMR, sondern die verschiedenen Einzelfuttermittel getrennt verabreicht werden (s. Tab. 2).

Tabelle 2: Empfehlungen zum Mindestgehalt an NDF (% der TM) und zum Höchstgehalt an NFC<sup>1)</sup> (% der TM) in Abhängigkeit vom NDF-Beitrag des Grobfutters (NRC 2001)

Table 2: Recommended minimum concentrations of total NDF (% of DM) and maximum concentrations of NFC<sup>1)</sup> (% of DM) depending on NDF from forage (NRC 2001)

NDF aus Grobfutter (% der TM)	min. NDF-Gehalt (% der TM)	max. NFC-Gehalt (% der TM)
19	25	44
18	27	42
17	29	40
16	31	38
15	33	36

<sup>1)</sup>NFC = 100 – NDF – XP – XL – XA

Um die Auswirkungen einer unterschiedlichen Faserversorgung der Milchkuh zu beschreiben, wurden verschiedene Parameter herangezogen, und zwar die Kauaktivität, der Milchfettgehalt und der pH-Wert im Panseninhalt. Umfangreiche Untersuchungen zum Einfluss der Futtermittel auf die Kauaktivität wurden von BALCH (1971), SUDWEEKS et al. (1981) und NØRGAARD (1986) sowie NØRGAARD et al. (2008) unternommen. Aus einer Literaturauswertung hat MERTENS (1997) eine Kauaktivität von etwa 200 bis 230 min pro kg NDF aus langem Grobfutter ermittelt, wobei sich diese Kauaktivität mit steigender Futteraufnahme vermindert (158 min bei 17,6 kg TM). Das von DE BRABANDER et al. (1999, 2002) entwickelte System zur Bewertung der physikalischen Struktur in der Milchviehfütterung beruht auf der Reaktion des Milchfettgehaltes auf eine unzureichende Strukturversorgung, die mit Rohfaser bzw. NDF charakterisiert wird. Der pH-Wert im Panseninhalt bzw. seine postprandialen / diurnalen Variationen spiegeln sehr zutreffend die Faserversorgung wider (ALLEN 1997).

Die von DE BRABANDER et al. (1999, 2000) entwickelte nähere Charakterisierung und Bewertung der Faserversorgung wurde u. a. von MEYER et al. (2002) auf ihre Eignung in der

Fütterung von Hochleistungskühen (Grassilage als Grundfutter) geprüft. Dabei ergab sich für Rationen mit Grassilage als alleinigem Grundfutter allgemein eine Überschätzung der „Strukturwirksamkeit“, wenn die Wiederkauzeit, pH-Wert-Schwankungen im Panseninhalt und die Reaktion des Milchfettgehalts als Bewertungskriterien herangezogen wurden.

Allerdings ist der chemisch festgestellte Gehalt an NDF nicht ausreichend, die Strukturwirksamkeit zu beschreiben, d. h. deren Einfluss auf die Kauaktivität, Speichelsekretion und somit den pH-Wert im Panseninhalt. Darüber entscheiden zusätzlich *physikalische Eigenschaften* wie Partikelgröße und Dichte in hohem Ausmaß. Für diese Charakteristika hat MERTENS (1997) den Begriff „physikalische Effizienz“ (**peNDF**, **p**hysically **e**ffective NDF) geprägt. Diese Eigenschaften bestimmen in hohem Maße die Tiergesundheit, ruminale Fermentation, den intermediären Stoffwechsel und die Produktion an Milchfett. Auf der Basis von umfangreichen Literaturdaten hat MERTENS (1997) Werte für die physikalische Effizienz (pef, physical effectiveness factor) ermittelt, wobei die Kauaktivität von langem Gräserheu als Standard mit dem Faktor 1 dient. Je nach Grobfutterklasse (Heu, Silagen) bzw. botanischer Herkunft (Gräser, Leguminosen, Silomais) und physikalischer Form (Zerkleinerungsgrad wie lang, gehäckselt, gemahlen etc., d. h. Häcksellänge) erhalten die Kategorien pef-Werte relativ zu 1, d. h. Werte zwischen 1 und 0. Der Gehalt an peNDF errechnet sich aus pe-Faktor mal NDF-Gehalt. Der physikalisch effektive Anteil der NDF wird sehr häufig mit dem Penn State Particle Separator (PSPS, sog. „Schüttelbox“) ermittelt (LAMMERS et al. 1996, KONONOFF et al. 2003, YANG u. BEAUCHEMIN 2006). Die von KONONOFF et al. (2003) entwickelte Form der Schüttelbox besteht aus drei Sieben mit einer Öffnungsweite von 19,0, 8,0 und 1,8 mm.

Der Bedarf an Faser wird häufig von der Aufrechterhaltung eines bestimmten Milchfettgehaltes abgeleitet (MERTENS 1997, DE BRABANDER et al. 1999, 2002). Dafür sprechen Gründe wie wirtschaftliche Bedeutung, einfache Messung und der physiologisch begründete Zusammenhang zum Wohlbefinden und zur Leistung. Allerdings kann die Gesundheit durch zu niedrigen Fasergehalt auch bei noch normalen Milchfettgehalten beeinträchtigt sein, sodass der pH-Wert im Pansenchymus als der physiologisch aussagekräftigere Parameter anzusehen ist (MERTENS 1997). SUDWEEKS et al. (1981) und NØRGAARD (1986) haben ermittelt, dass bei einer Kauaktivität von 30 min pro kg TM der Gesamtration ein normale Milchfettgehalte eher gesichert sind.

