

Die Trilogie zu Schätzung von praecaecal verdaulichem Rohprotein und praecaecal verdaulichen Aminosäuren – eine einfache Labormethode für Pferd, Schwein und Geflügel

Valérie Schumacher und Saskia Kehraus

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Institut für Tierwissenschaften,

Endenicher Allee 15, 53115 Bonn

vschumac@uni-bonn.de; splos@uni-bonn.de

Einleitung

Die hier vorgestellten Projekte befassen sich mit einer schnellen und praxistauglichen Labormethode zur Schätzung des standardisiert praecaecal verdaulichen Rohproteins (pcvXP) und der standardisiert praecaecal verdaulichen Aminosäuren (pcvAS) in Einzelfuttern für Schweine und Geflügel. Der laboranalytische Ansatz hat seinen Ursprung in einem Projekt von Zeyner et al. (2015), in dem auf der Basis von Neutral-Detergenzien unlöslichem Rohprotein pcvXP und pcvAS in Pferdefutter geschätzt wurde. Der laboranalytische Ansatz wurde bereits in einem Projekt fürs Schwein validiert (Schumacher et al., 2025a, 2005b) und im Anschluss auf seine Anwendbarkeit bei Geflügel getestet.

Ziel des Gesamtvorhabens ist es, einen Beitrag zu einer adäquaten AS-Versorgung von Schweinen und Geflügel zu leisten und damit die Leistung und Tiergesundheit zu unterstützen sowie Stickstoffüberschüsse, die belastend für das Tier und die Umwelt sind, zu vermeiden. Dies lässt sich durch eine präzise Proteinbewertung des Futters erreichen.

Die Proteinbewertung erfolgt für das Schwein nach GfE seit 2006 auf Basis des pcvXP. *In vivo* wird dieses bisher mit einer invasiven, das Tier belastenden Methode mit einer Fistel am terminalen Ileum bestimmt. Beim Geflügel wird das pcvXP und die pcvAS durch Entnahme eines definierten Darmabschnitts (Rodehutschord et al., 2004) bestimmt. *In vitro* wird das pcvXP häufig mit einer aufwändigen und bisher wenig etablierten enzymatischen Methode (Boisen und Fernandez 1995) bestimmt. Daher soll eine schnelle Labormethode zur Schätzung des pcvXP bzw. der pcvAS beim Schwein und Geflügel entwickelt werden. Analog zur Rohproteinfraktionierung beim Wiederkäuer nach Licitra et al. (1996) wird des Neutral Detergenzien-(NDUXP) oder Säure-Detergenzien-unlöslichen Rohproteins (ADUXP) das pcvXP bestimmt. Basierend auf den analysierten Gehalten an NDUXP bzw. ADUXP wird das ND-lösliche (NDLXP) oder AD-lösliche Rohprotein (ADLXP) berechnet und für die Ableitung von Schätzgleichungen genutzt.

Wie auch beim Pferd (GfE, 2015) schon beschrieben, basiert die Labormethode auf dem Wissen, dass auch beim Schwein und Geflügel NDUXP bzw. ADUXP (Proteinkomplexe mit Tanninen, Stärke, Pektin und Maillardprodukten) im Dünndarm weitgehend unverdaulich sind. Hingegen steht dem Tier das NDLXP bzw. ADLXP im Dünndarm zur Verfügung, welches wie folgt berechnet werden kann:

$$\text{NDLXP (g/kg TM)} = \text{XP (g/kg TM)} - \text{NDUXP (g/kg TM)}$$

bzw.

$$\text{ADLXP (g/kg TM)} = \text{XP (g/kg TM)} - \text{ADUXP (g/kg TM)}$$

Gleiches gilt auch für ADLXP sowie entsprechend für die AS. Die hier beschriebene Vorgehensweise ähnelt dem Vorgehen zur Proteinbewertung beim Pferd (GfE, 2014).

