

**Bestimmung der Gehalte an Gesamt-Phosphor,
Phytat-Phosphor sowie der nativen Phytaseaktivität
in sortenreinen Körnerleguminosen unter
besonderer Berücksichtigung des Einflusses
verschiedener Konservierungsverfahren auf die
nativen Phytaseaktivitäten**

Prof. Dr. Rainer Mosenthin und Dipl.-Ing. sc. agr. Tobias Steiner

Universität Hohenheim, Institut für Tierernährung,
Emil-Wolff-Str. 10, D-70599 Stuttgart

Bestimmung der Gehalte an Gesamt-Phosphor, Phytat-Phosphor sowie der nativen Phytaseaktivität in sortenreinen Körnerleguminosen unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses verschiedener Konservierungsverfahren auf die nativen Phytaseaktivitäten

Prof. Dr. Rainer Mosenthin und Dipl.-Ing. sc. agr. Tobias Steiner

Universität Hohenheim, Institut für Tierernährung, Emil-Wolff-Str. 10, D-70599 Stuttgart

Zusammenfassung

Ziel der Studie war die Quantifizierung und Bewertung nativer Phytasen in heimischen Körnerleguminosen für die Hydrolyse von Phytat-Phosphor (P) beim Schwein. In 43 Proben sortenreiner Körnerleguminosen unterschiedlicher Herkunft (Ackerbohnen, Erbsen, Lupinen) wurden die Gehalte an Gesamt-P, Phytat-P sowie die nativen Phytaseaktivitäten ermittelt. Darüber hinaus wurde der Einfluss unterschiedlicher Konservierungsverfahren (Feuchtkonservierung mit Propionsäure sowie Hitzebehandlung) auf die Entwicklung der nativen Phytaseaktivitäten in ausgewählten Körnerleguminosen untersucht. Die Gesamt-P-Gehalte in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen betragen 5,6, 4,1 bzw. 5,7 g/kg TM, wobei 69,5, 57,6 bzw. 61,7 % des P in Form von Phytat-P vorlagen. Die Phytaseaktivitäten betragen 290, 262 bzw. 324 U/kg TM, wenn die Bestimmung nach der so genannten „direkten Methode“ erfolgte. Bei Anwendung der so genannten „Extraktionsmethode“ lagen die ermittelten Werte unterhalb der Nachweisgrenze von 50 U/kg. Sowohl die Konservierung mit Propionsäure über einen Zeitraum von 4, 8 oder 12 Wochen als auch unterschiedliche Hitzebehandlungen (bis 80°C) führten nur zu einer marginalen Abnahme der Phytaseaktivitäten in den untersuchten Körnerleguminosen. Es bleibt festzustellen, dass aufgrund der im Vergleich zu Getreide und Getreidenachprodukten deutlich niedrigeren Phytaseaktivitäten die Freisetzung von phytatgebundenem P durch native Phytasen aus Körnerleguminosen praktisch zu vernachlässigen ist.

Summary

Determination of total and phytate phosphorus contents as well as native phytase activities in defined varieties of legume seeds and investigation of the effects of different preservation procedures on the native phytase activities

Aim of the study was to quantify and evaluate the significance of native phytase activities in local legume seeds for the hydrolysis of phytate phosphorus (P) for pigs. In total, 43 defined varieties of legume seeds of different origin (field beans, peas and lupines) were analyzed for total and phytate P contents and native phytase activities. Furthermore, the influence of different preservation procedures (conservation with propionic acid and heat treatment) on the native phytase activities was investigated. Total P contents in field beans, peas and lupines averaged 5.6, 4.1 and 5.7 g/kg DM, respectively, with 69.5, 57.6 and 61.7 % of P present as phytate P. The so-called "direct method" for the determination of phytase activities resulted in activities of 290, 262 and 324 U/kg DM in field beans, peas and lupines, respectively. When the so-called "extraction method" was used, the analyzed values were below the detection limit of 50 U/kg. The influence of conservation with propionic acid for 4, 8 or 12 weeks as well as the application of different heat treatments (up to 80°C) resulted in a marginal decrease in phytase activities, only. Because of the lower phytase activities as compared to cereals or cereal by-products, the release of phytate-bound P by native phytases from legume seeds is considered to be negligible.

