

Erweiterung der WEENDER-Analyse mit dem CORNELL-System und NIRS

Wilfried Wenzl*, Barbara Steiner*, Lucia Haberl*

* LFZ Raumberg-Gumpenstein, A-8952 Irdning;

1. Einleitung

Die Bewertung der Futterenergie ist für die Ernährung der Tiere entscheidend. Die Summe der nutzbaren Energie (NEL, ME) wird aus dem Rohfett, dem Rohproteinen, den Nichtfaserkohlenhydraten und den polymeren Faserstoffen ermittelt. Zur Definition der Nährstoffqualität des Futters im Sinne botanischer Kriterien sind jedoch nicht nur die Mengenanteile ausschlaggebend, sondern auch wie sich die chemisch definierbaren Hauptgruppen der Pflanzenmasse zwischen Zellinhalt und Zellwand räumlich aufteilen. Aus der Sicht der Tierernährung gelten einerseits die Kohlenhydrate und Proteine des Zellplasmas als rasch verfügbar. Andererseits ist der verdauliche Anteil der Zellwand bzw. der sogenannten „Gerüstsubstanzen“ für die nutzbare Energie entscheidend. Sowohl bei Nichtstruktur- als auch Strukturanteilen weist die pflanzliche Biomasse große Unterschiede auf.

2. Ausgangslage und Zielsetzung

Bei der WEENDER - Futteranalyse (HENNEBERG u. STOHMANN, 1860,1864) wird neben Rohprotein, Rohfett und Rohasche auch ein Rohfasergehalt durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Kalilauge chemisch bestimmt. Dabei wird jedoch nur ein Teil der Zellwand, hauptsächlich in Form von Cellulose, gravimetrisch erfasst. Der gesamte strukturwirksame Anteil des Futters in der Zellwand wird aber auch aus verschiedenen Pflanzenpolymeren, hauptsächlich Hemicellulosen und Ligninen, aufgebaut. In der WEENDER - Analyse werden die sogenannten „stickstofffreien Extraktstoffe“ (NFE) als Differenz zu den analysierten Parametern ermittelt. Diese „Rechenfraktion“ besteht im Wesentlichen aus den faserfreien Kohlenhydraten Zucker und Stärke (Gruber, 2010). Im sogenannten CORNELL-System werden die Gerüstsubstanzen im Gesamten als NDF (Neutrale Detergentienfaser) und weiter als saure Detergentienfaser ADF (Cellulose und Lignine) sowie als ADL (Lignine) aufgetrennt. (SNIFFEN et.al.,1992; WENZL u. GRUBER, 1995). Rohprotein wird weiter

nach Rein- und Nichtprotein aufgespalten und die über das Plasma-protein hinausgehende, in der Zellwand angesiedelte Stickstoff-Restmenge bestimmt. Das CORNELL-System wird in verschiedenen Ländern bei der Futterbewertung in der Praxis realisiert und mit Hilfe der NIRS kostengünstig bereitgestellt (BAKKER, 2011). Eine eindeutige räumliche Zuordnung aller futterwirksamen Komponenten sowohl zum Zellinhalt als auch zur Zellwand sollte durch eine botanisch exaktere Definition der Pflanzenmasse möglich werden.

Ziel dieser Arbeit ist es daher herauszufinden, ob als Hauptgruppe in Entsprechung zur Rohstickstofffraktion (RP) sinnvollerweise auch eine Kohlenstoffhauptfraktion definiert werden könnte. Diese sollte als kohlenstoffreicher bzw. energietragender Hauptanteil des Pflanzenmaterials mit NIRS ermittelt und in plasmagebundenen Nichtstrukturanteil und zellwandgebundenen Strukturanteil aufgetrennt werden.