Material und Methoden

Für das Schwein stand ein Probenpool von 82 verschiedenen Einzelfuttermitteln und für das Geflügel (Mastgeflügel und zäkuomektomierte Legehennen) von 98 verschiedenen Einzelfuttermitteln zur Verfügung, deren pcvXP bzw. pcvAS bereits *in vivo* am Tier bestimmt wurden. Der Probenpool setzte sich zusammen aus 32 Getreiden (unterschiedlicher Art und Genetik), Rapsfuttermitteln (Rapskuchen, unbehandelte und thermisch behandelte Rapsextraktionsschrote), Sojaprodukten (Sojaextraktionsschrote, Sojakuchen, unbehandelte, extrudierte und thermisch behandelte Vollfettsojabohnen), Ackerbohnen (unterschiedliche

Trypsininhibitoraktivitäten (TA) und Tanningehalte), Erbsen (unterschiedlicher TA), Lupinen und speziellen Proben (Weizenkleber, Fischmehle, Sojaproteinkonzentrate, Erbsen- und Sojaproteinisolat).

Für das Mastgeflügel (pcvXP, pcvAS) setzte sich der Probenpool zusammen aus 34 Proben unter anderem Getreiden wie Gerste, Hafer, Dinkel, Roggen, Weizen und Mais und Leguminosen wie Erbse, Lupine und Ackerbohne. Für Legehennen (zäkumektomierte Legehennen entsprechend nur pcvAS) standen 98 Proben zur Verfügung, dabei handelte es sich um 84 Getreide (unterschiedlicher Art und Genetik) und einem Probenpool aus 3 verschiedenen Futtermittel wie Buchweizen, Rispenhirse und Maiskornsilage. Außerdem noch weitere 11 verschieden behandelte (unbehandelt, geschält, getoastet) Körnerleguminosen (Erbse, Lupine, Ackerbohne), die sich noch in der Auswertung befinden.

Die Proben wurden nach bestimmten N-haltigen Verbindungen kategorisiert, z. B. Maillard-Reaktionsprodukte oder/und Tannin-Proteinkomplexe, die im ADUXP erfasst werden (Tabelle 1). Daher wurde für Proteinquellen/Leguminosen das ADUXP und für Getreide, welche z. B. nicht thermisch behandelt werden und somit keine Maillardprodukte und ebenfalls keine Tannine zu erwarten sind, das NDUXP bestimmt. Die Isolierung des NDUXP bzw. ADUXP erfolgte nach Licitra et al. (1996) und die N-Bestimmung im Rückstand nach Kjeldahl (VO (EG) 152/2009, Anhang III, C). Eine Schätzgleichung für das pcvXP wurde anhand der kalkulierten NDLXP- bzw. ADLXP-Konzentrationen und den Gehalten an *in vivo* pcvXP abgeleitet. Eine ähnliche Vorgehensweise gilt auch für ADLXP bzw. AS. Die Bestimmung der AS-Gehalte in den isolierten Rückständen NDUXP bzw. ADUXP erfolgte mit HPLC (VO (EG) 152/2009, Anh. III, F, G).

Tabelle 1: Auswahlkriterien für Neutral-Detergenzien-unlösliches oder Säure-Detergenzien-unlösliches Rohprotein

	Literatur	NDUXP	ADUXP
Maillard-XP	Van Soest & Mason, 1991; / Licitra et al., 1996		X
Tannin-XP	Van Soest, 1994	/	X
Isoelektrischer Punkt Protein	Morales et al., 2013; Csonka et al., 1926, 1927	X	X
Phytat-XP-Komplex	Morales et al., 2013	X	X
		Getreide	Proteinquellen

ADUXP = Säure-Detergenzien-unlösliches Rohproteins; NDUXP = Neutral-Detergenzien-unlösliches Rohprotein; XP = Rohprotein; / = nicht enthalten; X = enthalten

Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm RStudio (Version 2022). Zunächst wurde eine Rohdatenanalyse vorgenommen und daraufhin die Entscheidung für das lineare Modell getroffen. Das lineare Modell für die Regressionsanalyse lautet:

$$y = a \cdot x + b \quad \text{mit } y = \textit{in vivo pcvXP (g/kg TM)}, x = \text{NDLXP bzw. ADLXP (g/kg TM)}$$

Eine Schätzgleichung für das pcvXP wurde einmal fürs Schwein (für den gesamten Probenpool n = 82) und einmal fürs Geflügel aus dem linearen Modell abgeleitet. Gleiches gilt auch für die AS. Die beschriebene Regressionsanalyse und die daraus abgeleitete Schätzgleichung wurden beim Schwein für die Validierung verwendet (Schumacher et al., 2025a).