Kauaktivität von:  
 30 min je kg TM (Gesamtration)  
 ↳ normaler Milchfettgehalt

MERTENS (1997) hat den Bedarf an peNDF ebenfalls auf der Grundlage einer Meta-Analyse von Literaturdaten abgeleitet, und zwar auf der Basis des Milchfettgehaltes und des pH-Wertes im Panseninhalt. In Abbildung 11 sind die Beziehungen zwischen peNDF-Gehalt (% i. TM) und dem Milchfettgehalt (%) bzw. dem pH-Wert im Panseninhalt aus dieser Meta-Analyse dargestellt, die mit einem reziproken Regressionsmodell durchgeführt wurde. Das Intercept besagt, dass in diesem Datenmaterial das asymptotische Plateau des Milchfettgehaltes 4,32 % und des pH-Wertes im Pansen 6,67 beträgt, diese Werte also durch Steigerung des Gehaltes an physikalisch effektiver NDF nicht mehr zu erhöhen sind. Die Festlegung des Bedarfs an Faser kann aber nicht über einen exakten Wert erfolgen, sondern hängt davon ab, welcher Milchfettgehalt bzw. pH-Wert im Panseninhalt als untere Grenze

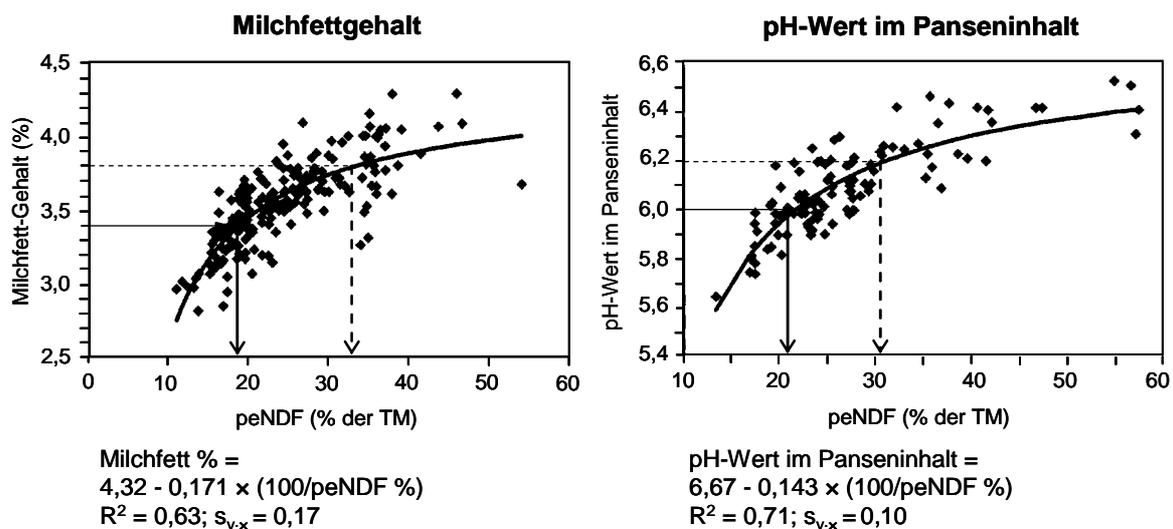


Abbildung 11: Einfluss des Gehaltes an peNDF auf den Milchfettgehalt bzw. den pH-Wert im Panseninhalt (nach MERTENS 1997)

Figure 11: Effect of peNDF content on milk fat concentration and pH-value in the rumen content (based on MERTENS 1997)

angesehen bzw. festgelegt wird. Das reziproke Regressionsmodell ergibt einen starken Anstieg des Milchfettgehaltes bzw. des pH-Wertes im Panseninhalt mit steigendem peNDF-Gehalt im Bereich niedriger peNDF-Gehalte, der sich mehr und mehr abschwächt bei hohen peNDF-Werten. Um Milchfettgehalte von 3,2, 3,4, 3,6 bzw. 3,8 % zu erreichen, sind nach der Formel (1) in Abbildung 9 peNDF-Gehalte von 15,3, 18,6, 23,7 bzw. 32,9 % erforderlich. MERTENS (1997) gibt an, dass ein Milchfettgehalt von 3,4 % ein geeigneter Indikator für den Mindestgehalt an peNDF sei, dies wären in der vorliegenden Meta-Analyse 18,6 % peNDF. Nach dem gleichen Prinzip wurde auch die Beziehung zwischen peNDF und pH-Wert im Panseninhalt analysiert. Diese Beziehung erreichte ein asymptotisches Plateau von pH = 6,67. Die reziproke Regression führt zu einer starken Erhöhung des pH-Wertes bei niedrigem peNDF-Gehalt und vice versa, d. h. der pH-Wert reagiert bei niedrigem Fasergehalt besonders sensibel. Die Regressionsgleichung (2) ergibt pH-Werte von 5,9, 6,0, 6,1 bzw. 6,2 bei peNDF-Gehalten von 18,6, 21,3, 25,1 bzw. 30,4 % der TM. Auch aus dieser Beziehung kann kein absoluter Bedarf an Faser abgeleitet werden, da neben der physikalischen Effizienz der Faser vor allem der Gehalt an NFC, die Verarbeitung des Getreides, die Zufütterung von Puffern und die Futteraufnahme den pH-Wert bestimmen. MERTENS (1997) hält jedoch fest, dass bei einem pH-Wert von 6,0 ein höherer peNDF-Gehalt erforderlich ist als bei einem Milchfettgehalt von 3,4 % (21,3 vs. 18,6 % peNDF).

