

## **Schwankungen der Inhaltsstoffe in Öko-Futtermitteln: schnelle Bestimmung der Inhaltsstoffe zum sicheren Umgang mit dem Problem**

**Variations in chemical composition of organically grown feedstuffs: fast determination of the ingredients for certain handling of the problem**

**FKZ: 06OE110**

**Projektnehmer:**

Johann Heinrich von Thünen-Institut  
Institut für Ökologischen Landbau  
Trenthorst 32, 23847 Westerau  
Tel.: +49 4539 8880-0  
Fax: +49 4539 8880-120  
E-Mail: [oel@vti.bund.de](mailto:oel@vti.bund.de)  
Internet: <http://www.vti.bund.de>

**Autoren:**

Aulrich, Karen

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz  
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau (BÖL)

**Johann Heinrich von Thünen-Institut,  
Bundesforschungsinstitut für Ländliche Räume, Wald und Fischerei  
Institut für Ökologischen Landbau  
Trenthorst 32  
23847 Westerau**

## **Abschlussbericht**

**zum Projekt: 06OE110**

**Schwankungen der Inhaltsstoffe in Öko-Futtermitteln: schnelle Bestimmung  
der Inhaltsstoffe zum sicheren Umgang mit dem Problem**

**Laufzeit: 01.08.2008 – 31.12.2010**

**Berichtszeitraum: 01.08.2008 – 15.03.2011**

**Berichtersteller: Dr. Karen Aulrich**

**Zusammenarbeit mit:** AG Versuchsansteller im Ökologischen Landbau,  
Landwirtschaftskammer Niedersachsen,  
Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kultur-  
pflanzen, Institut für Resistenzforschung und Stresstole-  
ranz, Standort Groß Lüsewitz

## **Inhaltsverzeichnis**

- 1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts
- 1.1 Planung und Ablauf des Projekts
- 1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde
- 2 Material und Methoden
- 3 Ergebnisse
- 3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse
- 3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse
- 4 Zusammenfassung
- 5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen
- 6 Literaturverzeichnis
- 7 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen

## 1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

Ziel des Projektes ist die schnelle Erfassung der Inhaltsstoffe in Öko-Proteinfuttermitteln, um den Landwirt in die Lage zu versetzen, mit den Schwankungen der Inhaltsstoffe umzugehen und daraufhin an den Bedarf der Tiere angepasste Futterrationen zusammen stellen zu können. Dazu sollen NIR-Kalibrierungen entwickelt werden, die eine zeitnahe Bestimmung der Rohnährstoffe und der Aminosäuren direkt nach der Ernte erlauben.

Die Ziele des Bundesprogramms Ökologischer Landbau werden dadurch unterstützt, dass ein Tool entwickelt wird, mit dem 100% Biofütterung realisiert werden könnte. Damit können dem Verbraucher Produkte angeboten werden, die tatsächlich entlang der gesamten Prozesskette zu 100 % ökologisch erzeugt wurden. Denn obwohl in der EU-Öko- Verordnung (EG) 889/2008 die 100%-ige Biofütterung verankert ist, existieren Ausnahmegenehmigungen, die den Einsatz konventioneller Futterkomponenten noch bis zum 31.12.2011 erlauben. Dennoch sollten bis zu diesem Zeitpunkt alle Möglichkeiten und Wege erschlossen werden, Proteinfuttermittel zu evaluieren, die optimierte Öko-Futterrationen für alle Tierarten in den verschiedenen Leistungsstadien garantieren. Analysendaten zeigen, dass die Schwankungen in ökologisch erzeugten Futtermitteln deutlich höher sind als in konventionellen, so dass die DLG-Futterwerttabellen nicht geeignet sind, Öko-Futterrationen zu berechnen. Auch durch Anbauoptimierungen wird man die Schwankungen nicht vermeiden können, da sie erheblich durch die Witterung und Standortfaktoren beeinflusst werden. Zudem werden in der ökologischen Tierhaltung zu einem hohen Anteil betriebseigene Futtermischungen eingesetzt. Optimierte Rationen sind daher nur unter zu Hilfenahme einer schnellen und zeitnahen Analytik zur Erfassung der Inhaltsstoffe zu erreichen. Hierzu sollen die im Projektverlauf zu erstellenden NIR-Kalibrierungen dienen, die es erlauben, sowohl die Rohnährstoffe (Rohprotein, Rohfaser, Rohfett, Rohasche, Stärke, Zucker) als auch die essentiellen Aminosäuren schnell und kostengünstig zu schätzen.

Mit dem erfolgreichen Abschluss des skizzierten Projektes soll den Landwirten gezeigt werden, dass es möglich ist, auf Schwankungen der Inhaltsstoffe zu reagieren und eine Anpassung der Futterrationen vorzunehmen, wenn die Analyse der wichtigsten Inhaltsstoffe zeitnah nach der Ernte vorliegt. Dies soll auf Fachtagungen bereits während der Projektlaufzeit kommuniziert werden.

Eine zeitnahe Verbreitung der Projektergebnisse ist durch Veröffentlichung in einschlägigen Mitteilungsorganen der Verbände des ökologischen Landbaus als auch in wissenschaftlichen Fachzeitschriften vorgesehen.

### 1.1 Planung und Ablauf des Projekts

Das Projekt wurde in 7 zeitlich gestaffelten Meilensteinen geplant und durchgeführt, die im Folgenden kurz dargestellt sind:

**Meilenstein 1:** Aus Anbauversuchen der AG Versuchsansteller im Ökologischen Landbau (AVÖL) und des Instituts für Ökologischen Landbau des Johann Heinrich

von-Thünen-Instituts (OEL, vTI) der Jahre 2008 und 2009 sollten insgesamt 450 Ernteproben der Proteinfuttermittel Futtererbsen und Ackerbohnen zur Verfügung gestellt werden. Pro Anbaujahr sollten 225 Proben (je 113 Futtererbsen- und 112 Ackerbohnenproben) von verschiedenen Standorten, bundesweit verteilt, in die Untersuchungen einbezogen werden, um eine möglichst große Varianz der Anbau- und Klimabedingungen wider zu spiegeln.

Da es im Anbaujahr 2008 bei den Ackerbohnen zu witterungsbedingten Ausfällen kam, konnte die geplante Probenanzahl nicht realisiert werden. Im Gegensatz dazu standen Erbsen in größerem Umfang als geplant zur Verfügung. Deshalb wurden in Absprache mit dem Projektgeber im Jahr 2008 mehr Erbsenproben analysiert. Der Ausfall der Ackerbohnenproben des Jahres 2008 wurde im Anbaujahr 2009 kompensiert, indem auch Proben aus anderen BÖL-Projekten in die Untersuchungen einbezogen wurden. Über beide Anbaujahre betrachtet, konnte so die geplante Anzahl an Analysen von Ackerbohnen durchgeführt werden. Bei den Erbsen konnten in beiden Anbaujahren ausreichend Proben bereitgestellt werden, so dass im 2. Untersuchungsjahr eine Auswahl zu analysierender Proben für die Aminosäureanalytik getroffen werden musste. Die Rohnährstoffanalytik wurde für alle bereitgestellten Proben (350 statt geplanter 225 Proben) durchgeführt, indem zusätzlich Eigenmittel vom Institut für Ökologischen Landbau zur Verfügung gestellt wurden.

**Meilenstein 2:** Probenvorbereitung (OEL, vTI): Die Proben wurden nach der Ernte gereinigt, getrocknet und anschließend vermahlen, wobei für die Rohnährstoffanalytik durch ein 1 mm Sieb und für die Aminosäureanalytik durch ein 0,5 mm Sieb vermahlen wurde.

**Meilenstein 3:** Die Aufnahme der Spektren erfolgte am Fourier-Transform-Nah-Infrarot-Spektrometer (NIRLab N200, Fa. Büchi) im Spektralbereich von 1000-2500 nm in einer Schrittweite von 1nm in diffuser Reflexion (OEL, vTI). Die Spektren wurden dreifach gescannt und anschließend das Mittelwertspektrum gebildet. Im Projektantrag geplant war die Spektrenaufnahme für die Entwicklung der Kalibrationen der Rohnährstoffe in der 1 mm Vermahlung und für die der Aminosäuren in der 0,5 mm Vermahlung. Während der Bearbeitung des Projektes entstand die Frage, ob der Aufwand für die Analyse noch weiter reduziert werden könnte, wenn die Ganzkörner direkt vermessen werden und die Schätzung der Parameter anhand der Ganzkornspektren vorgenommen werden könnten. Deshalb wurden die Proben in 3 Korngrößen vermessen: als Ganzkörner, als 1 mm und 0,5 mm vermahlene Proben.

**Meilenstein 4:** Parallel zu den NIRS-Messungen wurden die Proben mittels klassischer, nasschemischer Analytik nach den Methoden der VDLUFA (1993) auf die Rohnährstoffe, einschließlich Stärke und Zucker, untersucht (OEL, vTI).

**Meilenstein 5:** Die Analyse der Aminosäuren erfolgte nach zweifachem (oxidative und nichtoxidative Hydrolyse) Aufschluss (VDLUFA, 1993) mittels HPLC am Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz des Julius Kühn-Instituts in Groß Lüsewitz.

**Meilenstein 6:** Kalibrationsentwicklung für die Schätzung der Rohnährstoffe, einschließlich Stärke und Zucker und der Aminosäuren (OEL, vTI). Die entsprechend Meilenstein 3 aufgenommenen Spektren der drei Korngrößen wurden unterschiedlichen Datenvorbehandlungen unterzogen. Es lagen für die beiden Kulturen Ackerbohnen und Erbsen je 3 Spektrendatensätze (Datensatz: Ganzkornspektren, 1mm-Spektren, 0,5 mm-Spektren) vor. Die Weiterverarbeitung der spektralen Daten erfolg-

te im Weiteren unter Zuhilfenahme chemometrischer Verfahren. Hierfür war es erforderlich, die Referenzdaten für die zu schätzenden Inhaltsstoffe einzubeziehen, ohne sie ist eine Kalibrierung im NIR nicht möglich, im Unterschied zu anderen spektroskopischen Verfahren. Es wurde für jeden Rohnährstoff und jede Aminosäure eine eigene Kalibration erstellt (insgesamt 144 Kalibrationen), d.h. für jeden Parameter wurde das beste mathematische Modell gesucht, das in der Lage war, die Schätzung des einzelnen Parameters mit dem geringsten Fehler vorzunehmen. Es kamen verschiedene mathematische Verfahren zum Einsatz, die im Einzelnen getestet wurden. Die erreichten Schätzgenauigkeiten wurden anhand statistischer Kennzahlen bewertet.