3. Material und Methoden

Insgesamt wurden 236 Raufutterproben aus weiten Teilen Österreichs (RESCH 2011) und zur Gegenüberstellung 119 Maisproben einer klassischen Futteranalyse unterzogen bzw. mit Hilfe der NIRS im SPECTRASTAR 2000 vermessen. Die Auswertung erfolgte mittels CALIBRATION WORKSHOP® sowie UNSCRAMBLER®. Es wurden eine PCA und zwei Kalibrationsmodelle mittels multivariater Analyse (Partial Least Square Regression, PLS1) erstellt und validiert (Full Cross Validation). In Entsprechung zu einer Stickstoffrohfraktion wurden die in die Datenmatrix der NIR-Spektren eingehenden X-Variablen als eine Kohlenstoffhauptfraktion (KHF) und eine Kohlenstoffunterfraktion in Form der Nichtfaserkohlenhydrate bzw. Nichtstrukturkohlenhydrate (NFC, NSKH) definiert. Die Berechnung der Kalibrationswerte für die Kohlenstoffhauptfraktion (KHF) erfolgte durch Subtraktion des Rohproteins (RP) und der Rohasche (RA) von der Trockenmasse (TM) nach der Gleichung

$$\text{KHF} = \text{TM} - \text{RP} - \text{RA}.$$

Die mengenmäßige Ermittlung der Nichtstrukturkohlenhydrate (NFC, NSKH) erfolgte durch Abzug der neutralen Detergentienfaser bzw. der Strukturkohlenhydrate (NDF, SKH) von KHF nach der Gleichung

$$\text{NFC (NSKH)} = \text{KHF} - \text{NDF (SKH)}.$$

3. Ergebnisse

In Erweiterung der WEENDER - Analyse wurden für die pflanzliche Trockenmasse drei dominierende Hauptbestandteile als Rohfraktionen definiert, die Unterfraktionen SKH und NSKH zugeordnet und die mittleren Prozentanteile ermittelt (Abb. 1, Tab. 1). Als Hauptgruppen A, B und C werden angegeben:

- Eine Kohlenstoffhauptfraktion (A-Fraktion als kohlenstoffdominierter Pflanzenanteil, rechnerisch ermittelt)
- Eine Rohproteinfraktion (B-Fraktion, bestimmt nach dem Gesamtgehalt an Stickstoff)
- Eine Rohaschefraktion (C-Fraktion, bestimmt nach der Summe aller mineralischen Rückstände)

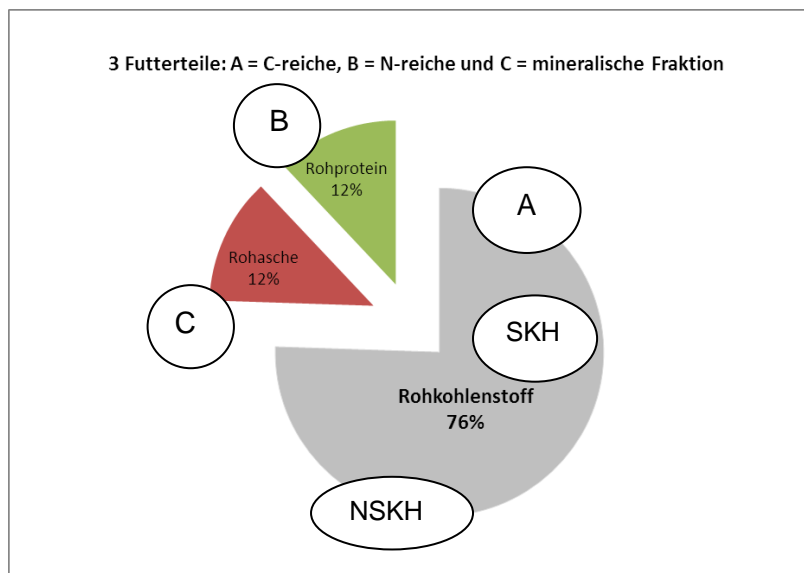


Abb. 1: Haupt- und Unterfraktionen des Grundfutters

Rohkohlenstoff bzw. eine Kohlenstoffhauptfraktion (KHF) ist erwartungsgemäß indirekt proportional zu Rohprotein (Abb.2). Nach Abzug der Strukturkohlenhydrate (KHF - NDF) konnte eine Fraktion aus Nichtstrukturkohlenhydraten (NSKH) definiert werden. Dieser Teil erwies sich im Gegensatz zum sogenannten „stickstofffreien Extrakt“ gemäß der WEENDER-Definition als stickstoffreich, da eine enge

Korrelation des Plasmakohlenstoffs mit dem Rohprotein der gesamten Futterprobe gefunden wurde (Abb. 3).