ZEBELI et al. (2008) haben über das peNDF-System hinaus – ebenfalls auf Basis einer Meta-Analyse umfangreicher Literaturdaten – einerseits den Schwellenwert für die subakute Pansenazidose (SARA) definiert, nämlich einen mittleren pH-Wert im Panseninhalt von < 6,16 und zugleich darf der pH-Wert < 5,8 den Zeitraum von 5,24 Stunden pro Tag nicht überschreiten. Andererseits wurde auch der Bedarf an peNDF aus dem Verlauf des pH-Wertes in Abhängigkeit vom peNDF-Gehalt über ein broken line-Modell abgeleitet. Das asymptotische Plateau des pH-Wertes von 6,27 wurde bei einem Gehalt von 31,2 % peNDF erreicht und ist damit deutlich höher als der von MERTENS (1997) angegebene Wert von

18,6 – 21,3 %. Der wichtigste Grund für diese Diskrepanz liegt am Schwellenwert für das Auftreten der SARA. Wird im Modell von MERTENS (1997) ein kritischer pH-Wert von 6,16 wie bei ZEBELI et al. (2008) und nicht von 6,0 eingesetzt, so ergibt sich ein peNDF-Bedarf von 28,0 %, was sich nicht allzu sehr von den o.g. 31,2 % unterscheidet. Neben dem Gehalt an peNDF sind jedoch auch der Gehalt an pansen-abbaubarer Stärke und das Niveau der Futteraufnahme von erheblicher Bedeutung, wenn es um die Höhe des pH-Wertes im Panseninhalt geht, wie aus folgender Formel (ZEBELI et al. 2008) erkennbar wird:

$$pH = 6,05 + 0,044 \times peNDF - 0,0006 \times peNDF^2 - 0,017 \times RDSG - 0,016 \times DMI$$

$$R^2 = 0,66, RMSE = 0,11$$

pH = mittlerer pH-Wert im Panseninhalt

peNDF = physikalisch effektive NDF (% d. TM, ermittelt mit Schüttelbox nach KONONOFF et al. 2003)

RDSG = rumen degradable starch from grain, pansen-abbaubare Stärke aus Getreide (% der TM)

DMI = dry matter intake, Trockenmasse-Aufnahme (kg/d)

Aus dieser Gleichung und unter Berücksichtigung des Zeitraumes eines im Panseninhalt herrschenden pH-Wertes von < 5,8 haben STEINGASS u. ZEBELI (2008) die erforderlichen peNDF-Gehalte in Abhängigkeit von Futteraufnahme und Gehalt an pansen-abbaubarer Stärke abgeleitet, um einen mittleren pH-Wert von 6,27 zu erreichen (s. Tab. 3). Die Ergebnisse zeigen, dass sowohl bei steigender Futteraufnahme als auch bei höheren Gehalten der Ration an pansen-abbaubarer Stärke ein höherer Bedarf an peNDF gegeben ist, da eine höhere Menge an fermentierbarer Substanz anfällt, sei es durch erhöhte Futteraufnahme oder durch höhere Gehalte an fermentierbarer Stärke. Es ergeben sich Werte von 28 bis 36 % peNDF (STEINGASS u. ZEBELI 2008).

Tabelle 3: Erforderliche Gehalte an peNDF (% der TM) in Abhängigkeit von der täglichen Futteraufnahme (kg TM/Tier) und dem Gehalt an pansen-abbaubarer Stärke (% der TM) (STEINGASS u. ZEBELI 2008)

Table 3: Required content of peNDF (% of DM) depending on daily feed intake (kg DMI/animal) and content of rumen-degradable starch from grain (% of DM) (STEINGASS and ZEBELI 2008)

Abbaubare Stärke (% i. TM)	Futteraufnahme (kg TM/d)				
	18	20	22	24	26
10	28,5	29,2	29,9	30,7	31,4
14	30,0	30,8	31,5	32,2	32,9
18	31,6	32,3	33,0	33,8	34,5
22	33,1	33,8	34,6	35,3	36,0

Allerdings können höhere NDF-Gehalte in der Gesamtration die Futteraufnahme eher negativ beeinflussen. MERTENS (1994) hat eine maximale Aufnahme von 12,5 g NDF pro kg Körpermasse ermittelt. Dies ist die Grenze, ab der die Futteraufnahme schon rein physikalisch durch die Aufnahmekapazität des Pansens („rumen fill“) reguliert wird. Dagegen wird die Futteraufnahme bei geringem NDF-Gehalt (d. h. hoher Energiekonzentration) physiologisch über den Energiebedarf gesteuert (NDF-NEL intake system nach MERTENS 1994).