**Meilenstein 7:** Die Ergebnisse wurden mit den Projektpartnern diskutiert und der Abschlussbericht erstellt (OEL, vTI).

## **1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde**

In der ökologischen Geflügel- und Schweineproduktion weisen die Futterrationen zum Teil erhebliche Defizite auf, die vor allem aus Schwankungen in der Qualität des Rohproteins und insbesondere der Gehalte an essentiellen Aminosäuren resultieren. Dies erschwert die Einführung der 100% Biofütterung erheblich. Einheimische Leguminosen können eine Alternative zu hochwertigen konventionellen Proteinfuttermitteln sein. Voraussetzung hierfür ist ein an die jeweilige Proteinqualität angepasster Einsatz im Futter, entsprechend der Zusammensetzung bzw. des Aminosäurenmusters. Zahlreiche Untersuchungen belegen deutliche durch die Sortenwahl bedingte Schwankungen der Inhaltsstoffe, die zudem im erheblichen Maße durch die Jahreswitterung und die Standortbedingungen beeinflusst werden (Böhm und Berk, 2006, Bramm und Böhm 2006, Bramm et al. 2006).

Zur Bewertung der Protein- als auch der Gesamtqualität des Futtermittels kommen verschiedene analytische Methoden zum Einsatz, die sehr zeit- und kostenaufwendig sind wie die klassische Aminosäureanalytik mittels HPLC und die Rohnährstoffanalytik nach den Verfahren der VDLUFA (1997). Zur Vereinfachung der Analytik und zur schnellen Datengewinnung und –bereitstellung bietet sich die Schätzung mittels Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) an. Voraussetzung für die Anwendung der NIRS sind stabile Kalibrierungen für jeden zu schätzenden Inhaltsstoff, die auf den Analysendaten aus klassischen Methoden beruhen. Der Einsatz der NIRS ist in der internationalen Literatur für verschiedene Inhaltsstoffe erfolgreich beschrieben (Miralbes, 2004; Aulrich und Böhm, 2007a, b, 2005; Gonzalez-Martin et al., 2006), unter anderem auch für Aminosäuren (Fontaine et al., 2004; Quiao and Kempen, 2004).

Angeknüpft werden konnte bei Projektbeginn an die Erfahrungen der Antragsteller, die auf den Gebieten der Futtermittelanalytik, klassisch und mittels NIRS, der Planung und Durchführung von Anbauversuchen wie auch der speziellen Aminosäureanalytik vorlagen (Aulrich und Böhm, 2005; Aulrich und Böhm, 2007a, b, c; Böhm et al., 2007; Böhm und Berk, 2006; Jansen et al., 2005; Jansen und Kuhlmann, 2007; Jansen und Flamme, 2000; Jürgens et al., 2007; Sedding et al., 2007).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

Aus Anbauversuchen der AG Versuchsansteller im Ökologischen Landbau (AVÖL) und des Instituts für Ökologischen Landbau des Johann Heinrich von-Thünen-Instituts (OEL, vTI) der Jahre 2008 und 2009 wurden Ernteproben der Proteinfuttermittel Futtererbsen und Ackerbohnen zur Verfügung gestellt. Geplant war, pro Anbaujahr 225 Proben (je 113 Futtererbsen- und 112 Ackerbohnenproben) von verschiedenen Standorten, bundesweit verteilt, in die Untersuchungen einzubeziehen, um eine möglichst große Varianz der Anbau- und Klimabedingungen wider zu spiegeln (Tabelle 1:  $n_{\text{geplant}}$ ).

Da es im Anbaujahr 2008 bei den Ackerbohnen zu witterungsbedingten Ausfällen kam, konnte die geplante Probenanzahl nicht realisiert werden. Im Gegensatz dazu standen Erbsen in größerem Umfang als geplant zur Verfügung (Tabelle 1). Deshalb wurden im Jahr 2008 mehr Erbsenproben analysiert, im Jahr 2009 dann mehr Ackerbohnenproben. Über beide Anbaujahre betrachtet, konnte die geplante Anzahl an Untersuchungen durchgeführt werden. Da insgesamt mehr Proben bereit gestellt wurden als geplant, wurden deutlich mehr Proben analysiert als vorgesehen war. Die Rohnährstoffe wurden in 350 Erbsenproben und 233 Ackerbohnenproben analysiert. Die Aminosäureanalyse erfolgte an insgesamt 490 Proben, 257 Erbsen- und 233 Ackerbohnenproben.

Tabelle 1: Geplantes Probenaufkommen von Erbsen und Ackerbohnen beider Anbaujahre und tatsächlich analysierte Proben

Proben	Futtererbsen			Ackerbohnen			Summe
	$n_{\text{geplant}}$	$n_{\text{analysiert}}$ Aminosäuren	$n_{\text{analysiert}}$ Rohnährstoffe	$n_{\text{geplant}}$	$n_{\text{analysiert}}$ Aminosäuren	$n_{\text{analysiert}}$ Rohnährstoffe	Aminosäuren/ Rohnährstoffe
2008	113	207	207	112	40	40	247/247
2009	112	50	143	113	193	193	243/336
Summe	225	257	350	225	233	233	490/583

### 2.2 Methoden

#### **Probenvermahlung**

Nach der Reinigung und schonenden Trocknung (60°C, 16 h) wurden die Proben gedrittelt und jeweils ein Drittel in einer Cylotec-Mühle (Fa. Foss) durch ein 1 mm Sieb und durch ein 0,5 mm Sieb vermahlen. Ein Drittel der Proben wurde unvermahlen für die NIRS-Messung bereit gestellt.

## **Referenzanalytik**

### *Rohnährstoffanalytik*

Die Analyse der Rohnährstoffe erfolgte an den 1 mm vermahlenden Proben nach den Verbandsmethoden der VDLUFA (VDLUFA, 1997) in zweifacher Wiederholung.

Stärke wurde polarimetrisch nach der Methode von Ewers bestimmt (VDLUFA, 1997).

Die Analyse des Gesamtzuckers erfolgte nach Klärung mit Carrez (siehe Methode nach VDLUFA, 1997) und Anfärbung mit Anthron-Reagenz und anschließender photometrischer Messung (Laws & Oldenburg, 1993).

### *Aminosäurenanalytik*

Für die Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung müssen die Proteine zunächst hydrolysiert werden. Dies erfolgte nach EU-Richtlinie 98/64 (EG, 1998), die eine Hydrolyse mit 6 M Salzsäure unter Zusatz von 0.1 % Phenol vorsieht. Die schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystein werden bei dieser Hydrolyse zerstört. Deshalb werden sie einer Oxidation zu Methioninsulfon bzw. Cysteinsäure unterzogen und anschließend separat hydrolysiert (EG, 1998). Die EG-Methode wurde dahingehend angepasst, dass zur Entfernung des überschüssigen Oxidationsreagenzes anstelle von Natriumdisulfit 48 %ige HBr verwendet wurde (Moore, 1963). Dies führte zu einer deutlichen Reduzierung salzartiger Ablagerungen.

Nach der Hydrolyse erfolgte die Derivatisierung (sogenannte Vorsäulenderivatisierung) der Proben im Gegensatz zur EU-Richtlinie mit 6-Aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl-carbamat. Die Auftrennung der Aminosäuren wurde an einer C18-Säule (3µ C18 – Luna 150 x 2mm, Fa. Phenomenex) vorgenommen (Cohen und Michaud, 1993). Die Vorteile dieser Methode sind die hohe Reproduzierbarkeit in der Derivatisierung und die sehr gute Stabilität der entstandenen Derivate bei gleichzeitig sehr hoher Empfindlichkeit für primäre und sekundäre Aminosäuren durch selektive Fluoreszenzdetektion. Es stand eine HPLC-Anlage (Agilent 1100, Fa Agilent) mit Fluoreszenzdetektor (EX 250 nm, EM 400 nm) zur Verfügung. Die Elution erfolgte mittels eines Gradienten.

## **NIRS**

### **NIRS-Messung**

Die Aufnahme der Spektren erfolgte am Fourier-Transform-Nah-Infrarot-Spektrometer (NIRLab N200, Fa. Büchi, Essen) im Spektralbereich von 1000-2500 nm mit einer Schrittweite von 1nm 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 Spektren wurden als Mittelwertspektren gespeichert und in die Chemometrie-Software NIRCal (Fa. Büchi, Essen) importiert.



### **Kalibrationsentwicklung**

Die Weiterverarbeitung der spektralen Daten erfolgte im Weiteren unter Zuhilfenahme chemometrischer Verfahren. Hierfür war es erforderlich, die Referenzdaten für die zu schätzenden Inhaltsstoffe und die Aminosäuren einzubeziehen, ohne sie ist eine Kalibrierung im NIR nicht möglich, im Unterschied zu anderen spektroskopischen Verfahren. Es wurde für jeden Rohnährstoff, für Stärke und Zucker und jede Aminosäure eine eigene Kalibration erstellt (insgesamt 144 Kalibrationen), d.h. für jeden Parameter wurde das beste mathematische Modell gesucht, das in der Lage war, die Schätzung des einzelnen Parameters mit dem geringsten Fehler vorzunehmen. Für die Kalibrationsentwicklung wurden jeweils zwei Drittel der Spektren genutzt. Die Validierung erfolgte an einem Drittel der Proben. Es kamen verschiedene mathematische Verfahren zum Einsatz, die im Einzelnen getestet wurden.

