



WHITEPAPER

Rohproteinbewertung: Neue VDLUFA Methode für die Rohproteinfraktionierung

Basierend auf
VDLUFA 2023 METHODENBUCH III 4.13.2

und einem Interview mit
Dr. Saskia Kehraus

betreut durch
Dr. Ulrich Fettweis

verfasst von
Caroline Siebmanns

C. Gerhardt GmbH & Co. KG
Cäsariusstraße 97
53639 Königswinter, Germany
Tel.: +49 (0) 2223 2999-0
www.gerhardt.de

Bestellung: order@gerhardt.de
Beratung: application@gerhardt.de

Inhalt

Whitepaper by CG	2
Futtermittelleffizienz im Focus	2
Futtermittelrationierung nach CNCPS	3
Rohproteinfraktionierung nach VDLUFA	4
Analytischer Hintergrund	6
Automatisierung der Analytik	8
Fazit	9
Literatur	10

Whitepaper by CG

Seit 1846 sind wir bereits Entwickler und Produzent von Analysesystemen und Basisprodukten für die Laborarbeit. Dabei stehen der effiziente Einsatz und die analytische Genauigkeit unserer Systeme in Ihrem Labor für uns an erster Stelle. Deswegen begleiten wir Sie auch nach dem Kauf eines Gerhardt Gerätes in ihrem Laboralltag. Denn die Vermittlung unseres Fachwissens und der stetige Ausbau dessen sind für uns von größter Wichtigkeit.

Futtermittelleffizienz im Fokus

Unsere Weltbevölkerung steigt seit Jahrzehnten stetig an und parallel dazu verändert sich das Konsumverhalten der Gesellschaft. Dabei haben die sogenannten „Güter des Grundbedarfs“, wie Trinkwasser oder Nahrungsmittel, eine besondere Bedeutung für die Sicherstellung der Ernährung der Menschen.

Wenn man sich alleine den Konsum im Lebensmittelbereich anschaut, hat der jährliche Fleischkonsum weltweit pro Kopf im Zeitraum von 2010 bis 2020 um fast 1 kg zugenommen¹. Dieser erhöhte Konsum hatte wiederum zur Folge, dass der Bedarf an Nutztieren und dadurch auch der Bedarf an Futtermittel gestiegen ist. Die genaue Bewertung und der effiziente Einsatz von Futtermitteln haben deswegen an Bedeutung gewonnen.



Abbildung 1: Futtermittel für Rinder

Denn zum einen spielt das Futtermittel eine entscheidende Rolle für die Zusammensetzung und Qualität von tierischen Produkten wie Fleisch, Milch und Eiern. Zum anderen ist die Aufnahme und Verwertung von Futtermitteln bei verschiedenen Nutztierarten unterschiedlich und kann demnach spezifisch angepasst werden.

Bei der spezifischen Anpassung von Futtermittel ist es wichtig, auf eine gute Verträglichkeit für das Tier zu achten. Hierbei steht auf der einen Seite das Tierwohl, denn nur gesunde Tiere produzieren hochwertige Lebensmittel. Auf der anderen Seite aber auch die Reduktion umweltbelastender Emissionen. Spezifisch zusammengesetztes Futtermittel kann außerdem effektiver genutzt werden, wodurch wiederum Ressourcen geschont und Kosten gesenkt werden.

¹ Quelle: Statistisches Bundesamt, https://www.destatis.de/DE/Themen/Laender-Regionen/Internationales/Thema/landwirtschaft-fischerei/tierhaltung-fleischkonsum/_inhalt.html, Stand: 28.09.2023

„Der Schlüssel für einen effizienten Einsatz von Futtermittel liegt in einer möglichst genauen Vorhersage des Nährstoffbedarfes und der optimalen Nährstoffversorgung der Tiere.“

Eine gezielte Futtermittelanalyse für eine bedarfsgerechte Fütterungsstrategie ist daher erstrebenswert. Deshalb forschen Mitglieder des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) stetig an der Zusammensetzung verschiedener Futtermittel und der Ermittlung und Auswirkung der verschiedenen Parameter.

