



Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften

Übungen zur Tierernährung im Rahmen des Moduls „Tierernährung und Futtermittelkunde“ (B-PM15)

Professorin Dr. Anke Schuldt, Dr. Regina Dinse, Stand: Juli 10

1 Die Weender - Futtermittelanalyse

(LIEBERT, 2006)

Die Weender-Futtermittelanalyse ist im vorletzten Jahrhundert von HENNEBERG und STOHMANN in der Versuchsstation GÖTTINGEN WEENDE entwickelt worden. Sie ist bis heute das Standardverfahren der Futtermittelanalyse geblieben. Die Futtermittelinhaltsstoffe werden durch die 'Weender-Analyse' in Nährstoffgruppen, die sogenannten "Rohnährstoffe ähnlicher physiologischer bzw. energetischer Gesamtwirkung" eingeteilt. Einen Überblick zu den wesentlichen Futterinhaltsstoffen und ihrer Zusammensetzung im Weender-Analysengang vermitteln Tab. 1 und Übersicht 1.

Tab. 1: Inhaltsstoffe/Fraktionen von Futtermitteln nach Weender Analyse

Rohnährstoff	Abkürzung
Trockensubstanz/-masse	TS / TM / T
Organische Substanz	OS
Rohasche	XA
Rohprotein	XP
Rohfett	XL
Rohfaser	XF
Stickstofffreie Extraktstoffe	XX

Die aufgeführten Inhaltsstoffe werden bei der Weender-Analyse in der Regel auf die Trockensubstanz (Frischmasse des Futtermittels - Wasser) bezogen. Die Inhaltsstoffe Trockensubstanz, Rohasche, Rohprotein, Rohfaser und Rohfett werden nach diesem Verfahren analytisch ermittelt. Die Fraktionen der Organischen Substanz (OS) und der Stickstofffreien- Extraktstoffe (XX, NfE) sind rechnerisch zu ermitteln.

$$\mathbf{XX = T - [XA + XP + XL + XF]}$$

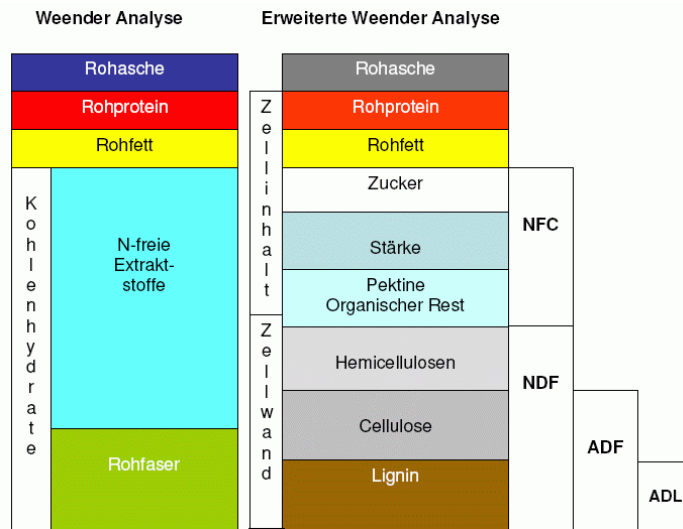
Die Weender-Futtermittelanalyse stellt eine sogenannte Konventionsanalyse (*convenire* = übereinkommen) dar, d.h., es sind genaue Analysenvorschriften ausgearbeitet, die bei strenger Einhaltung zu gut reproduzierbaren Analyseergebnissen führen.

Bemerkung: Fehler bei der Bestimmung der Rohnährstoffe verändern den Wert für die NfE jeweils in entgegengesetzter Richtung.

Die NfE-Fraktion ist die heterogenste Rohnährstoffgruppe. Neben den α -glucosidisch gebundenen Polysacchariden (Stärke, Glykogen) und den löslichen Zuckern (Glucose, Saccharose, Lactose, Maltose) werden in ihr Fructosane, Pektine sowie Teile der Cellulose, der Hemicellulo-

sen und des Lignins zusammengefasst. Durch die Erweiterung der Weender Analyse können die Nachteile erheblich eingeschränkt werden. Sie wird im folgenden Schema aufgezeigt:

Übersicht 1: Weender Analyse und Detergentienanalyse nach van Soest (UFA AG, 2003)



2 Detergentienanalyse nach van Soest (s. auch Übersicht 1):

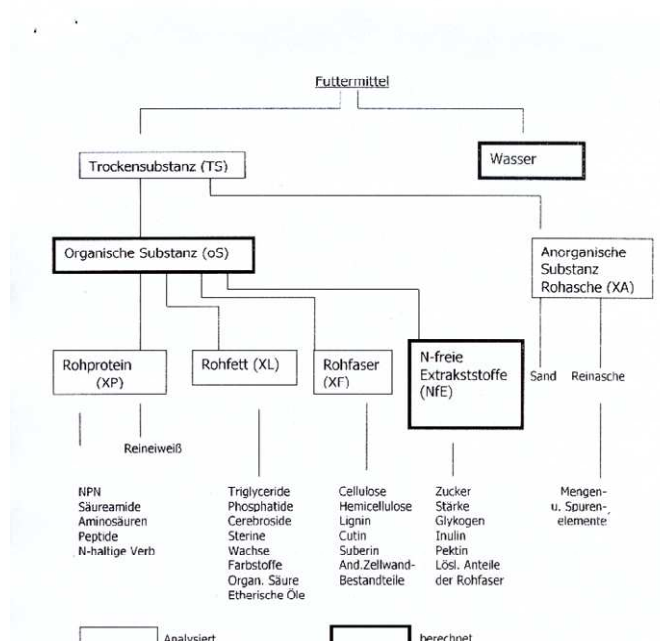
Die Weender Analyse wird ergänzt durch die Bestimmung von Stärke und Zucker sowie die Bestimmung der neutralen Detergentienfaser, der sauren Detergentienfaser und des sauren Detergentienlignins. Es werden errechnet:

- Hemicellulosen = Neutrale Detergentienfaser (NDF) – Saure Detergentienfaser (ADF)
- Cellulose = Saure Detergentienfaser (ADF) – Saures Detergentienlignin (ADL)

Die Analyse auf Rohfaser entfällt.