Die erreichten Schätzgenauigkeiten wurden anhand statistischer Kennzahlen bewertet, dies waren der Standardfehler der Kalibrierung (SEE: standard error of estimation), der Standardfehler der Validierung (SEP: standard error of prediction), die Regressionskoeffizienten von Kalibration und Validation und der BIAS der Validation (Maß für die Unrichtigkeit). Das Ziel waren möglichst kleine SEE- und SEP-Werte. Diese können allerdings nie kleiner sein als der Fehler der Referenzmethode. Statistisch gesehen ist der erwartete Fehler einer Applikation mit einer Wahrscheinlichkeit von 68 % in einem Intervall von  $\pm$  SEP und mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % in einem Intervall von  $\pm$  2 SEP. Die Regressionskoeffizienten sollen so nahe wie möglich bei 1 liegen und der Bias soll so nahe wie möglich bei 0 sein. Sind diese Forderungen erfüllt, kann von einer guten Kalibration gesprochen werden.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse**

#### **Referenzanalytik**

##### *Rohnährstoffanalytik einschließlich Stärke und Zucker*

Die Ergebnisse der Rohnährstoffanalytik, dargestellt in Tabelle 2 für Futtererbsen und in Tabelle 3 für Ackerbohnen, wurden mit den Tabellenwerten aus den DLG-Futterwerttabellen (DLG 1991) verglichen. Mit Ausnahme der Rohfasergehalte in Futtererbsen und der Rohprotein (XP)- und Rohaschegehalte (XA) in Ackerbohnen wurden deutliche Unterschiede zu den Tabellenwerten für alle anderen analysierten Parametern festgestellt. Die XP- und die XA-Gehalte der Futtererbsen liegen unter den konventionellen Tabellenwerten, wohingegen die Rohfett (XL)-, Stärke (XS)- und die Zucker (XZ)-Gehalte deutlich über den konventionellen Tabellenwerten liegen. Bei den Ackerbohnen wurden im Mittel ähnliche XP- und XA-Gehalte analysiert wie in den Futterwerttabellen dokumentiert. Die analysierten XL-, XF-, XS- und XZ-Gehalte der Ackerbohnen liegen deutlich über den Tabellenwerten.

Andererseits wird deutlich, dass die Spannbreiten sowohl bei Futtererbsen als auch bei Ackerbohnen sehr hoch sind, wie bereits in früheren Arbeiten von Böhm und Berk (2007) bzw. Bramm und Böhm (2007) aufgezeigt wurde. Dies verdeutlicht die Not-

wendigkeit fortlaufender Analysen der Futtermittel zur Erstellung optimierter Futterrationen. Die Ergebnisse zeigen aber auch, dass ein formaler Rückgriff auf Tabellenwerte nicht ausreichend ist.

Tabelle 2: Spannbreiten und Mittelwerte mit Standardabweichungen der Rohnährstoffe in Futtererbsen im Vergleich mit DLG-Futterwerttabellen – Schweine (DLG 1991)

Inhaltsstoff (g/kg T)	Spannbreite	Mittelwert (n=350)	DLG-Tabelle (n=104)
Rohprotein	180 – 267	229 ± 14	259 ± 18
Rohfett	16,6 – 27,8	20,3 ± 1,8	15 ± 5
Rohfaser	50,3 – 87,9	69,0 ± 7,0	68 ± 14
Rohasche	23,4 – 36,7	30,9 ± 2,7	37 ± 11
Stärke	474 – 553	522 ± 15	475 ± 59
Zucker	62,5 – 86,5	74,2 ± 4,6	66 ± 6

Tabelle 3: Spannbreiten und Mittelwerte mit Standardabweichungen der Rohnährstoffe in Ackerbohnen im Vergleich mit DLG-Futterwerttabellen – Schweine (DLG 1991)

Inhaltsstoff (g/kg T)	Spannbreite	Mittelwert (n=233)	DLG-Tabelle (n=104)
Rohprotein	247 – 355	292 ± 20	299 ± 27
Rohfett	14,1 – 25,7	18,3 ± 1,9	16 ± 6
Rohfaser	79,8 – 117	95,0 ± 7,1	90 ± 16
Rohasche	24,3 – 52,9	38,1 ± 4,3	39 ± 6
Stärke	360– 530	434 ± 20	411 ± 52
Zucker	44,4 – 69,1	53,4 ± 4,2	40 ± 10

### *Aminosäurenanalytik*

Die Analysen wurden je Probe mit einem relativen Fehler von  $\leq 4\%$  in zweifacher Wiederholung ausgeführt. Die schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystein wurden als Methioninsulfon bzw. Cysteinsäure in einer separaten ebenfalls doppelt ausgeführten Analyse mit den gleichen Fehlergrenzen bestimmt.

In Abbildung 1 sind exemplarisch Chromatogramme von einem Standard, einer nichtoxidierten und einer oxidierten Probe gezeigt (von oben nach unten). Bei der Hydrolyse ohne vorhergehende Oxidation (Abb. 1 Mitte) werden Cystein nahezu vollständig und Methionin weitgehend zerstört. Durch eine zusätzliche Oxidation und

anschließender Hydrolyse der Proben lassen sich beide Aminosäuren als Methioninsulfon bzw. Cysteinsäure (Abb. 1 Unten) reproduzierbar bestimmen.

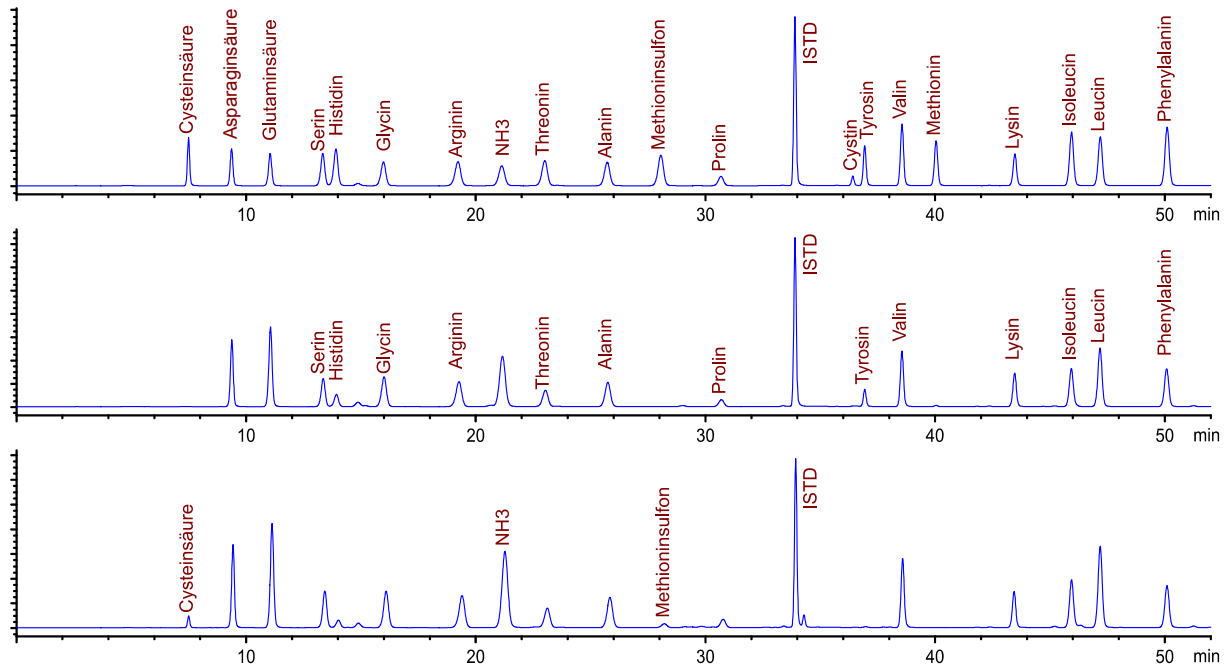


Abbildung 1 Typisches Chromatogramm der Aminosäuren nach dem AccQ-Verfahren

Oben - Aminosäurenstandard ASS-18 + Cysteinsäure und Methioninsulfon

Mitte - Probe ohne vorhergehende Oxidation

Unten - Probe mit vorhergehender Oxidation

Die Ergebnisse der HPLC-Analysen sind in Tabelle 4 vergleichend zu den Daten der Aminosäurentabellen der Degussa (Aminodat™ 2.0, Fa. Degussa 2001) dargestellt. Bei Betrachtung der Mittelwerte der im Projekt erhobenen Daten und der Tabellenwerte (Degussa 2001) werden deutliche Abweichungen in allen analysierten Aminosäuren sichtbar. Lediglich beim Cystein wurden zu den Tabellenwerten vergleichbare Werte in Futtererbsen und Ackerbohnen analysiert.