ZEBELI et al. (2008) haben den Einfluss des peNDF-Gehaltes der Ration auch hinsichtlich der Futteraufnahme und Futterumwandlung ausgewertet und dabei drei Wertebereiche festgestellt (s. Abb. 12).

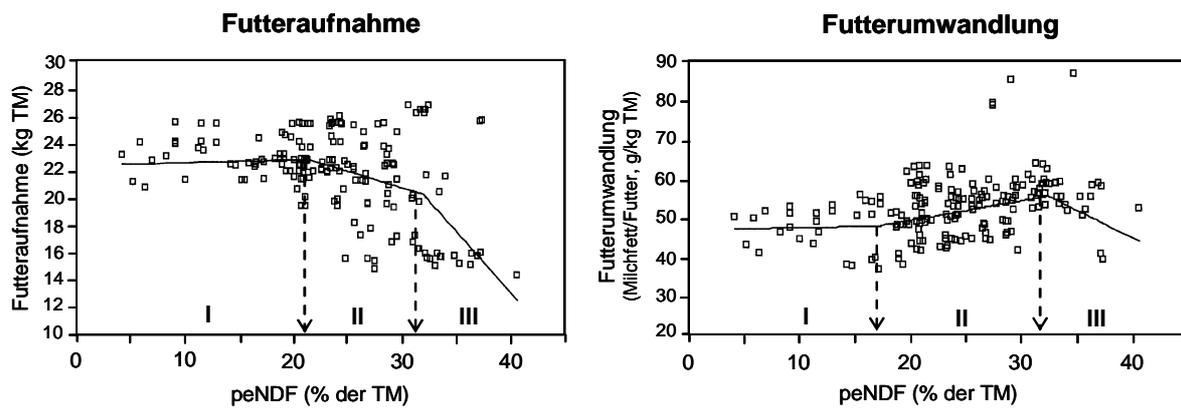


Abbildung 12: Einfluss des Gehaltes an peNDF auf die Futteraufnahme (rechts) und Futterumwandlung (links; nach ZEBELI et al. 2008)

Figure 12: Effect of peNDF content on feed intake (right side) and feed conversion (left side) (based on ZEBELI et al. 2008)

Die Futteraufnahme steigt bis zu einem peNDF-Gehalt von 21,6 % leicht an. Von 21,6 bis 31,9 % peNDF ist ein leichter Abfall ersichtlich, darüber hinaus geht die Futteraufnahme stark zurück. Dies stimmt mit dem Futteraufnahme-Modell von MERTENS (1994) überein. Es bedeutet aber auch, dass zwischen pansenphysiologisch optimalem Fasergehalt und der für die Energieversorgung der Kuh erforderlichen Energiekonzentration nur ein enger Bereich besteht und die Fütterung von hoch leistenden Kühen nur mit Grobfutter von hoher Qualität möglich ist (STEINGASS u. ZEBELI 2008).

Der Zusammenhang von peNDF-Gehalt und Futterumwandlung ist ein Spiegelbild der Beziehung zur Futteraufnahme mit sehr ähnlichen Abschnittsgrenzen. Bis zu einem peNDF-Gehalt von 17,1 % verläuft die Futterumwandlung (g Milchfett pro kg TM Futter) unabhängig vom Fasergehalt. Sie verbessert sich zwischen 17,1 und 32,4 %. Ab 32,4 % peNDF verschlechtert sich allerdings die Futterumwandlung deutlich, da sichtlich die Futteraufnahme und noch stärker die Milchleistung ab diesen Fasergehalten zurückgehen. Mit einer solchen Ration ist folglich der Energiebedarf von hoch leistenden Kühen nicht vollständig zu decken. Allerdings haben ZEBELI et al. (2008) aus dem vorliegenden Datenmaterial auch abgeleitet, dass die Verdaulichkeit der NDF mit steigendem pH-Wert im Panseninhalt zunimmt. Der für hohe Milchleistungen erforderliche niedrige Gehalt an peNDF bedeutet also auch zugleich, dass – infolge niedrigeren pH-Wertes – mit einer geringeren Verdaulichkeit der Gerüstsubstanzen zu rechnen ist.

Unter Berücksichtigung aller dieser Aspekte wie pH-Wert im Panseninhalt, Risiko für eine SARA, Verdaulichkeit der Gerüstsubstanzen, Futteraufnahme, Milchfettgehalt und Milchleistung sowie Futterumwandlung kommen ZEBELI et al. (2008) zum Schluss, dass sich der peNDF-Gehalt einer Ration für hoch leistende Kühe zwischen 30 und 33 % (i. TM) bewegen sollte.

