

Schätzung der Gasbildungskinetik von Silomais mittels Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie (NIRS)

S. Kruse, A. Herrmann, R. Loges und F. Taube

Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Institut für Pflanzenbau und -züchtung, Grünland und Futterbau/Ökologischer Landbau

Einleitung und Problemstellung

Die *in vitro* Gasbildungsanalyse in Anlehnung an den Hohenheimer Futterwerttest nach MENKE UND STEINGASS (1988) wird häufig zur Bewertung des energetischen Futterwertes, u.a. von Silomais, herangezogen. Diese Methode basiert auf der engen Beziehung zwischen der *in vivo* Abbaubarkeit und dem bei der Fermentation des Futtermittels durch Pansensaft gebildeten Gasvolumen. Sie liefert eine Reihe von Informationen über die Rate und Höhe des Abbaus von Futtermitteln und/oder deren Inhaltsstoffen. Durch den Einsatz der praxisbewährten Nah-Infrarot-Reflexions-Spektroskopie (NIRS) zur Schätzung der Gasbildung könnte ein höherer Probendurchsatz erzielt und der Bedarf an Zeit und Kosten minimiert werden. In bisherigen Untersuchungen, die sich mit der Möglichkeit beschäftigt haben, die Gasbildungskinetik mit Hilfe der NIRS zu schätzen, wurden meist mathematische Modelle an die Gasbildungskurven angepasst und die Kurvenparameter anschließend mittels NIRS geschätzt. Die vorliegenden Studien zeigen jedoch nur eine unzureichende Schätzgenauigkeit (HERRERO *et al.*, 1997; LOVETT *et al.*, 2004). Für Silomais wurde dies auf die Heterogenität der Inhaltsstoffzusammensetzung (Stärke und Faser) zurückgeführt (LOVETT *et al.*, 2004).

Im Rahmen der vorgestellten Untersuchung wurde daher die Hypothese überprüft, ob durch die getrennte Betrachtung von Kolben und Restpflanze die NIRS-Schätzgenauigkeit bezüglich der Gasbildungskinetik gesteigert werden kann. Weiterhin wurde die Gasbildungskinetik durch das gebildete Gasvolumen in definierten Intervallen charakterisiert, da angenommen wird, dass dieses mit dem Abbau spezifischer Inhaltsstoffe in Verbindung steht.

Material und Methoden

Die vorgestellte Untersuchung basiert auf Daten, die in einem dreijährigen Feldversuch (2001-2003) auf dem Versuchsgut Hohenschulen der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel erhoben wurden. Geprüft wurden 8 Silomaissorten, die hinsichtlich Reifegruppe, Abreifeverhalten und zu erwartender Inhaltsstoffzusammensetzung das Sortenspektrum von Silomais repräsentieren. An 6 unterschiedlichen Terminen (ein Termin vor, fünf nach der Blüte) wurden jeweils zehn Maispflanzen geerntet, nach Kolben und Restpflanzen fraktioniert, gehäckselt und anschließend gefriergetrocknet. Insgesamt umfasste das Datenmaterial 480 Kolben- und 640 Restpflanzenproben, die auf 1 mm vermahlen und deren Absorptionsvermögen anschließend mit einem NIRS-Gerät (NIRSystems 5000, Foss) im Nah-Infrarot-Bereich (1100-2500 nm) in jeweiligem Abstand von 2 nm ermittelt wurde. Mit Hilfe der ISI-Software[®] und der Option 'centre samples' wurden fehlerbehaftete Messungen von der weiteren mathematischen Behandlung ausgeschlossen. Die Auswahl von Kalibrationsproben, die die gesamte Probenpopulation abdecken, erfolgte für Restpflanzen- und Kolbenproben getrennt mit der Option 'select samples', wohingegen die Validationsproben zufällig ausgewählt wurden. Ausgewählte Kalibrations subsets umfassten 88 Kolben- und 210 Restpflanzenproben, Validation subsets je 40 Proben. Zur Auf-

stellung der Schätzgleichungen wurden die mathematisch/statistischen Parameter dahingehend optimiert, dass der Kalibrationsfehler (SEC) minimiert und das Bestimmtheitsmaß (R^2) maximiert wurden. Die entsprechenden Kalibrationen wurden mit der Modified-Partial-Least-Squares (MPLS) Methode aufgestellt, die die gemessenen den geschätzten Werten mit oder ohne Streuungskorrektur gegenübergestellt.

