

Bestimmung der Futterqualität und der Aminosäuren von Erbsen mittels Nah-Infrarotspektroskopie

KAREN AULRICH¹, HANS ULRICH JÜRGENS² und HERWART BÖHM¹

¹ Johann Heinrich von Thünen-Institut, Institut für Ökologischen Landbau,
Trenthorst 32, 23847 Westerau, karen.aulrich@vti.bund.de, herwart.boehm@vti.bund.de

² Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz,
Rudolf-Schick-Platz 3, 18190 Groß Lüsewitz, hans-ulrich.juergens@jki.bund.de

Zusammenfassung

In der EU-Öko-Verordnung 889/2008 ist die Einführung der 100 % Biofütterung festgeschrieben. Die Protein- und Aminosäurenversorgung muss dann mit einheimischen, möglichst lokalen und proteinreichen Futtermitteln sicher gestellt werden. Analysendaten zeigen, dass die Schwankungen in ökologisch erzeugten Futtermitteln deutlich höher sind als in konventionellen, so dass eine Berechnung von Öko-Futterrationen auf Basis von Standard-Futterwerttabellen nicht zu zufriedenstellenden Resultaten führt. Eine genaue Kenntnis des Futterwertes und der essentiellen Aminosäuren ist notwendig für eine tiergerechte Rationsberechnung. Voraussetzung hierfür ist eine schnelle zeitnahe Analytik. Im vorliegenden Beitrag wird die Eignung der Nah-Infrarotspektroskopie (NIRS) zur Schätzung der Gehalte an Roh Nährstoffen und Aminosäuren geprüft. Futtererbsen von unterschiedlichen Standorten Deutschlands (n=207) wurden analysiert und die Analysendaten für die Entwicklung von Kalibrationsgleichungen verwendet. Die Kennzahlen zur Bewertung der Güte der Kalibrierungen zeigen, dass die NIRS für die Schätzung des Futterwertes und der Aminosäuren eingesetzt werden kann. Die Vorhersagegenauigkeit der schwefelhaltigen Aminosäuren sollte noch

verbessert werden, sie ist aber ebenso zufriedenstellend. Weiterhin wurde der Einfluss des Vermahlungsgrades der Proben auf die Güte der Vorhersage der Rohnährstoffe und der Aminosäuren untersucht. Es zeigt sich, dass bei einer Vermahlung auf 0,5 mm für alle untersuchten Parameter die besten Ergebnisse erhalten wurden. Sind nur die Rohnährstoffe von Interesse, so scheint die NIR-Messung und Schätzung an unvermahlten Proben möglich. Weitere Untersuchungen durch Einbeziehung von Proben eines 2. Anbaujahres sollen zur Überprüfung der Aussagen herangezogen werden.

Abstract

Determination of feed quality and amino acids of field peas by Near-Infrared Spectroscopy

The EU-VO 889/2008 sets the year 2012 as the deadline for the exclusive use of organically produced feedstuffs. Protein and amino acid requirements must then be satisfied with local protein-rich feeds. Analytical data of organic feeds, as compared with conventional table values, shows clear deviation of protein and amino acids between conventional and organic feeds. The standard tabular values are not sufficient for the calculation of the feed rations in

organic monogaster nutrition. Exact knowledge of the main ingredients and amino acids contents are needed for an acceptable calculation of the feed rations, and for this reason a fast and easy analytical method is necessary. The ability of NIRS to evaluate the quality and content of amino acids in peas was studied. Pea samples from different areas in Germany (n=207) were analysed and used to develop NIRS equations. The performance data obtained shows that the main ingredients and the most amino acids could be well predicted with the NIRS. The prediction accuracy for the sulfur-containing amino acids was satisfactory. Pea samples from a future season should be used to improve the stability of the data and to check the quality of the calibrations.

