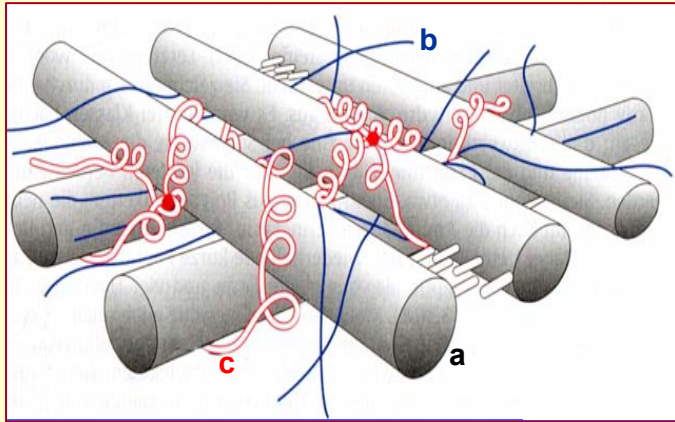


Schwachpunkte und Neuerungen bei der Kohlenhydratbewertung – Faser



Univ.-Doz. Dr. Leonhard Gruber

LFZ Raumberg-Gumpenstein, Institut für Nutztierforschung

10. Forum angewandte Forschung in der Rinder- und Schweinefütterung

24. und 25. März 2010, Fulda

Übersicht

1. Einleitung

2. Chemische Zusammensetzung der Gerüstsubstanzen

3. Analyse der Gerüstsubstanzen

4. Bedeutung der Gerüstsubstanzen in der Ernährung der Wiederkäuer

- Anwendung im Cornell-System
- Physikalische Regulation der Futteraufnahme durch NDF
- Beurteilung der Wiederkäuergerechtheit durch peNDF

5. Schlussfolgerungen

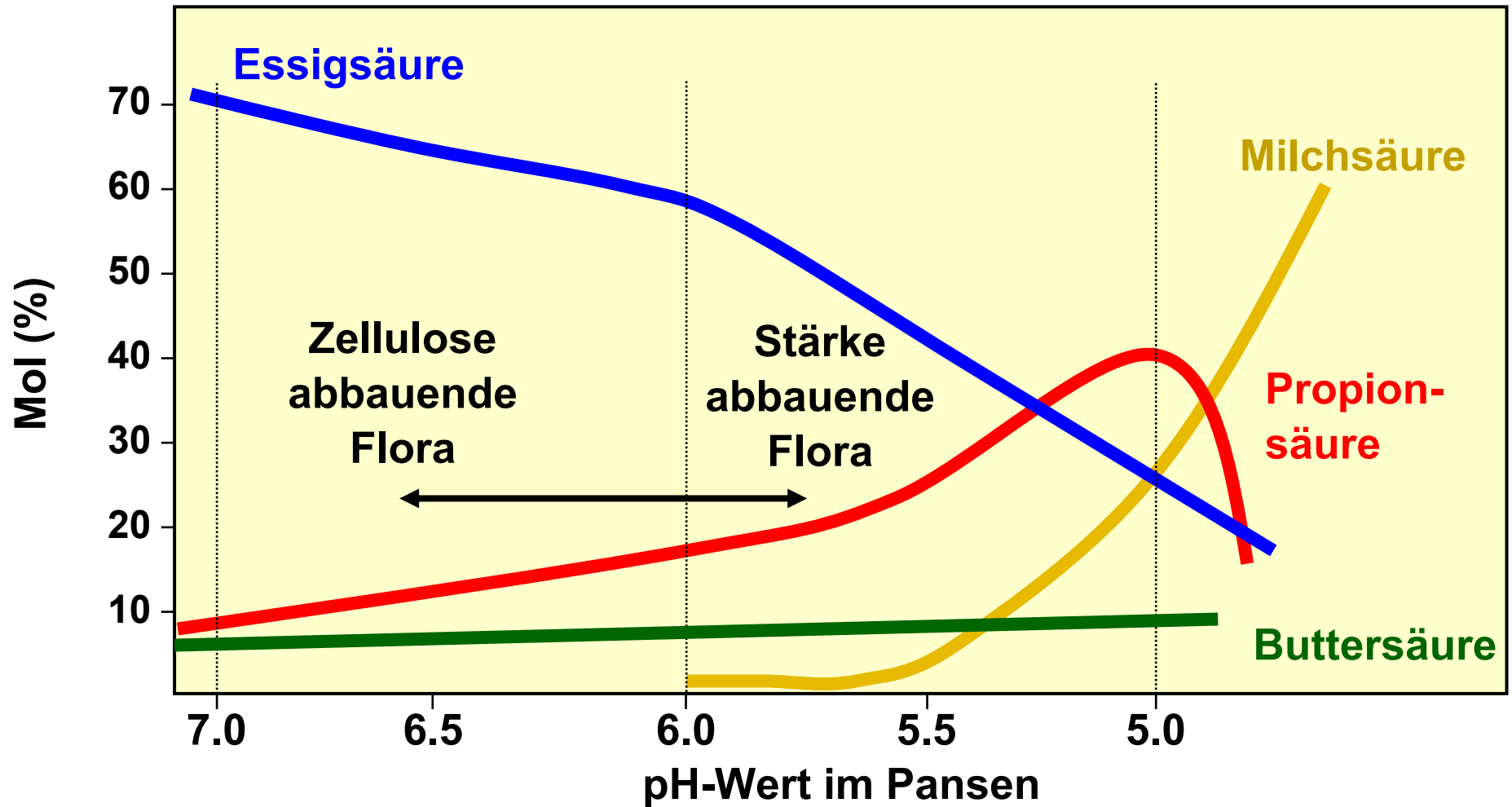
Einleitung

Ziel ist wiederkäuergerechte Fütterung



(nach KAUFMANN 1979)
(„Füttern mit Verstand“, LWK Schleswig-Holstein)

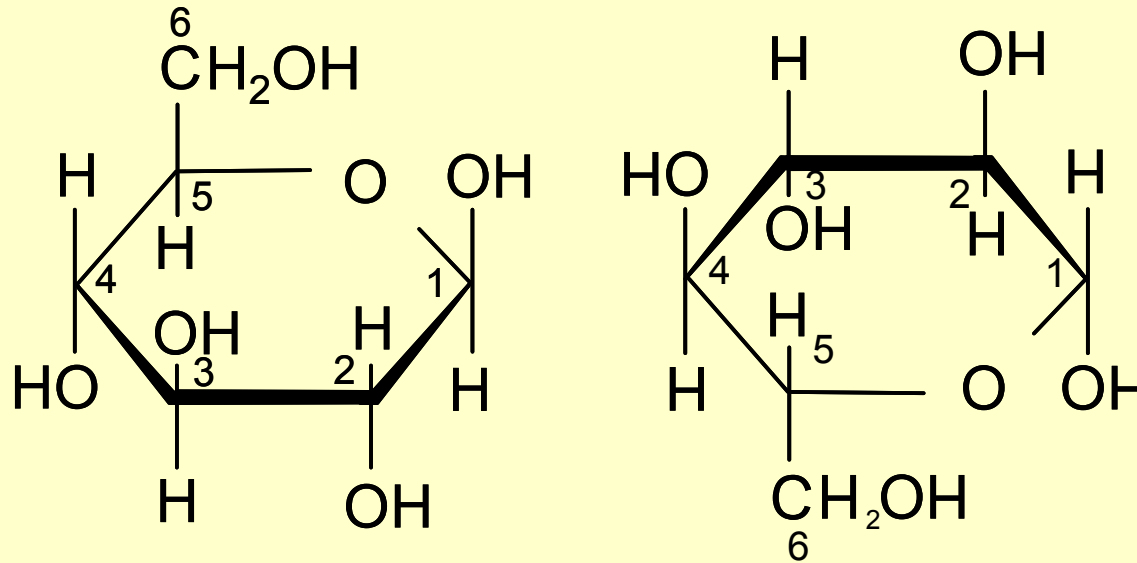
Ruminale Fermentation als Folge der Anpassung an die pH-Regulation



(nach KAUFMANN et al. 1980)

Chemische Zusammensetzung der Gerüstsubstanzen

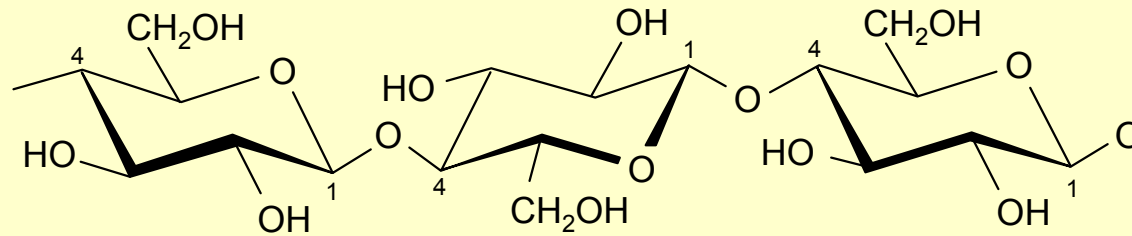
β -1-4-glukosidische Bindung \rightarrow Zellulose



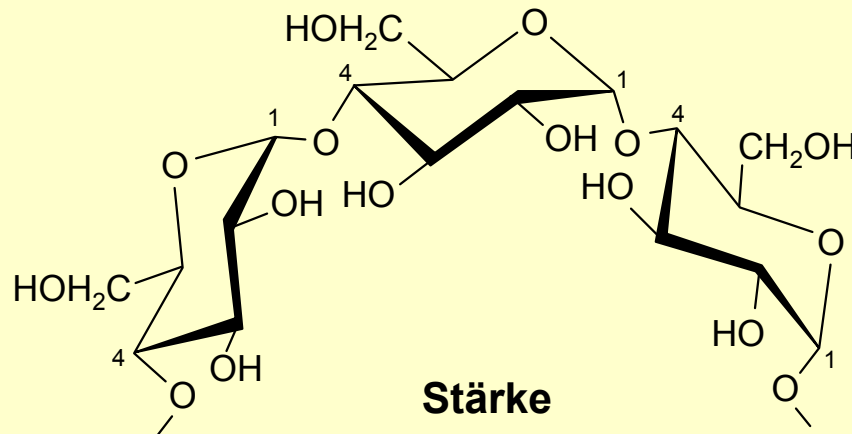
Ringschreibweise (nach Haworth)

(nach NULTSCH 2001, KARLSON et al. 2005)

Zellulose (β -1-4-Bindung) und Stärke (α -1-4-Bindung)