Tabelle 4: Spannbreiten und Mittelwerte der mittels HPLC analysierten Aminosäuren in Futtererbsen und Ackerbohnen

Aminosäuren g/kg T)	Futtererbsen			Ackerbohnen		
	Spannbreite	Mittelwert (n=257)	Degussa (n=19)	Spannbreite	Mittelwert (n=233)	Degussa (n=103)
Lysin	14,6 – 19,6	17,2	14,8	15,9 – 25,0	19,4	16,1
Methionin	1,85 – 2,67	2,25	2,0	1,74 – 2,44	2,15	1,8
Cystein	2,06 – 3,78	3,02	3,1	2,03 – 4,1	3,40	3,3
Threonin	7,10 – 9,84	8,75	7,7	9,08 – 11,9	10,4	8,9
Arginin	12,3 – 24,1	18,8	17,5	20,2 – 34,9	26,9	22,6
Histidin	4,12 – 6,47	5,58	5,0	6,38 – 8,63	7,33	6,6
Isoleucin	7,76 – 11,7	10,1	8,4	10,3 – 14,9	12,3	10,3
Leucin	12,5 – 19,4	16,6	14,6	17,5 – 25,8	21,2	18,6
Phenylalanin	8,72 – 13,2	11,2	9,8	10,9 – 15,4	12,3	10,8
Valin	8,95 – 13,0	11,5	9,6	11,8 – 16,2	13,7	11,5
Prolin	6,70 – 9,55	8,13	8,2	9,04 – 13,7	11,2	10,2
Serin	7,79 – 11,9	10,2	9,6	10,8 – 15,5	12,9	11,9
Alanin	8,09 – 11,2	9,98	8,8	10,3 – 13,4	11,7	10,3
Asparaginsäure	20,6 – 31,0	26,7	23,6	26,5 – 39,2	31,8	27,3
Glutaminsäure	29,9 – 45,5	39,8	33,7	41,3 – 61,2	50,2	40,0
Glycin	7,96 – 11,7	10,2	8,9	10,8 – 15,0	12,7	10,7
Tyrosin	6,54 – 9,35	8,21	6,8	8,79 – 12,0	10,1	k.A.*

\*keine Angabe

## **NIRS**

### *NIRS-Schätzung der Rohnährstoffe einschließlich Stärke und Zucker*

Tabelle 5 und 6 zeigen die Ergebnisse der Kalibrierung der Rohnährstoffe für Futtererbsen und Ackerbohnen bei unterschiedlichen Vermahlungsgraden, dargestellt anhand der statistischen Kennzahlen Regressionskoeffizienten der Kalibrierung ( $R_K$ ), Regressionskoeffizienten der Validierung ( $R_V$ ), Standardfehler der Kalibrierung (SEE: standard error of estimation) und Standardfehler der Vorhersage (SEP: standard error of prediction). Neben der grundsätzlichen Frage der Eignung der NIR-Methode zur schnellen Vorhersage der Futterqualität sollte der Einfluss des Vermahlungsgrades auf die Güte der Vorhersage der Rohnährstoffe für beide Leguminosen geprüft werden, um den Aufwand für die Probenvorbereitung zu reduzieren und damit die Analytik entscheidend zu vereinfachen. Diese Frage war nicht Bestandteil des Projektantrages, wurde aber von den Bearbeitern als sinnvoller, ergänzender Aspekt betrachtet und deshalb zusätzlich betrachtet. Der Vergleich der Regressionskoeffizienten der Kalibrierung von Ganzkörnern, nach Vermahlung durch ein 1 mm Sieb, üblicherweise für die Rohnährstoffanalytik verwendet, und nach Vermahlung durch ein 0,5 mm Sieb, üblich für die Vorbereitung zur Aminosäureanalyse, zeigt für Futtererbsen (Tabelle 5), 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 vermahlten 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- und der Zuckergehalte war hingegen erst nach Vermahlung der Proben auf 0,5 mm erfolgreich. Hier wird durch das Vermahlen eine deutliche Verbesserung des Regressionskoeffizienten als auch der Vorhersagegenauigkeit erreicht. An dieser Stelle zeigt sich, dass eine Weiterentwicklung der Kalibrationen sinnvoll wäre, um sowohl die Robustheit als auch die Vorhersagegenauigkeit der Rohnährstoffe zu verbessern. Dies trifft in besonderem Maße für die Vorhersage der Fett- und Zuckergehalte zu.

Tabelle 5: Statistische Kennzahlen der NIR-Kalibrationen der Rohnährstoffe in Futtererbsen (n= 350) verschiedener Vermahlungsgrade

Inhaltsstoff (Spannbreite (g/kg T))	SEE	SEE	SEE	R <sub>K</sub>	R <sub>K</sub>	R <sub>K</sub>	SEP	SEP	SEP	R <sub>V</sub>	R <sub>V</sub>	R <sub>V</sub>
	GK	1mm	0,5mm	GK	1mm	0,5mm	GK	1mm	0,5mm	GK	1mm	0,5mm
Rohprotein (180-267)	5,7	3,7	3,7	0,92	0,97	0,96	5,4	3,7	3,7	0,92	0,96	0,96
Rohfett (17-28)	0,96	1,01	0,88	0,83	0,82	0,86	0,93	0,91	0,83	0,79	0,82	0,85
Rohfaser (50-88)	3,2	3,6	3,2	0,86	0,81	0,89	3,0	3,4	3,3	0,86	0,84	0,84
Rohasche (23-37)	1,2	0,81	0,76	0,84	0,93	0,94	1,2	0,97	0,90	0,84	0,88	0,91
Stärke (474-553)	6,4	6,0	5,7	0,90	0,91	0,92	6,2	5,7	5,9	0,90	0,92	0,91
Zucker (62-87)	2,6	3,0	1,7	0,80	0,75	0,93	3,0	2,9	1,8	0,81	0,76	0,91

R<sub>K</sub>: Regressionskoeffizient der Kalibrierung, SEE: Standardfehler der Kalibrierung, R<sub>V</sub>: Regressionskoeffizient der Validierung, SEP: Standardfehler der Vorhersage, GK: Ganzkorn, 1 mm: 1mm Sieb, 0,5 mm: 0,5 mm Sieb

Tabelle 6: Statistische Kennzahlen der NIR-Kalibrationen der Rohnährstoffe in Ackerbohnen (n=233) verschiedener Vermahlungsgrade

Inhaltsstoff (Spannbreite (g/kg T))	SEE	SEE	SEE	R <sub>K</sub>	R <sub>K</sub>	R <sub>K</sub>	SEP	SEP	SEP	R <sub>V</sub>	R <sub>V</sub>	R <sub>V</sub>
	GK	1mm	0,5mm	GK	1mm	0,5mm	GK	1mm	0,5mm	GK	1mm	0,5mm
Rohprotein (247-355)	12,8	6,2	4,0	0,73	0,95	0,98	13,7	5,9	4,8	0,73	0,95	0,97
Rohfett (14-26)	1,4	0,92	0,99	0,61	0,87	0,86	1,4	0,92	0,96	0,60	0,87	0,86
Rohfaser (78-117)	4,9	4,2	4,1	0,73	0,79	0,78	4,8	4,3	3,9	0,73	0,81	0,78
Rohasche (24-53)	2,1	1,9	2,1	0,87	0,88	0,86	2,1	1,9	2,1	0,85	0,88	0,86
Stärke (360-530)	7,6	6,5	7,6	0,92	0,94	0,91	7,9	6,4	7,6	0,90	0,92	0,90
Zucker (44-69)	2,1	2,0	2,0	0,85	0,87	0,88	2,1	2,1	2,1	0,85	0,87	0,87

R<sub>K</sub>: Regressionskoeffizient der Kalibrierung, SEE: Standardfehler der Kalibrierung, R<sub>V</sub>: Regressionskoeffizient der Validierung, SEP: Standardfehler der Vorhersage, GK: Ganzkorn, 1 mm: 1mm Sieb, 0,5 mm: 0,5 mm Sieb

In Tabelle 6 ist der Kalibrationserfolg für die Vorhersage der Rohnährstoffe in Ackerbohnen für die verschiedenen Korngrößen dargestellt. An den statistischen Kennzahlen zur Beurteilung der Güte der Kalibrierung wird sehr deutlich, dass eine Messung der Ganzkörner nicht zu einer zufriedenstellenden Vorhersage der Gehalte der Rohnährstoffe führt. Die Fehler der Vorhersage sind für alle Rohnährstoffe sehr hoch. Allerdings sind die erstellten Kalibrationen für Stärke und Zucker bereits für die Ganzkörner als zufriedenstellend einzuschätzen. Werden die Fehler der Vorhersage

für die Rohnährstoffe bei der 1 mm Vermahlung deutlich geringer, so trifft dies für Stärke und Zucker nicht zu, hier bleibt die Schätzgenauigkeit nahezu konstant. Die Ergebnisse der Kalibrationsentwicklungen für die 1 mm vermahlene Proben zeigen deutliche Verbesserungen für alle Rohnährstoffe. Die Fehler der Vorhersage konnten stark verringert werden und die Regressionskoeffizienten deutlich verbessert werden. Alle Rohnährstoffe in Ackerbohnen können mit der Standardvermahlung durch ein 1 mm Sieb erfolgreich geschätzt werden. Die statistischen Kennzahlen für die Vorhersage der Rohfasergehalte ist am schlechtesten zu bewerten, dies liegt aber auch in der Referenzanalytik begründet, die bereits mit einem hohen Fehler behaftet ist.

Tabelle 7: Statistische Kennzahlen der NIR-Kalibrationen der Aminosäuren in Futtererbsen verschiedener Vermahlungsgrade

Aminosäuren (Spannbreite in g/kg T)	SEE GK	SEE 1 mm	SEE 0,5 mm	R <sub>K</sub> GK	R <sub>K</sub> 1 mm	R <sub>K</sub> 0,5 mm	SEP GK	SEP 1 mm	SEP 0,5 mm	R <sub>V</sub> GK	R <sub>V</sub> 1 mm	R <sub>V</sub> 0,5 mm
Lysin (14,6-19,6)	0,47	0,39	0,31	0,88	0,92	0,95	0,49	0,39	0,32	0,87	0,92	0,95
Methionin (1,85-2,67)	0,084	0,071	0,061	0,86	0,90	0,93	0,081	0,071	0,065	0,87	0,91	0,92
Cystein (2,06-3,78)	0,16	0,19	0,16	0,87	0,82	0,85	0,15	0,19	0,17	0,88	0,80	0,87
Threonin (7,10-9,84)	0,15	0,17	0,14	0,95	0,94	0,96	0,18	0,17	0,14	0,93	0,94	0,96
Arginin (12,3-24,1)	0,84	0,60	0,59	0,91	0,96	0,96	0,81	0,60	0,55	0,91	0,96	0,96
Histidin (4,12-6,47)	0,18	0,12	0,09	0,90	0,95	0,97	0,18	0,13	0,10	0,89	0,95	0,97
Isoleucin (7,76-11,7)	0,21	0,18	0,15	0,95	0,96	0,97	0,20	0,18	0,16	0,95	0,96	0,97
Leucin (12,5-19,4)	0,44	0,36	0,24	0,92	0,95	0,98	0,44	0,36	0,25	0,92	0,95	0,98
Phenylalanin (8,72-13,2)	0,24	0,28	0,16	0,94	0,92	0,97	0,24	0,28	0,17	0,94	0,92	0,97
Valin (8,95-13,0)	0,36	0,25	0,17	0,87	0,94	0,97	0,36	0,26	0,17	0,84	0,94	0,96
Prolin (6,70-9,55)	0,29	0,18	0,18	0,89	0,96	0,96	0,30	0,19	0,18	0,89	0,96	0,95
Serin (7,79-11,9)	0,28	0,20	0,17	0,91	0,95	0,97	0,28	0,21	0,17	0,91	0,95	0,97
Alanin (8,09-11,2)	0,23	0,21	0,21	0,91	0,93	0,93	0,25	0,21	0,20	0,90	0,93	0,94
Asparaginsäure (20,6-31,0)	0,74	0,62	0,52	0,92	0,94	0,96	0,74	0,62	0,52	0,90	0,94	0,96
Glutaminsäure (29,9-45,5)	1,14	0,74	0,83	0,90	0,96	0,95	1,15	0,73	0,82	0,90	0,96	0,95
Glycin (7,96-11,7)	0,28	0,20	0,18	0,89	0,95	0,96	0,28	0,19	0,19	0,89	0,95	0,96
Tyrosin (6,54-9,35)	0,25	0,13	0,14	0,88	0,96	0,96	0,24	0,14	0,14	0,87	0,96	0,96