Einleitung

In der ökologischen Geflügel- und Schweineproduktion weisen die Futterrationen zum Teil erhebliche Defizite auf, die vor allem aus Schwankungen in der Qualität des Rohproteins, insbesondere der Gehalte an essentiellen Aminosäuren resultieren. Dies erschwert die Einführung der 100% Biofütterung, die ab 1. Januar 2012 gesetzlich vorgeschrieben ist, erheblich. Sollen einheimische Körnerleguminosen zukünftig verstärkt als Alternative zu hochwertigen konventionellen Proteinfuttermitteln genutzt werden, sind genaue Kenntnisse über Protein- und Aminosäuregehalte sowie Aminosäuremuster erforderlich. Eigene Analysendaten zeigen, dass die Schwankungen in ökologisch erzeugten Futtermitteln deutlich höher sind als in konventionellen, so dass eine Berechnung von Öko-Futterrationen auf Basis der DLG-Futterwerttabellen (DLG 1991) nicht zu zufriedenstellenden Resultaten führt. Auch durch Anbauoptimierungen wird man die Schwankungen nicht vermeiden können, da sie erheblich durch die Jahreswitterung und die Standortbedingungen beeinflusst werden (Böhm und Berk 2007; Bramm und Böhm 2007). Eine optimierte

Futterrationsberechnung setzt daher in der ökologischen Tierhaltung exakte Kenntnisse des Futterwertes der einzelnen Futterkomponenten voraus, die nur unter zu Hilfenahme einer schnellen und zeitnahen Analytik zur Erfassung der wertbestimmenden Inhaltsstoffe zu erreichen ist.

Zur Bewertung der Futter- und Proteinqualität als auch des Aminosäuremusters der Futtermittel kommen verschiedene analytische Methoden zum Einsatz, die sehr zeit- und kostenaufwendig sind. Als schnelle, kostengünstige Alternative bietet sich die Schätzung mittels NIRS an. Voraussetzung für die Anwendung der NIRS sind allerdings stabile Kalibrierungen für jeden zu schätzenden Inhaltsstoff, die mit Hilfe von Analysendaten aus den klassischen chemisch-analytischen Methoden erstellt werden.

Ziel der vorgestellten Untersuchungen war es daher, die Eignung der NIRS zur schnellen, zeitnahen Schätzung der Futterqualität und der essentiellen Aminosäuren (AS) von einheimischen Leguminosen am Beispiel der Futtererbsen zu prüfen. Weiterhin sollte der Einfluss des Vermahlungsgrades der Erbsen auf die Güte der Vorhersage der Rohnährstoffe und der Aminosäuren untersucht werden.

Material und Methoden

Aus Anbauversuchen der Landwirtschaftskammern wurden 207 Futtererbsenproben des Erntejahres 2008 für die Untersuchungen zur Verfügung gestellt. Nach der Ernte wurden die Proben an das Institut für Ökologischen Landbau versandt, hier getrocknet (60 °C), vermahlen (Cyclotec, Fa. FOSS, Sieb: 1 mm und 0,5 mm) und sowohl mittels klassischer chemischer Analytik untersucht als auch NIR-spektroskopisch vermessen.

Die Aufnahme der NIR-Spektren erfolgte am FT-NIR-Spektrometer (NIRLab, Fa. Büchi, Essen) im Spektralbereich von 1000 – 2500 nm mit einer Schrittweite von 1 nm in diffuser Reflexion. Die Proben wurden

als Ganzkörner und als Schrot in den Vermahlungsgraden 1 und 0,5 mm vermessen. Jede Probe wurde dreimal gescannt und das Mittelwertspektrum für die spätere chemometrische Berechnung gebildet.