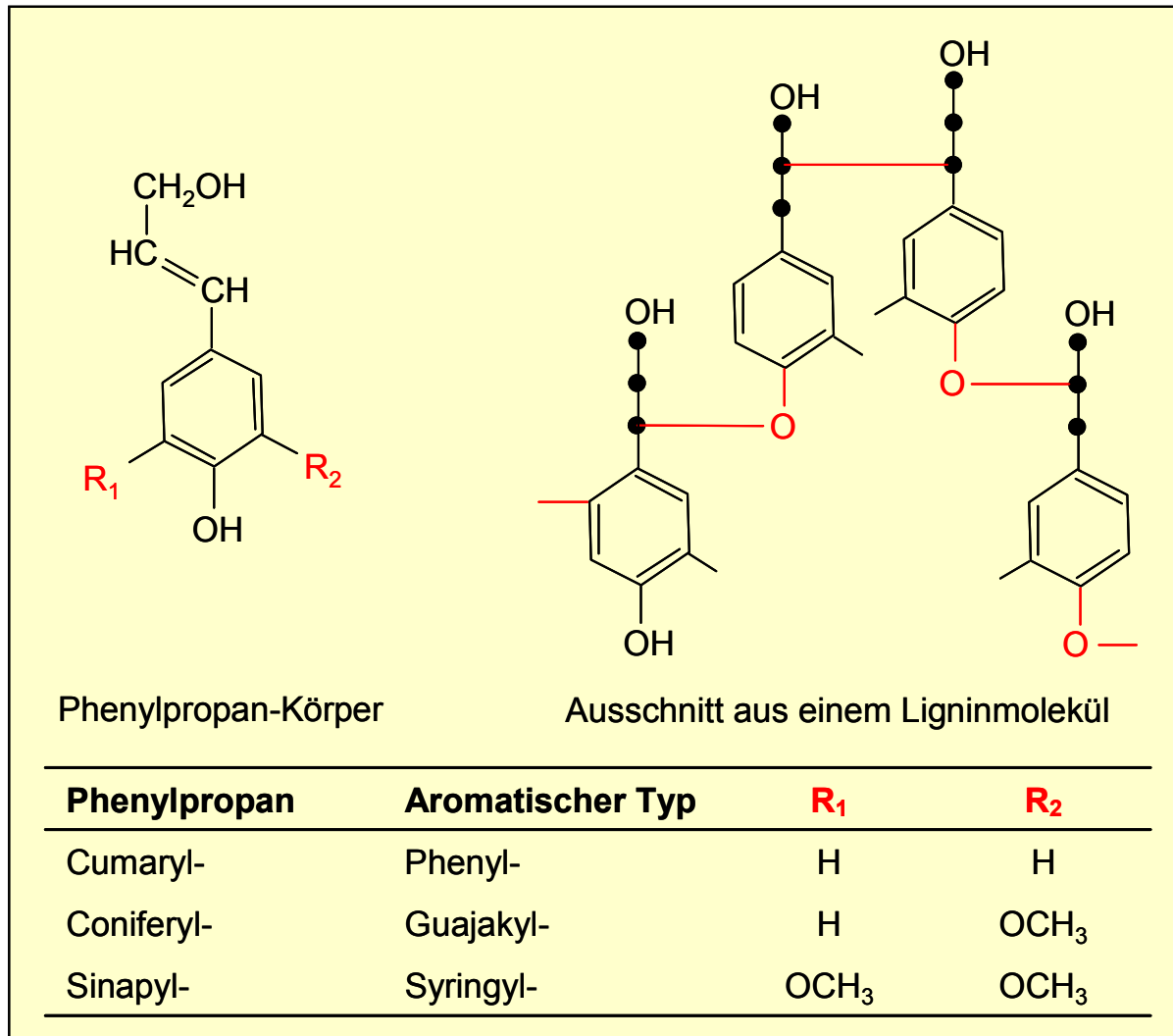
Zellulose



Stärke

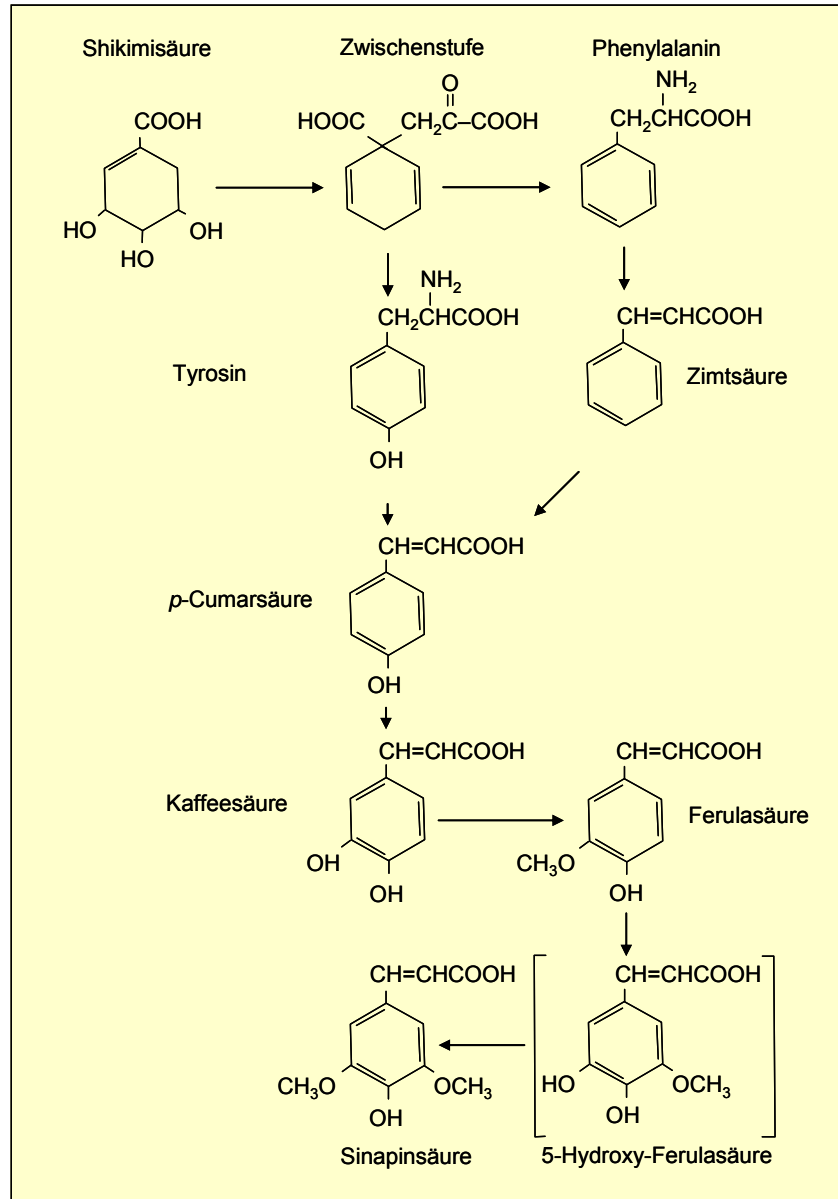
(nach NULTSCH 2001, KARLSON et al. 2005)

Struktur und Substitutionsmuster des Lignins



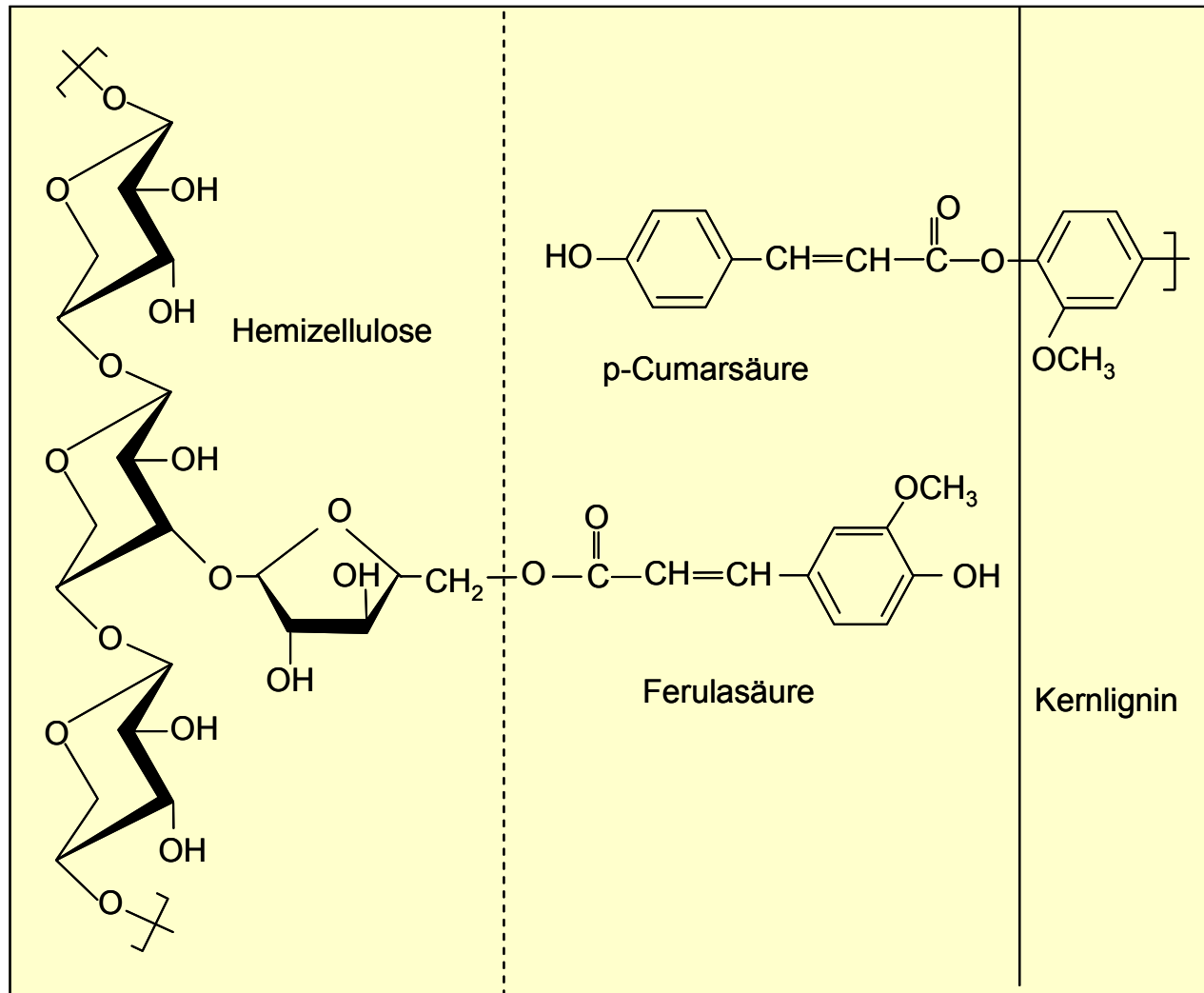
(nach OESTMANN et al. 1995, NULTSCH 2001)

Synthese von Lignin-Monomeren (Shikimisäure-Weg)



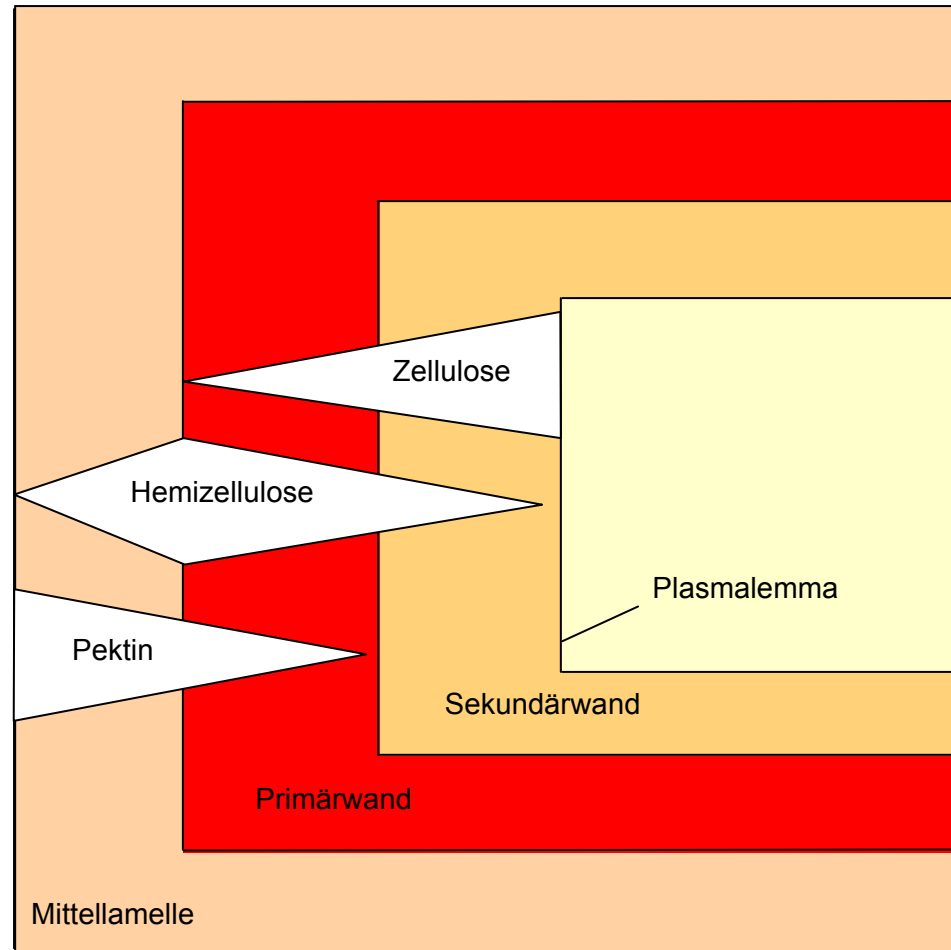
(nach OESTMANN et al. 1995)

Bindungen von p-Cumarsäure und Ferulasäure zu anderen Zellwandkomponenten



(nach JUNG 1989)

Modell der Zellwand nach Franz



Primärwand: 10-25 % Zellulose, 25-50 % Hemizellulose, 10-35 % Pektin, 10 % Protein

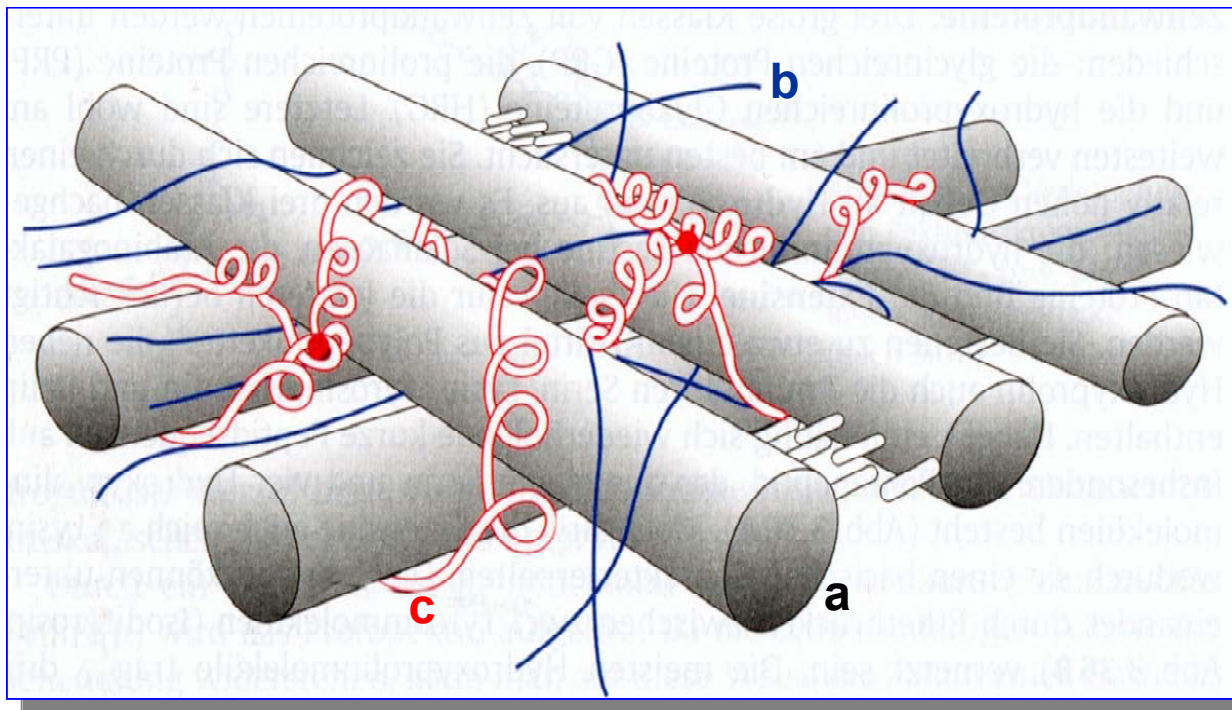
Sekundärwand: 40-80 % Zellulose, 10-40 % Hemizellulose, 5-25 % Lignin

(nach FRANZ 1991)

Modell der Zellwand nach Albersheim

Fasern sind polymere pflanzliche Substanzen, die von den Verdauungsenzymen der Säugetiere nicht gespalten werden können (Van Soest 1980) –

Bestandteile: Zellulose, Hemizellulose, Lignin, Pektin, Gummi, Galaktane etc.