Zur Bestimmung der Gasbildung nach Menke und Steingass (1988) wurden ca. 200 mg der Kalibrations- bzw. Validationsproben mit Pansensaft-Puffer-Lösung versetzt und bei 39°C in einem Rotor inkubiert. Das gebildete Gasvolumen wurde nach 1, 3, 5, 7, 12, 16, 24, 48 und 72 h dokumentiert. Nach der Korrektur der Gasbildung auf 200 mg Trockenmasse (TM) wurden rechnerisch die Gasvolumina ermittelt, die in den Inkubationsintervallen 3-5 h, 3-7 h, 5-12 h, 7-12 h, 5-16 h, 7-16 h, 12-16 h, 12-24 h, 24-72 h und 16-72 h gebildet wurden. Mit SigmaPlot wurde eine lineare Regression der mittels NIRS geschätzten und der im Labor gemessenen Werten durchgeführt, wobei das Bestimmtheitsmaß und die Steigung der Regressionsgeraden als Maßstab für die Genauigkeit der Beziehung herangezogen wurden.

Ergebnisse und Diskussion

Aufgrund der aufeinander folgenden Erntetermine wiesen die Kolbenproben Trockensubstanz (TS)- Gehalte von 15.6 bis 57.1% und die Restpflanzenproben von 9.6 bis 30.2% auf. Zur näheren Beschreibung der Verläufe verschiedener Kohlenhydratfraktionen des Probenmaterials im Vegetationsverlauf siehe KRUSE *ET AL.*, 2004, 2005.

Das gebildete Gasvolumen nach 72 h Inkubation von Kolben- und Restpflanzenproben betrug 88.4 ml 200 mg⁻¹ TM bzw. 67.9 ml 200 mg⁻¹ TM (Daten nicht gezeigt). Das hohe Niveau der Gasbildung kann durch die Probenbehandlung erklärt werden, da in dieser Untersuchung in Kolben und Restpflanzen fraktioniertes, gefriergetrocknetes und auf 1 mm vermahlene Frischmaterial inkubiert wurde.

Tab. 1: Kalibrationsstatistik der Gasbildung in verschiedenen Inkubationsintervallen für Kolben und Restpflanzen.

Inkubations- intervall [h]	n (1)		Wertebereich(2)				Mittelwert (3)		S.D. (4)		SEC (5)		R ² (6)	
	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.
3-5	63	173	2.5	19.1	2.0	12.7	7.5	6.5	4.29	2.99	1.07	0.87	0.94	0.92
5-16	67	168	30.6	66.2	12.5	42.9	52.3	25.7	9.20	6.36	1.81	1.82	0.96	0.92
16-72	69	162	12.1	56.6	15.7	44.8	26.3	29.9	8.88	7.43	3.17	2.20	0.87	0.91

(1): Probenanzahl der Kalibration; (2): Minima und Maxima der produzierten Gasvolumina [in ml 200mg⁻¹ TM]; (3): Mittelwert der produzierten Gasvolumina [in ml 200 mg⁻¹ TM]; (4): Standardabweichung der Laborwerte; (5): Standardfehler der Kalibration; (6): Bestimmtheitsmaß der Beziehung zwischen geschätzten und gemessenen Werten

Durch fehlerhafte Labormessungen und Ausschluss der Proben im Kalibrationsprozess flossen die gemessenen Werte von 63-71 Kolben- und 162-173 Restpflanzenproben in die aufgestellten Schätzgleichungen für die Gasbildung in den 10 betrachteten Inkubationsintervallen ein. Bei Betrachtung aller relevanten Parameter zur Bestimmung der Schätzgenauigkeit zeigten die im Folgenden dargestellten Intervalle 3-5 h, 5-16 h und 16-72 h die größte Stabilität. Da die Gasbildung abhängig ist von der Rate und der Höhe des Abbaus verschiedener Inhaltsstoffe, wird davon ausgegangen, dass die Gasbildung im ersten Intervall vornehmlich mit dem Abbau wasserlöslicher Kohlenhydrate in Verbindung steht, darauf folgend Stärke und anschließend Gerüstsubstanzen abgebaut werden.

Die Kolbenproben zeigen eine große Variation an gebildetem Gasvolumen in den betrachteten Inkubationsintervallen von 2.5 bis 66.2 ml 200 mg⁻¹ TM, wobei im Intervall 5-16 h die größten Volumina erzielt werden. Die Gasbildung der Restpflanzenproben variiert mit 2.0-44.8 ml 200 mg⁻¹ TM in einem engeren Bereich (Tab. 1).