Die Referenzanalytik zur Bestimmung der wichtigsten Inhaltsstoffe (Weender-Parameter sowie Stärke und Zucker) der Futtererbsen wurde mittels chemischer Analytik nach den Verbandsmethoden der VDLUFA (1997) durchgeführt. Die Futtererbsen wurden hierzu durch ein 1 mm Sieb (Cyclotec, Fa. FOSS) vermahlen. Die AS-Analyse der auf 0,5 mm vermahlenden Proben erfolgte am Julius Kühn-Institut durch Säurehydrolyse entsprechend der EU-Richtlinie 98/64/EG (1998) und anschließender Derivatisierung der freien Aminosäuren nach dem 6-Aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl-carbamat (ACCQ)-Verfahren (Cohen und Michaud 1993). Die derivatisierten

Aminosäuren wurden mittels HPLC an einer Luna 3µm C18(2) 150x2 mm Säule (Fa. Phenomenex, Aschaffenburg) analysiert. Die mit der Referenzanalytik ermittelten Analysenwerte dienten als Datengrundlage für die Erstellung der

Kalibrierungen zur Schätzung der Gehalte an Rohprotein (XP), -faser (XF), -fett (XL), -asche (XA), Trockensubstanz (T), Stärke (XS), Zucker (XZ) und der 17 analysierten AS.

Die Kalibrierungen wurden mit der Chemometriesoftware NIRCal (Fa. Büchi, Essen) erstellt, nachdem die zuvor aufgenommenen Spektren in das Programm NIRCal importiert wurden. Es standen insgesamt 207 Proben zur Verfügung, wobei 2/3 der Proben für die Kalibrierung (n=138) und 1/3 der Proben (n=69) für die Validierung verwendet wurden. Die Güte

der Kalibrierung wurde anhand folgender statistischer Kennzahlen bewertet: Standardfehler der Vorhersagen (SEP), Regressionskoeffizienten der Kalibrierungen (RK).

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der Rohnährstoffanalytik, dargestellt in Tabelle 1, wurden mit den Tabellenwerten aus den DLG-Futterwerttabellen (DLG 1991) verglichen und zeigen mit Ausnahme der Rohfasergehalte deutliche Unterschiede in allen anderen analysierten Parametern. Die XP-Gehalte liegen deutlich unter den konventionellen Tabellenwerten, wohingegen die XL-, XS- und XZ-Gehalte über den konventionellen Tabellenwerten liegen. Andererseits sind die Spannbreiten sehr hoch, wie bereits in früheren Arbeiten von Böhm

Tabelle 1: Spannbreiten und Mittelwerte mit Standardabweichungen der Rohnährstoffe in Futtererbsen im Vergleich mit DLG-Futterwerttabellen – Schweine (DLG 1991)

Inhaltsstoff (g/kg T) (n=207)	Spannbreite	Mittelwert	DLG-Tabelle (n=104)
Rohprotein	194 – 267	230 ± 14	259 ± 18
Rohfett	17 – 25	20 ± 1,6	15 ± 5
Rohfaser	55 – 82	68 ± 6	68 ± 14
Rohasche	23 – 36	30 ± 2	37 ± 11
Stärke	474 – 553	522 ± 16	475 ± 59
Zucker	66 – 86	75 ± 4	66 ± 6

und Berk (2007), Böhm et al. (2007) und Bramm und Böhm (2007) aufgezeigt wurde und verdeutlichen die Notwendigkeit fortlaufender Analysen der Futtermittel zur Erstellung optimierter Futtermitteln. Die Ergebnisse zeigen aber auch, dass ein formaler Rückgriff auf Tabellenwerte nicht ausreichend ist.

Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Kalibrierung der Rohnährstoffe bei unterschiedlichen Vermahlungsgraden, dargestellt anhand der statistischen Kennzahlen Regressionskoeffizient der Kalibrierung (RK) und Standardfehler der Vorhersage (SEP). Neben der

grundsätzlichen Frage der Eignung der NIR-Methode zur schnellen Vorhersage der Futterqualität war der Einfluss des Vermah-

und der Zuckergehalte war hingegen erst nach Vermahlung der Proben auf 0,5 mm erfolgreich. Hier wird durch das Vermahlen

Tabelle 2: Statistische Kennzahlen der NIR-Kalibrationen der Roh-nährstoffe verschiedener Vermahlungsgrade

Inhaltsstoff (n=207)	R _K	R _K	R _K	SEP	SEP	SEP
	GK	1 mm	0,5 mm	GK	1 mm	0,5 mm
Rohprotein	0,95	0,97	0,97	4,8	3,5	3,9
Rohfett	0,82	0,82	0,90	0,95	0,91	0,67
Rohfaser	0,89	0,86	0,90	2,6	2,8	2,6
Rohasche	0,89	0,86	0,89	0,98	1,2	1,1
Stärke	0,90	0,94	0,93	7,2	5,4	6,2
Zucker	0,75	0,77	0,91	3,1	2,7	1,8

R_K: Regressionskoeffizient der Kalibrierung, SEP: Standardfehler der Vorhersage. GK: Ganzkorn. 1 mm: 1mm Sieb. 0.5 mm: 0.5 mm Sieb

lungsgades der Erbsen auf die Güte der Vorhersage der Roh-nährstoffe zu prüfen, um den Aufwand für die Probenvorbereitung zu reduzieren und damit die Analytik entscheidend zu vereinfachen. Der Vergleich der Regressionskoeffizienten der Kalibrierung von Ganzkörnern, nach Vermahlung durch ein 1 mm Sieb, üblicherweise für die Roh-nährstoffanalytik verwendet, und nach Vermahlung durch ein 0,5 mm Sieb, üblich für die Vorbereitung zur Aminosäureanalyse, zeigt, dass mit höherem Vermahlungsgrad bessere Regressionen erstellt werden können. Sichtbar wird dies auch an den Fehlern der Vorhersage: je höher der Vermahlungsgrad, umso geringer war der Fehler der Vorhersage. Eine zufriedenstellende Vorhersage der Rohprotein-, der Rohfaser-, der Rohasche- und der Stärkegehalte scheint auch ohne Probenvorbereitung in Form der Vermahlung möglich. Die Regressionskoeffizienten der Kalibrierung verbessern sich im Vergleich von den Ganzkörnern zu den auf 0,5 mm vermahlenden Proben nur geringfügig, so dass zwischen dem Zeitaufwand für die Vermahlung und dem Nutzen durch eine höhere Vorhersagegenauigkeit abgewogen werden muss. Eine Vorhersage der Rohfett-

eine deutliche Verbesserung des Regressionskoeffizienten als auch der Vorhersagegenauigkeit erreicht. Diese vorläufigen Ergebnisse, die auf Grundlage des Datensatzes eines Erntejahres erarbeitet wurden, müssen durch Einbeziehung der Ergebnisse weiterer Erntejahre geprüft werden.

Die Spannbreiten der Referenzanalytik für die Aminosäuren und die statistischen Kennzahlen zur Beurteilung der Schätzgenauigkeit der unterschiedlichen Vermahlungsgrade sind in Tabelle 3 dargestellt.

Im nachfolgenden soll der Einfluss der Vermahlung auf die Vorhersagegenauigkeit für einzelne Aminosäuren diskutiert werden. Gute Kalibriergeraden wurden bereits im Ganzkorn für die meisten Aminosäuren berechnet. Durch ein Vermahlen der Proben auf 1 mm verbesserte sich die Vorhersage deutlich, nur für Cystein wurde eine schlechtere Kalibration erhalten. Der Standardfehler der Vorhersage ist mit 0,2 als zu hoch einzuschätzen. Eine weitere Verbesserung der Güte der Vorhersage durch Vermahlung der Proben auf 0,5 mm und die anschließende Neuaufnahme der Spektren konnte nicht in dem Maße, wie angenommen, und nicht für alle Aminosäuren erreicht werden. Abbildung 1 zeigt beispielhaft die Verbesserung der Güte der Kalibration für Methionin durch Vermahlung der Proben auf 0,5 mm (Abbildung 1b) im Vergleich zu unvermahlenden Proben (Abbildung 1a).