Futtermittelrationierung nach CNCPS

Die Zusammensetzung und Verarbeitung von Futtermittel sind ausschlaggebende Kriterien für einen effizienten Einsatz. Der Schlüssel liegt jedoch darin, die Qualität der Inhaltsstoffe eines Futtermittels zu bewerten. In diesem Zusammenhang geht es darum, die Nährstoffversorgung an den Nährstoffbedarf anzupassen.

Dazu gehört eine entsprechende Futtermittelanalyse mit Standardverfahren, wie der Weender Analyse oder zusätzlich der Detergenzien-Faser-Analyse nach Van Soest. Bei der Weender Analytik werden die im Futter enthaltenen organischen Substanzen in die Bestandteile Rohprotein, Rohfett, Rohfaser und Stickstofffreie Extraktstoffe unterteilt. Um die Analyseergebnisse einordnen zu können, ist aber auch die Erhebung von Daten zu Verdauungs-, Stoffwechsel- und Ausscheidungsprozessen bei Nutztieren von erheblicher Bedeutung.

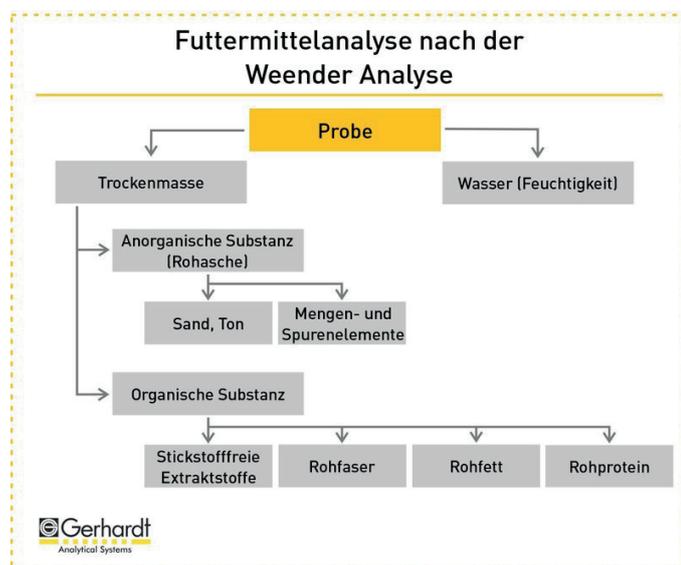


Abbildung 2: Weender Analyse

In der Vergangenheit wurden Futtermittelrationen mithilfe empirischer Vorhersagegleichungen optimiert, die unter kontrollierten Forschungsbedingungen entwickelt wurden.

„Betriebe können beim CNCPS individuelle Daten miteinbeziehen und dadurch die Leistung, Futtereffizienz, Nachhaltigkeit und Wirtschaftlichkeit für ihren Betrieb bestimmen.“

Diese kontrollierten Bedingungen bringen jedoch einen „Sicherheitszuschlag“ mit sich. Es werden also zusätzliche Nährstoffe einberechnet, damit der Nährstoffbedarf der Tiere in jedem Fall gedeckt ist. Dieser Sicherheitszuschlag erhöht häufig auch die Nährstoffausscheidung der Tiere. Das beeinträchtigt nicht nur das Tierwohl, sondern hat auch nachteilige Auswirkungen auf die Grundwasser- und Luftqualität. Zudem werden Ressourcen verschwendet, da die überschüssigen Nährstoffe vom Tier wieder ausgeschieden werden.

Dieser Ansatz der empirischen Vorhersagegleichungen wurde 1992 - zumindest für Milch - und Fleischrinder - von einem mathematischen Berechnungsmodell abgelöst. Dieses Modell verfolgt einen ganzheitlichen Ansatz und wurde seit seiner Veröffentlichung immer weiter ausgearbeitet: **Das Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS)**.

Hier werden die Verdaulichkeit und die Passagerate für die Nährstoffversorgung von Wiederkäuern mit einbezogen. Bestimmte Nährstoffe werden also unabhängig voneinander betrachtet, sodass die Verdaulichkeit der einzelnen Stoffe anhand der Löslichkeit und Verfügbarkeit im Pansen bestimmt werden kann. So kann konkret ermittelt werden, welche der Nährstoffe für das Tier verfügbar und somit auch nutzbar sind.

