

Proteinbewertung beim Wiederkäuer

- Grundlagen
- analytische Entwicklungen
- Ausblick

Karl-Heinz Südekum
Herbert Steingaß

Institut für Tierwissenschaften, Bonn
Institut für Tierernährung, Stuttgart

Übersicht

- Grundlagen der Proteinbewertung – das nXP-System
- Alternativen zur Ermittlung des nXP *in vivo*
 - *In situ*-Methode – Standard zur Ermittlung des Gehaltes an UDP?
 - Erweiterter Hohenheimer Futterwerttest
 - Chemische Rohproteinfraktionierung
 - Enzymatischer Proteinabbau
- Ansätze für Weiterentwicklungen der Proteinbewertung – Ausblick
 - Berücksichtigung der Passage
 - Verdaulichkeit des Proteins im Dünndarm
 - Aminosäuren im nXP
- Fazit

Grundlagen der Proteinbewertung – das nXP-System

Was liefert das Futter?

$$(9) \text{ nXP} = [11,93 - (6,82 (\text{UDP}/\text{XP}))] \text{ ME} + 1,03 \text{ UDP}$$

$$(11) \text{ nXP} = [187,7 - (115,4 (\text{UDP}/\text{XP}))] \text{ DOS} + 1,03 \text{ UDP}$$

> 7 % Rohfett (XL) in der Trockenmasse (Einzelfuttermittel):

$$(10) \text{ nXP} = [13,06 - (8,41 (\text{UDP}/\text{XP}))] (\text{ME} - \text{MEXL}) + 1,03 \text{ UDP}$$

$$(12) \text{ nXP} = [196,1 - (127,5 (\text{UDP}/\text{XP}))] (\text{DOS} - \text{DXL}) + 1,03 \text{ UDP}$$

nXP = nutzbares Rohprotein (g/Tag); UDP = unabgebautes Futterrohprotein (g/Tag);
XP = Futterrohprotein ohne Harnstoff (g/Tag); ME = umsetzbare Energie (MJ/Tag);
DOS = verdaul. organische Substanz (kg/Tag); MEXL = umsetzbare Energie aus Rohfett
(g/Tag); DXL = verdaul. Rohfett (kg/Tag).

Grundlagen der Proteinbewertung – das nXP-System

Wieviel braucht das Tier?

GfE, 1997:

Bedarf an nutzbarem Rohprotein am Duodenum (nXP, g/Tag)

$$= \text{Nettobedarf} \times 1,33 \times 1,18 \times 1,37$$

$$= \text{Nettobedarf} \times 2,1$$

Alternativen zur Ermittlung des nXP *in vivo*: *In situ*-Methode



UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September



In situ-Methode

■ Vorteile:

- Ausnutzung der natürlichen Bedingungen im Verdauungstrakt; bestmögliche Annäherung an *in vivo*-Verhältnisse
- Weltweit etabliertes Verfahren
- Benötigt keine Stromversorgung! (oft entscheidendes Kriterium in Drittländern)

UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September



In situ-Methode

Nachteile:

- Haltung pansenfistulierter Tiere erforderlich, jedoch keine Darmfisteln notwendig
- Alles Verschwundene wird als abgebaut betrachtet (Problem bei Futtermitteln mit viel wasserlöslichem Material und bei Flüssigkeiten)
- Schwierige Standardisierung, abhängig von:
 - Beutelmateriale (Porengröße und Flechtung des Gewebes)
 - Probenmenge bezogen auf Beuteloberfläche
 - Vermahlungsfeinheit
 - Platzierung im Pansen
 - Ration der Versuchstiere und Fütterungsniveau
 - Waschen und Aufbereitung der Beutel nach der Inkubation
 -