Beurteilt man die Ergebnisse für den für die Aminosäureanalytik üblichen Vermahlungsgrad von 0,5 mm, so kann insgesamt festgestellt werden, dass die Güte der Ka-

wertbare Kalibration bei dem gegebenen Datensatz erstellen, wohingegen die hier vorgestellte Kalibration als anwendbar eingeschätzt wird.

Tabelle 3: Spannbreiten der Aminosäuren in den untersuchten Futtererbsen und statistische Kennzahlen der NIR-Kalibrationen verschiedener Vermahlungsgrade

Aminosäuren (n=207)	Spannbreite (g/kg T)	R _K GK	R _K 1 mm	R _K 0,5 mm	SEP GK	SEP 1 mm	SEP 0,5 mm
Lysin	14,71 - 19,12	0,91	0,93	0,94	0,40	0,36	0,33
Methionin	1,92 - 2,67	0,80	0,90	0,91	0,099	0,067	0,079
Cystein	2,06 - 3,78	0,88	0,80	0,87	0,15	0,20	0,17
Threonin	7,68 - 9,84	0,84	0,94	0,94	0,27	0,16	0,16
Arginin	14,55 - 24,09	0,91	0,96	0,96	0,90	0,57	0,57
Histidin	4,77 - 6,47	0,91	0,94	0,96	0,16	0,12	0,11
Isoleucin	8,70 - 11,7	0,88	0,96	0,95	0,30	0,17	0,19
Leucin	14,61 - 19,44	0,93	0,95	0,95	0,40	0,33	0,31
Phenylalanin	10,05 - 13,17	0,93	0,96	0,96	0,25	0,18	0,18
Valin	10,12 - 13,02	0,77	0,96	0,96	0,44	0,18	0,18
Prolin	6,70 - 9,32	0,87	0,96	0,96	0,31	0,16	0,17
Serin	8,77 - 11,9	0,91	0,92	0,96	0,26	0,25	0,17
Alanin	8,69 - 11,2	0,85	0,95	0,95	0,30	0,17	0,18
Asparagin	22,00 - 31,01	0,92	0,96	0,96	0,71	0,54	0,52
Glutamin	33,41 - 45,53	0,91	0,96	0,97	1,06	0,72	0,71
Glycin	9,00 - 11,72	0,91	0,94	0,96	0,23	0,19	0,18
Tyrosin	7,32 - 9,35	0,79	0,94	0,95	0,29	0,16	0,14

R_K: Regressionskoeffizient der Kalibrierung, SEP: Standardfehler der Vorhersage, GK: Ganzkorn, 1 mm: 1mm Sieb, 0,5 mm: 0,5 mm Sieb

librierung für viele Aminosäuren als sehr gut eingeschätzt werden kann. Dies trifft jedoch nicht auf die schwefelhaltigen, essentiellen Aminosäuren Methionin und Cystein zu. Hier ist der Standardfehler der Vorhersage insbesondere von Cystein noch zu hoch. Bei nachfolgenden Untersuchungen muss hierauf besonderes geachtet werden.

Im Vergleich zu den von Fontaine et al. (2001) publizierten Schätzgenauigkeiten wurde eine verbesserte Vorhersage für alle Aminosäuren erreicht. Der Regressionskoeffizient (RK) für Methionin war in unseren Untersuchungen 0,91 mit einem Fehler der Vorhersage von 0,079, Fontaine et al. erzielten einen RK von 0,68 mit einem Fehler der Vorhersage von 0,1. Für Cystein konnten Fontaine et al. (2001) keine ver-

Durch Einbeziehung weiterer Proben des folgenden Anbaujahres werden die Ergebnisse überprüft. Eventuell kann durch eine erhöhte Variabilität eine weitere Verbesserung der Vorhersagegenauigkeit und Robustheit der Kalibrationen erzielt werden.