Neben der Futtermittelzusammensetzung und dem Verdauungs- und Stoffwechselprozess werden beim CNCPS aber auch individuelle Merkmale wie Haltungs-, Leistungs- und Umweltfaktoren oder physiologische Zustände der Tiere mit in die Berechnung einbezogen. Betriebe können dieses Modell also mit individuellen Daten ergänzen und dadurch die Leistung, Futtereffizienz, Nachhaltigkeit und Wirtschaftlichkeit für ihren Betrieb bestimmen.

Rohproteinfraktionierung nach VDLUFA

Bei der Aufteilung der Inhaltsstoffe in Rohprotein, Rohfett, Rohfaser und Stickstoff-freie Extraktstoffe besteht der Bedarf nach Konkretisierung. Denn eine tiefgehendere Analytik verbessert die Beurteilung der Proteinqualität und -verfügbarkeit und erhöht dadurch wiederum die Aussagekraft über die Verträglichkeit und Verwertbarkeit der Futtermittel.

Daher geht das CNCPS einen Schritt weiter und teilt die verschiedenen Parameter nach Verwertbarkeit, Verdaulichkeit und Energiekonzentration auf. Dabei werden dann qualitative Merkmale wie zum Beispiel Aminosäuremuster, Rohproteinfraktionen, Faserbestandteile oder Fettsäurespektren ermittelt.

In diesem Whitepaper beschäftigen wir uns insbesondere mit der Rohproteinfraktionierung, spezifisch mit der Fraktionierung von Rohprotein als Grundlage für die Rohproteinbewertung bei Wiederkäuern.

„Die Faserbestimmung ist bei der Ermittlung und Einordnung der verschiedenen Rohproteinfraktionen der vorbereitende Analyseschritt vor der Proteinbestimmung.“

Notwendig wird eine Rohproteinfraktionierung, da unter anderem der Rohproteingehalt einer Probe über den analysierten Stickstoffgehalt ermittelt wird, z.B. berechnet sich der Rohproteingehalt in einem Futtermittel aus dem gemessenen Stickstoffgehalt multipliziert mit dem Proteinfaktor 6,25. Allerdings gibt es in Bezug auf die Verwertbarkeit des Rohproteins nicht zu vernachlässigende qualitative Unterschiede. In der Analyse der Rohproteinfraktionierung werden Proteine deshalb je nach ihrer Löslichkeit und daraus abgeleiteten Abbaubarkeit bzw. Verwertbarkeit in verschiedene Fraktionen oder Gruppen basierend auf Licitra et al 1996 unterteilt.

Nach der neuen VDLUFA-Methode werden zunächst folgende Parameter analysiert:

Tabelle 1: Übersicht der zu ermittelnden Parameter mit entsprechenden Abkürzungen und stark vereinfachten Beschreibungen der Ermittlung der Parameter.

Parameter	Abkürzung	Vereinfachte Beschreibung des analytischen Vorgehens
Rohprotein	XP	Direkte Rohproteinbestimmung
Wolframatunlösliches Rohprotein	WUXP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Inkubation bei pH2 über Nacht in einer Wolframatlösung 2. Filtration mit geeignetem Filterpapier oder -beutel 3. Rohproteinbestimmung des unlöslichen Rückstandes
Borat-Phosphat-Pufferunlösliches Rohprotein	BUXP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Inkubation für drei Stunden bei Raumtemperatur in einem Borat-Phosphat-Puffer 2. Filtration mit geeignetem Filterpapier oder -beutel 3. Rohproteinbestimmung des unlöslichen Rückstandes
Neutral-Detergenzienunlösliches Rohprotein	NDUXP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kochen für eine Stunde in Neutral-Detergenzien-Lösung 2. Filtration mit geeignetem Filterpapier oder -beutel 3. Rohproteinbestimmung des unlöslichen Rückstandes
Säure-Detergenzienunlösliches Rohprotein	ADUXP	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kochen für eine Stunde in Säure-Detergenzien-Lösung 2. Filtration mit geeignetem Filterpapier oder -beutel 3. Rohproteinbestimmung des unlöslichen Rückstandes

In der Spalte „Vereinfachte Beschreibung des analytischen Vorgehens“ ist zu sehen, dass für die Bestimmung der einzelnen Parameter sowohl die Faser- als auch die Proteinbestimmung zum Einsatz kommen. Dies zeigt den Zusammenhang wie Rohprotein vorliegt und daraus abgeleitet verfügbar ist.

