

## **Moderne Analytik von ELOS in pflanzlichen Rohstoffen im Bioenergie- und Futtermittelbereich**

### **1. Einleitung**

Eine zeitnahe und zuverlässige Analytik ist notwendig für die Untersuchung von Nährstoffen in Futtermitteln, um durch eine optimale Zusammensetzung den Energiebedarf der Tiere zu decken. Auch die Wirtschaftlichkeit einer Biogasanlage ist nicht zuletzt von der Steuerung des biologischen Prozesses und damit von der Zusammensetzung der eingesetzten Substrate abhängig.

Die Futterqualität wurde in der Vergangenheit ausschließlich über Rohnährstoffe der Weender-Futtermittelanalyse bestimmt. Auf dieser Grundlage standen allein für die energetische Bewertung von Grasprodukten unzählige unterschiedliche Schätzgleichungen zur Verfügung. Neuere Formeln zur Energiebewertung verwendeten die Analysen nach van Soest, die die vormalige Rohfasermessung durch die Differenzierung der Faseranteile in die Neutrale-Detergenzien-Faser (NDFom), Säure-Detergenzien-Faser (ADFom) und die Ligninfraktion als ADL erfasst. Die Anteile von Lignin sind größtenteils unverdaulich, Cellulose schwer verdaulich und die Hemicellulosen verdauliche Bestandteile der Zellwände von Pflanzen. Diese Untersuchungen erfolgen zumeist nach der VDLUFA Methode VDLUFA Band III, 6.5.2 für ADF und NDF, ADL wird nach ISO/DIS 13906 bestimmt.

Die Nutzung dieser Parameter ermöglicht eine detaillierte energetische Bewertung der Faserfraktionen. Mit den Lignocellulosen und der Asche der Pflanzen sind aber nur die weniger bis unverdaulichen Stoffe gekennzeichnet. Ein echter Parameter für die Verdaulichkeit bzw. für die zu Methan umwandelbare Stoffmenge steht hiermit jedoch noch nicht zur Verfügung.

### **2. Bedeutung der ELOS Bestimmung**

Echte Verdaulichkeit konnte bislang nur im Tierversuch bestimmt werden. Schätzungen der organischen verdaulichen Substanz ohne Verdauungsversuche beim Tier sind über das in vitro Pansensaftverfahren (Hohenheimer-Futterwert-Test, HFT), der Methode nach Tilley und Terry (1963), einer Cellulase-Methode zur Bestimmung der Enzymlöslichkeit organischer Substanz (ELOS) und der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) möglich. Bei Verwendung von Pansensaft

besteht jedoch das Problem der Abhängigkeit von der Qualität, beeinflusst von Haltbarkeit, Temperatur und der Konzentration der Bakterien. Dieses Problem kann nur mit einer vom Pansensaft unabhängigen, auf Basis biochemischer Stoffe basierenden Methode zur in vitro Bestimmung der Verdaulichkeit gelöst werden.

Daher kommt der schnellen, effizienten und zuverlässigen Bestimmung von ELOS und EULOS in pflanzlichen Rohstoffen und Futtermitteln eine große Rolle zu, da mit diesen Parametern die Verdaulichkeit von Biomasse unabhängig von der Qualität des Pansensaftes bestimmt werden kann. Nach Weißbach (1999) wurde der EULOS-Wert für die Verdaulichkeit von Frischgras verwendet. Die Enzymunlösliche organische Substanz ist dabei ein Wert, der sich ebenfalls vom ELOS ableitet.

EULOS in g/kg TM wird mit „1000 – Rohasche – ELOS“ berechnet.

Auch wenn in letzter Zeit die NIRS-Technik verstärkt Einzug gehalten hat, ist doch eine präzise Referenzmessung mit den klassischen nasschemischen Methoden für die Energiebewertung ein ganz entscheidender Faktor für die Güte der Berechnungen.