Im Rahmen der Übungen zur Tierernährung werden Bestimmungen zu Gehalten an ADF und NDF in Futtermitteln durchgeführt.

Übersicht 1: Schematische Darstellung der Futtermittelinhaltsstoffe (KIRCHGEßNER 2008)



2 Einige Grundregeln zur Probenentnahme

(LIEBERT, 2006, LENGERKEN und ZIMMERMANN, 1991)

Die Untersuchung einer Probe auf Beschaffenheit, Frischezustand und wertbestimmende Bestandteile (z. B. Nährstoff- und Energiegehalte) hat nur dann einen Sinn, wenn die Probe dem wirklichen Durchschnitt (Stapel, Posten, Partie) entspricht, für die das Ergebnis Geltung haben soll.

Bei Futtermitteln, ob wirtschaftseigene oder Handels-Futtermittel, liegt vielfach ein weitgehend inhomogenes Material vor, so dass ganz bestimmte Vorschriften für die Probenentnahme anzuwenden sind.

Die ins Labor zur Untersuchung gelangenden Analysenproben müssen dem Umfang der Partie entsprechen. Es muss sowohl der Entnahme einer Probe aus dem ursprünglichen Material als auch der Herstellung der Probe durch systematische Reduzierung der Sammelproben besondere Sorgfalt gewidmet werden.

Je nach Art des Futtermittels (Einzelfuttermittel in Kuchen, Mehlform oder pelletiert, Mischfuttermittel mit und ohne Brockenanteilen, Raufutter, Silage, Hackfrüchte, Mineralfutter usw.) und je nach dem Zweck der Untersuchung (Nachuntersuchung durch die Handelspartner, amtliche Futtermittelkontrolle, DLG-Futtermittelkontrolle, Kontrollen für den Bundesverband der Mischfutterhersteller, Untersuchungen beim Grenzübertritt, Untersuchung wirtschaftseigener Futtermittel für den Futtervoranschlag) können die Probenentnahmebestimmungen sehr unterschiedlich sein.

Die gesetzlich vorgeschriebenen Grundregeln für Einzel- und Mischfuttermittel sind genau im Futtermittelrecht zusammengestellt:

ENTEL, H. J.; FÖRSTER, N.; HINCKERS, E. (Hrsg.): Futtermittelrecht, Loseblattsammlung, A - 3, Verordnung über Probenahmeverfahren und Analysemethoden, Parey Buchverlag im Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin.

SÜLFLOHN, K. (Red.): Grüne Broschüre 2003. Das geltende Futtermittelrecht mit Typenliste für Einzel- und Mischfuttermittel – Stand November 2002 -. Allround Media Service, Bonn, 238 pp.

Und stärker praxisorientiert in:

NAUMANN, K; BASSLER, R. (1976): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, Methodenbuch Bd. III, VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

Auszug aus den Vorschriften zur Probenentnahme

(Futtermittel-Probenahme- und Analyse-Verordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 15. März 2000, s. SÜLFLOHN, 2003)

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. Eine Partie: | Die Menge eines Stoffes, die sich nach ihrer äußeren Beschaffenheit, Kennzeichnung und räumlichen Zuordnung als eine Einheit darstellt. |
| 2. Eine Einzelprobe: | Die Teilmenge einer Partie, die durch einen Entnahmevorgang gebildet wird. |
| 3. Eine Sammelprobe: | Die Gesamtmenge einer Partie entnommener Einzelproben. |
| 4. Eine reduzierte Sammelprobe: | Eine repräsentative Teilmenge einer Sammelprobe. |
| 5. Eine Endprobe (Versandmuster): | Eine für die Untersuchung bestimmte Teilmenge einer Sammelprobe oder einer reduzierten Sammelprobe. |

**Vorgehensweise bei der Entnahme von Einzelproben, Zusammenstellung von
Sammelproben sowie Reduzierung zu Endproben (nach SÜLFLOHN, 2004)**

Größenordnungsmäßig sind bei der Entnahme von Einzelproben, Zusammenstellung von Sammelproben sowie Reduzierung zu Endproben folgende Mengenabgaben zu beachten:

Art und Umfang der Partie	Mindestzahl der Einzelproben	Mindestmengen der Sammelproben	Mindestmengen der Endproben
1. Feste Stoffe:			
Silagen, Rübenblätter, Heu und Stroh, Weidepflanzen, sonstige Stoffe bis 2,5 t	20	1 – 4 kg	250 g – 1 kg
	50		
	7		
2. Verpackte Stoffe:			
Packungen über 1 kg Inhalt, 5 – 16 Packungen	4	4 kg	500 g
3. Flüssige und halbflüssige Stoffe:			
5 – 16 Behältnisse	4	4 l	500 ml

Bei Packungen oder Behältnissen bis zu einem Kilogramm oder einem Liter Inhalt sowie bei Futterblöcken und Lecksteinen bis zu einem Kilogramm Gewicht bildet jeweils der Inhalt einer Packung oder eines Behältnisses, ein Futterblock oder ein Leckstein die Einzelprobe. Bei Weidepflanzen bildet eine Handvoll des Aufwuchses die Einzelprobe.