Sollwert für Hochleistungskühe:  
peNDF: 30 – 33 % der TM

Die Ausführungen zeigen, dass die Analyse der Gerüstsubstanzen nach der Detergenzien-Methode einen wesentlichen Fortschritt darstellt, da sie die Auftrennung der Kohlenhydrate in Faser- und Nichtfaser-Kohlenhydrate ermöglicht. Diese exakte Trennung ist in der Ernährung der Wiederkäuer von großer physiologischer Bedeutung. Dagegen werden bei der Rohfaser-Bestimmung – bedingt durch nicht geeignete Lösungsmittel – gewisse Anteile der Gerüstsubstanzen (Hemizellulose und Teile des Lignins) gelöst und dadurch fälschlicher Weise den N-freien Extraktstoffen (d. h. Nichtfaser-Kohlenhydraten) zugeordnet. Die Umrechnung von Rohfaser in Gerüstsubstanzen ist streng genommen nicht möglich, da das Ausmaß der Lösung von Faserbestandteilen im Rahmen der Rohfaser-Analyse in den einzelnen botanischen Artengruppen (Gräser, Leguminosen, Korb- und Doldenblütler) unterschiedlich ist. Im Cornell Net Carbohydrate and Protein System erfolgt die Trennung in Faser- und Nichtfaser-Kohlenhydrate auf der Basis der Detergenzien-Methode, wobei NDF und ADL eine große Rolle spielen. Auch die Aufteilung des Proteins in 5 Fraktionen erfordert die Analyse von NDF und ADF sowie des in diesen Fasern enthaltenen Stickstoffs. Dieser umfasst die im Pansen mittel, schwer und nicht abbaubaren Anteile des Proteins. Für die Beurteilung der Wiederkäuergerechtigkeit und der Versorgung mit Struktur ist die physikalisch effektive NDF ein sehr geeigneter Parameter, da hiermit die tatsächliche und strukturwirksame Faser weitgehend beschrieben wird. Auch für die Regulation der Futteraufnahme spielt die NDF eine wichtige Rolle, da sie die Füllung des Pansens bestimmt.

## 5 SCHRIFTTUM

- ALLEN, M.S. (1997): Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *J. Dairy Sci.* **80**, 1447-1462
- ÅMAN, P. (1993): Composition and structure of cell wall polysaccharides in forages. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 183-199
- BAARS, G., CHRISTEN, H.R. (1995): *Allgemeine Chemie: Theorie und Praxis*. Verlag Moritz Diesterweg, Frankfurt am Main; Verlag Sauerländer, Aarau, Frankfurt am Main, Salzburg, 326 S.
- BALCH, C.C. (1971): Proposal to use time spent chewing as an index of the extent to which diets for ruminants possess the physical property of fibrousness characteristics of roughages. *Br. J. Nutr.* **26**, 383-392
- BERG, J.M., TYMOCZKO, J.L., STRYER, L. (2003): *Biochemie*. 5. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 1153 S.
- CHESSON, A. (1993): Mechanistic models of forage cell wall degradation. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 347-376
- CONRAD, H.R., WEISS, W.P., ODWONGO, W.O., SHOCKEY, W.L. (1984): Estimating net energy lactation from components of cell solubles and cell walls. *J. Dairy Sci.* **67**, 427-436
- DE BRABANDER, D.L., DE BOEVER, J.L., VANACKER, J.M., BOUCQUE, C.V., BOTTERMANN, S.M. (1999): Evaluation of physical structure in dairy cattle nutrition. In (P.C. GARNSWORTHY and J. WISEMAN, Eds.): *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, 111-145
- DE BRABANDER, D.L., VANACKER, J.M., DE BOEVER, J.L., GEERTS, N.E. (2002): Evaluation and effects of physical structure in dairy cattle nutrition. *Proc. 22<sup>th</sup> World Buiatrics Congress*, Hannover, 182-197
- FOX, D.G., SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., RUSSELL, J.B., VAN SOEST, P.J. (1992): A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: 3. Cattle requirements and diet adequacy. *J. Anim. Sci.* **70**, 3578-3596