Ergebnisse und Diskussion - Schwein

Protein

Für alle 82 Proben wurde das *in vivo* pcvXP (Abb. 1) gegen die Gehalte an NDLXP für Getreide und ADLXP für Proteinfuttermittel/Leguminosen aufgetragen, daraus ergab sich folgende Regressionsgleichung:

$$y = 0,864 \text{ (SE 0,019)} x - 13,38 \text{ (SE 7,479)} \quad [1]$$

$$R^2 = 0,962; \text{RMSE} = 38,61$$

$y = \text{in vivo pcvXP (g/kg TM)}$, $x = \text{NDLXP bzw. ADLXP (g/kg TM)}$

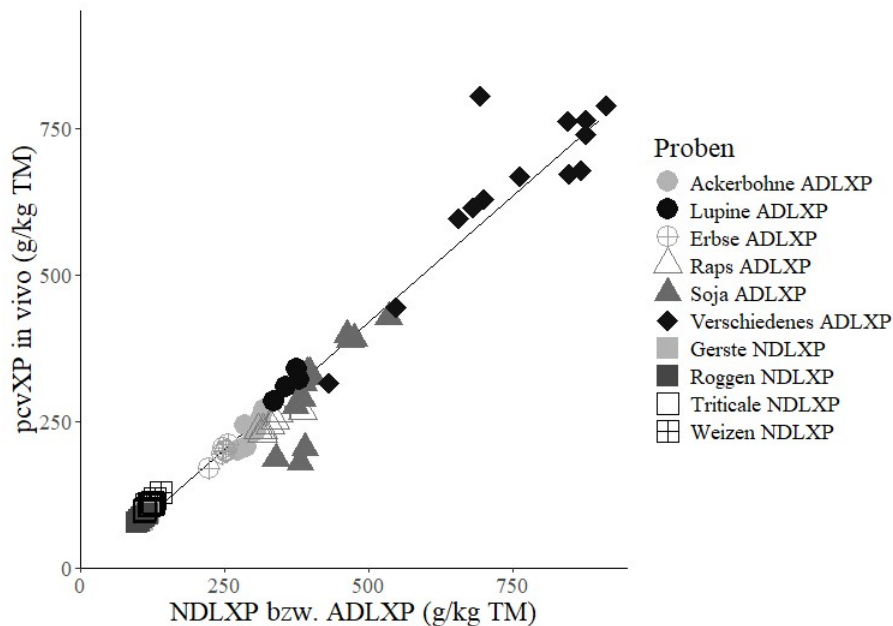


Abbildung 1: Beziehung zwischen *in vivo* pcvXP und NDLXP bzw. ADLXP für alle 82 Proben

In Abbildung 1 erkennt man, dass sich das Getreide im unteren Bereich und die Proteinquellen im oberen Bereich der Regressionsgeraden befinden. Drei Werte zeigen sich auffällig. Hierbei handelt es sich um nicht ausreichend oder sehr wenig thermisch behandelte Vollfettsojabohnen, die wegen ihrer TA ($> 6,4 \text{ g/kg TM}$) unzureichend erhitzt zu sein scheinen. Ein weiterer auffälliger Wert ist bei einem von drei Weizenklebern zu erkennen. Bei dieser Probe handelt es sich um hydrolysiertes Weizengluten, für das keine spezifischen Informationen zur Verarbeitung vorlagen.