Die Vorgehensweise hat also das Ziel, bei der Entnahme von Einzelproben möglichst repräsentativ zu sein und bei der Bearbeitung der Sammelproben, etwa durch Mischen, eine homogene Masse zu erhalten, aus der durch Reduzierung eine handhabbare Endprobe gebildet wird.

Bei der Verwendung der Endproben ist darauf zu achten, dass je eine weitere Endprobe für eine etwaige private oder amtlich veranlasste Gegenuntersuchung bestimmt wird.

Behandlung der Endprobe und Herstellung einer Analysenprobe

Der Sorgfalt, mit der die Endprobe hergestellt wurde, muss ebensoviel Sorgfalt bei der weiteren Behandlung und der Herstellung des fein gemahlten Analysenmusters folgen. Es muss ein Material zur Untersuchung kommen, dessen Beschaffenheit noch dem Durchschnitt der eingesandten Probe und damit der ganzen Partie, der Charge, des Stapels usw. entspricht, deren Gehalt an wertbestimmenden Bestandteilen ermittelt werden soll.

Je nach der Art des Futtermittels sind verschiedene Verfahren der Behandlung der Versandmuster anzuwenden.

Das in dem Untersuchungsinstitut eintreffende Versandmuster muss in den meisten Fällen zerkleinert und zu einem Analysenmuster mit einer Korngröße 1 mm reduziert werden.

Sollte erhöhte Feuchtigkeit das Zerkleinern bzw. Vermahlen unmöglich machen, so muss die komplette Probe (bei sehr großen Proben ein repräsentativer Teil) gewogen und bei ca. 60°C auf ca. 7 – 12% Feuchtigkeit vorge trocknet werden. Das Material bleibt dann zum Angleichen an die Luftfeuchtigkeit noch einige Stunden bei Raumtemperatur liegen, wird zur Feststellung des Verlustes an Feuchtigkeit wieder gewogen und erst dann zur Analysenprobe reduziert und zerkleinert.

Falls beim Vermahlen Verluste an Feuchtigkeit zu befürchten sind, muss man eine Feuchtigkeitsbestimmung vor und nach dem Zerkleinern vornehmen. Der Verlust an Feuchtigkeit ist bei der Berechnung der Ergebnisse zu berücksichtigen. Wenn Ammoniakverluste oder Verluste an flüchtigen Säuren bei der Vortrocknung zu erwarten sind, erfolgen Zusätze von 10%iger Weinsäure bzw. von Alkalilösungen. Die dabei bedingte Erhöhung des Trockensubstanzgehaltes ist ebenfalls bei der Berechnung der Ergebnisse zu beachten.

In den Fällen, bei welchen für die beabsichtigte Untersuchung nachteilige Umsetzungen eintreten können, muss eine Vakuumtrocknung bei niedriger Temperatur oder eine Gefriertrocknung angewandt werden.

Für einige Spezialuntersuchungen (z.B. Gehalt an Spurenelementen, Vitaminen, Aflatoxin) müssen bei der Vorbereitung der Probe besondere Gesichtspunkte berücksichtigt werden, auf die bei den betreffenden Analysemethoden besonders hingewiesen wird.

Angabe der Mengen, die letztendlich zur Untersuchung gelangen

Analyse	Einwaage (g bei 88 – 92% T)
T, XA	5 (10 bzw. 3)*
XL	5 (1)
XP	0,5 – 0,8 (0,5-1)
XF	3 (1)

* In Klammern: lt. Analysenvorschrift Foss TECATOR

Analysenvorschrift

(nach VDLUFA = Verband der Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalten)

Quelle:

NAUMANN, K., R. BASSELER, R. SEIBOLD und K. BARTH: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. VDLUFA Methodenbuch Bd. III, Verlag J. Neumann-Neudamm, Melsungen, 3. Auflage 1976.

3 Anleitungen für die durchzuführenden Analysengänge

Hinweis:

Bitte verlassen Sie die Labore und Probenaufbereitungsräume stets in sauberem und ordentlichem Zustand. Beseitigen Sie bitte auch Ihre Abfälle!

3.1 Bestimmung der Trockensubstanz (T) auch: TM, TS

3.1.1 Prinzip der Methode

Die unzerkleinerte Probe wird vor dem Vermahlen im Trockenschrank bei einer Temperatur von 103 °C bis zur Massekonstanz getrocknet und der Rückstand durch Differenzwägung ermittelt.

3.1.2 Durchführung

Geräte und Hilfsmittel

- Trockenschrank, Analysenwaage
- Petrischalen

3.1.3 Bestimmung

Ca. 10 g des luftgetrockneten Futtermittels werden in saubere, trockene und vorher beschriftete und anschließend gewogene Petrischalen auf 0,001g genau eingewogen.

Dann wird die Probe bei 103 °C bis zur Massekonstanz im Trockenschrank getrocknet (mehrmals Kontrollwägungen durchführen).

Nach Beendigung der Trocknung lässt man die Petrischalen im Exsikkator abkühlen und wiegt dann zurück.

Es werden 2 Parallelbestimmungen durchgeführt.

3.1.4 Auswertung

Der prozentuale Trockensubstanzgehalt (T) errechnet sich nach folgender Gleichung:

$$T \text{ in } \% = \frac{(m_3 - m_1) \times 100}{m_2}$$

m_1 - Leermasse der Petrischale in g

m_2 = Probeneinwaage in g

m_3 - Masse von Petrischale und Probe nach der Trocknung in g

3.1.5 Fehlergrenzen:

maximale relative Abweichung zwischen den Einzelwerten: $\pm 0,25 \%$

3.2 Mahlen der Proben

Die Proben werden auf eine Teilchengröße von 1 mm gemahlen.