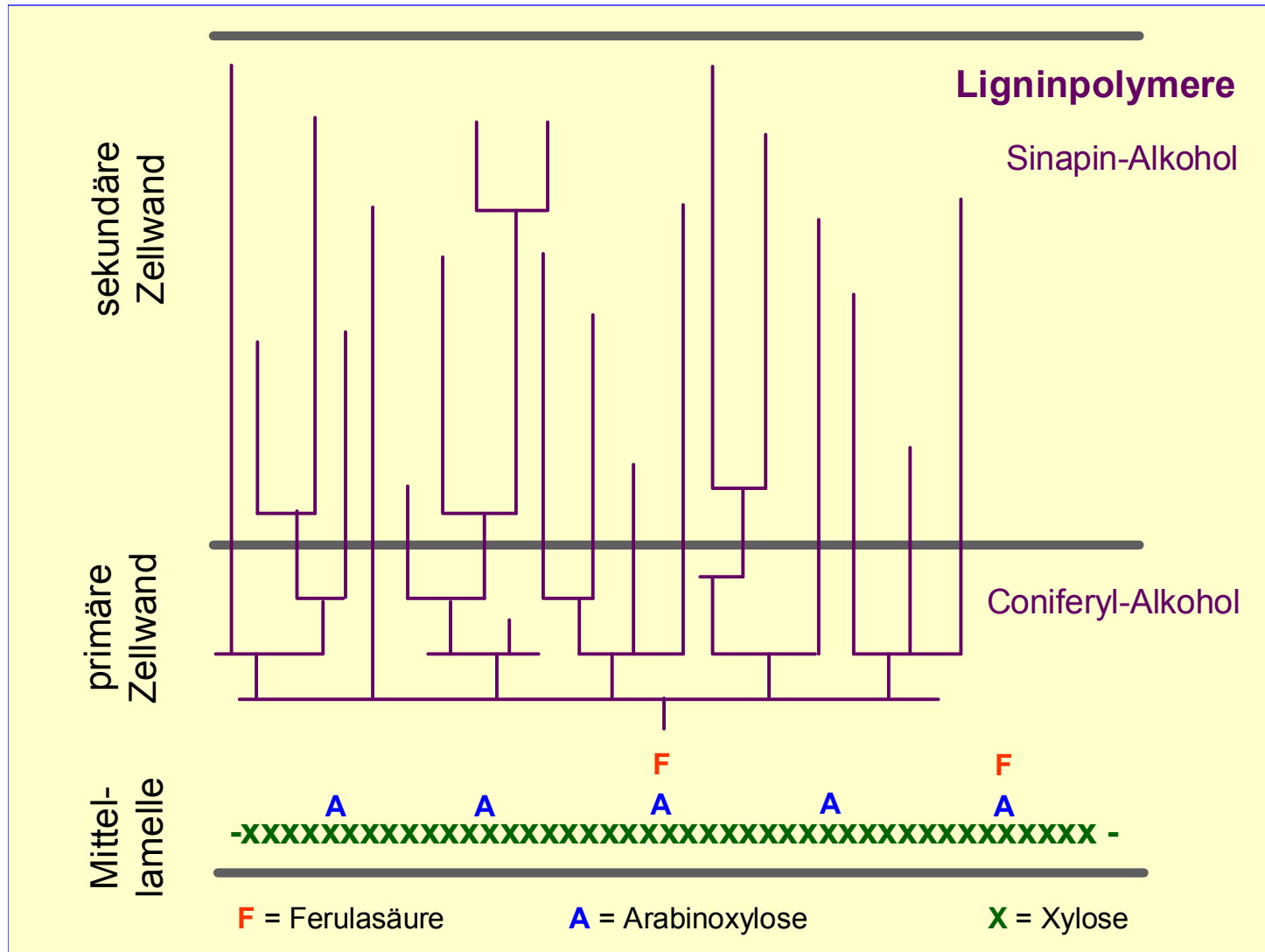
a = Zellulose

b = Hemizellulose

c = Zellwandprotein

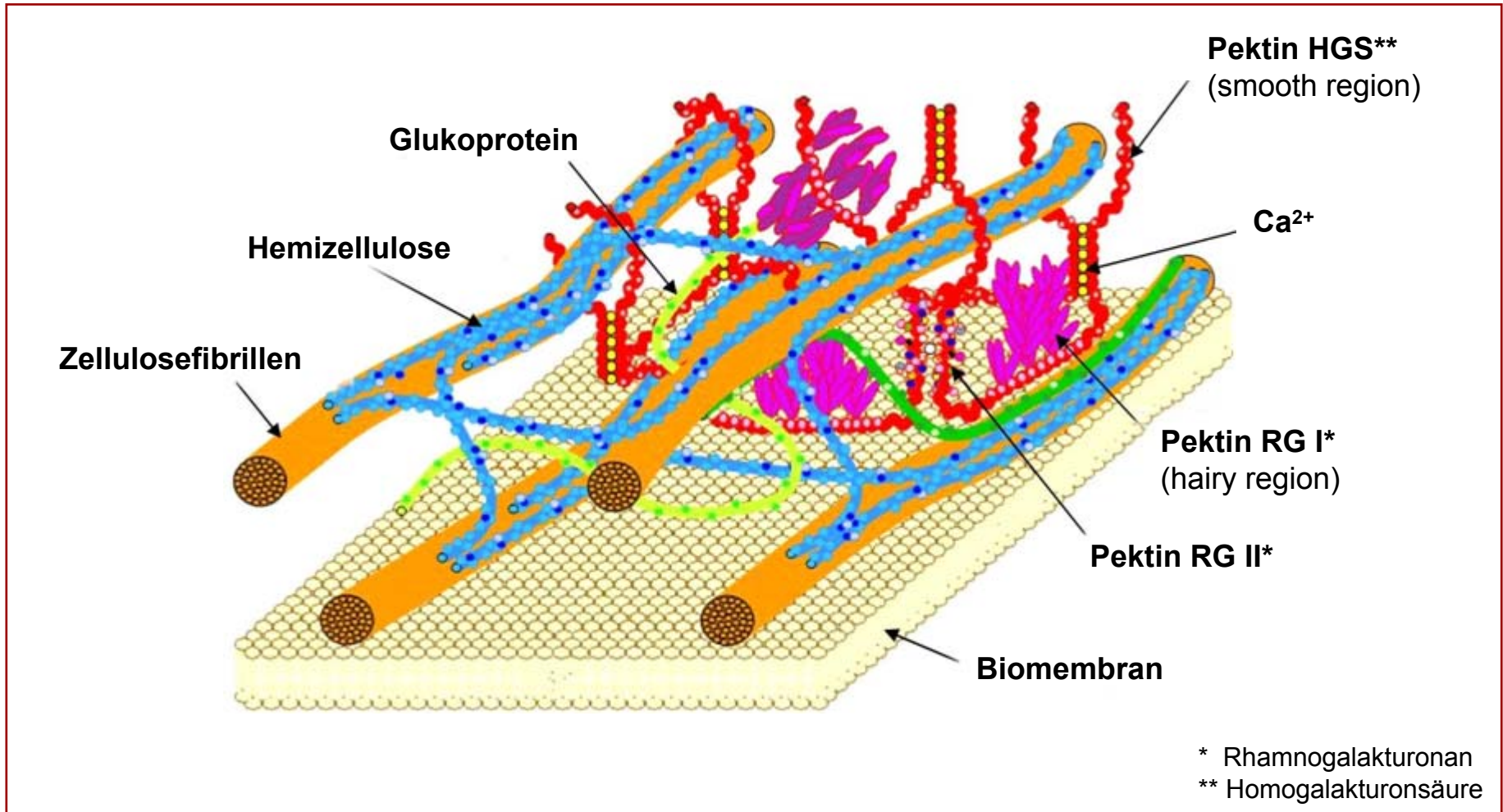
(NULTSCH 2001)

Lignifizierung der Zellwand



(nach JUNG & DEETZ 1993)

Aufbau der pflanzlichen Primärwand



Hauptbestandteile:

Zellulose, Hemizellulosen, Pektin, Glukoproteine

(nach FISCHRGÄBE, Münster)

Chemie und Aufbau der Zellwand (1)

Zellulose: lineares, unverzweigtes Polymer aus 10.000–15.000 Glukosemonomeren
 β -1.4-glykosidische Bindung (dafür kein Enzym bei Säugetieren)
Organisation in Fibrillen
mit Lignin in Sekundärwand assoziiert → Verdaulichkeit
Lösung durch konzentrierte Schwefelsäure

Hemizellulose: heterogenes Gemisch aus

- Pentosanen (Xylose, Arabinose) und
- Hexosanen (Glukose, Galaktose, Mannose)

kurze und teilweise verzweigte Ketten
Hauptmasse der Zellwandmatrix
chemische Bindung mit Lignin

Pektin: Mischpolymerisat hauptsächlich aus Pektinsäure
Pektinsäure = D-Galakturonsäure, Carboxyl-Gruppen methyliert
Verbindungen mit Rhamnose, Galaktose, Arabinose etc.
Hauptmasse der Interzellulärsubstanz
elastisches, leicht veränderliches Gerüstwerk (COOH – Ca, Mg)
gelartiger Charakter, hydrophil, leicht wasserlöslich

Chemie und Aufbau der Zellwand (2)

Lignin: phenolisches Makromolekül aus verschiedenen Phenylpropanen
Zusammensetzung der Grundbausteine abhängig von Pflanzenart

3 Grundmoleküle:

Cumaryl-, Coniferyl- und Sinapyl-Alkohol (Kernlignin)

Einlagerung von Lignin in interfibrilläre Räume der Zellwand

Verknüpfungen mit Kohlenhydraten durch kovalente Bindungen

Quervernetzungen durch phenolische Säuren

(Ferula- und Hydroxyzimtsäure) **mit Hemizellulose**

Komponenten des Lignins nicht vollständig bekannt (Van Soest 1994)

Lignin entscheidet über Verfügbarkeit der Pflanzenzellwände (Inkrustierung)

Lösung des Lignins durch Ca-Bisulfit → Zellstoff

Chemie und Aufbau der Zellwand (3)

Zellwandprotein: 3 Klassen →

glycinreiche Proteine (GRP)

prolinreiche Proteine (PRP)

hydroxyprolinreiche Glukoproteine (HRP), bes. Extensine

Extensin: Polypeptidketten aus Hydroxyprolin

sowie Serin, Lysin, Tyrosin, Histidin, Valin

3 – 4 Seitenketten aus Arabinose und Galaktose (→ Glukoproteine)

keine kovalenten Bindungen an CHO der Gerüstsubstanzen

→ selbständiges Gerüst, in Gerüst der Zellulosefibrillen integriert

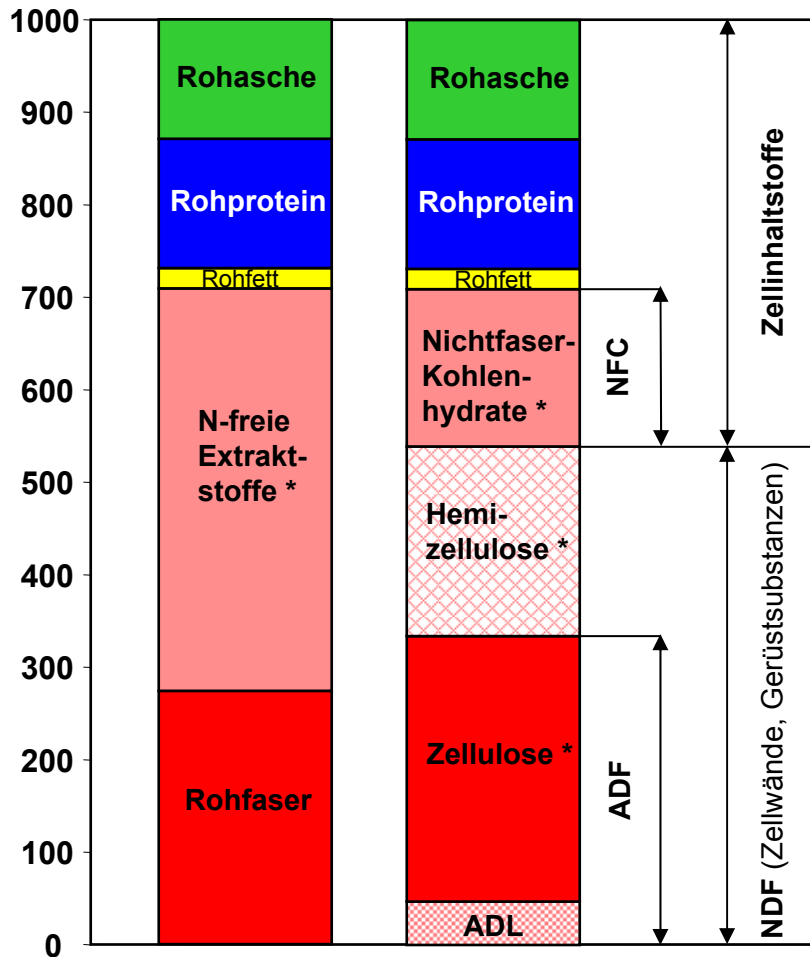
→ Primärwand ist gewebeartige Struktur aus Zellulose-Mikrofibrillen, welche die Maschen des Extensinnetzes durchdringen, eingebettet in ein Pektin-Hemizellulose-Gel (Nultsch 2001)