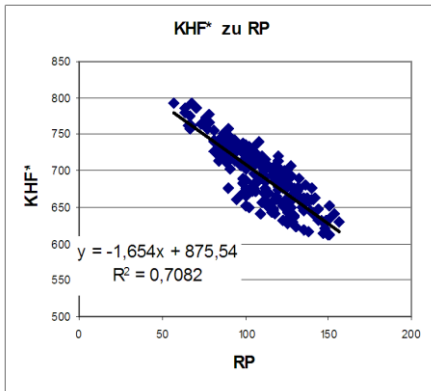


Abb. 2: Verhältnis RP zu KHF

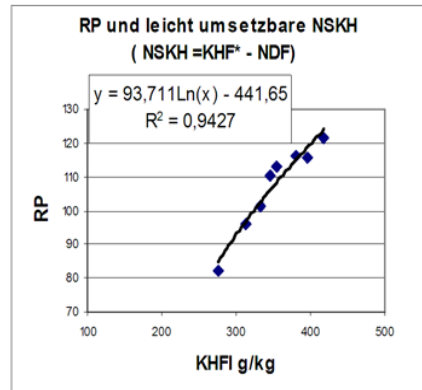


Abb. 3: Verhältnis RP zu NSKH

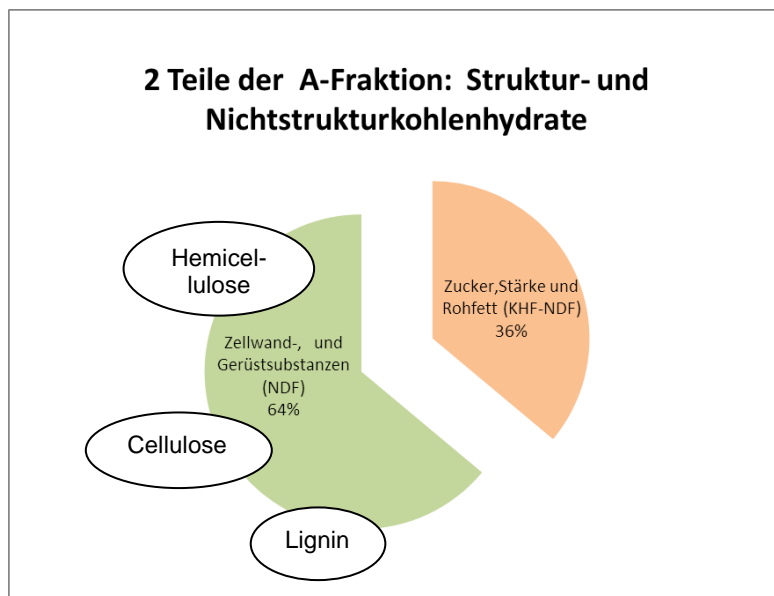


Abb. 4: Aufspaltung der Kohlenstoffhauptfraktion

Die Abb.4 zeigt die Aufspaltung einer kohlenhydratdominierten A-Fraktion (KHF) in eine Plasmafraktion mit Zucker, Stärke und Rohfett, sowie in eine Zellwandfraktion, in welcher Hemicellulosen, Cellulosen und Lignine lokalisiert sind. Die Abbildungen 5 und 6 zeigen in

Gegenüberstellung die Kohlenstoffhauptfraktionen (A-Fraktion, KHF) von Raufutter- (n= 236) und Maisproben (n=119), Werte in g/kg.