Dazu werden Pellets und Silagen zunächst mit einem Sieb der Größe 2 mm vorgemahlen. Im zweiten Mahlgang wird ein Sieb der Größe 1 mm verwendet.

Vor jedem Mahlgang mit einem neuen Futtermittel wird die Mühle gründlich gereinigt (mit Pinsel, Bürste und Staubsauger).

3.3 Bestimmung der analytischen Trockensubstanz (T) auch: TM, TS

3.3.1 Prinzip der Methode

Die gemahlene Probe wird direkt im Trockenschrank bei einer Temperatur von 105 °C bis zur Massekonstanz getrocknet und der Rückstand durch Differenzwägung ermittelt.

3.3.2 Durchführung

Geräte und Hilfsmittel

- Trockenschrank
- Petrischalen
- Analysenwaage

3.3.3 Bestimmung

Ca. 10 g des lufttrockenen, feingemahlene n Futtermittels werden in saubere, trockene (bei 105 °C 3 h im Trockenschrank) und vorher besch rittete und anschließend gewogene Petrischalen auf 0,001g genau eingewogen.

Dann wird die Probe bei 105 °C 3 h im Trockenschran k getrocknet.

Nach Beendigung der Trocknung lässt man die Petrischalen im Exsikkator abkühlen und wiegt dann zurück.

Es werden 2 Parallelbestimmungen durchgeführt.

3.3.4 Auswertung

Der prozentuale Trockensubstanzgehalt (T) errechnet sich nach folgender Gleichung:

$$T \text{ in } \% = \frac{(m_3 - m_1) \times 100}{m_2}$$

m_1 = Leermasse der Petrischale in g

m_2 = Probeneinwaage in g

m_3 = Masse von Petrischale und Probe nach der Trocknung in g

3.3.5 Fehlergrenzen:

maximale relative Abweichung zwischen den Einzelwerten: $\pm 0,25 \%$

3.4 Bestimmung der Rohasche (XA)

3.4.1 Prinzip der Methode

Die Probe wird bei ca. 600 °C verascht und ihr Aschengehalt durch Differenzwägung ermittelt.

3.4.2 Durchführung

Geräte und Hilfsmittel

- Schnellveraschung
- Porzellantiegel
- Analysenwaage

3.4.3 Bestimmung

Ca. 3 g des luftgetrockneten, feingemahlten Futtermittels werden in saubere, ca. 3 h geglühte und vorher gewogene Porzellantiegel auf 0,001 g genau eingewogen. Dann wird in der Schnellveraschung 60 min. bei 90 % bis zur Massekonstanz geglüht. Nach Abkühlen im Exsikkator wird zurückgewogen und der Rückstand als Rohasche in Rechnung gestellt.

Es werden 2 Parallelbestimmungen durchgeführt.

3.4.4 Auswertung

Der prozentuale Rohaschengehalt wird wie folgt berechnet:

$$\text{XA in \%} = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{E}$$

$$\text{XA in \% der T} = \frac{(m_2 - m_1) \times 100 \times 100}{E \times T}$$

m_1 - Masse des leeren Porzellantiegels in g

m_2 - Masse von Porzellantiegel und Probe nach der Veraschung in g

E - Probeneinwaage in g

T – Trockensubstanzgehalt der Probe in % (analytische Trockensubstanz)

3.4.5 Fehlergrenzen:

maximale relative Abweichung zwischen den Einzelwerten:

± 1 %

3.5 Bestimmung der Rohfaser (XF)

3.5.1 Prinzip der Methode:

Rohfaser ist der organische Anteil einer pflanzlichen Substanz, der nach einem hydrolytischen Aufschlussverfahren mit Schwefelsäure und Natronlauge unter definierten Bedingungen zurückbleibt. Die Rohfaser besteht hauptsächlich aus Zellulose, Lignin und Pentosanen.

3.5.2 Durchführung:

Geräte und Hilfsmittel

- Analysenwaage
- Fibertec-Analysengerät System M mit Zubehör (Heißextraktion, Fritten)
- Mikrowelle
- Muffelofen
- Exsikkator
- Tropfpipette

Chemikalien

- Reagenz 1: 0,128 m H₂SO₄
- Reagenz 2: 0,313 m NaOH
- Entschäumer (Octanol)
- Destilliertes Wasser

3.5.3 Bestimmung:

Reagenz 1 wird auf dem Kocher erhitzt, nicht zum Kochen bringen!

Ermitteln Sie das Nettogewicht der Fritten. Anschließend wird 1 g der lufttrockenen, gemahlene Futterprobe auf 0,001g genau in die Fritten eingewogen. (**Einwaage = W₁-Wert für die Berechnung**)

3.5.3.1 1. Analysendurchgang

Die Fritten werden mit der Halterung in das Gerät eingesetzt. Alle Hebel müssen auf „CLOSED“ gestellt sein. Anschließend werden die Kolben bis zum 2. Eichstrich mit heißer 0,128 m H₂SO₄ (Reagenz 1) aufgefüllt. Jeweils 1-2 Tropfen Entschäumer werden in die Kolben gegeben. Das Gerät wird eingeschaltet und die Kühlung aufgedreht („MAINS“ einschalten). Die Heizung wird zunächst voll aufgedreht, wenn das Substrat aufbrodelt auf 2,5 heruntergestellt. Anschließend wird 30 min gekocht.

In der Zwischenzeit wird NaOH auf dem Kocher erhitzt, jedoch nicht zum Kochen bringen!

Nach Beendigung der Kochzeit werden die Heizung abgedreht und alle Hebel auf "VAKUUM" gestellt. Die Wasser-Vakuum-Pumpe wird aufgedreht. Wenn ein Kolben leergesaugt ist, wird der jeweilige Hebel auf „CLOSED“ gestellt. Zwischendurch muss mittels Spraypumpe 3 x mit heißem destillierten Wasser gespült werden, bis keine Futterreste mehr an der Glaswand der Kolben sichtbar sind.