R<sub>K</sub>: Regressionskoeffizient der Kalibrierung, SEE: Standardfehler der Kalibrierung, R<sub>V</sub>: Regressionskoeffizient der Validierung, SEP: Standardfehler der Vorhersage, GK: Ganzkorn, 1 mm: 1mm Sieb, 0,5 mm: 0,5 mm Sieb

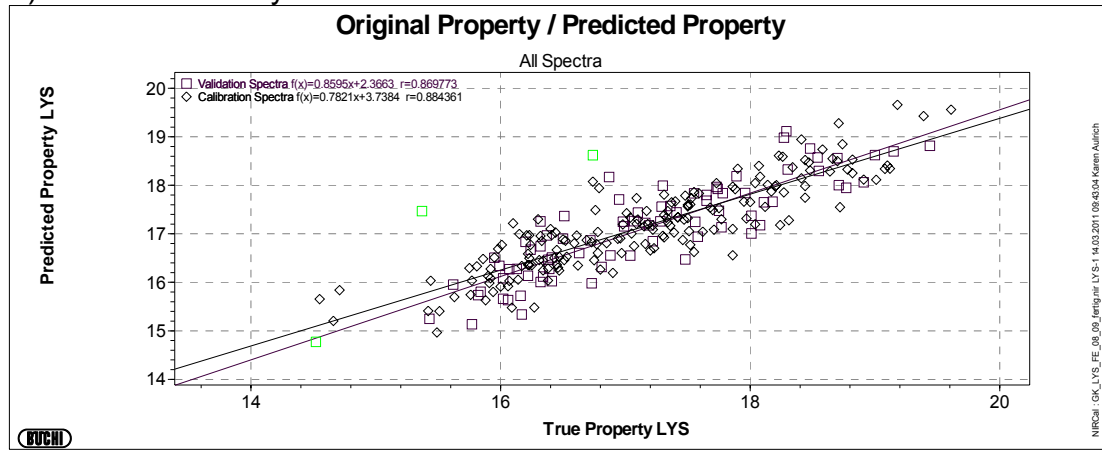
Die statistischen Kennzahlen zur Beurteilung der Schätzgenauigkeit der Aminosäuren in Futtererbsen bei unterschiedlichen Vermahlungsgraden sind in Tabelle 7 dargestellt. Die erstellten Kalibrationen für die Vorhersage aller Aminosäuren nach Vermahlung der Erbsen durch ein 0,5 mm Sieb (Standard für Aminosäureanalytik) sind als gut bzw. sehr gut zu bewerten. Die essentiellen Aminosäuren können mit einem geringen Fehler geschätzt werden. Die Regressionskoeffizienten der Kalibrierungen liegen alle über 0,9, lediglich für Cystein liegt der  $R_K$  mit 0,85 darunter. Auch alle anderen Aminosäuren können mit einem geringen Fehler vorhergesagt werden, die  $R_K$  sind alle über 0,95 mit Ausnahme des Alanins.

Im nachfolgenden soll der Einfluss der Vermahlung auf die Vorhersagegenauigkeit der einzelnen Aminosäuren diskutiert werden. Zufriedenstellende Kalibriergeraden wurden für die meisten Aminosäuren bereits an Ganzkörnern berechnet. Durch ein Vermahlen der Proben auf 1 mm verbesserte sich die Vorhersage für einige Aminosäuren, nur für Cystein wurde eine schlechtere Kalibration erhalten. Eine weitere Verbesserung der Güte der Vorhersage durch Vermahlung der Proben auf 0,5 mm und die anschließende Neuaufnahme der Spektren konnte für alle Aminosäuren erreicht werden.

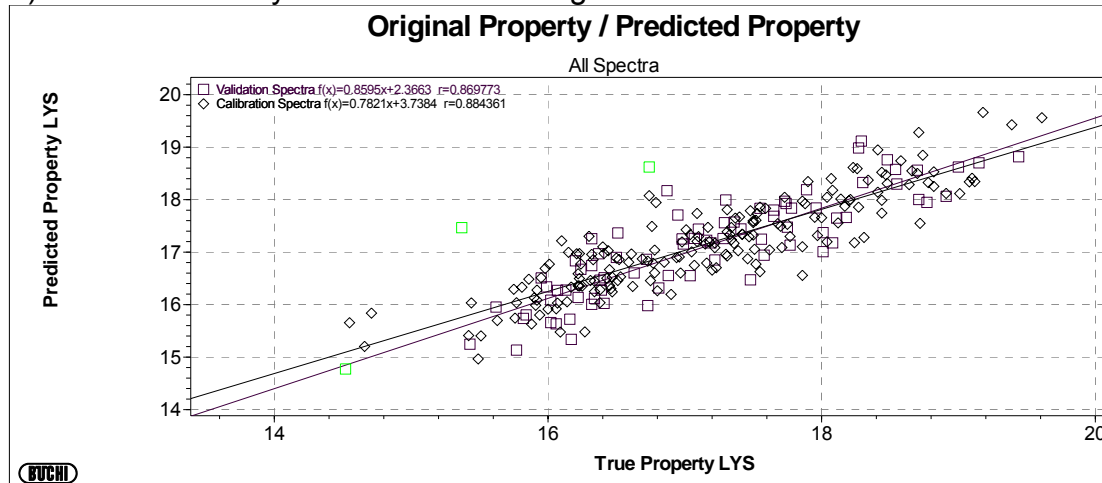
Abbildung 2 zeigt beispielhaft die Verbesserung der Güte der Kalibration für Lysin durch Vermahlung der Proben auf 0,5 mm (Abb. 2c) im Vergleich zu unvermahlenden Proben (Abb. 2a) und auf 1mm vermahlenden Futtererbsen (Abb. 2b).



a) Kalibration für Lysin an unvermahlene Proben



b) Kalibration für Lysin nach Vermahlung auf 1 mm



c) Kalibration für Lysin nach Vermahlung auf 0,5 mm

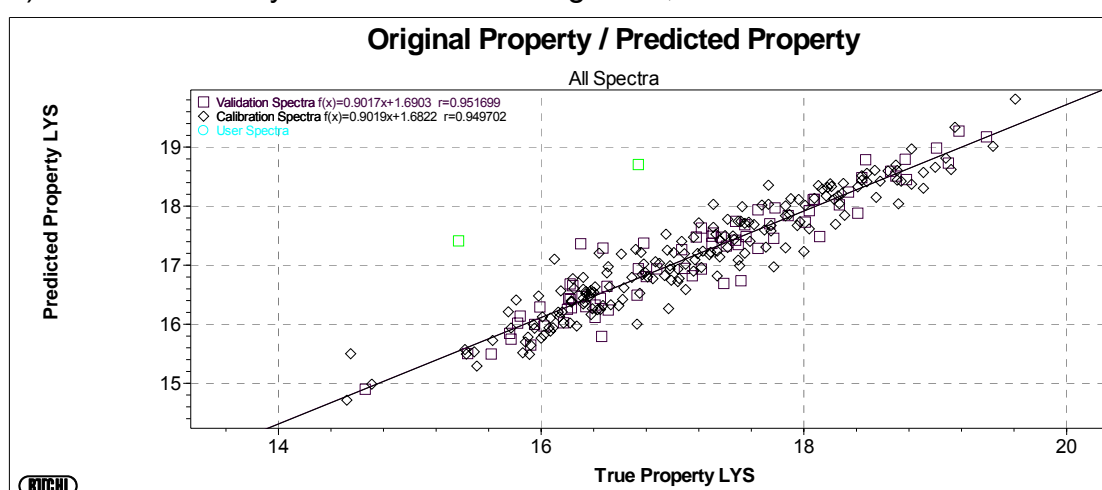


Abbildung 2: Geschätzte Lysingehalte mittels NIRS vs. mittels HPLC analysierter Lysingehalte in a) unvermahlene Futtererbsen, b) auf 1 mm vermahlene und c) auf 0,5 mm vermahlene Futtererbsen

Beurteilt man die Ergebnisse der Aminosäureschätzung aller Korngrößen, so wird deutlich, dass mit einer Vermahlung der Erbsen durch ein 0,5 mm Sieb die höchste Schätzgenauigkeit erreicht wird. Demzufolge ist für künftige Schätzungen der Aminosäuregehalte in Futtererbsen eine Vermahlung auf 0,5 mm zu empfehlen.

Eine erfolgreiche Vorhersage der Aminosäuregehalte in Futtererbsen mittels NIR ist möglich.