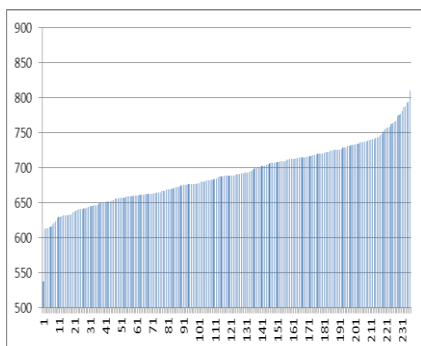


Abb. 5: A-Fraktionen (KHF) von Raufutter

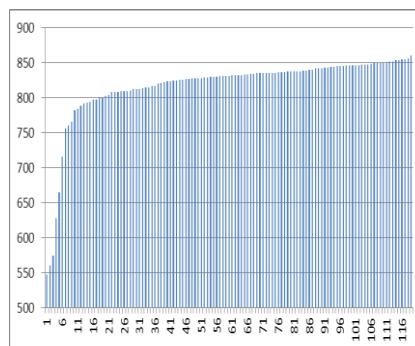


Abb. 6: A-Fraktionen (KHF) von Mais

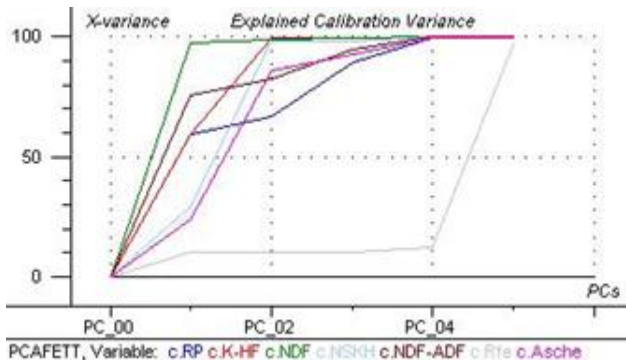
Die statistische Auswertung der Raufutterdaten von 236 untersuchten Proben ist in Tab. 1 dargestellt: Die mittlere Menge an Trockenmasse betrug 915,7 g/kg, jene an Rohprotein 110,9 g/kg und jene an Asche 114 g/kg. Der mittlere Wert der gravimetrisch bestimmten Neutralen Detergentienfaser (NDF) betrug 440,8 g/kg. Das C/N-Verhältnis des Futters schwankte zwischen 4,3 und 10,2

Raufutter g/kg, n=236	TM	KHF TM-RP- RA	RP	NDF	NSKH KHF- NDF	Rohasche	KHF/RP "C/N"
MIN	902,2	537,8	52,5	323,6	140,5	61,7	4,3
MITTEL	915,7	689,7	110,9	440,8	248,6	114,0	6,2
MAX	926,5	809,6	186,5	639,6	365,1	245,9	10,2

Tab. 1: RP, RA, KHF und Struktur- sowie Nichtstrukturkohlenhydrate

Aus diesen Grunddaten wurde eine Kohlenstoffhauptfraktion mit rund 690 g/kg und eine Fraktion von Nichtstrukturkohlenhydraten (NFC bzw. NSKH) von rund 250 g/kg ermittelt. Anhand der Bandbreiten wird die Heterogenität des Raufutters in verschiedenen Gebieten Österreichs deutlich. Die Bestimmbarkeit der Kohlenstoffhauptfraktion (KHF) sowie der Unterfraktionen von Cellulose und Lignin (NDF - ADF) und der Kohlenhydrate im Zellplasma (NSKH) mit Hilfe der Nahen-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) wird im Folgenden gezeigt (Abb.7 und 8): Um die Kohärenz von Rohprotein (RP), der Kohlen-

stoffhauptfraktion (KHF) und den Unterfraktionen (NSKH, NDF, NDF-ADF), Rohfett und Rohasche innerhalb der spektralen Datenmatrix darzustellen, wurde zunächst eine Prinzipielle Komponentenanalyse (PCA) durchgeführt:



Graphiklinien von links nach rechts:
 NDF
 NDF-ADF
 K-HF
 RP
 NSKH
 Rohasche
 Rohfett

Abb. 7: Prinzipielle Komponentenanalyse von Raufutterparametern

Zur Überprüfung der Erklärbarkeit in einem multiplen Zahlenmodell kann in einer sogenannten Loading Ellipse die Varianz der Daten bewertet und graphisch dargestellt werden.