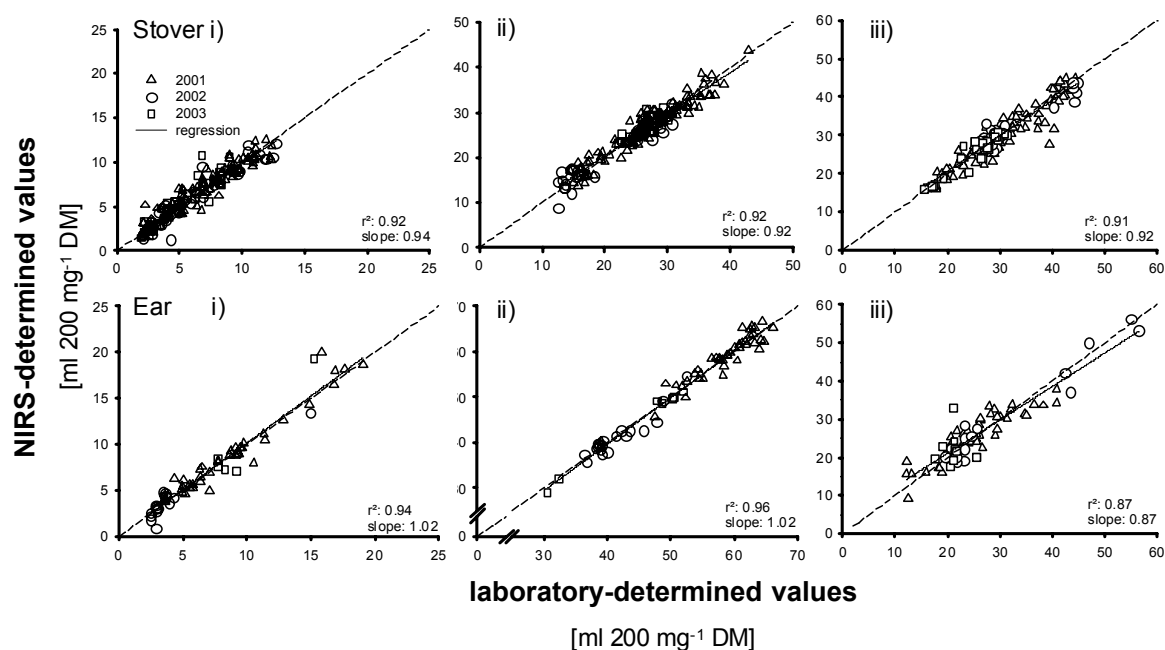


Abb. 1: Beziehung zwischen gemessenen und geschätzten Gasvolumina in Inkubationsintervall 3-5 h (i), 5-16 h (ii) und 16-72 h (iii) von Kolben (ear) und Restpflanzen (stover) -Kalibrationsproben.

Die Kalibrationsstatistik (Tab.1) zeigt eine zufrieden stellende Genauigkeit mit Bestimmtheitsmaßen zwischen 0.87 und 0.96 und geringen Kalibrationsfehlern unter 3.17 ml 200 mg⁻¹ TM. Die Beziehungen zwischen den im Labor gemessenen und mittels NIRS geschätzten Daten (Abb. 1) zeigt eine enge Beziehung, die dokumentiert wird durch Steigungen der Regressionsgeraden zwischen 0.87 und 1.02. Die Validationsstatistik hingegen weist eine geringere Genauigkeit mit Bestimmtheitsmaßen von 0.35-0.69 und Fehlern bis zu 6 ml 200 mg⁻¹ TM auf (Tab. 2). Die Steigung der Regressionsgeraden variiert zwischen 0.56 und 0.93 und schneidet teilweise die Winkelhalbierende, so dass die Gehalte im unteren Wertebereich von NIRS überschätzt und im oberen Wertebereich unterschätzt werden (Abb.2).

Tab. 2: Validationsstatistik der Gasvolumen in verschiedenen Inkubationsintervallen für Kolben und Restpflanzen.

Inkubationsintervall [h]	n (1)		Wertebereich(2)				Mittelwert (3)		SEV (4)		R ² (5)	
	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.	Kolben	Rest.
3-5	35	36	1.9	19.7	1.9	13.3	10.3	7.0	3.58	1.55	0.64	0.69
5-16	35	36	28.8	59.0	12.1	33.3	41.4	25.3	6.06	2.67	0.46	0.69
16-72	35	36	11.1	45.8	16.8	40.1	21.7	26.6	5.92	4.07	0.35	0.46

(1): Probenanzahl der Validation; (2): Minima und Maxima der produzierten Gasvolumina [in ml 200 mg⁻¹ TM]; (3): Mittelwert der produzierten Gasvolumina [in ml 200 mg⁻¹ Tm]; (4): Standardfehler der Validation; (5): Bestimmtheitsmaß der Beziehung zwischen geschätzten und gemessenen Werten

Obwohl eine Fraktionierung der Mais-Gesamtpflanze in Kolben und Restpflanze vorgenommen und die Gasbildung in einzelne Inkubationsintervalle unterteilt wurde, fällt die Genauigkeit der NIRS-Kalibrationsgleichung nicht zufrieden stellend aus.