3.5.3.2 2. Analysendurchgang

Alle Hebel werden auf „CLOSED“ gestellt. Danach werden die Kolben bis zum 2. Eichstrich mit heißer 0,313 m NaOH aufgefüllt und wiederum je 1-2 Tropfen Entschäumer zugegeben. Die Heizung wird bis zum Aufbrodeln des Substrats voll aufgedreht; danach auf 2,5 gestellt und 30 min gekocht. Anschließend wird die Heizung abgedreht und abgesaugt, dabei 3 x mit heißem destillierten Wasser gespült.

3.5.3.3 Entfetten

Wenn alle Fritten abgesaugt sind, wird das Substrat mit Acetonspritzern gewaschen. Die Vakuumpumpe wird abgestellt und die Fritten werden zum Trocknen entnommen.

3.5.3.4 Trocknen

In Trockenschrank werden die Fritten bei 130 °C 2 Stunden getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und anschließend zurückgewogen. (**W₂-Wert für die Berechnung**)
Alternativ kann die Trocknung in der Mikrowelle (50 min bei Heizstufe 5) erfolgen.

3.5.3.5 Veraschen

Anschließend erfolgt eine Veraschung im Muffelofen über 3 Stunden bei 525 °C. Nach dem Abkühlen im Exsikkator werden die Fritten gewogen.
(**W₃-Wert für die Berechnung**)

Es werden 3 Parallelbestimmungen durchgeführt.

3.5.4 Berechnung

$$\text{XF in \% der T} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100 \times 100}{W_1 \times T}$$

T Trockensubstanzgehalt der Probe in % (analytische Trockensubstanz)

W₁ Einwaage in g (Netto = Probeneinwaage ohne Leergewicht der Fritte + Cellite)

W₂ getrocknete Probe in g (Brutto = Fritte + Cellite + Rückstand nach Probenaufschluss)

W₃ veraschte Probe in g (Brutto = Fritte + Cellite + Rückstand aus Veraschung)

3.5.5 Fehlergrenzen

maximale Abweichungen zwischen den Einzelwerten:

0,3 % absolut bei einem XF-Gehalt von weniger als 10 %

3 % relativ vom Wert des höheren Ergebnisses bei einem XF-Gehalt von 10 % und mehr

3.6 Bestimmung der Sauren Detergentien - Faser (ADF)

3.6.1 Prinzip

Die Proben werden in einer schwefelsauren Cetyltrimethylammonium-Bromid-Lösung erhitzt. Die unlöslichen Bestandteile, die hauptsächlich in den Caps zurückbleiben, werden als Saure Detergentien-Faser (ADF) bezeichnet. Sie enthalten im Wesentlichen Cellulose und Lignin.

3.6.2 Geräte und Zubehör

- FiberCap mit Caps
- 100 ml H₂SO₄ (1 N), rein mit 2 g Cetyltrimethylammonium-Bromid, rein
- Aceton, Entschäumer (Octanol), destilliertes Wasser
- Schwefelsaure CTAB Lösung (ausreichend für 50 Bestimmungen):
⇒ 100 g Cetyltrimethylammonium-Bromid in 5 l Schwefelsäure (0,5 mol/l) mittels mechanischem Quirl auflösen und bei Bedarf filtrieren

3.6.3 Verfahren

- Nettogewicht der Caps mit Deckel ermitteln (W₃)
- ca. 0,5 g lufttrockenes Probenmaterial mit 1 mm Teilchengröße auf 0,001g genau in die Caps einwiegen (W₁)
- ADF-Lösung bis zum Eichstrich des FiberCap-Gefäßes einfüllen, einige Tropfen Entschäumer zugeben
- Träger mit den Probencaps in das Glasgefäß des FiberCap einsetzen
- Lösung und Probe schnell zum Sieden bringen und eine Stunde sachte kochen
- Träger mit den Probenhülsen zwei mal in heißem destillierten Wasser 30 sec schnell waschen
- Trocknen der Caps mit Inhalt im Ständer in einem Trockenschrank vier Stunden bei 103°C, im Exsikkator abkühlen und anschließend wiegen (W₂)

3.6.4 Berechnung der Ergebnisse

Die Saure Detergentien-Faser wird in % der T angegeben:

$$\text{ADF in \% der T} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100 \times 100}{W_1 \times T}$$

W₁ = Gewicht der Probe (Einwaage) in g

W₂ = Gewicht des getrockneten Rückstandes einschließlich Cap in g

W₃ = Gewicht der leeren Caps mit Deckel in g

T – Trockensubstanzgehalt der Probe in % (analytische Trockensubstanz)

Es werden 3 Parallelbestimmungen durchgeführt.

3.6.5 Fehlergrenzen

maximale Abweichungen zwischen den Einzelwerten:

0,3 % absolut bei einem ADF-Gehalt von weniger als 10 %

3 % relativ vom Wert des höheren Ergebnisses bei einem ADF-Gehalt von 10 % und mehr

3.7 Bestimmung der Neutralen Detergentien - Faser (NDF)

3.7.1 Prinzip

Das lösliche Material der Zellen wird durch Sieden mit einer neutralen Lösung (mit Natrium-Lauryl-Sulfat) extrahiert. Die Summe der Gerüstsubstanzen wird durch Filtrierung separiert. Sie besteht aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin.