- FOX, D.G., TEDESCHI, L.O., TYLUTKI, T.P., RUSSELL, J.B., VAN AMBURGH, M.E., CHASE, L.E., PELL, A.N., OVERTON, T.R. (2004): The Cornell net carbohydrate and protein system model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Anim. Feed Sci. Technol.* 112, 29-78
- Foss Tecator (1997): Fibertec 2010 System. Application note 304 (Fibre determination using the Fibertec I & M systems). Application sub note 3428 (The determination of crude fibre in feed according to AOAC, ISO, AACC and AOCS standards). Application sub note 3431 (The determination of neutral detergent fibre in feed). Application sub note 3429 (The determination of acid detergent fibre in feed). Application sub note 3430 (The determination of acid detergent lignin in feed)
- GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie – Ausschuss für Bedarfsnormen; 2001): Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere, Nr. 8: Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung der Milchkühe und Aufzuchttrinder. Frankfurt/Main, DLG-Verlag, 135 S.
- GIGER, S. (1985): Revue sur les méthodes de dosage de la lignine utilisées en alimentation animale. *Ann. Zootech.* 34, 85-122
- GLENN, B.P., WALDO, D.R. (1993): Cell wall degradation in the ruminant – session synopsis. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): Forage Cell Wall Structure and Digestibility. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 603-620
- GOERING, H.K., VAN SOEST, P.J. (1970): Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agric. Handbook* 379, Washington, DC, USA, ARS, USDA, 1-20
- GORDON, A.J. (1975): A comparison of some chemical and physical properties of alkali lignins from grass and lucerne hays before and after digestion by sheep. *J. Sci. Food Agric.* 26, 1551-1559
- GRUBER, L., STÖGMÜLLER, G., TAFERNER, K., HABERL, L., MAIERHOFER, G., STEINER, B., STEINWIDDER, A., SCHAUER, A., KNAUS, W. (2005): Protein- und Kohlenhydrat-Fractionen nach dem Cornell-System sowie ruminaler Trockenmasseabbau *in situ* von energie- und proteinreichen Kraftfuttermitteln. *Übers. Tierernährg.* 33, 129-143
- GRUBER, L., HÄUSLER, J., STEINWIDDER, A., SCHAUER, A., MAIERHOFER, G. (2006a): Influence of cutting frequency in Alpine permanent grassland on nutritive value, DM yield and agronomic parameters of milk production. *Slovak J. Anim. Sci.* 39, 26-42
- GRUBER, L., TAFERNER, K., STEINER, B., MAIERHOFER, G., URDL, M., GASTEINER, J. (2006b): Einfluss von Vegetationsstadium, Sorte, Standort und Konservierung von Silomais auf den Gehalt an Rohprotein- und Kohlenhydrat-Fractionen sowie den ruminalen *in situ*-Abbau der Trockenmasse. 118. VDLUFA-Kongress, 19.-22. Sept. 2006, Freiburg i. Bg, D, Kongressband 2006, 226-239
- HALL, M.B. (2003): Challenges with nonfiber carbohydrate methods. *J. Anim. Sci.* 81, 3226-3232
- HALL, M.B., HEREJK, C. (2001): Differences in yields of microbial crude protein from *in vitro* fermentation of carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 84, 2486-2493
- HATFIELD, R.D., JUNG, H.G., RALPH, J., BUXTON, D.R., WEIMER, P.J. (1994): A comparison of the insoluble residues produced by the Klason lignin and acid detergent lignin procedures. *J. Sci. Food Agric.* 65, 51-58
- HENNEBERG, W., STOHMANN, F. (1864): Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer. 2. Band: Über die Ausnutzung der Futterstoffe durch das volljährige Rind und über Fleischbildung im Körper desselben. Schwetschke und Sohn, Braunschweig
- HINTZ, R.W., MERTENS, D.R., ALBRECHT, K.A. (1996): Effects of sodium sulfite on recovery and composition of detergent fiber and lignin. *J. AOAC Int.* 79, 16-22
- HOFFMANN, M. (1990): Tierfütterung. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin
- IYAMA, K., LAM, T.B.T., MEIKLE, P.J., NG, K., RHODES, D.I. (1993): Cell wall biosynthesis and its regulation. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): Forage Cell Wall Structure and Digestibility. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 621-683
- ISAACSON, H.R., HINDS, F.C., BRYANT, M.P., OWENS, F.N. (1975): Efficiency of energy utilization by mixed rumen bacteria in continuous culture. *J. Dairy Sci.* 58, 1645-1659
- JUNG, H.G. (1989): Forage lignins and their effects on fiber digestibility. *Agron. J.* 81, 33-38
- JUNG, H.G., FAHEY, G.C. (1983a): Nutritional implications of phenolic monomers and lignin: A review. *J. Anim. Sci.* 57, 206-219
- JUNG, H.G., FAHEY, G.C. (1983b): Interactions among phenolic monomers and *in vitro* fermentation. *J. Dairy Sci.* 66, 1255-1263