1. Einleitung

Die Verdaulichkeit des Phosphors (P) aus pflanzlichen Futtermitteln für Schweine hängt zum einen vom Anteil des phytatgebundenen P am Gehalt an Gesamt-P und zum anderen von der Aktivität nativer pflanzeneigener Phytasen ab. Vorkommen und Wirksamkeit nativer Phytasen aus Getreide und dessen Verarbeitungsprodukten sind durch zahlreiche Studien (z.B. ZIMMERMANN et al. 2002a, BERK und SCHULZ 1996, HAN et al. 1997) hinreichend belegt. Im Gegensatz dazu ist eine Beurteilung des Beitrags pflanzlicher Phytasen aus Körnerleguminosen an der Phytat-P-Hydrolyse derzeit nicht möglich. Dies ist jedoch eine wesentliche Voraussetzung für den gezielten und ökonomischen Einsatz mikrobieller Phytasezusätze in der Schweinefütterung und die Versorgung der Tiere mit anorganischen P-Quellen. Die

Ergebnisse einer Literaturlauswertung ergaben, dass lückenhafte und zum Teil stark variierende Angaben zum Gehalt an Gesamt- und Phytat-P sowie zur Phytaseaktivität in verschiedenen Körnerleguminosen vorliegen (VIVEROS et al. 2000, OLOFFS et al. 1997, EECKHOUT und DE PAEPE 1994, MOST et al. 1993). Die zusammenfassende Darstellung des Datenmaterials in Tabelle 1 offenbart insbesondere für die Gehalte an Phytat-P und der Phytaseaktivität gravierende Differenzen in den untersuchten Proben.

Tab. 1: Gehalte an Gesamt-P und Phytat-P sowie native Phytaseaktivitäten in Körnerleguminosen
Contents of total P, phytate P and native phytase activities in legume seeds

Leguminosen	n	Gesamt-P ^x (g/kg)	Phytat-P ^x		Phytaseaktivität (U/kg)	Quelle
			(g/kg)	(% Gesamt-P)		
Ackerbohnen	3	3,9	0,8	21	258 ^x	1)
	1	4,9	4,4	90	10 ^{xx}	2)
	1	5,0	2,3	46	81 ^x	3)
Erbsen	6	4,3	2,4	56	86 ^x	1)
	11	3,8	1,7	45	116 ^x	3)
Lupinen	6	3,3	1,6	48	219 ^x	1)
	1	8,3	5,3	63	15 ^{xx}	2)
	1	2,5	0,5	20	0 ^x	3)

¹⁾ VIVEROS et al. 2000

²⁾ OLOFFS et al. 1997

³⁾ EECKHOUT und DE PAEPE 1994, Ackerbohnen erhitzt

^x Angaben bezogen auf Trockenmasse.

^{xx} Angaben bezogen auf Originalsubstanz.

Als mögliche Ursachen sind Sorten- und Herkunftsunterschiede sowie der mögliche Einfluss einer unterschiedlichen Futtermittelverarbeitung und -bearbeitung (z.B. Hitzebehandlung) anzunehmen. Darüber hinaus wird für stark variierende Phytat-P-Gehalte und Phytaseaktivitäten auch die Anwendung unterschiedlicher Analysemethoden als mögliche Ursache diskutiert.

Ziel dieser Studie war

1. die Erstellung einer Datenbasis für die Gehalte an Gesamt-P, Phytat-P und für native Phytaseaktivitäten in sortenreinen, heimischen Körnerleguminosen unterschiedlicher Herkunft (Ackerbohnen, Erbsen, Lupinen),
2. die Untersuchung des Einflusses einer Konservierung mit Propionsäure auf die nativen Phytaseaktivitäten in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen, sowie
3. die Prüfung des Effektes unterschiedlicher Hitzebehandlungen auf die nativen Phytaseaktivitäten in Erbsen.