Nach Entfernung der vier auffälligen Proben stieg das Bestimmtheitsmaß leicht von $R^2 = 0,962$ auf $R^2 = 0,989$ an. Die Steigung und der Schnittpunkt der linearen Gleichung änderten sich ebenfalls moderat:

$$y = 0,849 \text{ (SE 0,010)} x - 6,86 \text{ (SE 3,972)}; R^2 = 0,989; \text{RMSE} = 20,36$$

Getreide

Für die 32 Getreideproben wurde ebenfalls das *in vivo* pcvXP aus der Referenz gegen NDLXP aufgetragen, wobei eine Gruppierung in Weizen+Triticale und Roggen+Gerste zu sehen war (Schumacher et al., 2025a). Die ANOVA zeigte Unterschiede zwischen den Getreidesorten ($P < 0,001$) und der Post-Hoc Test zeigte, dass die Regressionsgleichungen von Roggen und Gerste ähnlich waren ($P = 0,3762$) und deswegen zusammen gruppiert werden konnten. Die Regressionen von Weizen und Triticale unterschieden sich signifikant ($P = 0,0084$), was möglicherweise auf eine geringe Stichprobengröße zurückzuführen ist. Dennoch legte die visuelle Beurteilung des Diagramms eine Gruppierung nahe und auch eine Hauptkomponentenanalyse bestätigte diese Annahme. Aufgrund der Nützlichkeit und Praktikabilität haben wir uns schlussendlich für eine Gruppierung von Weizen+Triticale und Gerste+Roggen entschieden. Daraus ergaben sich die folgenden Schätzgleichungen:

Weizen+Triticale

$$y = 0,963 \text{ (SE } 0,078) x - 7,405 \text{ (SE } 9,435) \quad [2]$$

$$R^2 = 0,916; \text{RMSE} = 2,231$$

$y = \text{in vivo pcvXP (g/kg TM)}, x = \text{NDLXP (g/kg TM)}$

Roggen+Gerste

$$y = 0,908 \text{ (SE } 0,083) x - 11,83 \text{ (SE } 8,938) \quad [3]$$

$$R^2 = 0,896; \text{RMSE} = 1,767$$

$y = \text{in vivo pcvXP (g/kg TM)}, x = \text{NDLXP (g/kg TM)}$

Alle Getreide

$$y = 0,917 \text{ (SE } 0,054) x - 13,26 \text{ (SE } 6,043) \quad [4]$$

$$R^2 = 0,983; \text{RMSE} = 1,739$$

$y = \text{in vivo pcvXP (g/kg TM)}, x = \text{NDLXP (g/kg TM)}$

Validierung

Für die Validierung wurden Daten (n=20) aus der Referenz von Jondreville et al. (2000a, 2000b, 2001) und Leterme et al. (2000) herangezogen. Die Gehalte an *in vivo* pcvXP, XP und NDUXP waren in den Veröffentlichungen angegeben und die NDLXP-Gehalte wurden anhand der Gleichung für alle Proben [1] berechnet. Die geschätzten pcvXP-Werte und die *in vivo* pcvXP-Werte wurden dann zum Vergleich und zur Validierung der Beziehung verwendet. Für die Validierung (Abb.4) ergab sich die Regressionsgleichung:

$$y = 0,972 \text{ (SE } 0,050) x - 10,55 \text{ (SE } 6,359) \quad [5]$$

$$R^2 = 0,855; \text{RMSE} = 6,359$$

mit $y = \text{geschätztes pcvXP (g/kg TM)}$, $x = \text{in vivo pcvXP Referenz (g/kg TM)}$