In situ-Methode

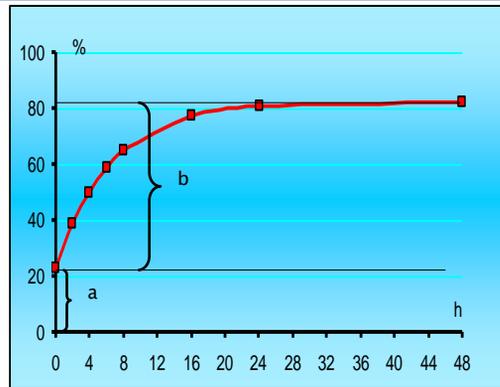
Häufig vorgeschlagene Standardisierungsmaßnahmen

- Porengröße 30–50µm
- maximal 15mg Futter-TM pro cm² Oberfläche
- Vermahlung: Kraftfutter: 1,5–2,0mm
Raufutter ≈3mm
- Inkubation am Pansengrund, Fixierung der Proben mit geeigneten Gewichten
- Gemischte Rationen (Grundfutter und Kraftfutter), Futtermenge schlecht definiert. Tierart spielt keine große Rolle
- für Zeitreihe: Methode „all in – separate out“
- entnommene Proben sofort in Eiswasser, dann waschen, einfrieren
- Waschen in Haushaltsmaschine, Spülprogramm kalt ca.30 min ohne Detergenz, ohne Schleudergang
- Bestimmung einer wasserlöslichen Fraktion mittels Papierfilter und eines Waschverlustes ohne Inkubation (0 h Wert)

In situ-Methode

Auswertung, Bsp. RES

Zeit (h)	Verlust (%)
0	22,9
2	38,4
4	49,9
6	58,4
8	65,6
16	77,1
24	80,9
48	82,4



Ørskov (1992): $p = a + b(1 - e^{-c(t-L)})$

p = Abbau zur Zeit t

a = löslich

b = potenziell abbaubar

c = Abbaurate von b (%/h)

L = Lag

Effektiver Abbau:

$ED = a + (bc/(c + k))$

k = Passagerate, normalerweise berechnet für:

0,08 = 8%/h = hohes Futterniveau, Milchkuh

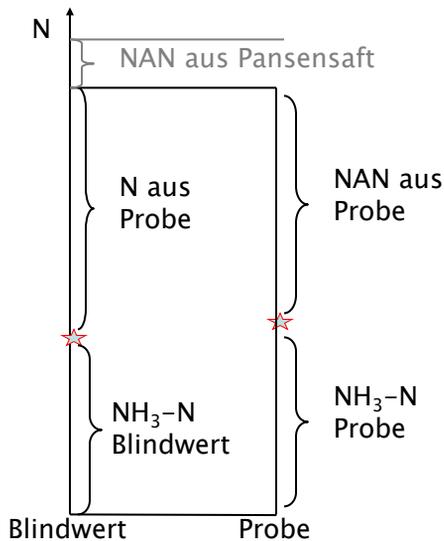
0,05 = 5%/h = mittl. F. Niveau, Mastrind

0,02 = 2%/h = niedr. F. Niveau, Erhaltung

Alternativen zur Ermittlung des nXP in vivo: erweiterter Hohenheimer Futterwerttest

- Hohenheimer Futterwerttest, erweitert um die Bestimmung der N bzw. $\text{NH}_3\text{-N}$ -Konzentration (Steingäß et al. 2001, nach Raab et al. 1983)

erweiterter Hohenheimer Futterwerttest – Prinzip der nXP-Schätzung



Notwendige Bestimmungen:

☆ NH₃ in Blindwert

☆ NH₃ in Probe

N-Einwaage Probe

NAN Probe

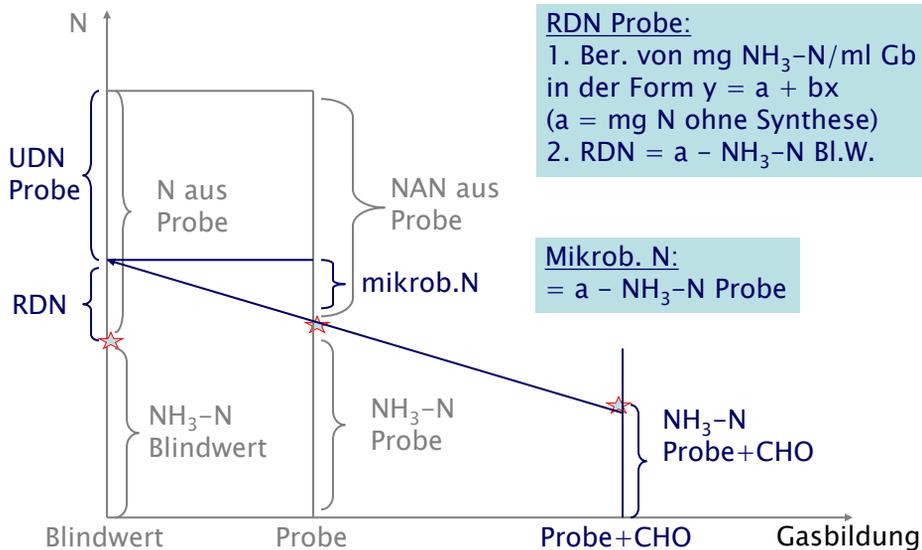
= N Probe

+ NH₃N Blindwert

- NH₃N Probe

$$nXP = NAN * 6,25$$

erweiterter Hohenheimer Futterwerttest – Ermittlung des UDP



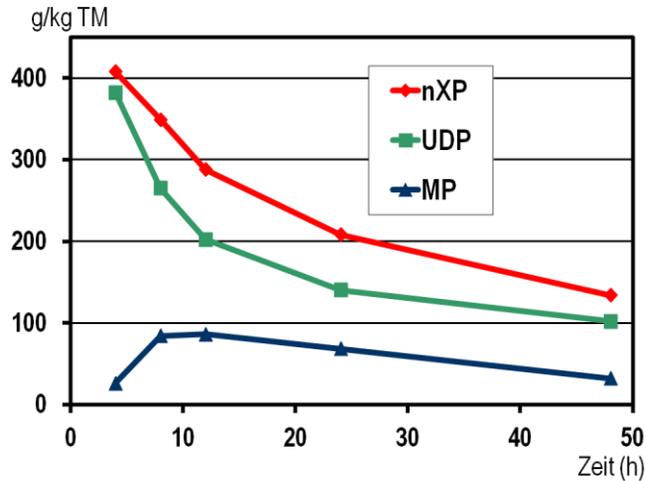
RDN Probe:

1. Ber. von mg NH₃-N/ml Gb in der Form $y = a + bx$ ($a = \text{mg N ohne Synthese}$)
2. $RDN = a - \text{NH}_3\text{-N Bl.W.}$

Mikrob. N:

$$= a - \text{NH}_3\text{-N Probe}$$

erweiterter Hohenheimer Futterwerttest N-Umsatz am Beispiel von RES



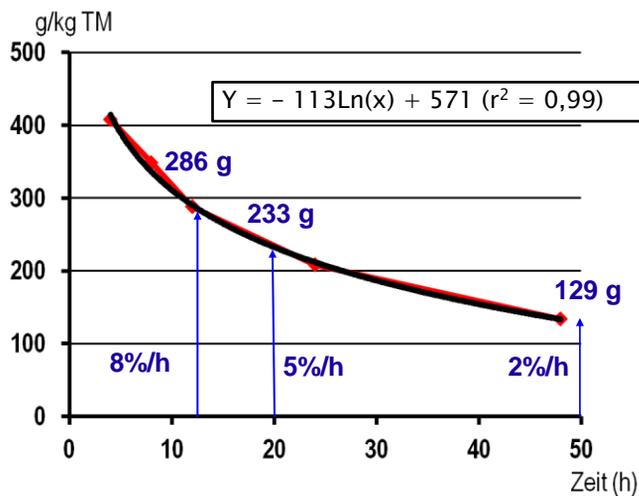
UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September



erweiterter Hohenheimer Futterwerttest Ermittlung des „effektiven nXP“ (Bsp. RES)