3.7.2 Chemikalien

- 100 ml Neutrale Detergent-Lösung
- Natrium-Sulfit, wasserfrei (Na_2SO_3)
- Thermostabile Amylase (z.B. Termamyl)
- Destilliertes Wasser
- Entschäumer (Octanol)

3.7.3 Geräte

- Analysenwaage
- FiberCap mit Caps
- Trockenschrank, Exsikkator

3.7.4 Verfahren

- Nettogewicht der Caps mit Deckel ermitteln (W_3)
- ca. 0,5 g lufttrockenes Probenmaterial mit 1 mm Teilchengröße auf 0,001g genau in die Fritte einwiegen (W_1)
- NDF-Lösung bis zum Eichstrich einfüllen, einige Tropfen Entschäumer und thermostabile Amylase zugeben
- Träger mit den Probencaps in den FiberCap einsetzen
- Lösung und Probe schnell zum Sieden bringen und eine Stunde sachte kochen
- Träger mit den Probencaps zwei mal in heißem destillierten Wasser 30 sec schnell waschen
- Trocknen der Caps mit Inhalt in einem Trockenschrank vier Stunden bei 103°C, im Exsikkator abkühlen und anschließend wiegen (W_2)

3.7.5 Berechnung der Ergebnisse

Die Neutrale Detergentien-Faser wird in % der T angegeben:

$$\text{NDF in \% der T} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100 \times 100}{W_1 \times T}$$

W_1 = Gewicht der Probe (Einwaage) in g

W_2 = Gewicht des getrockneten Rückstandes einschließlich Cap in g

W_3 = Gewicht der leeren Cap mit Deckel in g

T – Trockensubstanzgehalt der Probe in % (analytische Trockensubstanz)

Es werden 3 Parallelbestimmungen durchgeführt.

Anteil der löslichen Zellbestandteile in % der T = 100 - NDF

3.7.6 Fehlergrenzen

maximale Abweichungen zwischen den Einzelwerten:

0,3 % absolut bei einem NDF-Gehalt von weniger als 10 %

3 % relativ vom Wert des höheren Ergebnisses bei einem NDF-Gehalt von 10 % und mehr

3.8 Bestimmung des Rohfetts (XL)

3.8.1 Prinzip der Methode

Bei der homogenisierten Probe wird in der Soxhlet-Apparatur extrahiert. Der getrocknete Extraktionsrückstand wird ausgewogen.

Bei fettreichen Proben wird zunächst das Fett in der Hydrolyseeinheit nach Salzsäureaufschluss durch Filtration abgetrennt. Der Filtrerrückstand wird mit heißem Wasser neutral gewaschen, getrocknet und anschließend extrahiert. (Variante 2)

3.8.2 Durchführung

Geräte und Hilfsmittel

- Analysenwaage
- Aufschlussgläser, Hülsenständer, Extraktionsfritten (nur Variante 2)
- Aufschlussanlage Hydrolisiergerät 1047 (nur Variante 2)
- Mikrowellenofen (nur Variante 2)
- Extraktionsgerät Avanti 2050
- Extraktionshülsen oder -fritten und -becher, Siedesteinchen
- Hülsenträger oder Frittenständer
- Trockenschrank

Chemikalien

- Salzsäure: (HCl) = 4 mol/l (nur Variante 2)
- Cellite (nur Variante 2)
- Destilliertes Wasser
- Fettfreie Watte
- Petrolether

3.8.3 Bestimmung

Variante 1 ohne Hydrolyse

Extraktion im Soxtherm

- Die Proben mit einer Genauigkeit von 1g auf 0,0001 g genau in Extraktionshülsen einwiegen, etwas fettfreie Watte auf die Probe geben.
- Die Hülsen mit den Proben mittels Hülsenträger an den Magneten der Probenpositionierstifte befestigen.
- 6 mit Siedesteinchen tarierte, beschriftete Extraktionstiegel mit dem Tiegelhalter in das Extraktionsgerät einsetzen. Die Taste \downarrow drücken, um die Tiegel mit den Kühlern zusammenzuführen. Mit dem Spender an den Anschlüssen oben auf dem Extraktionsgerät werden die Tiegel mit 80 ml Lösungsmittel (Petrolether) befüllt. Die Befüllung hat über 2 Hübe, d.h. je 40 ml Petrolether zu erfolgen.
- Das Programm am Steuergerät starten, dazu die Taste \odot drücken. Das Gerät senkt und befestigt automatisch die Kühler und Tiegel der Heizplatte, startet den Ablauf des Programms und führt alle Schritte für Sieden, Spülen und Rückgewinnung durch. Schließlich hebt das Gerät die Tiegel von der Heizplatte ab, um zu verhindern, dass der Fettrückstand durch die Hitze zerstört wird. Die Heizplatte und das Kühlwasser werden abgestellt, wenn die eingestellte Zeit für die Trockenphase abgelaufen ist.
- Nach Programmende stoppt das Gerät. Um die Tiegel zu lösen, Taste \uparrow drücken und warten, bis der Extraktionsapparat in Position "Tiegel einset-

zen/herausnehmen" geht. Die Tiegel mit dem Tiegelhalter herausnehmen. Hülsen von den Magneten abnehmen.

Wenn die nächste Extraktion sofort erfolgen soll, den nächsten Satz Hülsen und Tiegel einsetzen und die Taste ⌚ drücken.

Variante 2 mit Hydrolyse für fettreiche Futtermittel

3.8.3.1 Hydrolyse

Die Proben mit einer Genauigkeit von 1g auf 0,0001 g genau wägen und in die Aufschlussgläser übertragen. 1-2 g Cellite (1 Teelöffel) und 100 ml Salzsäurelösung in jedes Aufschlussglas füllen. Das Aufschlussglas in das Hydrolisiergerät 1047 einsetzen. Die Saugrohre in die Rauchabzugsstellung bringen, indem der Handgriff nach oben gezogen wird. Der Teflonteil muss oben auf dem Aufschlussglas ruhen, die Saugrohre müssen etwa 1 cm tief in die Aufschlussgläser reichen.