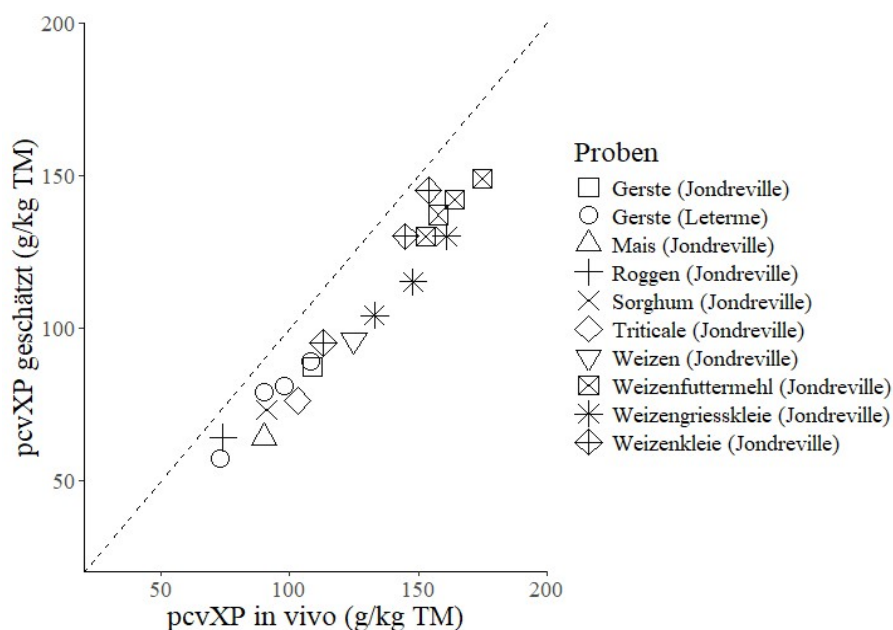


Abbildung 4: Beziehung zwischen den *in vivo* pcvXP Daten aus der Referenz (Jondreville et al., 2000a, 2000b, 2001; Leterme et al., 2000)) und den pcvXP Daten aus der Schätzgleichung

Die Validierung ergab ein hohes Bestimmtheitsmaß ($R^2 = 0,955$) und einen RMSE-Wert von 6,246. Der relativ hohe RMSE-Wert ist teilweise darauf zurückzuführen, dass die NDUXP-Analyse in verschiedenen Laboren durchgeführt wurde. Trotz der leichten Unterschätzung der *in vivo* pcvXP untermauern diese Ergebnisse die Anwendbarkeit der Beziehung zwischen standardisierten *in vivo*-Messungen und Labormethode.

Aminosäuren

Für 74 Proben wurden die *in vivo* pcvAS (Abb. 3) gegen die Gehalte an NDLAS für Getreide und ADLAS für Proteinfuttermittel/Leguminosen aufgetragen, daraus ergab sich folgende Regressionsgleichung:

$$y = 0,832 \text{ (SE 0,018)} x + 10,52 \text{ (SE 4,420)} \quad [6]$$

$$R^2 = 0,968; \text{RMSE} = 17,13$$

$y = \text{in vivo pcvAS (g/kg TM)}$, $x = \text{NDLAS bzw. ADLAS (g/kg TM)}$

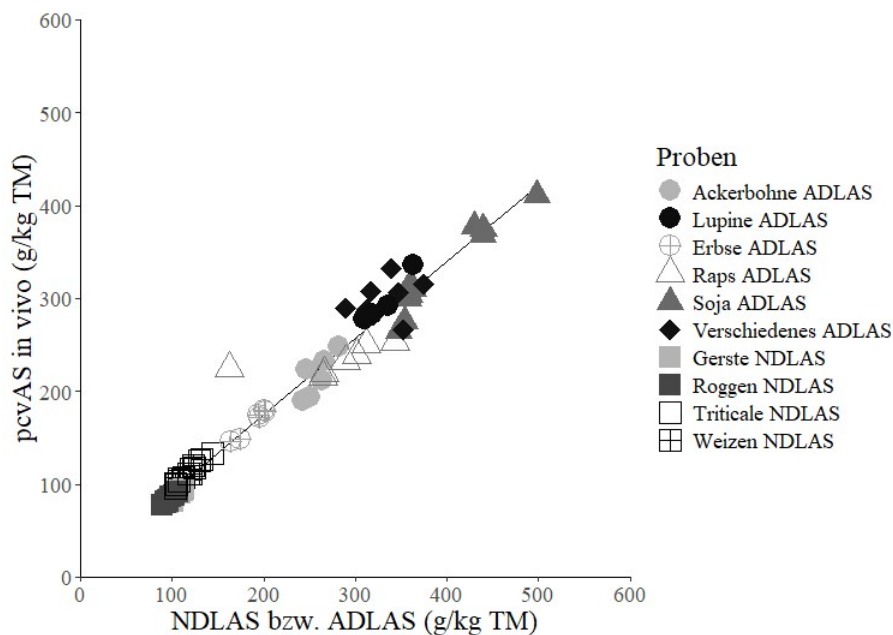


Abbildung 3: Beziehung zwischen *in vivo* pcvAS und NDLAS bzw. ADLAS für 74 Proben