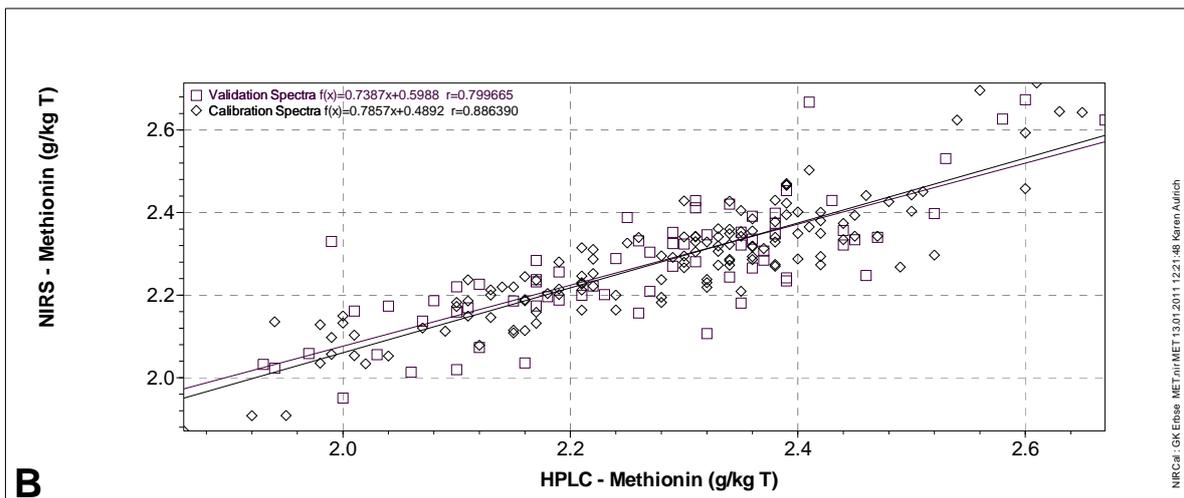
Schlussfolgerungen

Die guten und sehr guten Vorhersagegenauigkeiten der Rohnährstoffe und der Aminosäuregehalte müssen durch die Analyse der Proben eines weiteren Erntejahres überprüft werden; erst dann kann eine Aussage über die Anwendbarkeit der Kalibrationsgleichungen getroffen werden. Auch eine abschließende Beurteilung zur Anwendbarkeit unvermahlener Proben für

die NIR-Schätzung kann erst nach weiterer Prüfung mit unabhängigen Proben vorgenommen werden.

im Rahmen des Projektes „Schwankungen der Inhaltsstoffe in Öko-Futtermitteln: schnelle Bestimmung der Inhaltsstoffe zum sicheren Umgang mit dem Problem“ (FKZ 06OE110) gefördert.