„Mit den durch die Rohproteinfraktionierung gewonnenen Informationen lassen sich Wiederkäuer bedarfsgerecht versorgen und die vorhandenen Ressourcen optimal nutzen.“

Das rührt unter anderem daher, dass die sogenannten Faserproteine oder auch Strukturproteine als Gerüststoff für Zellen von Pflanzen oder Lebewesen dienen. In diesem Gerüststoff ist also Protein enthalten. Um diesen Proteingehalt aber bestimmen zu können, muss die Probe erst durch die Faseranalyse isoliert werden. Das ist wichtig, weil viele Proteine, die in der Zellwand gebunden sind, von Tieren nur teilweise oder gar nicht verwertbar sind.

Aus den analysierten Parametern aus Tabelle 1 können folgende Rohproteinfraktionen berechnet werden:

Tabelle 2: Übersicht der Rohproteinfraktionen mit Informationen zur Verwertung und Berechnung der einzelnen Fraktionen.

Rohproteinfraktion	Bezeichnung	Enzymatischer Abbau	Berechnung
A	Nicht-Protein-Stickstoff	Nicht anwendbar	XP - WUXP
B1	Pufferlösliches Reinprotein	schnell	WUXP - BUXP
B2	Pufferunlösliches Reinprotein (ND-löslich)	variabel	BUXP - NDUXP
B3	Zellwandgebundenes, lösliches Reinprotein	Variabel bis langsam	NDUXP - ADUXP
C	Zellwandgebundenes, unlösliches Reinprotein	Unverdaulich	ADUXP

Mit den durch die Rohproteinfraktionierung gewonnenen Informationen lassen sich Wiederkäuer bedarfsgerecht mit Stickstoff versorgen und die vorhandenen Ressourcen optimal nutzen. Die differenzierte Analyse des Proteinanteils der Futtermittel bringt landwirtschaftlichen Betrieben mehrere Vorteile:

- Förderung der Tiergesundheit durch Vermeidung einer Fehlversorgung
- Minimierung von negativen Umweltfolgen durch z.B. eine verminderte Ausscheidung von Stickstoff und Phosphor
- Effektiver Einsatz des Futters und damit einhergehende Kosteneinsparungen

Analytischer Hintergrund

Die Analytik hinter der Rohproteinfraktionierung ist recht komplex, da zunächst XP, WUXP, BUXP, NDUXP und ADUXP zur Berechnung der Rohproteinfraktionen bestimmt werden müssen. Die analytischen Prozesse werden zwar alle mit einer Rohproteinbestimmung abgeschlossen, unterscheiden sich aber in den vorbereitenden Schritten.

Allen Parametern liegt eine Rohproteinbestimmung zugrunde. Diese kann zum Beispiel nach der Kjeldahl-Methode durchgeführt werden, die sich grob in die folgenden vier Arbeitsschritte unterteilen lässt:

1. Probeneinwaage
2. Aufschluss der Proben mit Schwefelsäure
3. Destillation der Aufschlusslösung mit Wasserdampf
4. Titration des Destillates und Ergebnisberechnung