Analyse der Gerüstsubstanzen

Charakterisierung der Kohlenhydrate

Weender-Analyse

Detergenzien-Analyse



* durch Differenz errechnet

Annahme der Weender Analyse:

Rohfaser = Gerüstsubstanzen, niedrige Verdaulichkeit

N-freie Extraktstoffe = leichtverdauliche Kohlenhydrate (Nichtfaser)

Problem:

Rohfaser beschreibt Gerüstsubstanzen nicht genau:

- Erfasst nicht die gesamte Faser (Hemizellulose)
- Teil des Lignins gelöst (→ NfE!)
- Zusammensetzung der Gerüstsubstanzen variiert je nach Spezies (Gräser, Leguminosen, Umbelliferen)

Gerüstsubstanzen (Faser):

Nach Van SOEST (1982, 1994):

In ND-Lösung unlösliche Matrix, dafür keine Enzyme bei Säugetieren

NDF: Zellulose, Hemizellulose, Lignin

Zellulose: ADF – ADL

Hemizellulose: NDF – ADF

Rohfaser

**Rückstand nach Kochprozess
mit Säure und Lauge**

**Kochen mit 1,25 % H_2SO_4 , 30 min
Kochen mit 1,25 % KOH, 30 min**

**Fettlösung mit Azeton
Rückstand veraschen**



Gerüstsubstanzen NDF, ADF, ADL

NDF: Lösung der Zellinhaltsstoffe, Gewinnung der Zellwände

Reagens A: Na-Lauryl-Sulfat, EDTA, Triethylen-Glykol, Borax (Puffer)

Reagens B: Na_2HPO_4 (Puffer)

Kochen mit Mischung von Reagens A + B, 60 min

Fettlösung mit Azeton

Rückstand veraschen (\rightarrow NDFom)

Probleme: • **Schaumbildung und Filtration**

- **Störung durch Stärke**

 - \rightarrow Beseitigung durch Amylase \rightarrow aNDF

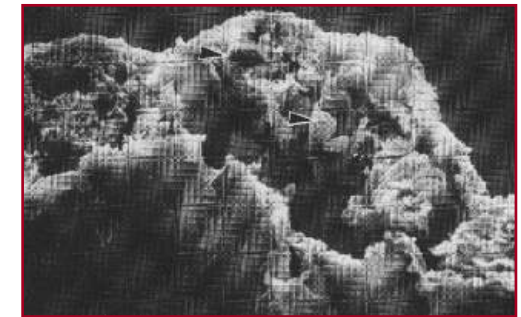
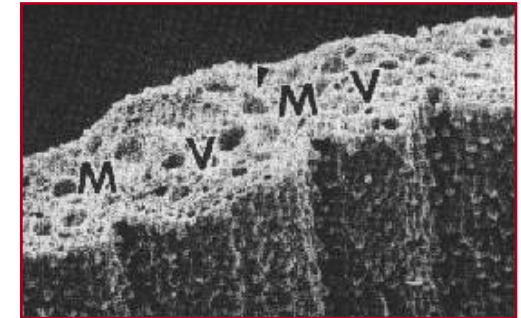
- **Störung durch Protein**

 - \rightarrow Beseitigung durch Na-Sulfit \rightarrow nur bei Bedarf, nicht bei CNCPS! \rightarrow Zellwandprotein

- **Störung durch Fett** (Ethanol)

 - \rightarrow **Van Soest et al. 1991, Mertens 2002**

Zellwand vor und nach Verdauung



Blatt von Bermudagrass
Rasterelektronenmikroskop
Vergrößerung 240 \times
(Wattiaux 1998, nach Akin 1986)

ADF: Lösung der Hemizellulose \rightarrow Zellulose als Differenz

Reagens: konz. H_2SO_4 und

CTAB (Cetyl-Trimethyl-Ammonium-Bromid)

Kochen 60 min

ADL: Lösung der Zellulose mit 72 % H_2SO_4 \rightarrow Lignin als Differenz

Kritikpunkte an der Rohfaseranalyse

- **Hemizellulose geht in Lösung**
- **teilweise Lösung des Lignins**
- **auch geringe Teile der Zellulose in Lösung**
 - **Rohfaser ist nur Teil der Faser!**

- **Anteile von Zellulose, Hemizellulose und Lignin an der Gesamtfaser stark abhängig von Pflanzenspecies (Gräser, Leguminosen, Umbelliferen)**
 - **Umrechnung von Rohfaser in Gerüstsubstanzen nicht möglich**

- **Löslichkeit von Zellulose, Hemizellulose und Lignin bei Rohfaser-Bestimmung stark abhängig von Pflanzenspecies**
 - **NfE sind fehlerhaft!**
 - Enthalten nicht nur Nichtfaser-Kohlenhydrate, sondern Hemizellulose und Teile des Lignins, daher Verdaulichkeit der NfE z.T. niedriger als der Rohfaser**

Bioverfügbarkeit von Nährstoffen des Grundfutters

Nährstoff	wahre Verdaulichkeit (%)	begrenzender Faktor ¹⁾
Klasse 1: vollständig verfügbar		
Lösliche Kohlenhydrate	100	Futteraufnahme
Stärke	> 90	Passage mit Kotverlusten
organische Säuren	100	Futteraufnahme und Toxizität
Protein	> 90	Fermentation ²⁾
Pektin	98	Fermentation ³⁾
Klasse 2: teilw. nicht verfügbar wegen Lignifizierung		
Zellulose	variabel ⁴⁾	Lignifizierung, Silifizierung
Hemizellulose	variabel ⁴⁾	und Kutinisierung
Klasse 3: nicht verfügbar		
Lignin	unverdaulich	Begrenzung
Kutin	unverdaulich	der Verwertung
Silicium	unverdaulich	der Zellwände
Tannine und Polyphenole	nicht verfügbar	behindern Proteasen und Zellulasen

¹⁾ Erstlimitierender Faktor bezüglich Verwertung durch das Tier und bezüglich Response

²⁾ Verluste durch Fermentation zu FFS und NH₃ möglich

³⁾ Verwertung des Pektins nur durch mikrobielle Fermentation (wie Zellulose und Hemizellulose)

⁴⁾ Fermentierbarkeit von Zellulose und Hemizellulose durch Lignifizierung begrenzt

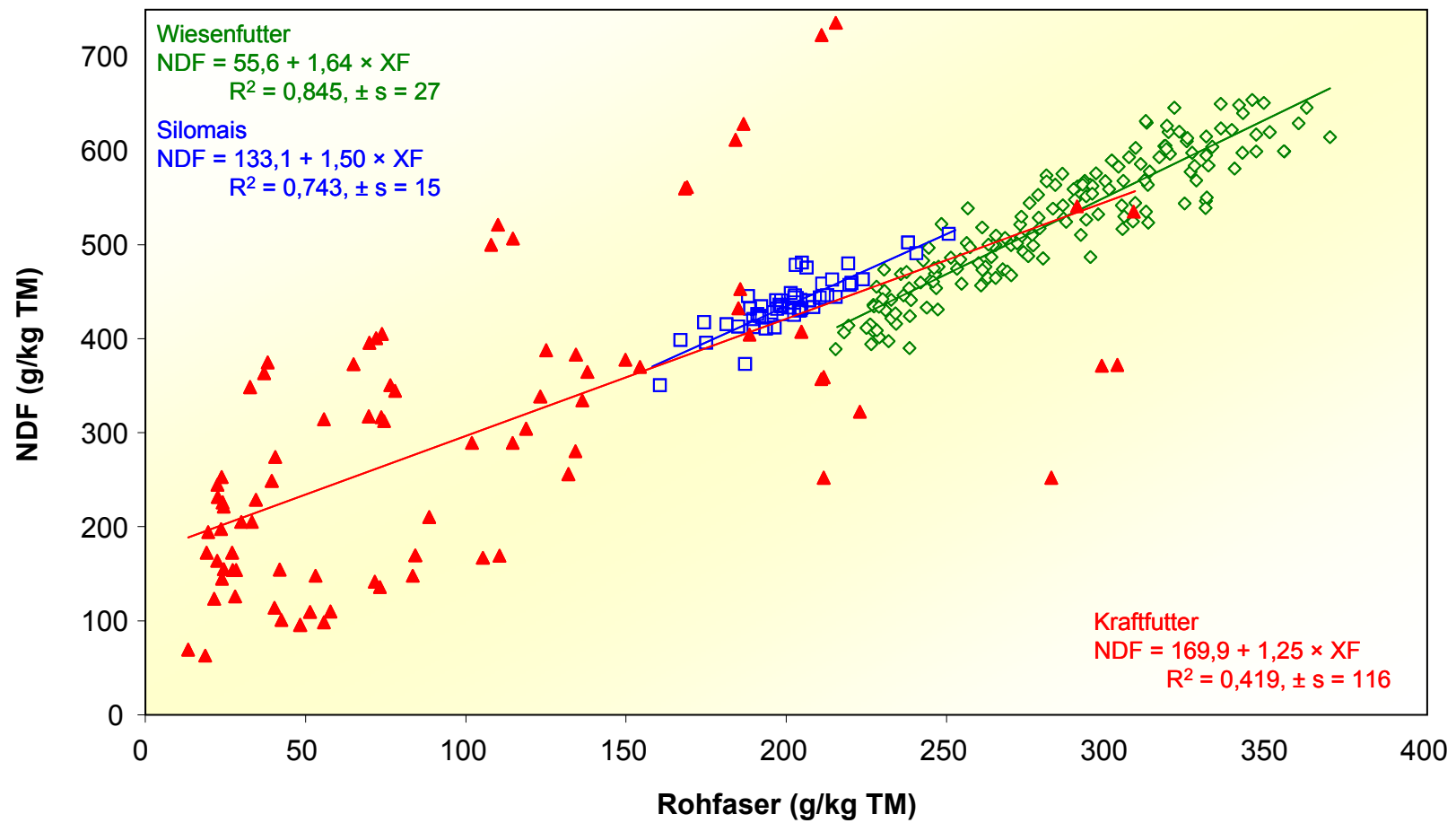
(VAN SOEST 1994)

Anteile von Lignin, Hemizellulose und Zellulose, die bei Rohfaserbestimmung gelöst werden

Klasse	Lignin	Hemizellulose	Zellulose
Gräser			
Mittel	82	76	21
<i>Bereich</i>	53 - 90	64 - 89	5 - 29
Leguminosen			
Mittel	30	63	28
<i>Bereich</i>	8 - 62	21 - 86	12 - 30
Sonstige			
Mittel	52	64	22
<i>Bereich</i>	10 - 84	43 - 84	7 - 32