### 3. ELOS-Bestimmung nach VDLUFA

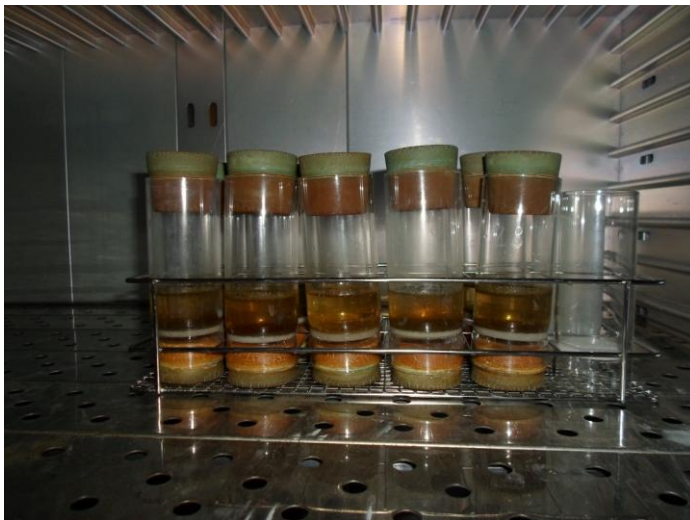


Abb. 1: Konventionelle Methode. Enzymatische Inkubation mit Pepsin und Cellulase im Brutschrank

Die Untersuchung auf enzymlösliche organische Substanzen ELOS in Pflanzen erfolgt in der Regel nach der VDLUFA Methode, VDLUFA Band III, 6.6.1. Dabei wird das zu untersuchende Futter mit Verdauungsenzymen behandelt, und somit die Abbaubarkeit des Futters im Verdauungstrakt des Tieres simuliert.

1. 300 mg Probe mit je 30 ml Pepsin-Salzsäurelösung vermischen
2. 24 h bei 40 °C inkubieren
3. 45 min bei 80 °C im Wasserbad
4. Pepsin-Salzsäurelösung abgießen und Rückstand säurefrei waschen
5. Zugabe der Cellulaselösung
6. 24 h bei 24 °C inkubieren
7. Cellulaselösung abgießen und Rückstand waschen
8. Erfassung der unverdauten org. Masse durch Trocknen, Veraschen und Wiegen

#### 4. **Entwicklung einer neuen Methode.** **ELOS-Bestimmung mit FilterBag-Technologie**

##### 4.1 **FilterBag-Technologie**

Die Basis der ANKOM-FilterBag Technologie sind die F57 FilterBags für Faserbestimmungen. Die Filterbags haben folgende Eigenschaften:

- kein Gewebe, Co-Polymer
- Porenweite 25 µm
- chemisch inert
- aschefrei



Abb. 2: Filterbags (Faser- und in vitro Bestimmungen)

Die Entwicklung der FBT erfolgte gemeinsam mit Dr. P.J. Van Soest an der Cornell University (US-Bundesstaat New York). Dort wurden auch zahlreiche Studien zur Überprüfung der Vergleichbarkeit und Genauigkeit der FBT gegenüber den Standardmethoden nach Van Soest durchgeführt (Komarek, Robertson und Van Soest, 1993 und Komarek et. Al. 1994).

Die meisten Parameter, die in den Schätzgleichungen für die Energiebewertung Anwendung finden, können mit den ANKOM-Gerätesystemen und den Filterbags bestimmt werden.

#### 4.2 Der In-vitro Inkubator



Abb. 5 In-vitro Inkubator mit eingesetzten Flaschen in denen die Enzymbehandlung abläuft

#### Leistungsmerkmale ELOS:

- Bestimmung von 4 x 25 Proben gleichzeitig
- Kein Schütteln von Hand notwendig
- Intensive Inkubation mit Enzymlösung durch Rotation
- Einfache Waschvorgänge
- Ersparnis von Einsatzstoffen (Enzymen)

### 4.3 Durchführung der Bestimmung

Die Methode nach VDLUFA Band III, 6.6.1 - Bestimmung der enzymlöslichen organischen Substanz (Cellulasemethode) wurde 1:1 auf den ANKOM<sup>Daisy II</sup> - In-vitro Inkubator übertragen.

- Reagenzien identisch mit der VDLUFA-Methode
- Einwaage von 300 mg Probe pro F57 FilterBag
- Pro Flasche 25 Proben + 1 Blank Bag einlegen

In jede Flasche werden 500 ml Pepsin-Salzsäurelösung bzw. Cellulaselösung eingefüllt. Das entspricht einer Ersparnis von 250 ml Reagenzlösung auf 25 Proben. Die Durchführung entspricht der konventionellen Methode (siehe 3.)