a) Kalibration für Methionin an unvermahlene Proben



b) Kalibration für Methionin nach Vermahlung auf 0,5 mm

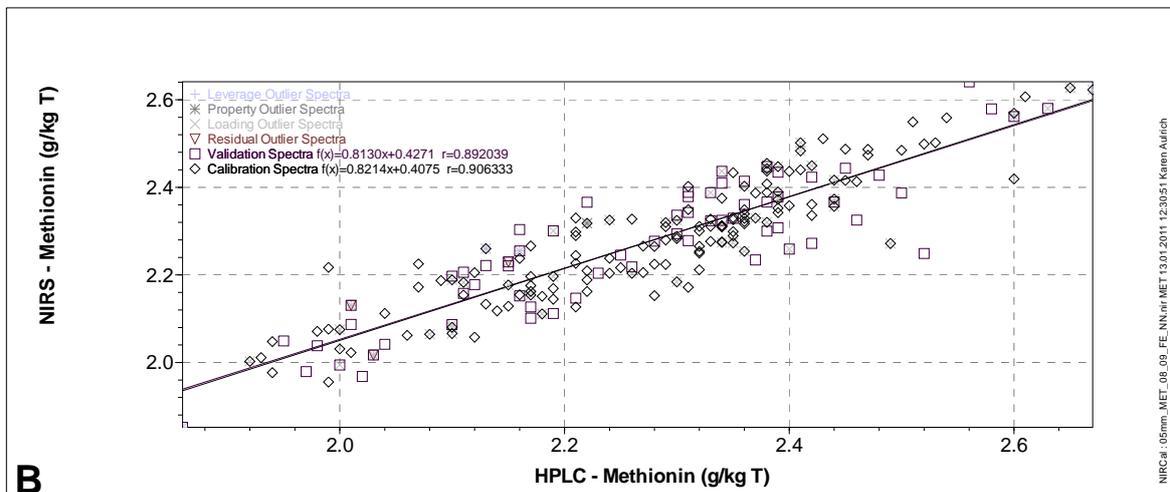


Abbildung 1: Geschätzte Methioningehalte mittels NIRS vs. mittels HPLC analysierter Methioningehalte in a) unvermahlene Futtererbsen und b) auf 0,5 mm vermahlene Futtererbsen

Danksagung

Die Untersuchungen wurden durch das Bundesprogramm Ökologischer Landbau

Die Autoren bedanken sich herzlich bei der LfL Bayern, der LLH Hessen, der Landesforschungsanstalt für Landwirtschaft und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern so-

wie den Landwirtschaftskammern Niedersachsen und Schleswig-Holstein für die Bereitstellung des Probenmaterials.

Literatur

- Böhm H, Aulrich K, Berk A (2007) Rohprotein- und Aminosäuregehalte in Körnerleguminosen und Getreide. In: Zikeli S., Claupein W., Dabbert S. (Hrsg.) Zwischen Tradition und Globalisierung: Bd. 2. Berlin, Köster, S. 569-572
- Böhm H, Berk A (2007) Bewertung ausgewählter Leguminosen- und Leguminosen-Getreide-Gemenge im Ökologischen Landbau hinsichtlich der Ertragsleistung und des Futterwertes. In: Herrmann A, Taube F (eds) Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften. 18, pp 266-267
- Bramm A, Böhm H (2007) Erzeugung von proteinreichem Futter auf Basis von Körnerleguminosen in Reinsaat und im Mischanbau mit Sommergetreidearten. In: UFOP-Schriften: Öl- und Proteinpflanzen - Oil 2005. 28, pp 191-194
- Cohen SA, Michaud DP (1993) Synthesis of A Fluorescent Derivatizing Reagent, 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxy-succinimidyl Carbamate, and Its Application for the Analysis of Hydrolysate Amino-Acids Via High-Performance Liquid-Chromatography. *Anal Biochem* 211: 279-287
- DLG (1991) DLG-Futterwerttabellen – Schweine. 6., erw. und völlig neu gestaltete Aufl., DLG-Verlag, Frankfurt am Main
- EG (1998) Richtlinie 98/64/EG. Zur Festlegung gemeinschaftlicher Analysemethoden für die Bestimmung von Aminosäuren, Rohfetten und Olaquinoxin in Futtermitteln und zur Änderung der Richtlinie 71/393/EWG, Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L 257/14
- Fontaine J, Horr J, Schirmer B (2001) Near-infrared reflectance spectroscopy enables the fast and accurate prediction of the essential amino acid contents in soy, rapeseed meal, sunflower meal, peas, fishmeal, meat meal products, and poultry meal. *J Agric Food Chem* 49:57-66
- VDLUFA (1997) Methodenbuch Band III: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 4. Ergänzungslieferung. VDLUFA-Verlag, Darmstadt