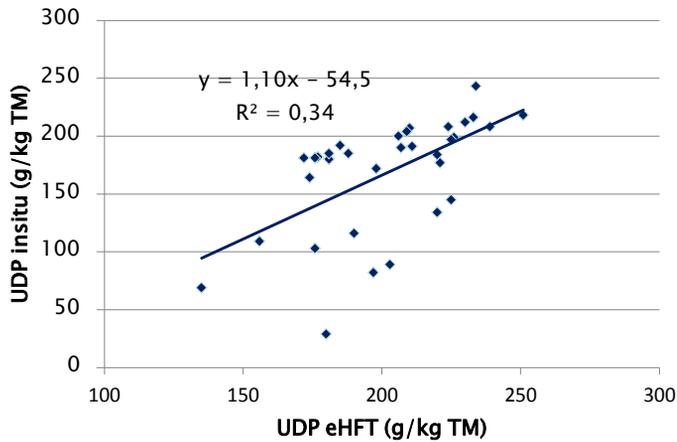
UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September



erweiterter Hohenheimer Futterwerttest – Vergleich des UDP *in vitro* und *in situ*



Angenommene Passagerate 8 %/h

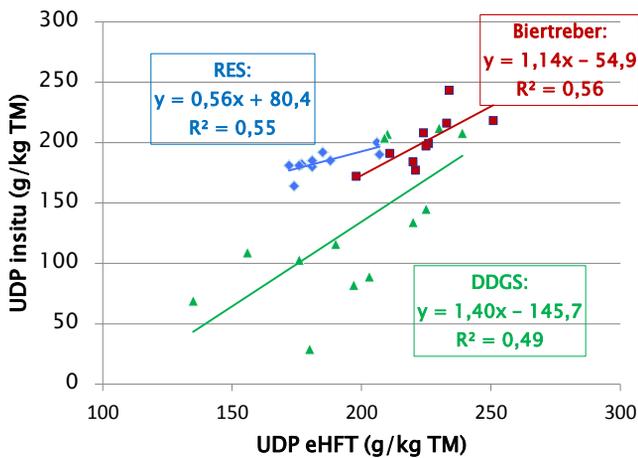
UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September



erweiterter Hohenheimer Futterwerttest – Vergleich des UDP *in vitro* und *in situ*



Angenommene Passagerate 8 %/h

UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September



Chemische Rohproteinfraktionierung nach CNCPS* (Licitra et al. 1996)

Fraktion	Protein-Fraktion	Enzymatische Abbaubarkeit	Bestimmung
A	NPN	-----	löslich in 10% Na-Wolframatlösung
B1	Reinprotein	schnell	löslich in Borat-Phosphat-Puffer
B2	Reinprotein	variabel	Differenz: pufferunlöslich - ND-unlöslich
B3	zellwandgebundenes Reinprotein	variabel - langsam	unlöslich in ND, löslich in AD
C	hitzebeschädigtes und Lignin-assoziiertes Protein (N)	unverdaulich	unlöslich in AD

*Cornell Net Carbohydrate and Protein System

UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September



Chemische Rohproteinfraktionierung nach CNCPS* –Ermittlung des UDP– (Shannak et al. 2000)

UDP

$$= \beta_0 + \beta_1 \cdot (XP/NDF) + \beta_2 \cdot (XP \cdot B2) + \beta_3 \cdot (XP \cdot C) + \beta_4 \cdot (XP \cdot (A+B1)) \\ + \beta_5 \cdot (XP \cdot C^2) + \beta_6 \cdot (NDF \cdot B1) + \beta_7 \cdot ((B3+C) \cdot B2) \quad [\text{g/kg TM}]$$

Für UDP8: $r^2 = 0,94$

β_0	β_1	β_2	β_3	β_4	β_5	β_6	β_7
-98,66	-275,12	0,0028	-0,022	0,0032	0,00002	-0,002	0,0035