Auch in Abbildung 3 befindet sich das Getreide im unteren Bereich und die Proteinquellen im mittleren bzw. oberen Bereich der Regressionsgeraden. Eine Probe der thermisch behandelten Rapsextraktionsschrote zeigt sich hier auffällig.

Nicht nur für die Gesamtaminosäuren, sondern auch für die analysierten 17 individuellen Aminosäuren wurde jeweils eine Regressionsgleichung erstellt (Schumacher et al., 2025b). Die Regressionsgleichung für die beim Schwein in der Regel erstlimitierende Aminosäure Lysin war wie folgt:

Lysin

$$y = 0,863 \text{ (SE 0,019)} x - 0,272 \text{ (SE 0,311)} \quad [7]$$

$$R^2 = 0,965; \text{RMSE} = 1,505$$

$y = \text{in vivo pcvAS (g/kg TM)}$, $x = \text{NDLAS bzw. ADLAS (g/kg TM)}$

Ergebnisse und Diskussion - Geflügel

Protein

Für 34 Proben wurde das beim Mastgeflügel *in vivo* bestimmte pcvXP (Abb. 5) gegen die Gehalte an NDLXP für Getreide und ADLXP für Proteinfuttermittel/Leguminosen aufgetragen, daraus ergab sich folgende Regressionsgleichung:

$$y = 1,105 \text{ (SE 0,051)} x - 17,44 \text{ (SE 12,00)} \quad [8]$$

$$R^2 = 0,936; \text{RMSE} = 26,66$$

$$y = \text{in vivo pcvXP (g/kg TM)}, x = \text{NDLXP bzw. ADLXP (g/kg TM)}$$

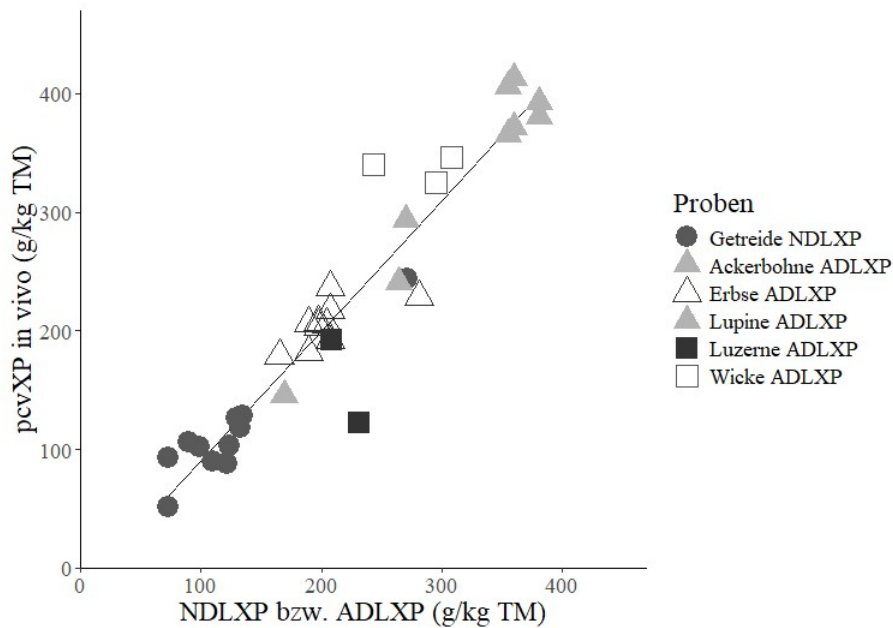


Abbildung 5: Beziehung zwischen *in vivo* pcvXP (Mastgeflügel) und NDLXP bzw. ADLXP für 34 Proben

Wie beim Schwein ist in Abbildung 5 beim Geflügel ebenfalls zu sehen, dass sich das Getreide eher im unteren Bereich und die Leguminosen größtenteils im oberen Bereich der Regressionsgeraden befindet.