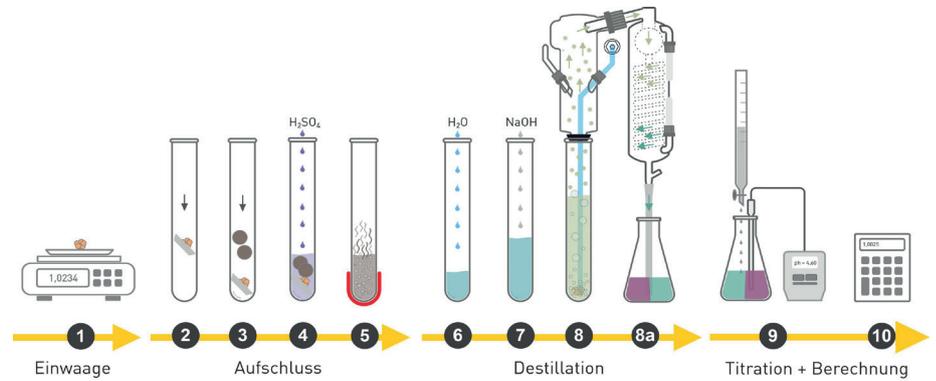


Abbildung 3: Analytischer Ablauf Kjeldahl

„Dank der vereinfachten und standardisierten Filtrationsbedingungen mit FibreBag sind die Analyseergebnisse zuverlässiger und besser reproduzierbar.“

Während die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl für die Berechnung des Parameters Rohprotein ausreicht, müssen bei den anderen vier Parametern noch unterschiedliche Schritte zur Vorbereitung der Probe stattfinden.

So wird bei der Bestimmung von WUXP und BUXP eine Filtration der Probe durchgeführt, nachdem sie inkubiert wurde. Der Filtrerrückstand wird dann auf den Rohproteingehalt analysiert. Die Filtration kann entweder mithilfe eines herkömmlichen Filterpapiers oder der FibreBag-Technologie von C. Gerhardt durchgeführt werden.

Dank der vereinfachten und präzise wiederholbaren Filtrationsbedingungen bei Verwendung der FibreBags sind die Analyseergebnisse sehr zuverlässig und sehr gut reproduzierbar. Passend zu der FibreBag-Technologie bietet C. Gerhardt auch ein Filtriergestell an, das die Handhabung der Proben während des Filtrationsprozesses vereinfacht.



Abbildung 4: FibreBag-Technologie von C. Gerhardt

„Durch die Automatisierung aller Analyseschritte innerhalb geschlossener Systeme, ist die Analyse schneller und findet unter konstanten Analysebedingungen statt.“

Die Bestimmung von NDUXP erfordert zunächst eine Vorbereitung der Probe in Form einer Isolierung der Neutral-Detergenzien Faser nach Amylasebehandlung (aNDF).

Die Probe wird dabei mit einer neutralen Lösung (NDF-Lösung) gekocht. Während des Kochprozesses wird eine hitzestabile Amylase zugesetzt. Im Anschluss daran, erfolgt die Filtration der Probe. Am Ende bleibt der unlösliche Rückstand, der wiederum getrocknet und dann Rohprotein mittels der Kjeldahl-Methode analysiert wird.

Die Bestimmung von ADUXP erfordert eine Vorbereitung der Probe in Form einer Bestimmung des ADF (Säure-Detergenzien-Faser) Gehaltes. Der analytische Vorgang ist hier ähnlich wie bei der aNDF-Bestimmung. Anstelle der NDF-Lösung wird die Probe jedoch in einer sauren Lösung, also einer ADF-Lösung, gekocht.

Automatisierung der Analytik

Insgesamt müssen also 5 Parameter bestimmt werden: Rohprotein WUXP, BUXP, NDXUP und ADUXP.

Während die Arbeitsschritte bei der klassischen Proteinbestimmung nach Kjeldahl manuell durchgeführt werden, gibt es heutzutage automatisierte Laborsysteme.

C. Gerhardt bietet zwei verschiedene Aufschlusseinheiten an: ein Blockaufschlusssystem, bei dem die Wärmeübertragung per Gussheizkörper stattfindet, oder ein Infrarotaufschlusssystem, bei dem die Wärmeübertragung durch berührungsfreie Infrarotstrahlung stattfindet. Für die anschließende Destillation und Titration, die im Anschluss an den Aufschluss stattfinden, bietet C. Gerhardt die VAPODEST Reihe an. Dabei handelt es sich um verschiedene Wasserdampfdestillationssysteme, die entweder teil- oder vollautomatisiert sind.