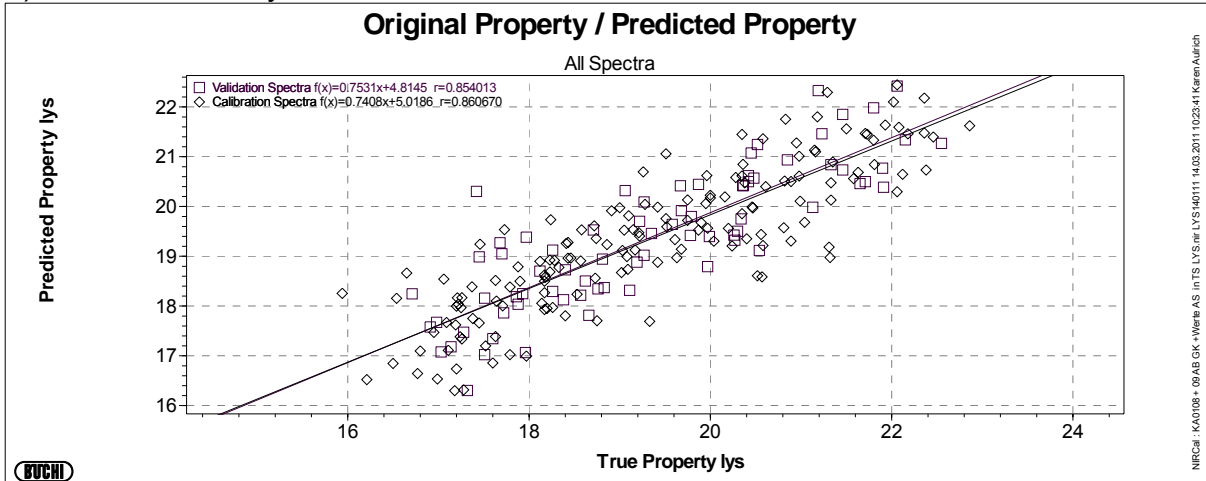
Die statistischen Kennzahlen zur Beurteilung der Güte der Kalibrationen zur Vorhersage der Aminosäuregehalte in Ackerbohnen (Tabelle 8) können ähnlich bewertet werden wie die der Futtererbsen.

Tabelle 8: Statistische Kennzahlen der NIR-Kalibrationen der Aminosäuren in Ackerbohnen verschiedener Vermahlungsgrade

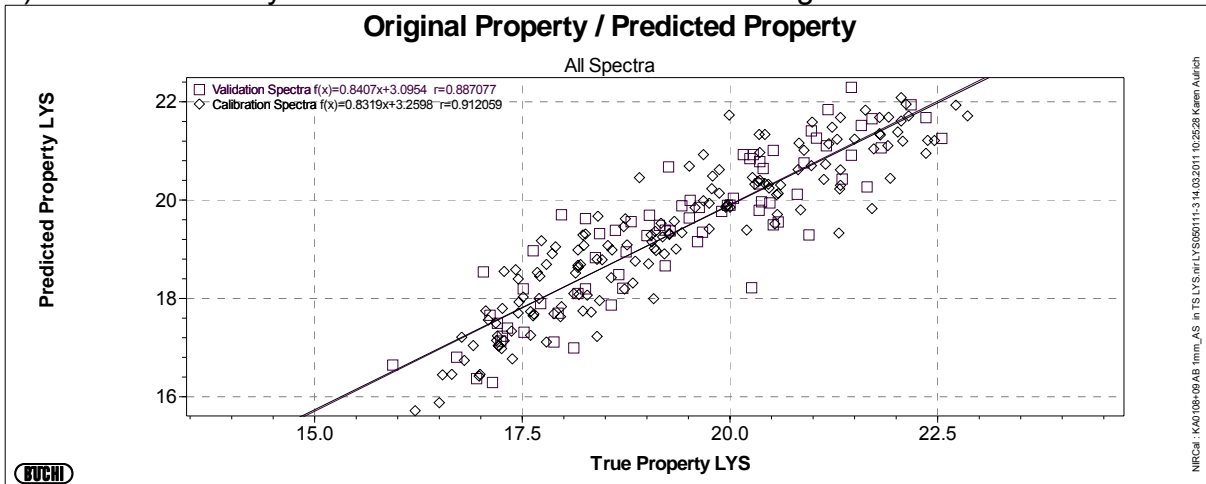
Aminosäuren (Spannbreite in g/kg T)	SEE GK	SEE 1 mm	SEE 0,5 mm	R <sub>K</sub> GK	R <sub>K</sub> 1 mm	R <sub>K</sub> 0,5 mm	SEP GK	SEP 1 mm	SEP 0,5 mm	R <sub>V</sub> GK	R <sub>V</sub> 1 mm	R <sub>V</sub> 0,5 mm
Lysin (15,9-25,0)	0,85	0,72	0,58	0,86	0,91	0,93	0,83	0,73	0,61	0,85	0,89	0,92
Methionin (1,74-2,44)	0,077	0,048	0,048	0,83	0,94	0,90	0,077	0,053	0,049	0,81	0,92	0,90
Cystein (2,03-4,1)	0,17	0,07	0,10	0,90	0,98	0,94	0,18	0,13	0,11	0,91	0,95	0,92
Threonin (9,08-11,9)	0,28	0,21	0,16	0,89	0,94	0,96	0,29	0,22	0,15	0,89	0,94	0,97
Arginin (20,2-34,9)	1,51	0,73	0,67	0,88	0,97	0,98	1,53	0,73	0,67	0,87	0,97	0,98
Histidin (6,38-8,63)	0,18	0,14	0,10	0,94	0,96	0,98	0,22	0,14	0,11	0,91	0,96	0,98
Isoleucin (10,3-14,9)	0,28	0,27	0,23	0,94	0,95	0,97	0,34	0,27	0,23	0,92	0,94	0,96
Leucin (17,5-25,8)	0,51	0,47	0,38	0,94	0,95	0,97	0,62	0,48	0,37	0,92	0,94	0,97
Phenylalanin (10,9-15,4)	0,35	0,28	0,20	0,88	0,94	0,97	0,42	0,28	0,20	0,87	0,92	0,96
Valin (11,8-16,2)	0,45	0,25	0,21	0,85	0,96	0,97	0,46	0,29	0,19	0,87	0,94	0,98
Prolin (9,04-13,7)	0,44	0,29	0,23	0,86	0,94	0,96	0,44	0,31	0,24	0,88	0,94	0,95
Serin (10,8-15,5)	0,45	0,24	0,22	0,87	0,97	0,97	0,48	0,25	0,22	0,87	0,96	0,97
Alanin (10,3-13,4)	0,31	0,22	0,17	0,90	0,95	0,97	0,31	0,23	0,18	0,91	0,95	0,97
Asparaginsäure (26,5-39,2)	1,07	0,84	0,71	0,89	0,94	0,95	1,12	0,83	0,73	0,88	0,93	0,95
Glutaminsäure (41,3-61,2)	1,62	1,01	0,77	0,91	0,97	0,98	1,72	1,01	0,82	0,90	0,96	0,98
Glycin (10,8-15,0)	0,47	0,26	0,20	0,85	0,96	0,97	0,47	0,27	0,22	0,87	0,96	0,97
Tyrosin (8,79-12,0)	0,36	0,24	0,18	0,84	0,93	0,96	0,36	0,24	0,19	0,85	0,93	0,96

R<sub>K</sub>: Regressionskoeffizient der Kalibrierung, SEE: Standardfehler der Kalibrierung, R<sub>V</sub>: Regressionskoeffizient der Validierung, SEP: Standardfehler der Vorhersage, GK: Ganzkorn, 1 mm: 1mm Sieb, 0,5 mm: 0,5 mm Sieb

a) Kalibration für Lysin an unvermahlene Ackerbohnen



b) Kalibration für Lysin in Ackerbohnen nach Vermahlung auf 1 mm



c) Kalibration für Lysin in Ackerbohnen nach Vermahlung auf 0,5 mm

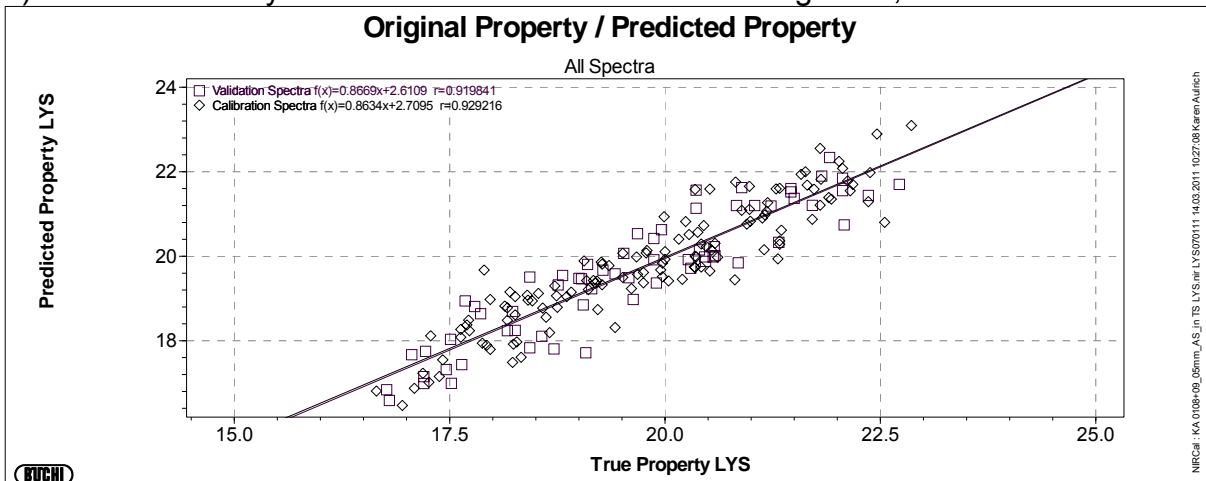


Abbildung 3: Geschätzte Lysingehalte mittels NIRS vs. mittels HPLC analysierter Lysingehalte in a) unvermahlene Ackerbohnen, b) auf 1 mm vermahlene und c) auf 0,5 mm vermahlene Ackerbohnen

Die Vorhersagegenauigkeit erhöht sich deutlich von den unvermahlenden zu den auf 0,5 mm vermahlenden Proben, zum Teil wird der Fehler der Vorhersage mehr als halbiert (siehe z. B. Arginin, Serin, Glycin). Die Regressionskoeffizienten der Kalibrierung liegen für alle Aminosäuren über 0,95, was als sehr gut zu bewerten ist. Eine Ausnahme stellen lediglich die schwefelhaltigen Aminosäuren mit einem  $R_K$  von 0,9 bzw. 0,94 dar. Abbildung 3 zeigt beispielhaft die Verbesserung der Kalibrationen von den unvermahlen gemessenen Ackerbohnen über die durch ein 1 mm Sieb vermahlenden bis zu den durch ein 0,5 mm Sieb vermahlenden Ackerbohnen in graphischer Form.