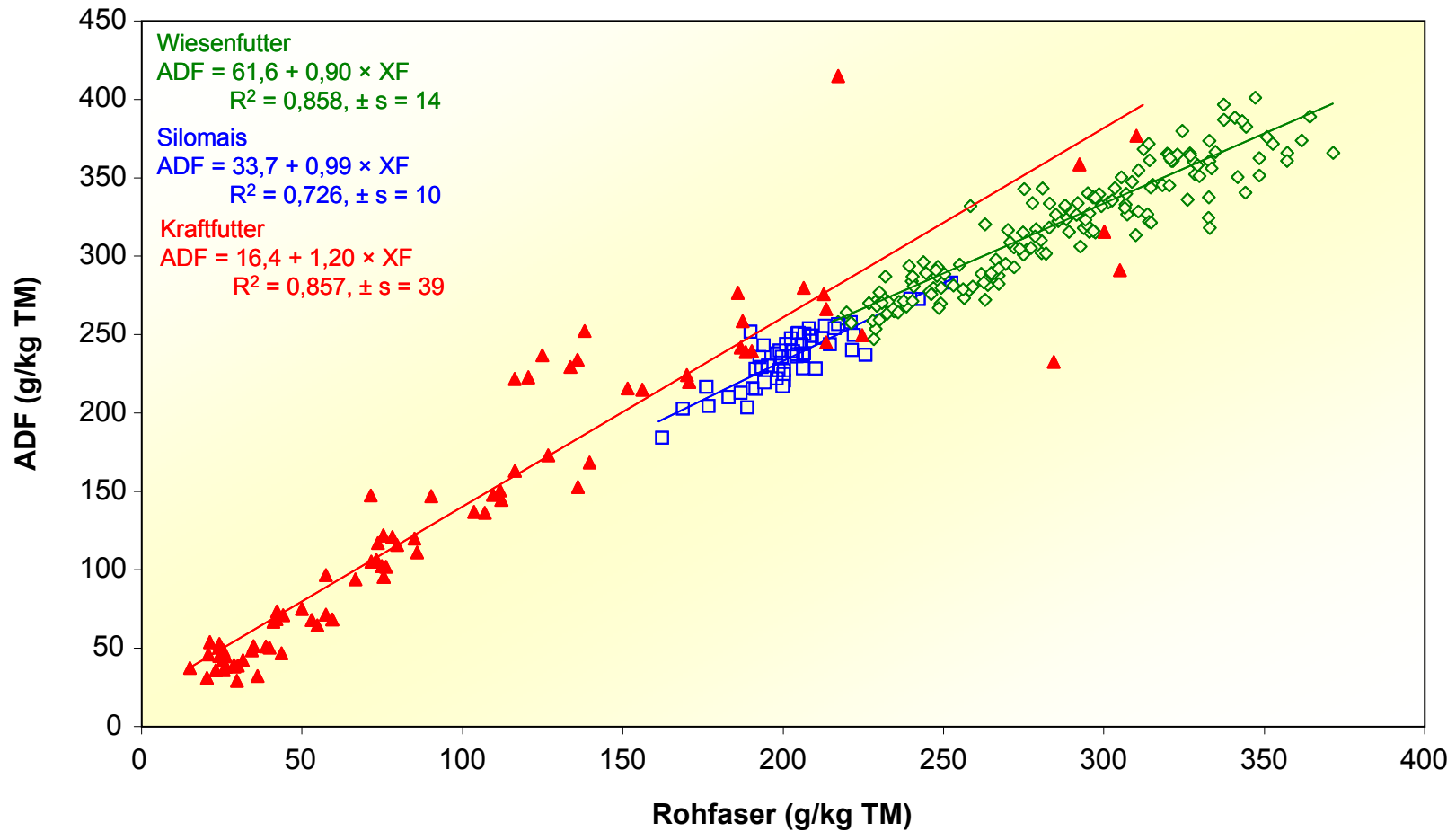
(VAN SOEST 1994)

Beziehungen zwischen Rohfaser und NDF



◇ Wiesenfutter Gruber et al. 2006a	□ Silomais Gruber et al. 2006b	▲ Krafftutter Gruber et al. 2005
---------------------------------------	-----------------------------------	-------------------------------------

Beziehungen zwischen Rohfaser und ADF

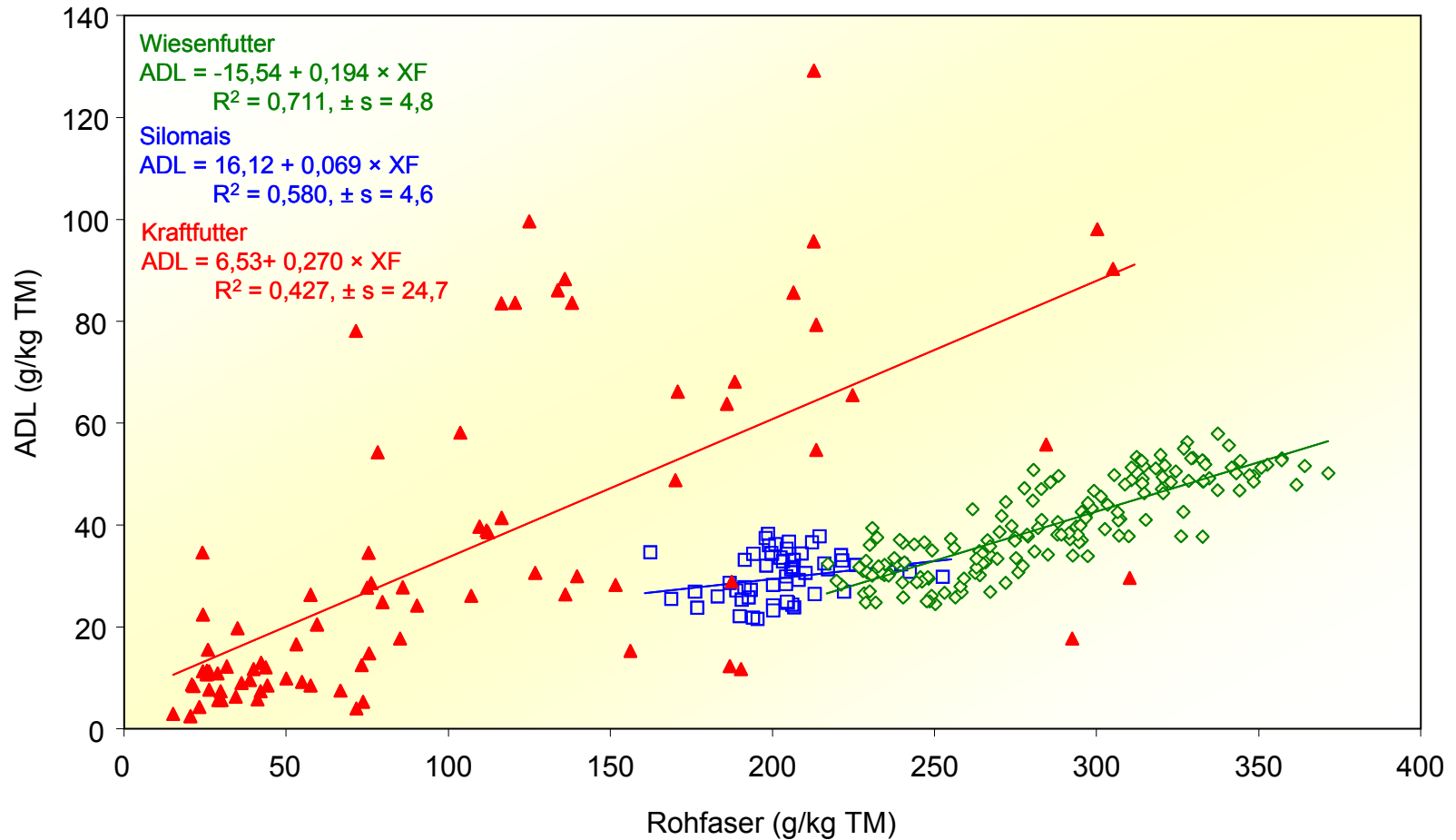


◇ Wiesenfutter
Gruber et al. 2006a

□ Silomais
Gruber et al. 2006b

▲ Krafftutter
Gruber et al. 2005

Beziehungen zwischen Rohfaser und ADL



◇ Wiesenfutter
Gruber et al. 2006a

□ Silomais
Gruber et al. 2006b

▲ Krafftutter
Gruber et al. 2005

Bedeutung der Gerüstsubstanzen in der Ernährung der Wiederkäuer

Fraktionierung der Kohlenhydrate nach dem CNCPS (I) (➡ nach Abbauraten im Pansen)

$$\text{CHO} = 1000 - \text{XP} - \text{XL} - \text{XA}$$

4 Fraktionen

Fraktion A: Zucker und flüchtige Substanzen

Fraktion B₁: Stärke und Pektine

Fraktion B₂: verdauliche Faserkohlenhydrate

Fraktion C: unverdauliche Faser

1. Faser-Kohlenhydrate (FC): Zellulose, Hemizellulose, Lignin

$$\text{Fraktion C} = \text{ADL} \times 2,4$$

$$\text{Fraktion B}_2 = \text{NDF} - \text{NDIP} - \text{C}$$

$$\text{FC} = \text{B}_2 + \text{C}$$

2. Nichtfaser-Kohlenhydrate (NFC): Zucker, Stärke, (Pektin)

$$\text{NFC} = \text{CHO} - \text{FC}$$

Fraktionierung in A und B₁ nach CNCPS-Tabelle (Feed Library)

$$\text{Fraktion A} = \text{NFC} \times \text{A}\%$$

$$\text{Fraktion B}_1 = \text{NFC} - \text{A}$$

(SNIFFEN et al. 1992)

Fraktionierung der Kohlenhydrate (II)

Modifikation nach LANZAS et al. (2007) → 8 Fraktionen

4 A-Fraktionen: A_1 = flüchtige Fettsäuren
 A_2 = Milchsäure
 A_3 = weitere organische Säuren
 A_4 = Zucker

3 B-Fraktionen: B_1 = Stärke
 B_2 = lösliche Faser
 B_3 = abbaubare NDF

1 C-Fraktion: nicht-abbaubare NDF

(LANZAS et al. 2007)

Fraktionierung des Proteins nach dem CNCPS (➡ nach Abbauraten im Pansen)

$$XP = \text{Kjeldahl-N} \times 6,25$$

5 Fraktionen

Fraktion A: sofort und vollständig abbaubares Protein (NPN)

Fraktion B₁: rasch abbaubares, lösliches echtes Protein (Albumin, Globulin)

Fraktion B₂: Protein mit mittlerer Abbaurrate (Glutelin)

Fraktion B₃: langsam abbaubares Protein (Extensin, Prolamin)

Fraktion C: unabbaubares Protein (nicht verfügbar, an Zellwand gebunden)

Lösliches Protein: Phosphat-Borat-Puffer (SolXP)

(nach Krishnamoorthy et al. 1982, Licitra et al. 1996)

Lösliches echtes Protein: Präzipitieren mit Trichlor-Essigsäure

$$\text{NPN} = \text{SolXP} - B_1$$

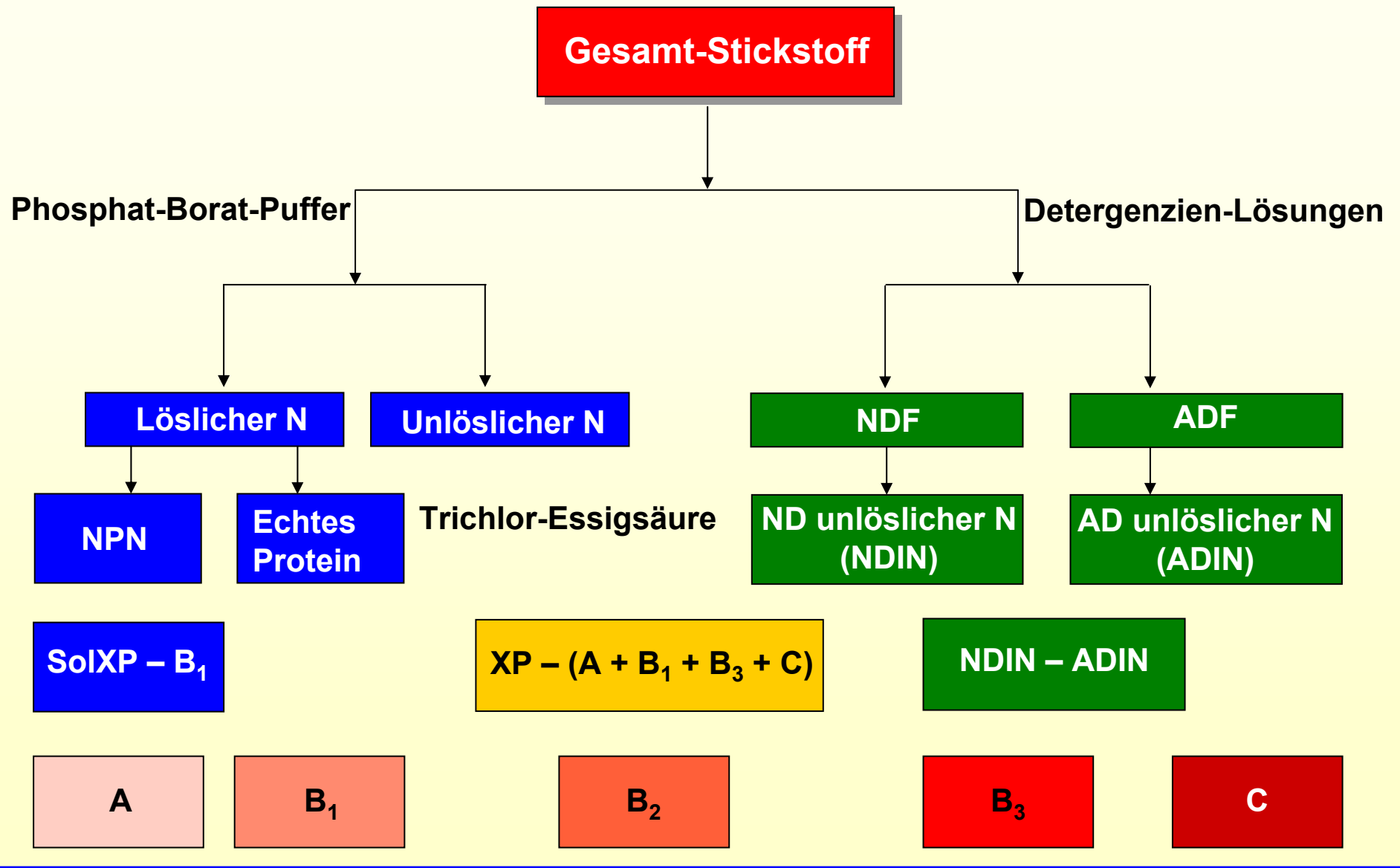
NDIP: in Gerüstsubstanzen gebundener N

ADIP: unabbaubares Protein (C)

