

**Schätzung der Verdaulichkeit des Proteins von Futtermitteln für Wiederkäuer mittels dreistufiger in situ-in vitro oder in vitro-Verfahren**

Übergeordnetes Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung und Etablierung einer vollständig laborbasierten in vitro-Methode zur Schätzung der (Dünn-) Darmverdaulichkeit (intestinal protein digestibility, IPD) des im Pansen unabgebauten Futterproteins (ruminally undegraded protein, RUP). Im ersten Versuch wurden 66 Futtermittel genutzt, um IPD-Werte sowohl mit einer dreistufigen, kombinierten in situ-in vitro-Methode als auch einer sogenannten „mobile-bag“-Technik (MBT; Inkubation im Pansen mit anschließender Passage der Residuen in kleinen Kunststoffbeuteln durch den (Dünn-Darm) zu ermitteln. Beide Methoden erfordern den Einsatz fistulierter Tiere. Die Futtermittel umfassten eine weite Spanne verschiedener Futtermitteltypen: Grobfutter mit sehr unterschiedlichen Rohprotein-(RP)-Gehalten, unbehandelte und pansenstabile Proteinfuttermittel sowie Getreidesamen als Vertreter energiereicher Futtermittel mit niedrigen bis mittleren RP-Gehalten. Die Futtermittel wurden zunächst für 16 Stunden (h) im Pansen fistulierter Rinder inkubiert. Die Residuen aus diesem Schritt wurden in einer Pepsin-HCl-Lösung (pH 1,9) für 1 h inkubiert und die Residuen danach für 24 h einer Inkubation in einer Pankreatin-Lösung unterzogen. Die Beziehung zwischen den beiden Methoden ließ sich mit einer linearen Regressionsgleichung mäßiger Güte beschreiben:  $IPD_{MBT} = 1,113 IPD_{ISIVP} - 125,37$  ( $n = 53$ ,  $r^2 = 0,36$ ,  $p < 0,0001$ ). Nachdem diejenigen Futtermittel ( $n = 14$ ) ausgeschlossen wurden, deren Werte um mehr als 15 Prozenteinheiten zwischen den beiden Methoden differierten, wurde die Regressionsanalyse wiederholt und ergab die folgende Beziehung:  $IPD_{MBT} = 1,062 IPD_{ISIVP} - 43,66$  ( $n = 39$ ,  $r^2 = 0,661$ ;  $p < 0,0001$ ). Die ISIVP konnte erfolgreich genutzt werden, um die IPD-Werte von Grob- und Konzentratfutter unterschiedlichster Herkunft und mit stark variierenden RP-Gehalten zu schätzen. Im zweiten Versuch wurden 49 der zuvor untersuchten Futtermittel benutzt, um eine enzymatische, vollständig laborbasierte in vitro-Methode (enzymatic in vitro procedure, EIVP) zu entwickeln und zu etablieren. Die Vorgehensweise bestand in der Verdauung der Proben mit einer pilzlichen (*Streptomyces griseus*) Protease und nachfolgender Pepsin-Pankreatin-Verdauung mit nachfolgender Schätzung der IPD-Werte des RUP. Die Konzentration der verwendeten *S. griseus*-Protease wurde auf den Gehalt an Reinprotein (true protein, TP) des Futtermittels standardisiert. Die Durchführung der Methode begann mit der Bestimmung des TP-Gehaltes. Die Inkubation der Futtermittel beinhaltete als ersten Schritt eine 18-stündige Verdauung in einer Pufferlösung, die ein Protease:TP-Verhältnis von 41 Einheiten/g TP aufwies. Die getrockneten Residuen dieses Schrittes wurden 1 h in einer Pepsin-HCl-Lösung inkubiert. Die Rückstände wurden anschließend 24 h mit Pankreatin verdaut. Die Beziehung der IPD-Werte der EIVP-Methode zu den mittels ISIVP oder MBT ermittelten Werten ließ sich mit linearen Regressionsgleichungen beschreiben:  $IPD_{MBT} = 1,221 IPD_{EIVP} - 165,95$  ( $n = 38$ ,  $r^2 = 0,666$ ,  $p < 0,0001$ ) and  $IPD_{ISIVP} = 1,053 IPD_{EIVP} - 28,14$  ( $n = 49$ ,  $r^2 = 0,985$ ,  $p < 0,0001$ ). Die Ergebnisse der rein enzymatischen EIVP-Methode spiegelten diejenigen der ISIVP-Methode sehr gut wider. Die im Rahmen dieser Arbeit an Futtermitteln heterogener Herkunft und Zusammensetzung entwickelte und etablierte, vollständig laborbasierte in vitro-Methode erscheint deshalb geeignet, die kombinierte in situ-in vitro-Methode (ISIVP) zur Schätzung der Dünndarmverdaulichkeit von RUP zu ersetzen.