Aminosäuren

Für 87 Proben wurden die *in vivo* pcvAS (Abb. 6) gegen die Gehalte an NDLAS für Getreide und verschiedene Proben (Buchweizen, Maiskornsilage und Rispensorse) aufgetragen, daraus ergab sich folgende Regressionsgleichung:

$$y = 0,827 \text{ (SE 0,073)} x + 6,843 \text{ (SE 7,403)} \quad [9]$$

$$R^2 = 0,604; \text{RMSE} = 10,92$$

$$y = \text{in vivo pcvAS (g/kg TM)}, x = \text{NDLAS bzw. ADLAS (g/kg TM)}$$

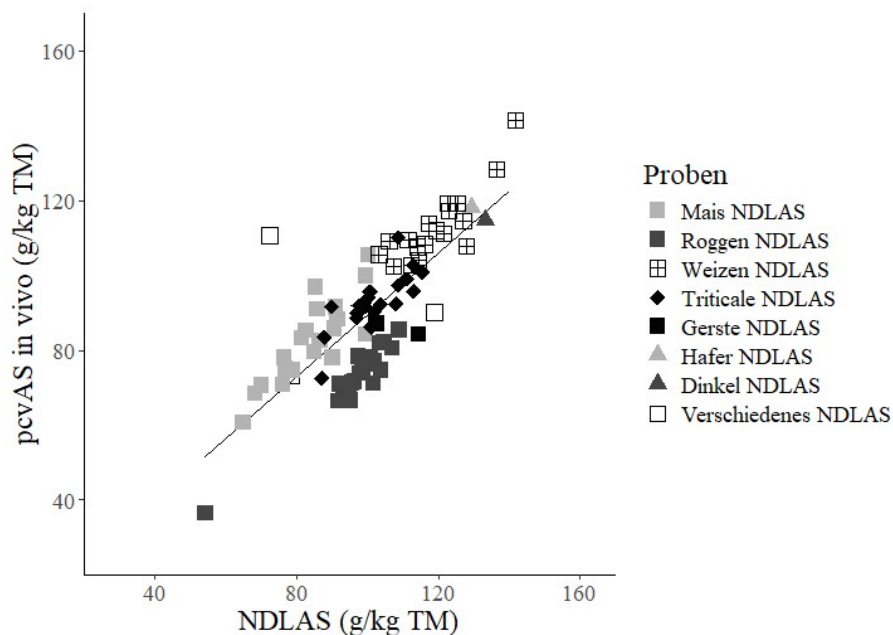


Abbildung 6: Beziehung zwischen *in vivo* pcvAS und NDLAS für 87 Proben.

Schlussfolgerungen

Die Bestimmung von NDUXP und ADUXP ist eine Routineanalyse, die auch für die Proteinbewertung beim Wiederkäuer genutzt wird. Mit dem analysierten Gehalt an NDUXP bzw. ADUXP in einem Futtermittel kann durch Nutzung der tierartenspezifischen Schätzgleichung der Gehalt an pcvXP sowohl für Schwein, Geflügel und Pferd (gleiches gilt für AS) geschätzt werden sowie die Proteinbewertung beim Wiederkäuer erfolgen. Somit stellt die hier beschriebene schnelle Labormethode eine sehr gute Alternative zur enzymatischen Methode (Boisen und Fernandez, 1995) zur Schätzung des pcvXP dar. Ringversuche im VDLUFA zeigen eine sehr gute Vergleichbarkeit der NDUXP- bzw. ADUXP-Werte zwischen den Laboren (Vergleichsstandardabweichung: 0,92 % in TM bzw. 0,24 % in TM). Die Ableitung der pcvAS anhand der ND- bzw. AD-löslichen AS zeigt ähnliche Ergebnisse wie für das pcvXP fürs Schwein, für das Geflügel war die Korrelation der pcvAS etwas schlechter; NIRS-Kalibrationen für die Gehaltsbestimmung des ADUXP und NDUXP sind in Bearbeitung.