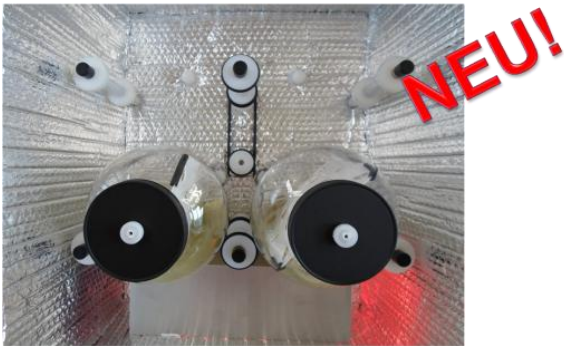


Abb. 6 Inkubator im Inneren

### 4.4 Berechnung ELOS

$$\text{ELOS} = \text{TM} - \text{A} - \text{G} [\%]$$

TM Trockenmassegehalt der Probe in %

A Aschegehalt der Probe in %

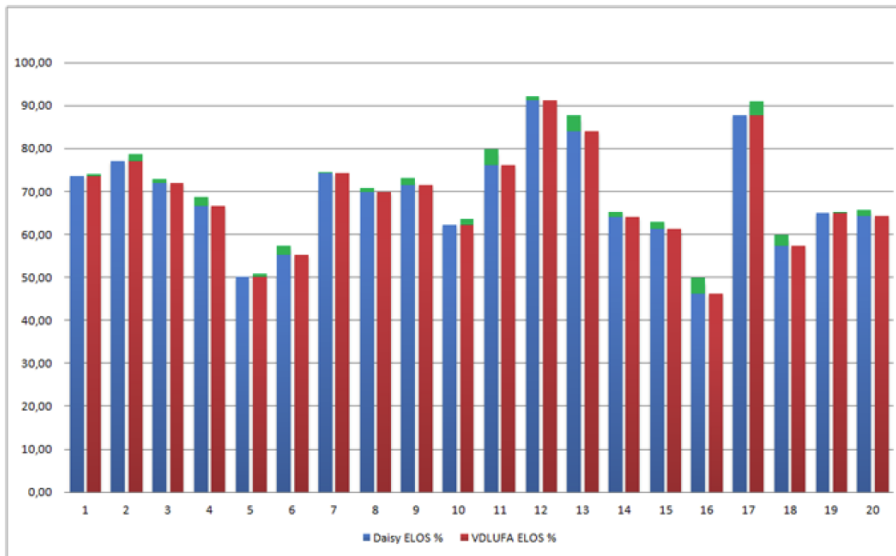
G Glühverlust in %

Für die Berechnung der Ergebnisse nach Bestimmung mit dem ANKOM<sup>Daisy II</sup> - Invitro Inkubator steht ein Tabellenkalkulationsprogramm zur Verfügung.

#### 4.5 Ergebnis der Vergleichsuntersuchungen

				Daisy	VDLUFA	absolute
Probe	Pflanzen-	Asche-	Glüh-	ELOS	ELOS	Differenz
Nr.	art	gehalt %	verlust %	in % TM	in % TM	in % TM
1	Grünland	2,66	23,85	<b>73,49</b>	<b>73,84</b>	<b>0,36</b>
2		1,45	21,61	<b>76,94</b>	<b>78,33</b>	<b>1,39</b>
3		1,29	26,09	<b>72,62</b>	<b>71,84</b>	<b>0,78</b>
4		1,58	29,98	<b>68,44</b>	<b>66,70</b>	<b>1,74</b>
5		1,25	48,71	<b>50,03</b>	<b>50,64</b>	<b>0,60</b>
6		1,06	41,88	<b>57,06</b>	<b>55,34</b>	<b>1,73</b>
7	Grünland	1,47	24,14	<b>74,40</b>	<b>74,36</b>	<b>0,04</b>
8	Grünland	1,74	27,71	<b>70,55</b>	<b>69,80</b>	<b>0,75</b>
9	Grünland	3,12	24,15	<b>72,73</b>	<b>71,42</b>	<b>1,31</b>
10	Grünland	4,59	33,21	<b>62,20</b>	<b>63,41</b>	<b>1,21</b>
11		0,12	20,69	<b>79,18</b>	<b>76,24</b>	<b>2,95</b>
12		0,45	7,56	<b>91,99</b>	<b>91,23</b>	<b>0,76</b>
13		0,42	12,64	<b>86,93</b>	<b>83,99</b>	<b>2,94</b>
14		1,23	33,65	<b>65,12</b>	<b>64,17</b>	<b>0,95</b>
15		1,34	36,03	<b>62,63</b>	<b>61,34</b>	<b>1,29</b>
16		2,57	48,37	<b>49,06</b>	<b>46,10</b>	<b>2,96</b>
17		3,44	8,79	<b>87,77</b>	<b>90,40</b>	<b>2,64</b>
18		0,00	40,76	<b>59,24</b>	<b>57,24</b>	<b>2,00</b>
19		0,29	34,77	<b>64,94</b>	<b>65,06</b>	<b>0,12</b>
20		1,20	33,26	<b>65,53</b>	<b>64,31</b>	<b>1,23</b>