- JUNG, H.G., VOGEL, K.P. (1986): Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. *J. Anim. Sci.* 62, 1703-1712
- JUNG, H.G., DEETZ, D.A. (1993): Cell wall lignification and degradability. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 315-346
- JUNG, H.G., FAHEY, G.C., GARST, J.E. (1983): Simple phenolic monomers of forages and effects of *in vitro* fermentation on cell wall phenolics. *J. Anim. Sci.* 57, 1294-1305
- JUNG, H.G., MERTENS, D.R., PAYNE, A.J. (1997): Correlation of acid detergent lignin and Klason lignin with digestibility of forage dry matter and neutral detergent fiber. *J. Dairy Sci.* 80, 1622-1628
- KARLSON, P., DOENECKE, D., KOOLMAN, J. (2005): *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, 14. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
- KLEEN, J.L., HOOIJER, G.A., REHAGE, J., NOORDHUIZEN, J.P.T. (2003): Subacute ruminal acidosis (SARA): A review. *J. Vet. Med. A.* 50, 406-414
- KONDO, T., MIZUNO, K., KATO, T. (1987): Variation in solubilities of lignin in acid detergent and in alkali. *J. Jpn. Grassl. Sci.* 33, 296-299
- KONONOFF, P.J., HEINRICHS, A.J., BUCKMASTER, D.R. (2003): Modification of the Penn State forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. *J. Dairy Sci.* 86, 1858-1863
- KRAUSE, K.M., OETZEL, G.R. (2006): Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Anim. Feed Sci. Technol.* 126, 215-236
- KRISHNAMOORTHY, U., MUSCATO, T.V., SNIFFEN, C.J., VAN SOEST, P.J. (1982): Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *J. Anim. Sci.* 65, 217-222
- LAMMERS, B.P., BUCKMASTER, D.R., HEINRICHS, A.J. (1996): A simple method for the analysis of particle sizes of forage and total mixed rations. *J. Dairy Sci.* 79, 922-928
- LANZAS, C., SNIFFEN, C.J., SEO, S., TEDESCHI, L.O., FOX, D.G. (2007): A revised CNCPS feed carbohydrate fractionation scheme for formulating rations for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 136, 167-190
- LICITRA, G., HERNANDEZ, T.M., VAN SOEST, P.J. (1996): Standardization of procedure for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 57, 347-358
- LOWRY, J.B., CONLAN, L.L., SCHLINK, A.C., McSWEENEY, C.S. (1994): Acid detergent dispersible lignin in tropical grasses. *J. Sci. Food Agric.* 65, 41-49
- MENKE, K.-H., HUSS, W. (1987): *Tierernährung und Futtermittelkunde*. 3. Aufl., Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 424 S.
- MERTENS, D.R. (1994): Regulation of forage intake. In (G.C. FAHEY, M. COLLINS and L.E. MOSER, Eds.): *Forage Quality, Evaluation, and Utilization*. National Conference on Forage Quality, Evaluation, and Utilization. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 450-493
- MERTENS, D.R. (1997): Creating a system for meeting the fiber requirements of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80, 1463-1481
- MERTENS, D.R. (2002): Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 85, 1217-1240
- MEYER, U., GÄDEKEN, D., SPOLDERS, M., FLACHOWSKY, G. (2002): A comparison of recommendations for the fibre supply of dairy cows fed total mixed rations. *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 11, 133
- NOCEK, J.E., TAMMINGA, S. (1991): Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* 74, 3598-3629
- NOCEK, J.E. (1997): Bovine acidosis: Implications on laminitis. *J. Dairy Sci.* 80, 1005-1028
- NØRGAARD, P. (1986): Physical structure of feeds for dairy cows. (A new system for evaluation of the physical structure in feedstuffs and rations for dairy cows). In (A. NEIMANN-SØRENSEN, Ed.): *Agriculture. New Developments and Future Perspectives in Research on Rumen Function*. Report EUR 10054, Commission European Communities, Luxembourg, 85-107
- NØRGAARD, P., NADEAU, E., VOLDEN, H., RANDBY, Å., AAES, O., MEHLQVIST, M. (2008): A new Nordic structure evaluation system for diets fed to dairy cows. In (A. HOPKINS et al., Eds.): *EGF Symposium 2008. Biodiversity and Animal Feed, Future Challenges for Grassland Production*. Grassland Science in Europe, Vol. 13, 762-764

- NRC (National Research Council; 1989): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 6<sup>th</sup> Rev. Ed., National Academy Press, Washington, DC, USA, 157 S.
- NRC (National Research Council; 2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7<sup>th</sup> Rev. Ed., National Academy Press, Washington, DC, USA, 381 S.
- NULTSCH, W. (2001): Allgemeine Botanik. 11. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 663 S.
- OESTMANN, A., SÜDEKUM, K.-H., VOIGT, K., STANGASSINGER, M. (1995): Zur Rolle von Lignin und phenolischen Monomeren in Futtermitteln für Wiederkäuer, I. Vorkommen, Funktionen und Nachweisverfahren. Übers. Tierernährg. 23, 105-131
- OWENS, F.N., SECRIST, D.S., HILL, W.J., GILL, D.R. (1998): Acidosis in cattle: A review. J. Anim. Sci. 76, 275-286
- PIATKOWSKI, B., GÜRTLER, H., VOIGT, J (1990): Grundzüge der Wiederkäuer-Ernährung. Gustav-Fischer-Verlag, Jena
- PIRT, S.J. (1965): The maintenance energy of bacteria in growing cultures. Proc. Rural Soc. London Series B Biol. Sci. 163, 224-231
- RALPH, J., HELM, R.F. (1993): Lignin/Hydroxycinnamic acid/Polysaccharide complexes: Synthetic models for regiochemical characterization. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): Forage Cell Wall Structure and Digestibility. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 201-246
- RUSSELL, J.B., O'CONNOR, J.D., FOX, D.G., VAN SOEST, P.J., SNIFFEN, C.J. (1992): A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. I. Ruminal fermentation. J. Anim. Sci. 70, 3551-3561
- RUSSELL, J.B., COOK, G.M. (1995): Energetics of bacterial growth: Balance of anabolic and catabolic reactions. Microbiol. Rev. 59, 48-62
- SHAVER, R.D. (1997): Nutritional risk factors in the etiology of left displaced abomasum in dairy cows: A review. J. Dairy Sci. 80, 2449-2453
- SLYTER, L.L. (1976): Influence of acidosis on rumen function. J. Anim. Sci. 43, 910-929
- SNIFFEN, C.J., O'CONNOR, J.D., VAN SOEST, P.J., FOX, D.G., RUSSELL, J.B. (1992): A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. J. Anim. Sci. 70, 3562-3577
- STEINGASS, H., ZEBELI, Q. (2008): Strukturbewertung von Rationen für Milchkühe. 35. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 9.-10. April 2008, Bericht HBLFA Raumberg-Gumpenstein 2008, 19-25
- STONE, W.C. (2004): Nutritional approaches to minimize subacute ruminal acidosis and laminitis in dairy cattle. J. Dairy Sci. 87, E13-E26
- SÜDEKUM, K.-H., OESTMANN, A., STANGASSINGER, M. (1995): Zur Rolle von Lignin und phenolischen Monomeren in Futtermitteln für Wiederkäuer, II. Einfluss auf die Verdauung pflanzlicher Gerüstsubstanzen. Übers. Tierernährg. 23, 229-260
- SÜDEKUM, K.-H. (2009): Zucker und Speicherkohlenhydrate – Analytische Kenngrößen als Voraussetzung für eine moderne Rationsgestaltung. Übers. Tierernährg. 37, 27-44
- SUDWEEKS, E.M., ELY, L.O., MERTENS, D.R., SISK, L.R. (1981): Assessing minimum amounts and form of roughages in ruminant diets: Roughage value index system. J. Anim. Sci. 53, 1406-1411
- SULLIVAN, J.T. (1966): Studies of the hemicelluloses of forage plants. J. Anim. Sci. 25, 83-86
- THEANDER, O., WESTERLUND, E.A. (1986): 3. Improved procedures for analysis of dietary fiber. J. Agric. Food Chem. 34, 330-336
- TYLUTKI, T.P., FOX, D.G., DURBAL, V.M., TEDESCHI, L.O., RUSSELL, J.B., VAN AMBURGH, M.E., OVERTON, T.R., CHASE, L.E., PELL, A.N. (2008): Cornell net carbohydrate and protein system: A model for precision feeding of dairy cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 143, 174-202
- UDEN, P., ROBINSON, P.H., WISEMAN, J. (2005): Use of detergent system terminology and criteria for submission of manuscripts on new, or revised, analytical methods as well as descriptive information on feed analysis and/or variability. Anim. Feed Sci. Technol. 118, 181-186
- VAN SOEST, P.J. (1963a): Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 46, 825-828
- VAN SOEST, P.J. (1963b): Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 46, 829-835
- VAN SOEST, P.J. (1964): Symposium on nutrition and forage and pastures: New chemical procedures for evaluating forages. J. Anim. Sci. 23, 838-845