Danksagung

Ein besonderer Dank gilt den Tierernährern und Tierernährerinnen der Universität Hohenheim sowie des Thünen Instituts für die Bereitstellung des Probenmaterials. Die Förderung des Vorhabens erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgte über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen der Eiweißpflanzenstrategie.

Literatur

- Boisen, S., Fernández, J. A. (1995) Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by *in vitro* analyses. *Animal Feed Science and Technology* 51, 29-43. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)00686-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00686-4).
- Csonka, F. A., Murphy, J. C., Jones, D. B. (1926) The iso-electric points of various proteins. *Journal of the American Chemical Society* 48, 763-768.
- Csonka, F. A., Jones, B. D. (1927) Studies on glutelins: I. α - and β -glutelins of wheat (*Triticum vulgare*). *Journal of Biological Chemistry* 73, 321-329.
- GfE (2014) Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Pferden. DLG-Verlag, Frankfurt am Main, Germany.

- Jondreville, C., van den Broecke, J., Grosjean, F., Van Cauwenberghe, S., Gâtel, F. (2000a) Ileal digestibility of amino acids in maize gluten feed for pigs. *Journal of Animal and Feed Science* 9, 99-111.
- Jondreville, C., van den Broecke, J., Grosjean, F., Van Cauwenberghe, S., Gâtel, F. (2000b) Ileal true digestibility of amino acids in wheat milling by-products for pigs. *Annales de Zootechnie*. 49, 55-65.
- Jondreville, C., van den Broecke, J., Gâtel, F., Grosjean, F., Van Cauwenberghe, S., Sève, B. (2001) Ileal digestibility of amino acids and estimates of endogenous amino acid losses in pig fed wheat, triticale, rye, barley, maize and sorghum. *Animal Research* 50, 119-134.
- Leterme, P., Souffrant, W.-B., Théwis, A. (2000) Effect of barley fibres and barley intake on the ileal endogenous nitrogen losses in piglets. *Journal of Cereal Science* 31, 229-239.
- Licitra, G., Hernandez, T. M., van Soest, P. J. (1996) Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* 57, 347-358. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(95\)00837-3](https://doi.org/10.1016/0377-8401(95)00837-3).
- Morales, G. A., de Rodríguez, M. S., Márquez, L., Díaz, M., Moyano, F. J. (2013) Solubilisation of protein fractions induced by *Escherichia coli* phytase and its effects on in vitro fish digestion of plant proteins. *Animal Feed Science and Technology* 181, 54-64. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.02.004>.
- Rodehutscord M., Kapocius M., Timmler R., Dieckmann A. (2004) Linear regression approach to study amino acid digestibility in broiler chickens. *British Poultry Science* 45, 85-92.
- Schumacher, V., Rodehutscord, M., Südekum, K.-H., Kehraus, S. (2025a) A simple laboratory method for estimating the standardised precaecal digestible crude protein in pig feeds. *Livestock Science* 293, 105651. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2025.105651>.
- Schumacher, V., Rodehutscord, M., Südekum, K.-H., Kehraus, S. (2025b) A rapid laboratory method for estimating the standardised precaecal digestible amino acids in pig feeds. *Livestock Science* (Accepted)
- Van Soest, P. J. (1994) *Nutritional Ecology of the Ruminant*, 2nd ed. Comstock Pub, Ithaca, New York, USA, pp. 196-212.
- Van Soest, P. J., Mason, V. C. (1991) The influence of Maillard reaction upon the nutritive value of fibrous feeds. *Animal Feed Science and Technology* 32, 45-53.
- Zeyner, A., Kirchhof, S., Susenbeth, A., Südekum, K.-H., Kienzle, E. (2015) A new protein evaluation system for horse feed from literature data. *Journal of Nutritional Science* 4, 1-3. <https://doi.org/10.1017/jns.2014.66>.