Die Extraktionsfritten in die gläsernen Hülsenständer einsetzen und diese in das Hydrolysiergerät setzen. Die Kühldeckel aufsetzen, auf dichten Schluss mit den Frittenständern achten.

Die Wasserstrahlpumpe für das Rauchabzugssystem halb aufdrehen. Alle Vakuumventile unter den Extraktionsfritten öffnen.

Heizkörper auf Höchstleistung stellen und Hitzeschild vor den Aufschlussgläsern anbringen. Wenn die Lösung zu kochen beginnt, ist ein schwaches Kochen mit dem Heizregler einzustellen (Pfeil) und 60 min aufzuschließen.

Nach Ablauf der Hydrolyse den Heizkörper abstellen und das Hitzeschild entfernen. Den Kaltwasserhahn für den Kühler öffnen. Handgriff des Saugrohres in Stellung 1 herabziehen. Säurelösung in jedem Aufschlussglas mit etwa 100 ml destilliertem Wasser (20 bis 25°C) verdünnen. Das Vakuumventil unter jeder Extraktionsfritte schließen. Saugrohre in die Stellung 2 absenken.

Vakuumventil unter einer Extraktionsfritte öffnen und die Probenlösung sowie möglichst viel der festen Ablagerungen in der Lösung aufsaugen. Durch Einspritzen von 3x50 ml ca. 50°C warmem destilliertem Wasser mit der Sprühpipette die Aufschlussgläser auswaschen. Ventil schließen und auf die gleiche Weise mit dem Rest der Aufschlussgläser verfahren.

3.8.3.2 Trocknung

Die Fritten in Frittenständer stellen. Einen kleinen Wattebausch auf den Probenrückstand in den Glasfiltern legen. Im Mikrowellenofen bei mittlerer Leistung (Stufe 5) 40 Minuten trocknen.

3.8.3.3 Extraktion im Soxtherm

Die getrockneten Fritten mit den hydrolysierten Proben mittels Frittenträger an den Magneten der Probenpositionierstifte befestigen.

Alle weiteren Schritte wie bei Variante 1.

3.8.4 Trocknen und Wiegen

Nach Ablauf des Programms werden die Extraktionsbecher entnommen und im Trockenschrank 1 Stunde bei 60°C getrocknet, anschließend im Exsikkator auf Raumtemperatur abgekühlt und auf 0,0001g genau ausgewogen.

Es werden 3 Parallelbestimmungen durchgeführt.

3.8.5 Auswertung

Der prozentuale Rohfettgehalt wird wie folgt berechnet:

$$\text{XL in \% der T} = \frac{(m_2 - m_1) \times 100 \times 100}{E \times T}$$

- m_1 - Masse des leeren getrockneten Extraktionsbechers in g
- m_2 - Masse des Extraktionsbechers mit Fett in g
- E - Probeneinwaage in g
- T - Trockensubstanzgehalt der Probe in % (analytische Trockensubstanz)

3.8.6 Fehlergrenzen:

max. Abweichungen zwischen den Parallelen:

- < 5 % XL \Rightarrow 0,2 % absolut
- 5 - 10 % XL \Rightarrow 4,0 % relativ vom Wert des höheren Resultats
- > 10 % XL \Rightarrow 0,4 % absolut

3.9 Bestimmung des Rohproteins (XP) nach Kjeldahl

3.9.1 Prinzip der Methode

Die Probe wird mit konzentrierter Schwefelsäure unter Zusatz eines Katalysatorgemisches oxidativ aufgeschlossen. Das bei hohen Temperaturen entstehende Schwefeltrioxid lagert sich an die NH-Gruppe der Peptidbindung des Proteins unter Bildung der Amidosulfonsäure an. Die Amidosulfonsäure ist gegenüber weiterer Oxidation beständig und geht durch Zersetzen in Ammoniumsulfat über. Aus dem entstandenen Ammoniumsulfat wird das nach Alkalizusatz freigesetzte Ammoniak mit Hilfe einer Wasserdampfdestillation in eine Schwefelsäure-Vorlage übergetrieben und mit NaOH-Maßlösung titrimetrisch bestimmt.

3.9.2 Durchführung

Geräte und Hilfsmittel

- Analysenwaage
- Aufschlussanlage Block Digestors
- Scrubber
- Kjeldahlkolben
- Auto Distillation Unit
- Erlenmeyerkolben
- Bürette
- Bechergläser

Chemikalien

- Schwefelsäure: 98 %ig, zur Stickstoffbestimmung (konz.)
- KJELTABS als Katalysatoremischung
- Entschäumer
- Natronlauge: 32 %ig, zur Stickstoffbestimmung
- Natronlauge 0,1 n
- Schwefelsäure $H_2SO_4 = 0,1\ n$
- Mischindikatorlösung

3.9.3 Bestimmung

3.9.3.1 Aufschluss

Es werden 1 g Probenmaterial des lufttrockenen, fein gemahlene Futtermittels auf 0,001 g genau eingewogen und verlustfrei in Kjeldahlkolben überführt. (Proteinreiche Futtermittel: 0,5 g einwiegen, in der Berechnung berücksichtigen!)

Dann gibt man 2 KJELTABS und Entschäumer sowie 15-20 ml konz. Schwefelsäure hinzu. Der Kolbeneinsatz wird nun in die Aufschlussapparatur eingesetzt und mittels Lift in den Abzugsaufsatz gefahren. Der Lift wird auf 60 min Aufschlusszeit eingestellt. Per START-Druck setzt der Lift den Kolbeneinsatz in den auf 420° C vorgeheizten Heizungsblock.