## 5. Schätzgleichungen für die Energiebewertung



Die jüngsten Schätzgleichungen für die Energiebewertungen beruhen auf den Empfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, die eine neue Schätzgleichungen zur energetischen Bewertung von Gras- und Maisprodukten (GfE (2011), DLG (2011)) empfiehlt. Dabei ist die umsetzbare Energie bestimmt von dem Gehalt an Netto- (NEL) bzw. umsetzbarer Energie (ME).

Bei den Grobfuttermitteln, Gras als Frischgras, Silage und Heu, kann mittels der sogenannten ELOS Formel, neben anderen Schätzgleichungen auch eine Schätzung für die Bewertung für Gras ermittelt werden. Hier sind nach GfE (2008) in der Formel ELOS, XA, XL und ADForg enthalten.

Bei der Futterbewertung von Mais als Silomais, Maissilage, Mais Kornprodukten und Maisrestpflanzen empfiehlt die GfE eine Schätzung mit Hilfe des ELOS und dem organischen Anteil der Neutralen-Detergenzien-Faser (NDForg). Auch hier ist wieder die Enzymlösliche-Organische-Substanz (ELOS), NDForg und XL in der Formel enthalten. Dem ELOS kommt daher ein hoher Stellenwert zu.

## 6. Zusammenfassung

Die neue energetische Bewertung für Gras- und Maisprodukte und die Möglichkeit diese ebenfalls in dem Bereich der Bioenergie einzusetzen, erhält durch die Verwendung von z.B. ELOS oder EULOS und der differenzierten Faserfraktionen statt der Rohfaser eine deutlich Verbesserung und ermöglicht eine präzisere Vorhersage als dies in der Vergangenheit möglich war. Künftige Ziele sind die Anpassung der Energieberechnungen auf die Gasproduktion im Biogasbereich.

### Vorteile der neuen Methode

- hoher Probendurchsatz, bis 100 Proben im Inkubator
- hohe Präzision und Sicherheit
- gleichmäßige Filtration, 25 µm Porenweite der FilterBags
- geringer Reagenzienverbrauch ANKOM - 500 ml / 25 Proben, konventionelle Methode - 750 ml / 25 Proben

### Nachteile der neuen Methode

- höhere Kosten durch die Verwendung der Filterbags

### Literatur

**DLG (2011)** Leitfaden zur Berechnung des Energiegehaltes bei Einzel- und Mischfuttermitteln für die Schweine- und Rinderfütterung.

Stellungnahme des DLG-Arbeitskreises Futter und Fütterung ([www.futtermittel.net](http://www.futtermittel.net)), Dezember 2011

**GfE**, Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie: Neue Gleichungen zur Schätzung der Umsetzbaren Energie für Wiederkäuer von Gras- und Maisprodukten. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 17 (2008), S. 191 - 198.

**Tilley, J.M.A. und Terry, R.A. (1963)**: A two stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. Brit. Grassl. Soc. 18, 104-111.

**Van Soest, P.J.**, 1968: Structural and chemical characteristics which limits the nutritive value of forages. In: HARRISON, C.M. (ed.): Forage: economics/quality. – Spec. Publ. 13, American Soc. Agron., Madison, Wiscon., 63-76.

**Weißbach, F., Kuhla, S., Schmidt, L. und Henkels, A. (1999)**; Schätzung der Verdaulichkeit und der Umsetzbaren Energie von Gras und Grasprodukten. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 8, 72.

Autoren: G. Henkelmann, B. Stadler