*Cornell Net Carbohydrate and Protein System

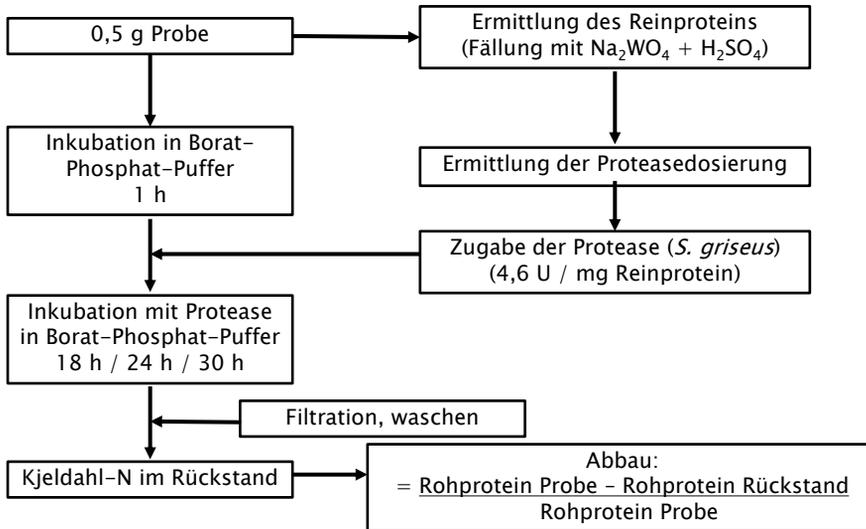
UNIVERSITÄT HOHENHEIM



ALP-Tagung 2012 Posieux 27. September

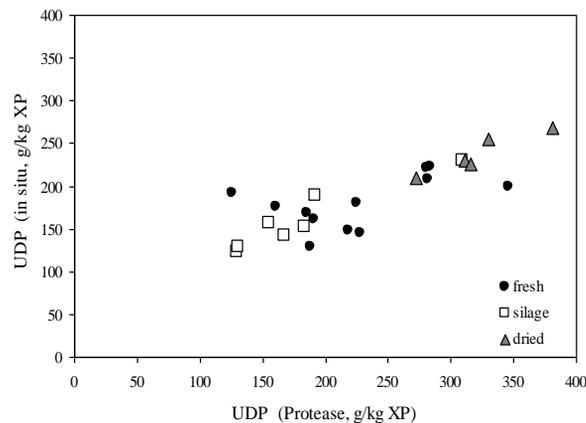


Enzymatischer Proteinabbau (Licitra et al. 1998; Edmunds et al. 2012)



Enzymatischer Proteinabbau (Licitra et al. 1998; Edmunds et al. 2012)

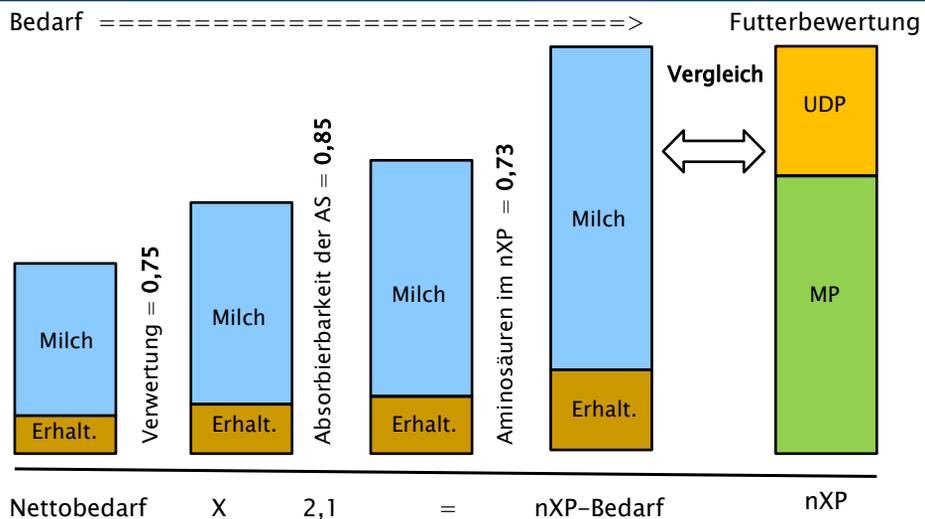
Vergleich des UDP *in situ* mit UDP aus Proteaseabbau anhand Bonner Daten zum Grünlandfutter