Abbildung 5: Kjeldahl Serie von C. Gerhardt

Durch die Automatisierung aller Analyseschritte innerhalb geschlossener Systeme ist die Analyse schneller als bei der manuellen Kjeldahl-Analyse und findet unter konstanten Analysebedingungen statt. Dadurch sind die Analyseergebnisse sehr präzise und sehr gut reproduzierbar. Ein weiterer Vorteil ist, dass die Präsenzzeit am Gerät verringert wird. So kann die Arbeitszeit effektiver genutzt werden.

„Je spezifischer die Komponenten eines Futtermittels identifiziert und untersucht werden können, desto besser kann die Nährstoffversorgung auf den Nährstoffbedarf der Tiere abgestimmt werden.“

Wie auch bei der klassischen Kjeldahl-Methode sind der Kochprozess, die Amylase-Zugabe und die Filtration bei der ADF- und aNDF-Bestimmung ursprünglich Schritte einer manuellen Analyse. Denn auch die Faseranalytik fußt auf klassischen Apparaturen. Doch auch hier hat sich die Analytik weiter entwickelt, sodass es heutzutage automatisierte Systeme gibt.

So zum Beispiel FIBRE THERM: Für bis zu 12 Proben können in diesem System alle Koch-, Wasch- und Filtrationsprozesse gesteuert werden. Zudem erfolgt die Dosierung und Zugabe aller Detergenzien automatisch über kalibrierte Pumpen. Und das, ohne den Analyseprozess zu unterbrechen. Dadurch, dass die Arbeitsschritte innerhalb eines Systems ablaufen, sind die Analyseergebnisse auch hier sehr präzise und sehr gut reproduzierbar. Zudem verringert die Automatisierung aller Analyseschritte die Präsenzzeit am Gerät, was zu einer gesteigerten Effizienz und Arbeitssicherheit führt.

Die FibreBag-Technologie kann also sowohl bei der manuellen, als auch bei der automatisierten Probenbehandlung eingesetzt werden und optimiert den Wasch- und Filtrationsprozess.



Abbildung 6: FIBRE THERM und manuelles FibreBag System von C. Gerhardt

Vor diesem Hintergrund kann die Effizienz bei der Bestimmung der Rohproteinfraktionen also deutlich gesteigert werden.

Fazit

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Rohproteinfraktionierung für die Bewertung von Futtermitteln in Bezug auf Verwertbarkeit des Rohproteins beim Wiederkäuer sehr wertvoll ist. Je spezifischer die Komponenten eines Futtermittels identifiziert und untersucht werden können, desto besser kann die Nährstoffversorgung auf den Nährstoffbedarf der Tiere abgestimmt werden. Dadurch wird die Tiergesundheit und damit einhergehend auch das Tierwohl optimiert.

Zudem wird eine Verschwendung von Ressourcen vermieden. Mehr noch: die vorhandenen Ressourcen werden besser genutzt. Das ist nicht nur nachhaltig für die Umwelt, sondern auch wirtschaftlich für den Betrieb.

Durch automatisierte Laborsysteme kann der manuelle Aufwand für den komplexen Analyseprozess zur Ermittlung der Rohproteinfraktionen erheblich gesenkt werden. Dadurch läuft der Prozess schneller, sicherer und standardisierter ab. Dadurch wird nicht nur die Effizienz im Labor sondern auch die Qualität der analytischen Ergebnisse gesteigert.

Durch den Einsatz von innovativem Verbrauchsmaterial wie FibreBag kann der Prozess weiter optimiert werden: Denn die Performance eines Analysesystems ist nur so gut wie sein Verbrauchsmaterial!

So können selbst langwierige analytische Prozesse wie die der Rohproteinfraktionierung möglichst schnell und einfach durchgeführt werden.

Literatur

[1] VDLUFA 2023 METHODENBUCH III
4.13.2

[2] Veröffentlichung von LICITRA, G.,
HERNANDEZ, T., VAN SOEST, P. J.,
1996: Standardization of procedures
for nitrogen fractionation of ruminant
feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 57, 347-
358

[3] Statistisches Bundesamt, https://www.destatis.de/DE/Themen/Laender-Regionen/Internationales/Thema/landwirtschaft-fischerei/tierhaltung-fleischkonsum/_inhalt.html, Stand: 28.09.2023