Nach Bewertung der statistischen Kennzahlen der drei Korngrößen kann gefolgert werden, dass auch für Ackerbohnen die NIR-Messung an 0,5 mm vermahlenden Proben vorgenommen werden sollte. Eine erfolgreiche Vorhersage der Aminosäuregehalte in Ackerbohnen ist bei diesem Vermahlungsgrad möglich.

### **3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für eine Ausdehnung des ökologischen Landbaus; bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse**

Ziel des Projektes war die schnelle Erfassung der Inhaltsstoffe in Öko-Proteinfuttermitteln, um Landwirte in die Lage zu versetzen, mit den Schwankungen der Inhaltsstoffe umzugehen und daraufhin an den Bedarf der Tiere angepasste Futterrationen zusammen stellen zu können. Dazu sollten NIR-Kalibrierungen entwickelt werden, die eine zeitnahe Bestimmung der Rohnährstoffe und der Aminosäuren direkt nach der Ernte erlauben.

Das Ziel des Projektes wurde erreicht. Es wurden Kalibrationen (36 Kalibrationen für Rohnährstoffe und 102 Kalibrationen für Aminosäuren) entwickelt, die erfolgreich für die Vorhersage der Rohnährstoffe und der Aminosäuren in Futtererbsen und Ackerbohnen genutzt werden können. Mit der Anwendung der NIRS kann zeitnah, direkt nach Bereitstellung der Ernteproben eine Futterbewertung vorgenommen werden und in deren Ergebnis eine optimierte Rationsberechnung durchgeführt werden.

Die erstellten Kalibrationen könnten künftig genutzt werden um in anderen öffentlich geförderten Forschungs- und Entwicklungsprojekten. z.B. zu Themen wie 100% Biofütterung, Futterbewertung oder Rationsoptimierung, analytische Hilfestellung zu leisten. Die Optionen einer Nutzung der Kalibrationen sollten mit dem Projektgeber diskutiert werden.

Sinnvoll erscheint aus Sicht der Projektnehmer ebenso eine Pflege der Kalibrationen über kommende Anbaujahre. Dazu wäre es erforderlich, aus jedem folgenden Anbaujahr eine noch festzulegende Anzahl an Körnerleguminosen (z.B. 50 – 60 Proben verschiedener Standorte) referenzanalytisch zu untersuchen und mit diesen Daten die Kalibrationen zu erweitern und robuster zu gestalten. Wird der Datensatz nicht

weitergepflegt, wären die Aufwendungen, die bisher erfolgt sind, für die Zukunft nicht mehr nutzbar.

Weiterhin wäre es wünschenswert, auch andere Leguminosen wie beispielsweise blaue Lupinen in ein derartiges Projekt einzubeziehen, da sie fütterungstechnisch im ökologischen Landbau von großer Bedeutung sind und erst nach Bereitstellung der Daten aller Rationskomponenten, im Besonderen aller Proteinfuttermittel, eine bedarfsgerechte Rationsgestaltung möglich ist.

Bisher wurden Teilergebnisse des Projektes in einem Sonderheft „Ressortforschung für den Ökolandbau“ (Aulrich et al. 2011b) und im Tagungsband der Wissenschaftstagung Ökolandbau (Aulrich et al. 2011a) publiziert. Im Rahmen der Wissenschaftstagung Ökolandbau werden in dieser Woche (15.-18. März, Gießen) Teilergebnisse des Projektes der Öffentlichkeit vorgestellt.

Jetzt nach Abschluss des Projektes ist eine weitere zeitnahe Verbreitung der Ergebnisse durch Veröffentlichung in einschlägigen Mitteilungsorganen der Verbände des ökologischen Landbaus als auch in wissenschaftlichen Fachzeitschriften vorgesehen.

#### **4 Zusammenfassung**

Ziel des Projektes war die schnelle Erfassung der Inhaltsstoffe in Proteinfuttermitteln, um Landwirte in die Lage zu versetzen, mit den Schwankungen der Inhaltsstoffe umzugehen und daraufhin an den Bedarf der Tiere angepasste Futterrationen zusammenstellen zu können. Dazu wurden NIR-Kalibrierungen entwickelt, die eine zeitnahe Bestimmung der Roh Nährstoffe einschließlich Stärke und Zucker und der Aminosäuren direkt nach der Ernte erlauben.

Im Projektverlauf wurden 350 Futtererbsen und 233 Ackerbohnen aus zwei Anbaujahren referenzanalytisch auf ihre Gehalte an Roh Nährstoffen, Stärke, Zucker und 17 Aminosäuren untersucht. Mit Hilfe der Daten aus der Referenzanalytik wurden insgesamt 138 Kalibrationen entwickelt (69 für jede der Leguminosen), jeweils 18 für die Roh Nährstoffe (einschließlich Stärke und Zucker) in drei Korngrößen und jeweils 51 für 17 Aminosäuren in drei Korngrößen. Nach Beurteilung der Güte der Kalibrationen empfehlen sich jeweils 23 Kalibrationen für die Schätzung der Inhaltsstoffe und der Aminosäuren (6 für Roh Nährstoffe in Erbsen, 6 für Roh Nährstoffe in Ackerbohnen, 17 für Aminosäuren in Erbsen, 17 für Aminosäuren in Ackerbohnen).

Die im Rahmen des Projektes erzielten Ergebnisse zeigen, dass es mit Hilfe der NIRS möglich ist, schnell, einfach und kostengünstig die Roh Nährstoffe, Stärke, Zucker und die Aminosäuren in getrockneten, vermahlenden Futtererbsen und Ackerbohnen zu schätzen.

Eine Weiterentwicklung und Pflege der erstellten Kalibrationen wird als sinnvoll erachtet.

## 5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Geplante Ziele	Tatsächlich erreichte Ziele
<p>1. <i>Schnelle, kostengünstige Bestimmung der wichtigsten Inhaltsstoffe in Proteinfuttermitteln aus ökologischem Anbau mittels NIRS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Klassische, nasschemische Untersuchung der einheimischen Proteinfuttermittel Erbse und Ackerbohne aus Anbauversuchen der Landwirtschaftskammern und Landesforschungsanstalten (AG Versuchsansteller im Ökologischen Landbau) und des Instituts für ökologischen Landbau auf Roh-nährstoffe zur Erstellung robuster NIRS-Kalibrierungen</li> <li>➤ Erarbeitung von NIRS-Kalibrierungen für die wichtigsten Inhaltsstoffe (Roh-nährstoffe) in einheimischen Protein-futtermitteln, die für die Rationsgestal-tung und die Energiebewertung not-wendig sind</li> <li>➤ Validierung der erstellten Methoden mit Hilfe eines unabhängigen Daten-satzes</li> <li>➤ Einschätzung der Güte der Kalibrie-rung anhand der statistischen Kenn-zahlen SEE (standard error of estima-tion), SEP (standard error of predi-ction), Regressionskoeffizienten, BIAS (Maß für die Unrichtigkeit) mit dem Ziel: SEE und SEP sollen möglichst klein sein (im Bereich des Analysen-fehlers der Referenzmethode) Regres-sionskoeffizient soll so nahe wie mög-lich bei 1 liegen, Bias (Validierungsda-tensatz) soll so nahe wie möglich bei 0 sein.</li> </ul>	<p>1. <i>Schnelle, kostengünstige Bestimmung der wichtigsten Inhaltsstoffe in Protein-futtermitteln aus ökologischem Anbau mittels NIRS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Klassische, nasschemische Untersu-chung an 350 Futtererbsenproben und 233 Ackerbohnen aus Anbauversu-chen der Landwirtschaftskammern und Landesforschungsanstalten (AG Ver-suchsansteller im Ökologischen Land-bau), des Instituts für ökologischen Landbau und anderer BÖL-Projekte (interdisziplinäres Michkuhprojekt) auf Roh-nährstoffe, Stärke und Zucker zur Erstellung robuster NIRS-Kalibrierungen</li> <li>➤ Erarbeitung von NIRS-Kalibrierungen für die wichtigsten Inhaltsstoffe (Roh-nährstoffe, Stärke und Zucker) in ein-heimischen Protein-futtermitteln, die für die Rationsgestaltung und die Energie-bewertung notwendig sind</li> <li>➤ Validierung der erstellten Methoden mit Hilfe eines unabhängigen Datensatzes ist erfolgt, Ergebnisse in den Tabellen ersichtlich</li> <li>➤ Einschätzung der Güte der Kalibrie-rung anhand der statistischen Kenn-zahlen SEE (standard error of estima-tion), SEP (standard error of predi-ction), Regressionskoeffizienten, BIAS (aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht in den Tabellen aufgeführt, ist in allen Kalibrationen nahe 0) SEE, SEP und Regressionskoeffizienten der ein-zelnen Kalibrationen sind in den Tabel-len aufgeführt: die erstellten Kalibratio-nen können erfolgreich für die Vorher-sage der Roh-nährstoffe, einschließlich Stärke und Zucker eingesetzt werden</li> </ul>
<p>2. <i>Schnelle, kostengünstige Bestimmung der essentiellen Aminosäuren Methio-nin, Lysin und Threonin mittels NIRS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Klassische Analytik der Aminosäuren in einheimischen Protein-futtermitteln</li> </ul>	<p>2. <i>Schnelle, kostengünstige Bestimmung der essentiellen Aminosäuren Methio-nin, Lysin und Threonin mittels NIRS</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Klassische Analytik der Aminosäuren in den einheimischen Protein-futtermitteln</li> </ul>