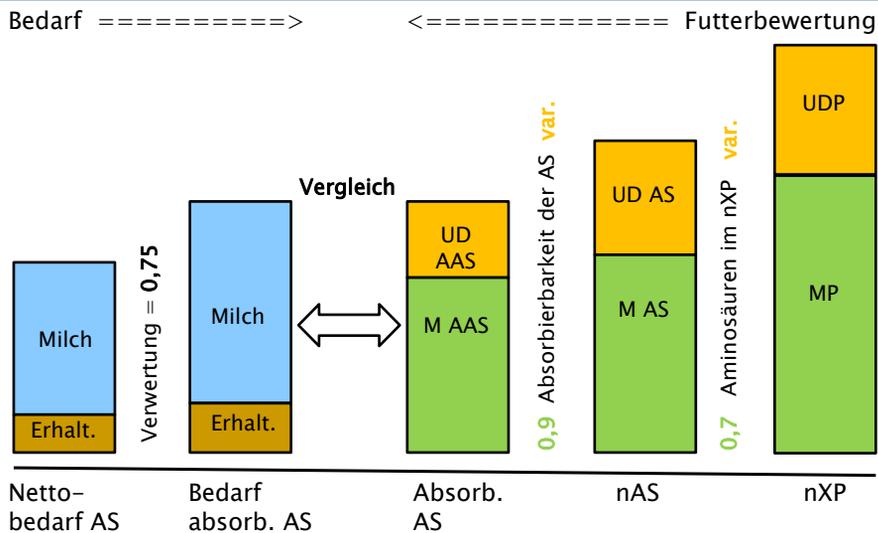
Ausblick

Ansätze für eine Weiterentwicklung der Proteinbewertung

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: derzeitige Vorgehensweise



Weiterentwicklung der Proteinbewertung: mögliche Neugestaltung des Bewertungssystems



Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Berücksichtigung der Passagerate

- Situation: Derzeit konstante Werte für $UDP + MP = nXP$ der Futtermittel

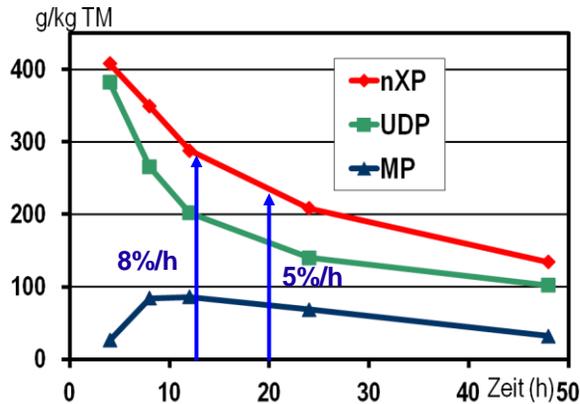
aber:

- UDP nimmt mit steigender Passagerate zu
 - Effekt höherer Passagerate auf MP:
 - Weniger MP, da weniger fermentierte OM
 - Höhere Effizienz pro Einheit fermentierter OM
- ⇒ Teilweise Kompensation im Bereich relevanter Passageraten

=> Erhöhung des Gehaltes an nXP bei höherer Passagerate

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Berücksichtigung der Passagerate

- Auswirkung der Passagerate auf UDP; MP und nXP



- Problem ist nicht die Berücksichtigung einer Passagerate sondern die Annahme der „richtigen“ Passagerate

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Berücksichtigung der Passagerate

- Fazit:
 - Berücksichtigung der Passage für UDP kein Problem (ist bereits Bestandteil aller Schätzmethoden)
 - Sehr schwierig für MP
 - Fermentierte OM *in situ* und *in vitro* gut abzuschätzen aber
 - Effizienz der MPS bleibt schwer quantifizierbar, ist aber entscheidend
- => **Größte Unsicherheit für neues Proteinsystem und generell auch in allen existenten Bewertungssystemen**

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Verdaulichkeit des Proteins im Dünndarm