- VAN SOEST, P.J. (1965): Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. III. Study of effects of heating and drying on yield of fiber and lignin in forages. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 48, 785-790
- VAN SOEST, P.J. (1967): Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *J. Anim. Sci.* 26, 119-128
- VAN SOEST, P.J. (1975): Physico-chemical aspects of fibre digestion. In: *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. Eds.: I.W. McDonald and A.C.I. Warner, Univ. of New England Publ. Unit, Armidale, N.S.W., Australia, 352-365
- VAN SOEST, P.J. (1976): The estimation of digestibility from chemical composition. *Miscellaneous Papers, Landbouwhogeschool, Wageningen, NL*, 12, 137-145
- VAN SOEST, P.J. (1977): Plant fiber and its role in herbivore nutrition. *Cornell Vet.* 67, 307-326
- VAN SOEST, P.J. (1993): Cell wall matrix interactions and degradations – session synopsis. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 377-395
- VAN SOEST, P.J. (1994): *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2<sup>nd</sup> ed., Cornell University Press, Ithaca und London, 476 S.
- VAN SOEST, P.J. (1996): Environment and forage quality. In: *Proc. 58<sup>th</sup> Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers*, 1-9
- VAN SOEST, P.J., WINE, R.H. (1967): Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 50, 50-55
- VAN SOEST, P.J., WINE, R.H. (1968): Determination of lignin and cellulose in acid-detergent fiber with permanganate. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 51, 780-785
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B. (1977): What is fibre and fibre in food? *Nutr. Rev.* 35, 12-22
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B. (1980): Systems of analysis for evaluating fibrous feeds. In: *Standardization of analytical methodology for feeds*. Eds.: W.J. Pigden, C.C. Balch und M. Graham, Int. Dev. Res. Center, ON, Ottawa, Canada, 49-60
- VAN SOEST, P.J., MERTENS, D.R., DEINUM, B. (1978): Preharvest factors influencing quality of conserved forage. *J. Anim. Sci.* 47, 712-720
- VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. (1991): Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583-3597
- VDLUFA (Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten) (1976) inkl. *Ergänzungsblätter* 1983, 1988, 1993, 1997: *Methodenbuch Band III – Die chemische Untersuchung von Futtermitteln*. VDLUFA-Verlag, Darmstadt
- WALDO, D.R., SMITH, L.W., COX, E.L. (1972): Model of cellulose disappearance from the rumen. *J. Dairy Sci.* 55, 125-129
- WEIMER, P.J. (1993): Microbial and molecular mechanisms of cell wall degradation – session synopsis. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 485-498
- WILSON, J.R. (1993): Organization of forage plant tissues. In (H.J. JUNG, D.R. BUXTON, R.D. HATFIELD and J. RALPH, Eds.): *Forage Cell Wall Structure and Digestibility*. ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, 1-32
- YANG, W.Z., BEAUCHEMIN, K.A. (2006): Physically effective fiber: Method of determination and effects on chewing, ruminal acidosis and digestion by dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89, 2618-2633
- ZEBELI, Q., DIJKSTRA, J., TAJAJ, M., STEINGASS, H., AMETAJ, B.N., DROCHNER, W. (2008): Modelling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. *J. Dairy Sci.* 91, 2046-2066