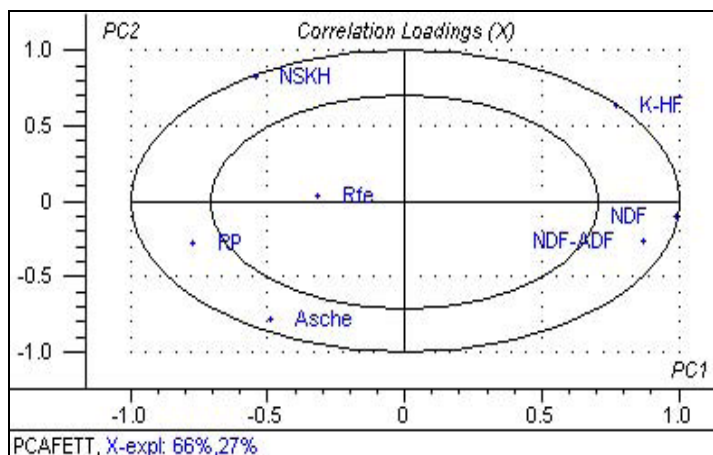


Abb. 8: Loading Ellipse für die NIR Datenmatrix

Bis zu 99 % erklärbar sind die gemessenen Futterbestandteile im äußeren Segment, im inneren kann eine Erklärbarkeit von > 60 % in Betracht gezogen werden. Wie den Abbildungen 7 und 8 zu entnehmen ist, stehen alle genannten Parameter in einem engen Zusam-

menhang. Demnach erwiesen sich in einem multiplen Modell die Kohlenstoffhauptfraktion (KHF), die Nichtstrukturkohlenhydrate (NSKH) und die Zellwandbestandteile (NDF) mit geringem Irrtum von weniger als 3 % erklär- und spektroskopisch messbar (Abb. 9 und 10). Einen geringen Einfluss zeigt der Anteil an Rohfett.