<p>und Getreide aus Anbauversuchen der AG Versuchsansteller im Ökologischen Landbau und des Instituts für ökologischen Landbau</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Erstellung von NIRS-Kalibrationen für Lysin, Methionin und Threonin und weitere Aminosäuren</li> <li>➤ Validierung der erstellten Methoden mit Hilfe eines unabhängigen Datensatzes</li> <li>➤ Einschätzung der Güte der Kalibrierung anhand der statistischen Kennzahlen wie oben beschrieben</li> </ul>	<p>teln Erbsen (n=257) und Ackerbohnen (n=233) aus Anbauversuchen der AG Versuchsansteller im Ökologischen Landbau, des Instituts für ökologischen Landbau und anderer BÖL-Projekte (interdisziplinäres Michkuhprojekt)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Erstellung von NIRS-Kalibrationen für Lysin, Methionin und Threonin und 14 weitere Aminosäuren</li> <li>➤ Validierung der erstellten Methoden mit Hilfe eines unabhängigen Datensatzes</li> <li>➤ Einschätzung der Güte der Kalibrierung anhand der statistischen Kennzahlen wie oben beschrieben, Kalibrationen können erfolgreich für die Schätzung der Aminosäuregehalte in Erbsen und Ackerbohnen eingesetzt werden</li> </ul>
---	---

Die ursprünglich geplanten Ziele konnten erreicht werden. Im Projektzeitraum wurden Kalibrationen für die Vorhersage der Rohnährstoffe, einschließlich Stärke und Zucker und der Aminosäuren entwickelt, die eine Schätzung mit einem vertretbaren Fehler zulassen. Zusätzlich zu dem ursprünglich gestellten Projektziel wurde untersucht, ob durch schnelle NIR-Messung an Ganzkornproben eine weitere Vereinfachung der Analytik möglich wäre und somit ein zusätzlicher Zeitgewinn erzielt werden könnte. Dies ist für die beiden untersuchten Leguminosen unterschiedlich zu bewerten: sollen nur die Rohnährstoffe in Futtererbsen geschätzt werden, erscheint eine Messung an Ganzkornproben möglich. Diese Aussage wäre durch weitere Untersuchungen folgender Anbaujahre zu prüfen. Die Schätzung der Aminosäuregehalte in Futtererbsen erfordert eine Vermahlung auf 0,5 mm. Für die erfolgreiche Schätzung der Rohnährstoffe in Ackerbohnen ist eine Vermahlung durch ein 1 mm Sieb zu empfehlen. Für die Aminosäureschätzung wird eine Vermahlung durch ein 0,5 mm Sieb empfohlen, da hier die Schätzfehler am geringsten sind.

Eine Fragestellung für weitere Untersuchungen mit den hier generierten Daten wäre, ob durch Kopplung der Ergebnisse von Futtererbsen und Ackerbohnen in gemeinsamen Kalibrationen weitere Verbesserungen in den Vorhersagegenauigkeiten erreicht werden könnten. Dadurch könnte sich die Zahl der zu pflegenden Kalibrationen auf 23 (6 für Rohnährstoffe und 17 für die Aminosäuren) reduzieren.

Um tatsächlich einen Beitrag zur 100% Biofütterung zu leisten, wäre es aus Sicht der Projektnehmer erforderlich, Kalibrationen für weitere einheimische Leguminosen aber auch für Getreidekomponenten zu entwickeln. Bei Vorhersage der Gehalte aller Rationskomponenten wäre die Erstellung bedarfsgerechter Rationen relativ schnell und kostengünstig möglich.

## 6 Literaturverzeichnis

- Aulrich K, Böhm H (2005) Schätzung von Inhaltsstoffen einheimischer Leguminosen mit Hilfe der Fourier-Transform Nah-Infrarot-Reflektions-Spektroskopie (NIRS). In: Heß J, Rahmann G (eds) Ende der Nische : Beiträge zur 8. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Kassel, 1.-4. März 2005. Kassel : Kassel University Press, pp 377-378
- Böhm H, Aulrich K, Berk A (2007) Amino acid composition in organically grown grain legumes and cereals. *Proc Soc Nutr Physiol* 16: 88
- Aulrich K, Böhm H (2005) Schätzung von Inhaltsstoffen einheimischer Leguminosen mit Hilfe der Fourier-Transform Nah-Infrarot-Reflektionsspektroskopie (NIRS). In: Ende der Nische. Beiträge zur 8. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau. Hrsg. J. Heß und G. Rahmann, Kassel university press GmbH, Kassel, pp 377-378
- Aulrich K, Böhm H (2007a) Evaluation of feed quality of organically grown feedstuffs by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Proc. Soc. Nutr. Physiol.* 16:87
- Aulrich K, Böhm H (2007b) Raps im ökologischen Landbau – Qualitätsbewertung mit Hilfe der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) In: Zikeli S, Claupein W (eds) Zwischen Tradition und Globalisierung : Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau : Band 1 ; Universität Hohenheim, 20.-23. März 2007. Berlin : Köster, pp 473-476
- Aulrich K, Böhm H (2007c) Bewertung ökologisch erzeugter Futtermittel mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS). *Landbauforsch Völkenrode SH* 314:69-74
- Böhm H, Berk A (2006): Bewertung ausgewählter Leguminosen- und Leguminosen-Getreide-Gemenge im Ökologischen Landbau hinsichtlich der Ertragsleistung und des Futterwertes. In: Herrmann A und Taube F. *Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss.* 18, 266-267
- Cohen, S. A. und Michaud, D. P. (1993). Synthesis of A Fluorescent Derivatizing Reagent, 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate, and Its Application for the Analysis of Hydrolysate Amino-Acids Via High-Performance Liquid-Chromatography. *Analytical Biochemistry*, 211, 279-287.
- Degussa (2001) Aminodat 2.0<sup>TM</sup>, Degussa AG
- EG (1998). Richtlinie 98/64/EG der Kommission vom 3. September 1998 zur Festlegung gemeinschaftlicher Analysemethoden für die Bestimmung von Aminosäuren, Rohfetten und Olaquinoxid in Futtermitteln und zur Änderung der Richtlinie 71/393/EWG. In *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* L 257/14
- Flamme W, Jansen G, Jürgens HU (2003) Near infrared spectroscopy (NIR)-spectroscopy, colour measurement and single kernel characterization in rye breeding. *Plant Breeding and Seed Science* 48 (2): 107-111
- Fontaine J, Hörr J, Schirmer B (2004) Amino acid contents in raw materials can be precisely analyzed in a global network of near-infrared spectrometers: Collaborative trials prove the positive effects of instrument standardization and repeatability files. *J. Agricult. Food Chem.* 52: 701-708
- Gonzalez-Martin I, Avarez-Garcia N, Hernandez-Andaluz JL (2006) Instantaneous determination of crude proteins, fat and fibre in animal feeds using near infrared reflectance spectroscopy technology and a remote reflectance fibre-optic probe. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128: 165-171
- Jansen G, Jürgens HU, Kuhlmann J, Flamme W (2005) Einfluss von Standort und Sorte auf ausgewählte Qualitätsparameter ökologisch erzeugter Lupinen für die Nutztierfütterung *Landbauforschung Völkenrode, SH* 290, 1-9
- Jansen G, Flamme W (2000) Rheologische und NIR-spektroskopische Untersuchungen. XXXV. Vortragstagung der DGQ "Funktionelle Inhaltsstoffe pflanzlicher Lebensmittel", 20.-21.03.2000, Karlsruhe, S.163-168
- Jansen G, Kuhlmann J (2007) Proteinuntersuchungen in Einzelsamen von Lupinen zur züchterischen Erhöhung des Eiweißgehaltes. Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Stuttgart-Hohenheim, 20.-23.03.2007, 263-266
- Jürgens HU, Jansen G, Kuhlmann J (2007) Züchterische Bearbeitung von Süßlupinen für den ökologischen Landbau - Variabilität wichtiger Inhaltsstoffe in Abhängigkeit vom Standort. Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Stuttgart-Hohenheim, 20.-23.03.2007, 149-152
- Laws, W., Oldenburg, E. (1993) Zuckergehalte in Wintergerste und Mais 2. Mitteilung: Methodenvergleich HPLC/Anthrone. *Landbauforschung Völkenrode* 43, 60-63
- Miralbes C (2004) Quality control in the milling industry using near infrared transmittance spectroscopy. *Food Chem.* 88: 621-628



- Moore, S. (1963). On Determination of Cystine as Cysteic Acid. Journal of Biological Chemistry, 238, 235-237.
- Qiao Y, Kempen T A T G (2004) Technical note: comparison of Raman, mid, and near infrared spectroscopy for predicting the amino acid content in animal meals. J. Anim. Sci. 82: 2596-2600
- Seddig S, Jansen G, Balko C, Jürgens HU (2007) Vier Jahre ökologischer Anbau landwirtschaftlicher Kulturen - Erträge und Qualitäten im Vergleich. Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Stuttgart-Hohenheim, 20.-23.03.2007, 469-471
- VDLUFA - Methodenbuch Band III (1997) Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Hrsg. Naumann C, Bassler R. VDLUFA-Verlag, Darmstadt

## **7 Im Berichtszeitraum realisierte Veröffentlichungen zum Projekt**

- Aulrich, K., Böhm, H. und Jürgens, H.-U. (2011a) Schnelle Bestimmung der Futterqualität und der Aminosäuren von Erbsen mittels Nah-Infrarotspektroskopie. 11. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau. Beitrag archiviert unter <http://orgprints.org/view/projects/int-conf-2011-wita.html>, im Druck
- Aulrich, K., Böhm, H. und Jürgens, H.-U. (2011b) Bestimmung der Futterqualität und der Aminosäuren von Erbsen mittels Nah-Infrarotspektroskopie. SH Landbauforschung, im Druck