- Situation: Absorbierbarkeit des nXP (UDP, MP) generell 85 %
- Dürfte für MP zutreffen, ist dort u.U. sogar höher (->90 %) aber
 - Verdaulichkeit des UDP variabel und im Mittel niedriger:

	RES (n=10)	DDGS (n=12)
Futter	80 ± 3	81 ± 5
UDP 8h	57 ± 4	-
UDP 16h	44 ± 10	66 ± 11

- Es ist anzunehmen, dass dies auch für andere Futtermittel gilt
- Konsequenz: Überschätzung des Beitrags des UDP am verdaulichen Protein im Darm

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Verdaulichkeit des Proteins im Dünndarm

- Lösungsmöglichkeit:
- Differenzierung der Verdaulichkeit zwischen MP und UDP
 - Festlegung eines konstanten Wertes für MP (Literatur)
 - Ermittlung der Verdaulichkeit des UDP mit geeigneten *in vitro* Methoden (z.B. Boisen u. Fernández, 1995)
(Wie dies z.B. im AAT/PBV-System der Nordischen Staaten implementiert ist)

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Aminosäurenanteil und –Zusammensetzung des nXP

■ Situation:

- Anteil des Aminosäuren-N (AS-N) am Gesamt-N am Duodenum generell 73 %
- Keine Berücksichtigung der AS-Zusammensetzung im nXP-System
aber
 - AS-N des UDP variabel und im Mittel höher als 73 %
 - AS-Zusammensetzung des UDP u.U. verschieden von dem des Futters
- jedoch
 - AS-N und AS-Zusammensetzung im MP \pm konstant

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Aminosäurenanteil und –Zusammensetzung des nXP

- Lösungsmöglichkeit für MP:
- Festlegung eines konstanten AS-N für MP (Literatur)
- Festlegung einer konstanten AS-Zusammensetzung für MP (Literatur), da kaum Schwankungen
- Bsp: Hildebrandt et al. (2011)

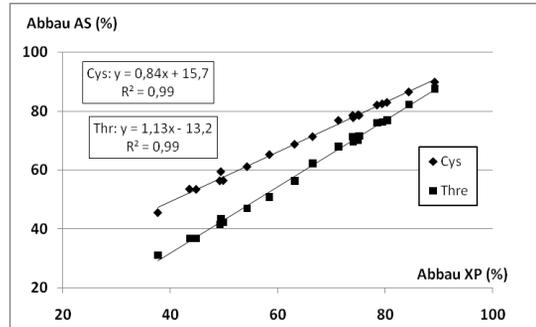
g/16 g N	Ration		Partikelgröße		Bakterienfraktion		MW
	Maissil.	Grassil.	grob	fein	Partikel-assoz.	frei	
Lys	8,3	8,0	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2
Met	2,7	2,7	2,7	2,7	2,6	2,8	2,7

Entsprechendes gilt für alle weiteren AS

Weiterentwicklung der Proteinbewertung: Aminosäurenanteil und –Zusammensetzung des nXP

- Lösungsmöglichkeit für UDP:
- Definition des AS-N entsprechend dem des Futters
- Berechnung der AS-Zusammensetzung des UDP aus XP-Abbau *in situ*
- Bsp: RES

Entsprechendes
gilt für alle
weiteren AS



Gleichungen spezifisch für RES, passend auch für DDGS,
Entwicklung für weitere Proteinfuttermittel

Fazit

- Trotz Mangel an *in vivo*-Daten Proteinwertschätzung von Futtermitteln mit Labormethoden möglich
- Voraussetzung: einheitliche, standardisierte, durch Ringversuche überprüfte Methodik
- Kalibrierung ersatzweise an *in situ*-Daten
- Weiterentwicklung und Erweiterung des nXP-Systems möglich
- Ersatz von Konstanten (Bedarf) durch Variablen (Futterwertmerkmale): AS-N im Duodenalchymus, Absorbierbarkeit des AS-N im Dünndarm
- Erweiterung um limitierende essenzielle AS anzustreben