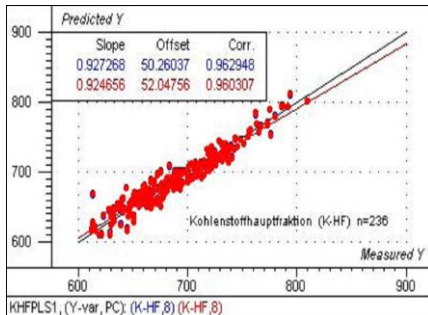


Abb. 9: PLS-Modell für KHF

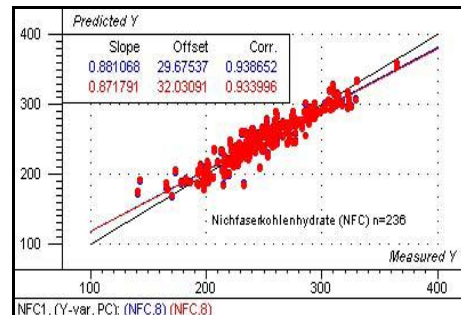


Abb.10: PLS-Modell für NSKH

4. Diskussion der Ergebnisse

Zur Unterteilung der pflanzlichen Biomasse kann neben den Hauptbestandteilen Rohprotein und Rohasche auch eine Kohlenstoffhauptfraktion (KHF) als Differenz von TM und RP sowie RA errechnet werden. Diese kohlenstoffbetonte Fraktion zeigt die prinzipiellen Unterschiede der einzelnen Futterarten aber auch innerhalb dieser deren Heterogenität. Auf der Basis dieser Rechengrößen bzw. der prognostizierten NIRS - Werte wurde die Fraktion der Nichtstrukturkohlenhydrate (NSKH) im Zellinhalt ermittelt. Eine prinzipielle Komponentenanalyse (PCA) zeigte die Erklärbarkeit der Kohlenstoffhaupt- und aller Unterfraktionen und weist diesen bei geringen Restvarianzen im gesamten Datensatz eine enge „innere“ Verwandtschaft aus. Die linearen Korrelationen von Nichtstrukturkohlenhydraten zu Rohprotein zeigten überraschenderweise, dass ein enger positiver Zusammenhang dieser Fraktionen besteht. Andererseits enthält Futter erwartungsgemäß umso weniger Rohprotein, je größer die Kohlenstoffhauptfraktion ist. Die C/N-Verhältnisse schwanken stark.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Einer Stickstoffhauptfraktion (Rohprotein, RP) wurde eine Kohlenstoffhauptfraktion (KHF) gegenübergestellt und diese weiter in Unterfraktionen des Zellplasmas und der Zellwand zerlegt. Die komplexe

Komposition der Pflanzenbiomasse kann auf diese Weise durch eine exakte Trennung in Stoffhauptgruppen und Unterfraktionen und durch räumlich Zuteilung in die Kompartimente der Pflanzenzelle einfach erklärt, analytisch ermittelt und wirtschaftsbezogen bewertet werden. Diese Hauptfraktion (KHF) kann chemisch oder spektroskopisch weiter in die Nichtstrukturbestandteile (NSKH) des Zellinhalts und Strukturbestandteile der Zellwand (NDF) zerlegt werden aber auch in funktioneller Hinsicht in rasch pansenverfügbaren Kohlenstoff und in die erst noch aufzuschließenden, kohlenhydratreichen Bestandteile. Bestehende Analysenkonzepte könnten als Synthese der WEENDER-Analyse, des CORNELL-Systems und der NIRS durch die Ergänzung mit einer Kohlenstoffhauptfraktion (KHF) und einer Zuordnung der Unterfraktionen erweitert werden.

Es wurde versucht, mit einem 3-teiligen Grundansatz und einer exakten räumlichen Zuordnung von bekannten, chemisch- bzw. spektroskopisch ermittelten Pflanzenparametern dem botanischen Aufbau der pflanzlichen Biomasse weitgehend zu entsprechen und einen Beitrag zu einer zeitgemäßen, kognitiven Konsonanz zwischen Botanik, Analytik und Fütterungslehre zu leisten. Die spektroskopische Analyse der Kohlenhydratfraktionen KHF, NSKH und NDF sowie deren weitere Unterteilung machten den Zusammenhang von analytischem Ergebnis, der natürlichen Verteilung des Kohlenstoffs sowie dessen Funktionalität im Zellplasma und in der Zellwand deutlich.

6. Literaturangaben

- Bakker J., 2011: Persönliche Mitteilung: Calibration system for NIRS - analysis at BLGG AgroXpertus, September 9th 2010.
- Gruber, L., 2010: Schwachpunkte und Neuerungen bei der Kohlenhydratbewertung-Faser: Forum angewandte Forschung 24./25.03.
- Resch, R., 2011, persönliche Mitteilungen
- Sniffen, C. J., J. D. O'Connor, P. J. Van Soest, D. G. Fox, and J. B. Russell., 1999: A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. *J Anim Sci.* 70:3562-3577.
- Stohmann, F., Henneberg W., 1860 u. 1864: Beiträge zur Begründung einer Rationellen Fütterung der Wiederkäuer. Praktisch-landwirtschaftliche und physiologische Untersuchungen (Heft 1 und 2 , Braunschweig 1860 und 1864.
- Wenzl, W. und Gruber L., 1995: Ligninbestimmung mit der NIRA-Methode: 107. VDLUFA Tagung Garmisch-Partenkirchen, Kongressband 981-984.