$$B_3 = \text{NDIP} - \text{ADIP}$$

$$B_2 = XP - (A + B_1 + B_3 + C)$$

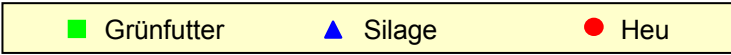
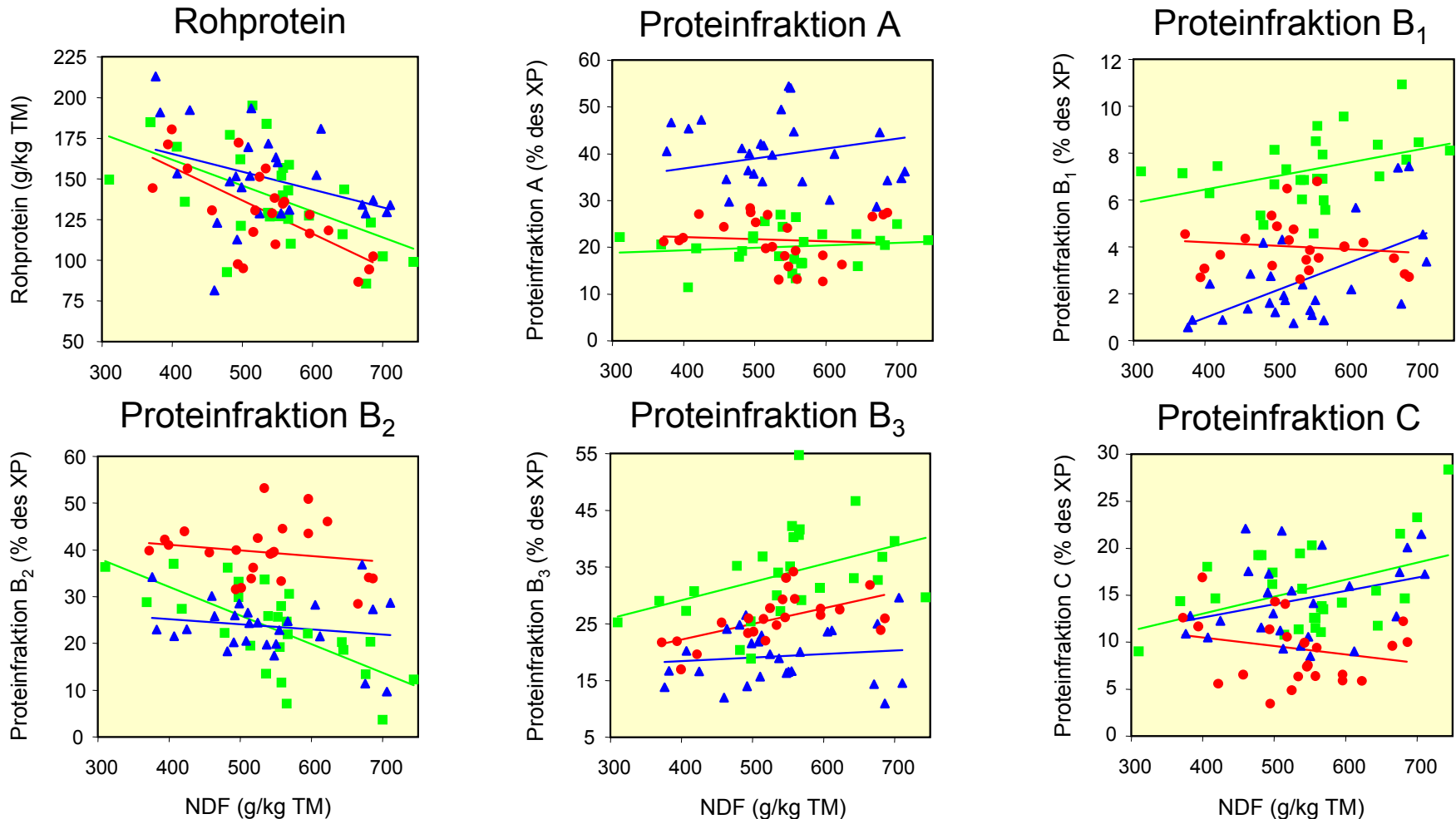
Stickstoff-Fraktionen im CORNELL-System



Gruber (2001)

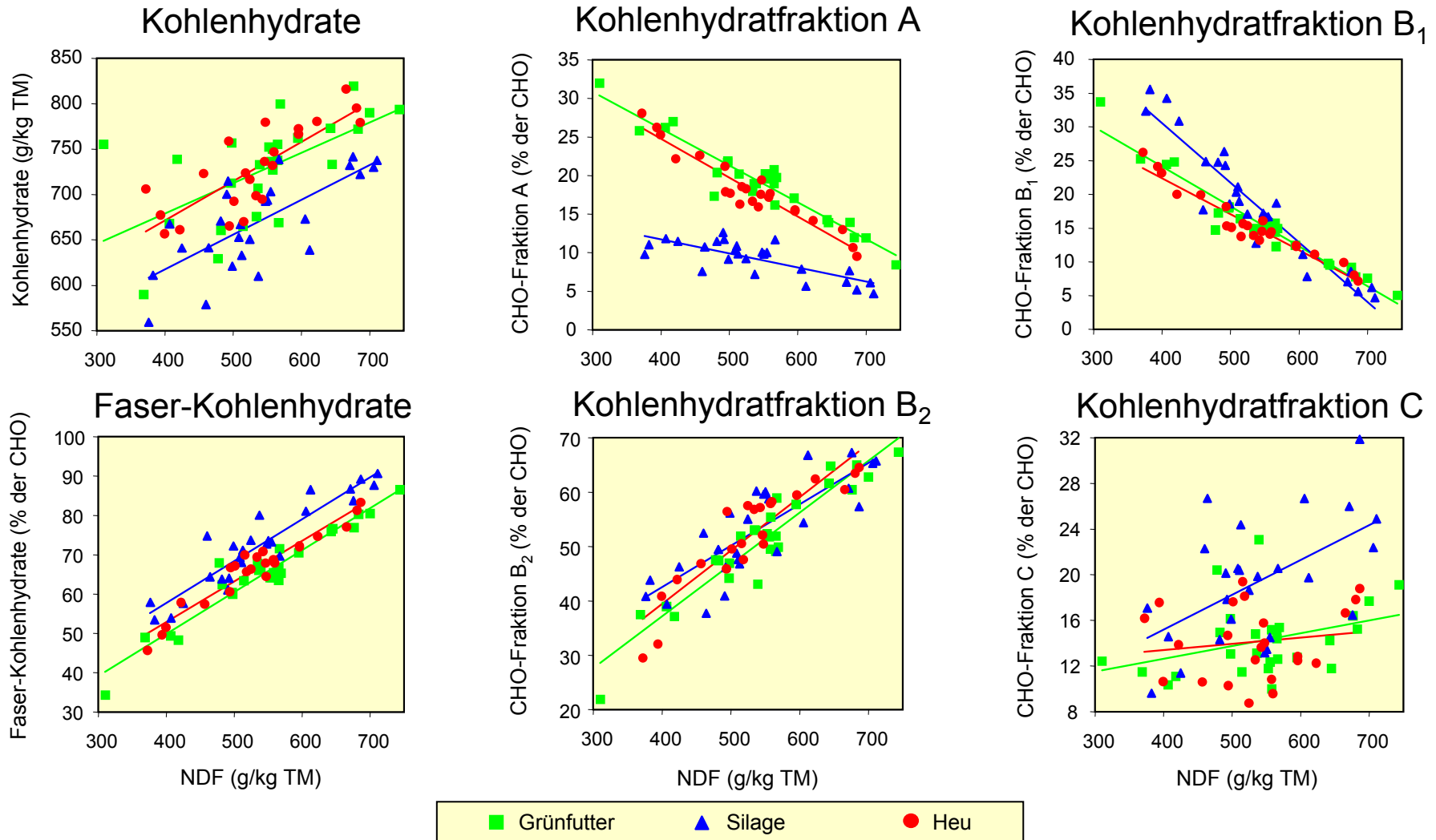
(nach KRISHNAMOORTHY et al. 1982)

Proteinfraktionen von Wiesenfutter in Abhängigkeit vom NDF-Gehalt



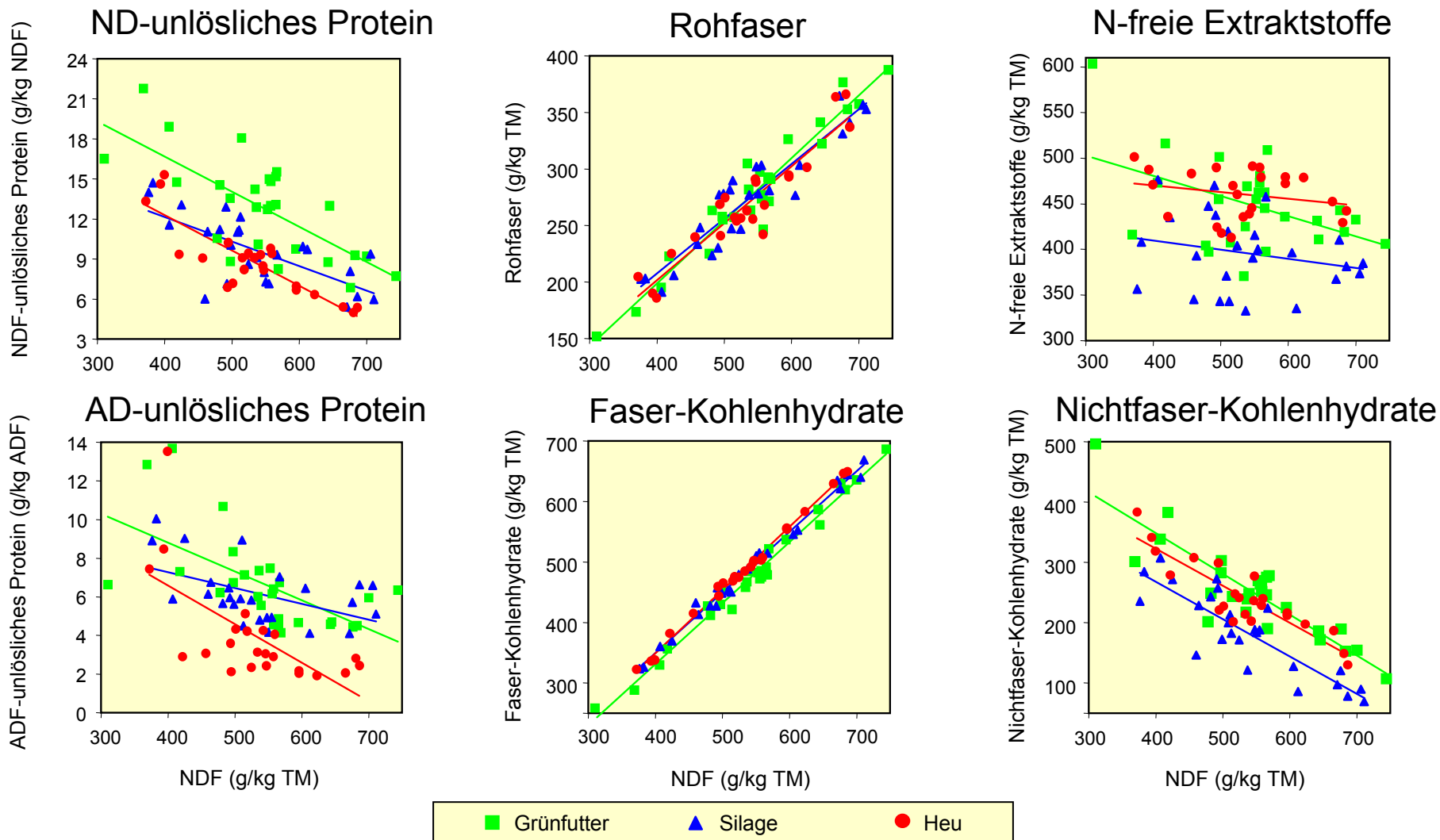
(GRUBER et al. 2004)