Die Lösungen werden bis zum Klarwerden aufgeschlossen. Der Lift hebt den Kolbeneinsatz automatisch nach der vorgegebenen Zeit aus dem Aufschlussblock.

Anschließend erfolgt eine Abkühlung auf ca. 40 °C.

3.9.3.2 Destillation mit der 2200 Kjeltec Auto Distillation Unit

In einen Erlenmeyerkolben werden 50 ml 0,1 n H₂SO₄ und 1-3 Tropfen Mischindikatorlösung vorgelegt und unter das Destillationsrohr gestellt. Der Kolben mit dem Aufschlussgemisch wird mittels Klemmvorrichtung in das Gerät eingespannt. Nach Schließen der Schutzvorrichtung werden programmgemäß 80 ml destilliertes Wasser und 50 ml NaOH in den Aufschlusskolben gegeben. Die Dauer des Destilliervorgangs ist im Programm eingestellt (5 min).

Bevor die Destillation der nächsten Probe folgt, muss der Destilliervorstoß abgespült werden. Dabei steht das Aufschlussglas auf der Ablage im Gerät.

3.9.3.3 Titration

Die jeweilige Probe im Erlenmeyerkolben wird mit 0,1 n Natronlauge zurück titriert, bis ein Farbumschlag von violett über farblos bis grün erfolgt (die benötigte Menge in ml ist der **W₁ - Wert für die Berechnung**).

Es werden 3 Parallelbestimmungen durchgeführt.

3.9.4 Berechnung der Ergebnisse:

1. Die Menge der verbrauchten Schwefelsäure wird ermittelt.
2. 1 ml Schwefelsäure 0, 1 N entspricht 1,4 mg Stickstoff
3. Die Stickstoffmenge wird mit dem Faktor 6,25 multipliziert.
4. Das Ergebnis wird in Prozenten der Probe ausgedrückt.

Der prozentuale Rohproteingehalt wird wie folgt berechnet:

$$\begin{array}{l} \text{1. Schritt: Vorlage:} \qquad \qquad \qquad 50,0 \text{ ml } 0,1 \text{ n H}_2\text{SO}_4 \\ \qquad \qquad \qquad \text{- Titrationsergebnis} \qquad \qquad \qquad \text{- } W_1 \text{ ml } 0,1 \text{ n NaOH} \\ \qquad \qquad \qquad = \text{Menge der verbrauchten Schwefelsäure } W_2 \text{ ml } 0,1 \text{ n H}_2\text{SO}_4 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \text{2. Schritt: } 1 \text{ ml } 0,1 \text{ n H}_2\text{SO}_4 = 1,4 \text{ mg N} \\ \qquad \qquad \qquad \text{d.h. } W_2 \times 1,4 \text{ mg N} \qquad \qquad \qquad = \text{Gesamt N der Futtermiteleinwaage} \end{array}$$

$$\text{3. Schritt: Gesamt N der Futtermiteleinwaage} \times 6,25 = \text{XP in mg}$$

4. Schritt

$$\text{XP in \% der T} = \frac{\text{XP in mg} \times 100 \times 100}{\text{E} \times \text{T}}$$

E - Probeneinwaage in mg

T - Trockensubstanzgehalt der Probe in % (analytische Trockensubstanz)

3.9.5 Fehlergrenzen:

Max. Abweichungen:

XP bis 20 % = 0,2% (absolut)

XP über 20 % = 1,0 % (relativ)

XP > 40 % = 0,4 % (absolut)

3.10 Berechnung der Stickstofffreien Extraktstoffe (XX, NfE)

Umfasst: Stärke, Zucker, lösliche Faseranteile, Zucker aller Art:

Stärke

Glykogen

Inulin

Hemicellulose

Pektine

u.a.

(auch die löslichen Anteile von Cellulose, Pentosanen, Lignin)

Rechenwert nach folgender Formel auf der Grundlage der Weender-Analyse:

$$XX = T - (XA + XP + XL + XF)$$

T Trockenmasse in % (**nicht** analytische T) sondern = 100 %

XA Rohasche in % der T

XP Rohprotein in % der T

XL Rohfett in % der T

XF Rohfaser in % der T

3.11 Nicht-Faser-Kohlenhydrate (NFC)

Diese Fraktion enthält die schnell fermentierbaren Kohlenhydrate Zucker und Stärke sowie die ebenfalls schnell abbaubaren Pektine (z.B. aus Rüben- oder Citrusprodukten)

Rechenwert nach folgender Formel auf der Grundlage der Weender-Analyse sowie der Bestimmung von NDF:

$$NFC = T - (XA + XP + XL + NDF)$$

T Trockenmasse in % (**nicht** analytische T) sondern = 100 %

XA Rohasche in %

XP Rohprotein in %

XL Rohfett in %

NDF Neutrale Detergentien -Faser in %

3.12 Literaturnachweis

KIRCHGEßNER, M. (2008): Tierernährung, Frankfurt/Main, DLG-Verlag

LENGERKEN, JÜRGEN VON und KLAUS ZIMMERMANN (1991): Handbuch Futtermittelprüfung, Berlin, Dt. Landwirtschaftsverl.

SÜLFLOHN, KURT (2003): Grüne Broschüre 2002: Das geltende Futtermittelrecht Stand November mit Typenliste für Einzel- und Mischfuttermittel, Rheinbach, AS Agrar Service

SÜLFLOHN, KURT (2004): Das geltende Futtermittelrecht 2004 (Stand Dezember 2003), Rheinbach, Allround Media Service e.K.

UFA AG (2003, 06.07.2010): Rohfaser genügt nicht,

http://www.ufa.ch/Tiere/Milchvieh/Milchgehalte/Raufutterbewertung_s.asp