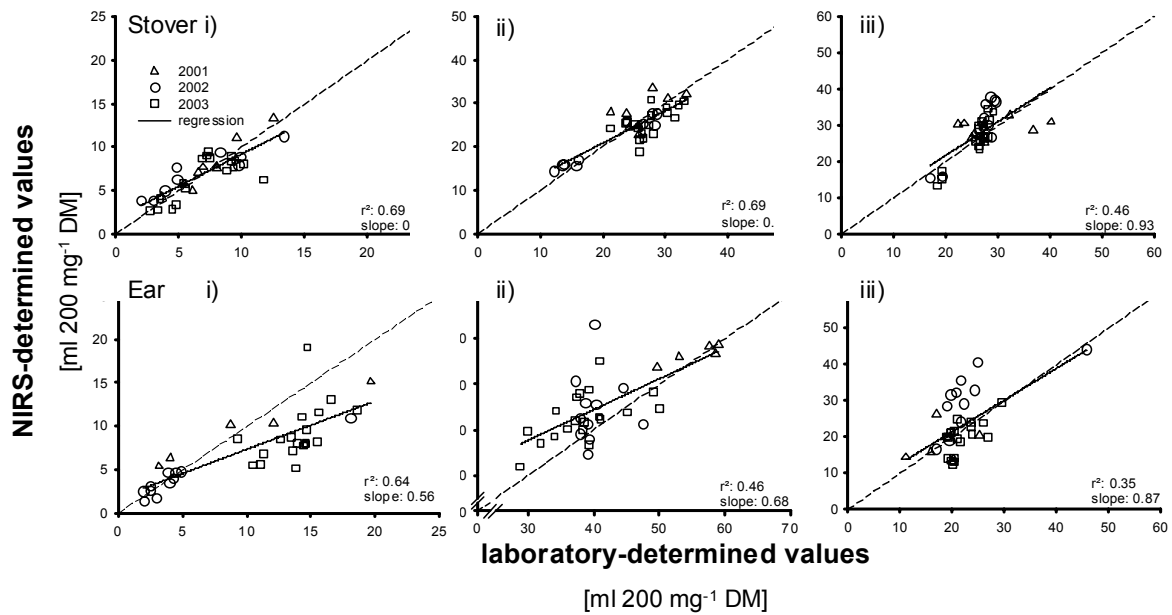


Abb. 2: Beziehung zwischen gemessenen und geschätzten Gasvolumina in Inkubationsintervall 3-5 h (i), 5-16 h (ii) und 16-72 h (iii) von Kolben (ear) und Restpflanzen (stover) -Validationsproben.

Schwierigkeiten bezüglich der Reproduzierbarkeit der Gasbildungsergebnisse im Labor können ebenso wie die zwar in verschiedenen Raten, trotzdem aber gleichzeitig ablaufende Fermentation der Kohlenhydratfraktionen Fehlerquellen darstellen, die eine genauere Schätzung der Gasbildung in verschiedenen Inkubationsintervallen von Kolben und Restpflanzen verhindern. Eine weitere Verbesserung der Methodik ist nötig, um die Vorteile der NIRS zur erfolgreichen Schätzung der Gasbildung nutzen zu können.

Literatur

- HERRERO, M., JESSOP, N.S., FAWCETT, R.H., MURRAY, I. und DENT, J.B. (1997): Prediction of the in vitro gas production dynamics of kikuyu grass by near-infrared reflectance spectroscopy using spectrally-structured sample populations. *Animal Feed Science and Technology*, 69, 281-287.
- KRUSE, S., HERRMANN, A., KORNHER, A. und TAUBE, F. (2004): Modelling of water-soluble carbohydrates in forage maize. *Grassland Science in Europe*, 9, 963-965.
- KRUSE, S., HERRMANN, A., KORNHER, A. und TAUBE, F. (2005): Genotypbedingte Veränderungen der Gehalte an Gerüstsubstanzen im Vegetationsverlauf von Silomais. *Mitt. AG Grünland und Futterbau*, Band 7, 142-145.
- LOVETT, D.K., DEAVILLE, E.R., MOULD, F., GIVENS, D.I. und OWEN, E. (2004): Using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the biological parameters of maize silage. *Animal Feed Science and Technology*, 115, 179-187.
- MENKE, K.H. und STEINGASS, H. (1988): Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 7-55.