Kohlenhydratfraktionen von Wiesenfutter in Abhängigkeit vom NDF-Gehalt



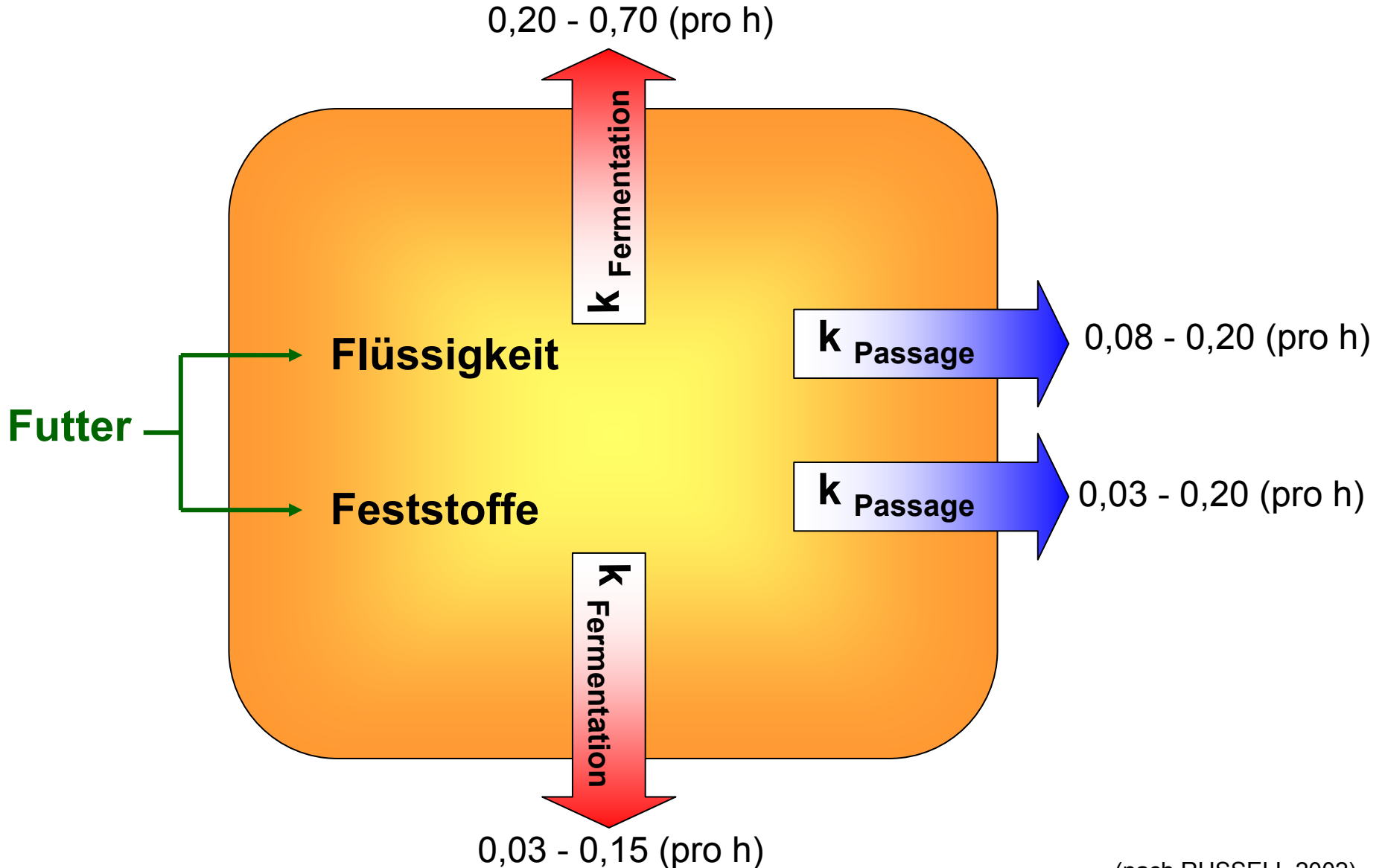
(GRUBER et al. 2004)

ND- und AD-unlöslicher N sowie Kohlenhydrate nach Weender und CNCPS Analyse in Wiesenfutter



(GRUBER et al. 2004)

Passage- und Fermentationsraten im Pansen



(nach RUSSELL 2002)

Errechnung der effektiven Fermentation im Pansen nach dem CNCPS

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

Einfluss auf Fermentationsrate k_f :

Eigenschaft des Futters

(Wiederkauen)

(Futterverarbeitung)

Einfluss auf Passagerate k_p :

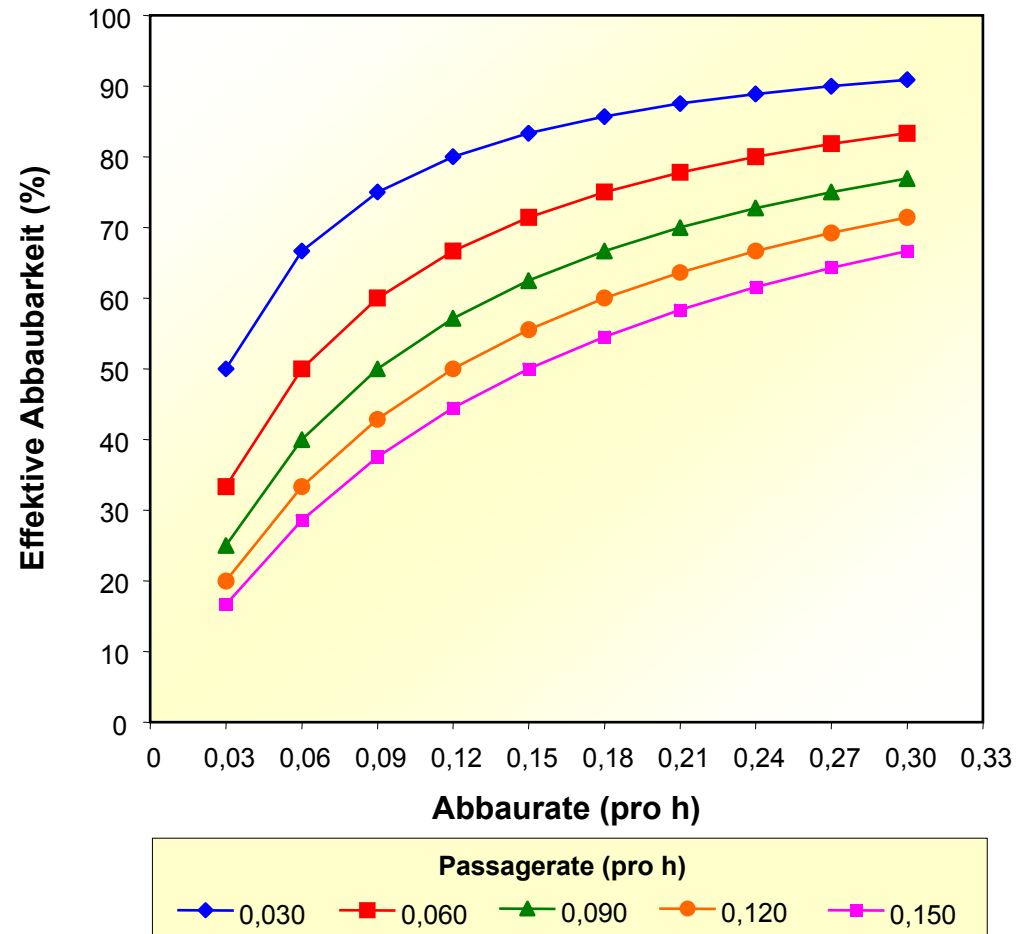
Futteraufnahme

Art des Futters (GF, KF)

Statischer Auftrieb

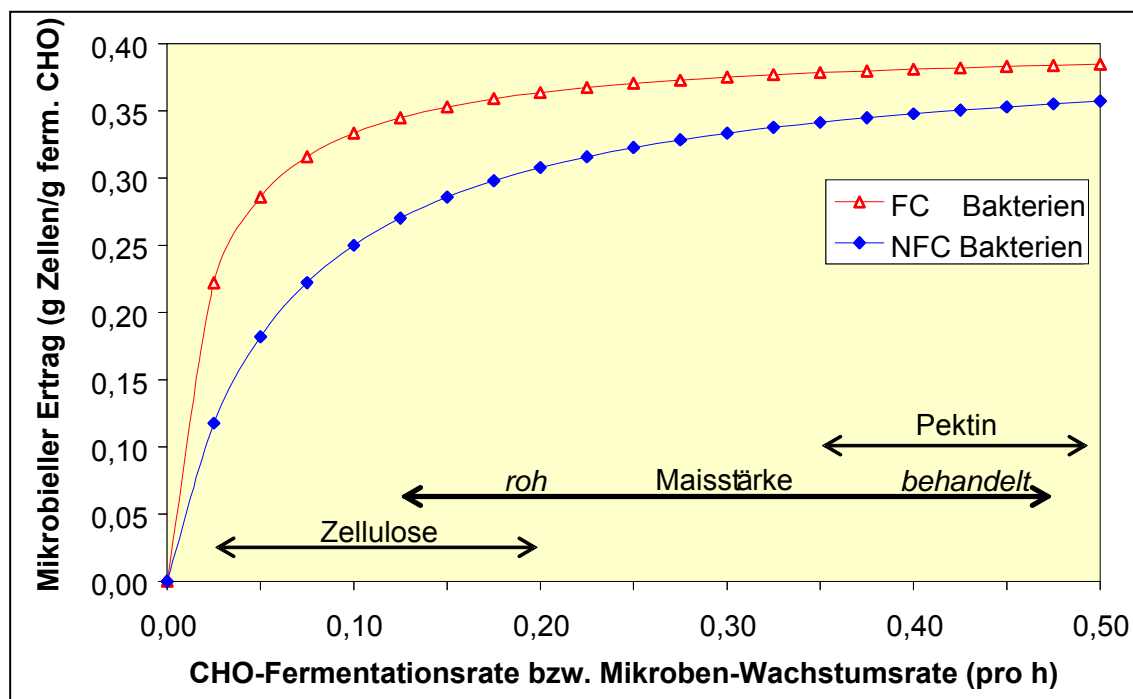
Abbaukinetik

Verarbeitung (Häckseln, Mähen)



(nach RUSSELL 2002)

Einfluss der CHO-Fermentationsrate bzw. Wachstumsrate auf den Ertrag an Mikroorganismen im CNCPS



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

Effizienz = Wachstums-Effizienz (g Bakterienzellen pro g fermentierter CHO)

Erhaltung = Erhaltungsbedarf der Bakterien

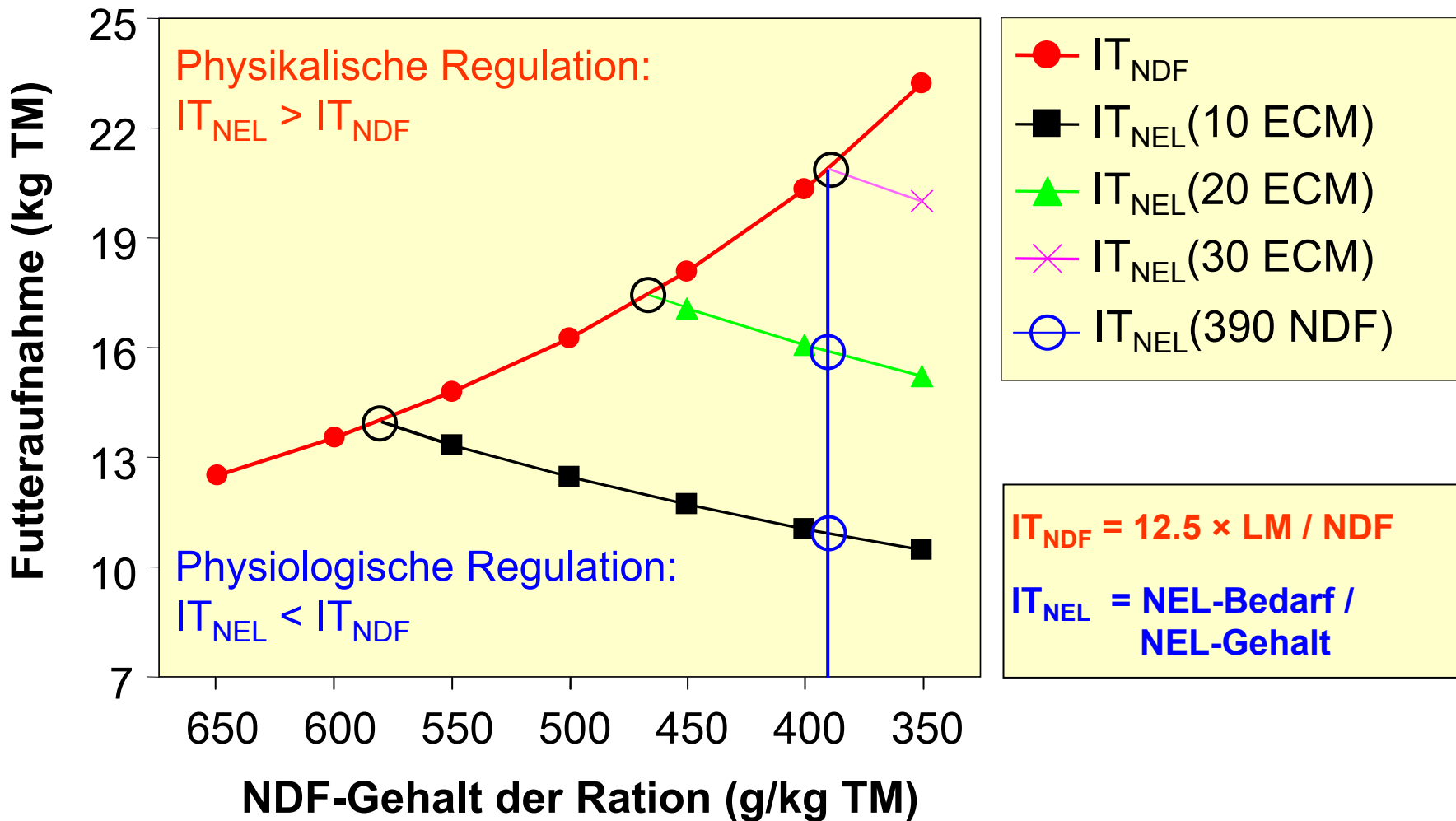
FC = 0,05 g fermentierte CHO pro g Bakterien pro Stunde

NFC = 0,15 g fermentierte CHO pro g Bakterien pro Stunde

theoretisch maximale Leistung der Bakterien = 0,40; $(0,50 \times 0,8 = 0,40$ g Bakterienzellen pro g fermentierter CHO)

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

Physikalische und physiologische Regulation der Futteraufnahme



(nach MERTENS 1994)

Mindestgehalte¹ an NDF und Höchstgehalte¹ an NFC von Milchviehrationen²

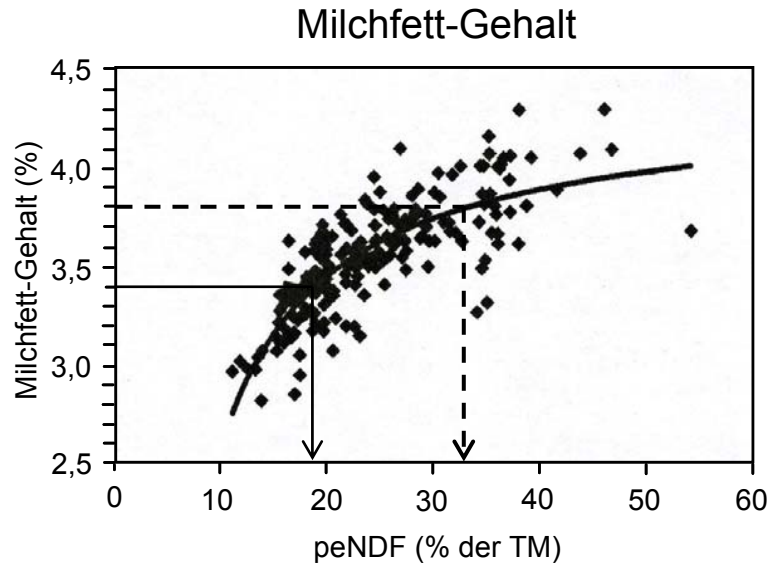
Min. Gehalt an NDF aus GF	Min. Gehalt an NDF	Max. Gehalt an NFC	Min. Gehalt an ADF
19	25	44	17
18	27	42	18
17	29	40	19
16	31	38	20
15	33	36	21

¹ Gehalte in % der TM

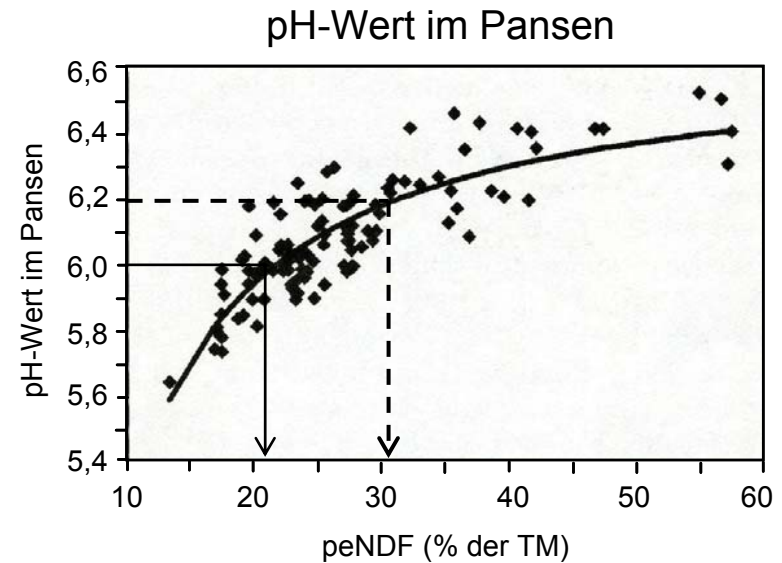
² Bedingungen: Totale Mischration
ausreichende Partikelgröße
vorwiegend Mais als Kraftfutter

(NRC 2001)

Einfluss des Gehaltes an peNDF auf den Milchfettgehalt bzw. den pH-Wert im Panseninhalt



$$\text{Milchfett \%} = 4,32 - 0,171 \times (100/\text{peNDF \%})$$
$$R^2 = 0,63; s_{y. x} = 0,17$$



$$\text{pH-Wert im Pansen} = 6,67 - 0,143 \times (100/\text{peNDF \%})$$
$$R^2 = 0,71; s_{y. x} = 0,10$$

(nach MERTENS 1997)

Abgrenzung normaler pH-Werte im Pansen von subakuter Pansenazidose

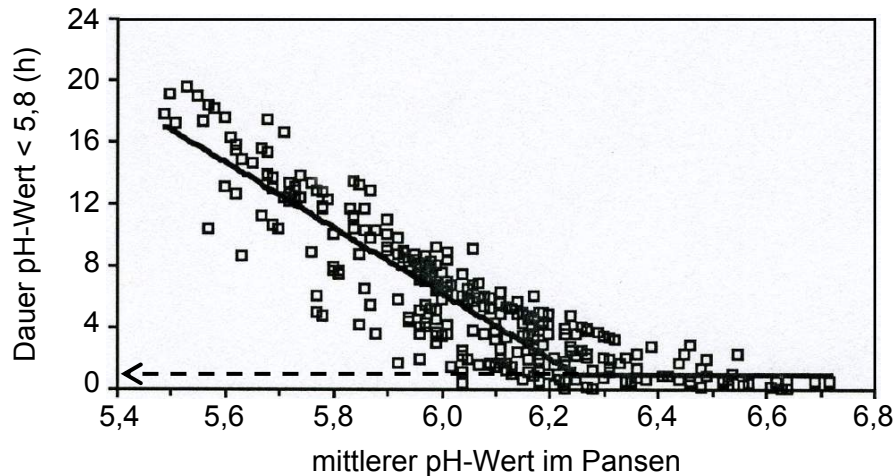
pH-Wert im Pansen	Mittelwert	untere Grenze	obere Grenze
Tagesmittelwert			
Normale Fermentation	6,32	6,16	6,49
Subakute Azidose	5,98	5,82	6,14
Dauer pH < 5,8 (h/d)			
Normale Fermentation	2,98	1,62	5,24
Subakute Azidose	9,02	5,47	15,54

Metaanalyse: 45 experiments, 187 treatment means

(ZEBELI et al. 2008)

Beziehung mittlerer pH-Wert und Dauer pH-Wert < 5,8 sowie Einfluss von peNDF auf pH-Wert im Pansen

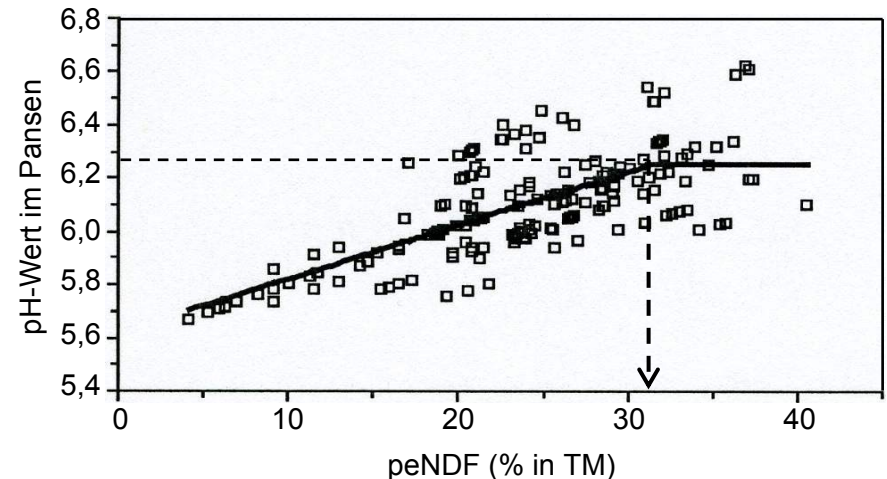
pH-Wert im Pansen < 5,8 (h)



Dauer pH-Wert < 5,8 (h) =
 $133,5 - 21,2 \times \text{pH-Mittel}^{1)}$
asymptotisches Plateau pH < 5,8 = 1,0 h
 $R^2 = 0,88$; RMSE = 1,7 h

¹⁾ wenn pH-Mittel < 6,25

mittlerer pH-Wert im Pansen



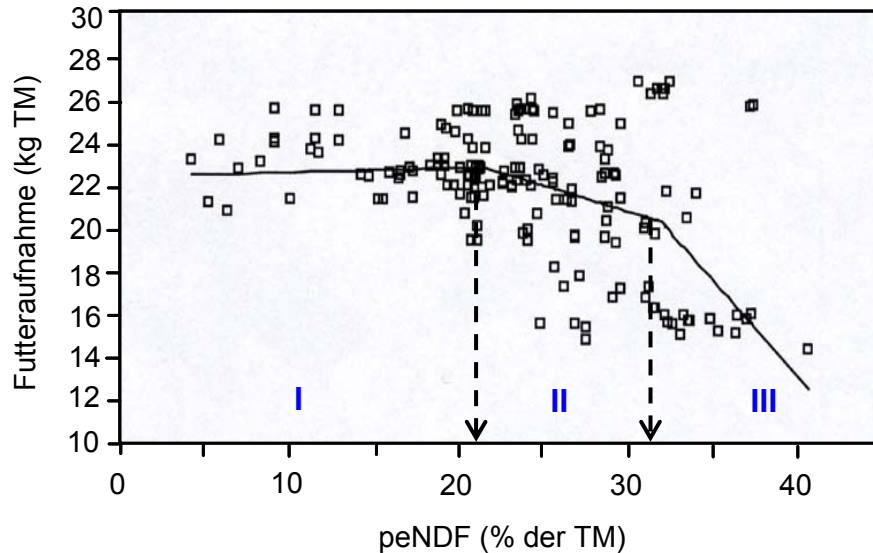
pH-Wert im Pansen =
 $5,59 + 0,022 \times \text{peNDF \%}^{1)}$
asymptotisches Plateau pH = 6,27
 $R^2 = 0,50$; RMSE = 0,14

¹⁾ wenn peNDF < 31,2 %

(nach ZEBELI et al. 2008)

Einfluss des Gehaltes an peNDF auf die Futteraufnahme und Futterumwandlung

Futteraufnahme



Futteraufnahme (kg TM) =

$$22,57 + 0,023 \times \text{peNDF \% } ^1)$$

$$22,57 + 0,023 \times 21,6 - 0,245 \times (\text{peNDF \%} - 21,6) ^2)$$

$$22,57 + 0,023 \times 21,6 - 0,245 \times (31,9 - 21,6) - 0,897 \times (\text{peNDF} - 31,9) ^3)$$

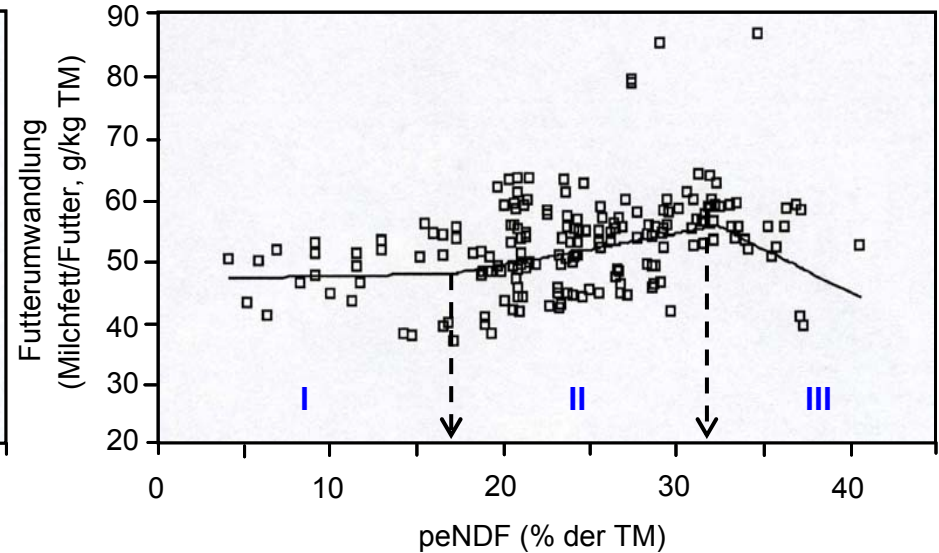
$R^2 = 0,18$; RMSE = 3,03

¹⁾ wenn peNDF $\leq 21,6$ %

²⁾ wenn peNDF $> 21,6$ % oder wenn peNDF $\leq 31,9$ %

³⁾ wenn peNDF $> 31,9$ %

Futterumwandlung



Futterumwandlung (g Milchfett/kg DMI) =

$$47,32 + 0,052 \times \text{peNDF \% } ^1)$$

$$47,32 + 0,052 \times 17,1 + 0,498 \times (\text{peNDF} - 17,1) ^2)$$

$$47,32 + 0,052 \times 17,1 + 0,498 \times (32,4 - 17,1) - 1,410 \times (\text{peNDF} - 32,4) ^3)$$

$R^2 = 0,48$; RMSE = 5,53

¹⁾ wenn peNDF $\leq 17,1$ %

²⁾ wenn peNDF $> 17,1$ % oder wenn peNDF $\leq 32,4$ %

³⁾ wenn peNDF $> 32,4$ %

(nach ZEBELI et al. 2008)

Erforderliche Gehalte an peNDF_{>1,18 mm} in Abhängigkeit von TM-Aufnahme und Gehalt an abbaubarer Stärke (für pH ≥ 6,27)

abbaubare Stärke (% der TM)	TM Aufnahme (kg)				
	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

(STEINGASS & ZEBELI 2008)

Schlussfolgerungen

Schlussfolgerungen

- **Gerüstsubstanzen sehr komplex zusammengesetzt**
- **NDF erfasst die gesamte Faser**
- **Analyse der Gerüstsubstanzen international standardisiert (NDF, NDFom, aNDF, aNDFom)**
- **Breite Anwendung der Gerüstsubstanzen in der Tierernährung**
 - Futterbewertung (z.B. Cornell-System – Protein- und CHO-Fractionen, Pansenfermentation)
 - Futteraufnahme (physikalische Regulation durch NDF)
 - Beurteilung der Wiederkäuergerechtheit durch peNDF
- **Analyse von NDF, ADF, ADL sollte Standard werden**