2. Material und Methoden

2.1. Experiment 1: Gesamt-P, Phytat-P und native Phytaseaktivitäten in Körnerleguminosen

Das Untersuchungsmaterial umfasste unbehandelte, sortenreine Ackerbohnen ($n = 11$), Erbsen ($n = 18$) und Lupinen ($n = 14$), die von verschiedenen Saatzuchtorganisationen bezogen wurden. Vor der chemischen Analyse wurden die Proben mit einer Hammermühle auf eine Partikelgröße von 1 cm vermahlen. Die Bestimmung der Gesamt-P-Gehalte erfolgte nach der Vanadat-Molybdat-Methode (NAUMANN und BASSLER 1976); die Phytat-P-Gehalte wurden mittels Anionen-Austausch-Chromatographie (HARLAND und OBERLEAS 1986) ermittelt. Die native Phytaseaktivität wurde sowohl unter Anwendung der „Extraktionsmethode“ nach VDLUFA-Verbandsvorschrift (NAUMANN und BASSLER 1976) als auch mit der „direkten Methode“ nach GREINER und EGLI (2003), jeweils mit geringfügigen Modifikationen, ermittelt. Mit der letzteren Methode werden neben den löslichen auch zellwandassoziierte, nicht extrahierbare Phytasen erfasst.

2.2. Experiment 2: Einfluss einer Konservierung mit Propionsäure auf die nativen Phytaseaktivitäten in Körnerleguminosen

Auf Basis der ermittelten Phytaseaktivitäten im Exp. 1 wurde aus den Ackerbohnen (cv. Music), Erbsen (cv. Lido) und Lupinen (cv. Borsaja) jeweils eine Sorte mit relativ hohen Aktivitäten selektiert, um den Einfluss von Propionsäure in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer auf die native Phytaseaktivität zu untersuchen.

Da das Probenmaterial einen TM-Gehalt von im Mittel $89,5 \% \pm 1,3$ aufwies, wurden von jeder Körnerleguminose jeweils 20 kg im ungemahlten Zustand für ca. 45 min mit *aqua bidest.* versetzt, um einen für die Konservierung geeigneten Feuchtegehalt von 15 bis 17 % einzustellen. Ein handelsübliches Propionsäurepräparat (Luprosil[®], BASF AG, D-67056 Ludwigshafen) wurde mit einer Sprühflasche gemäß Herstellerempfehlung (0,6 %) auf dem Probenmaterial verteilt. Nach gründlicher Durchmischung erfolgte für jede Körnerleguminose die Entnahme von drei Proben mit jeweils 350 g, die in Plastikschaalen bei Zimmertemperatur gelagert wurden. Nach 4, 8 und 12 Wochen wurde aus jeder Schale 100 g Probenmaterial entnommen und mit *aqua bidest.* gespült, um die verbliebene Propionsäure von den Körnern zu entfernen. Im Anschluss daran wurde das Material gefriergetrocknet und gemahlen, um anschließend die Phytaseaktivität mittels der „direkten Methode“ nach GREINER und EGLI (2003) zu bestimmen.

2.3. Experiment 3: Einfluss unterschiedlicher Hitzebehandlungen auf die nativen Phytaseaktivitäten in Erbsen

Im Exp. 3 wurde der Einfluss unterschiedlicher Hitzebehandlungen auf die nativen Phytaseaktivitäten von Erbsen (cv. Lido) untersucht. Die Probenvorbereitung sah vor, ca. 10 kg ungemahlten Probenmaterials für ca. 45 min mit *aqua bidest.* zu versetzen, um einen Feuchtegehalt von 15 bis 17 % einzustellen. Von diesem Material wurde für die Hitzebehandlung im Umluft-Trockenschrank jeweils 1 kg entnommen. Die Behandlungsvarianten sahen wie folgt aus:

- Variante 1: 3h bei 50°C,
- Variante 2: 3h bei 80°C,
- Variante 3: 6h bei 80°C.

Im Anschluss an die jeweilige Hitzebehandlung wurden die Erbsen gemahlen und gefriergetrocknet, um anschließend die Phytaseaktivität mittels der „direkten Methode“ nach GREINER und EGLI (2003) zu bestimmen.

2.4 Statistik

Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte mit dem Programm SAS (1999). Signifikante Unterschiede zwischen den Mittelwerten bzw. den Behandlungen wurden mit Hilfe des *t*-Tests ermittelt.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Gesamt-P, Phytat-P und native Phytaseaktivitäten in Körnerleguminosen

Im Gegensatz zur vorhandenen Literatur (Tabelle 1) konnte in den eigenen Untersuchungen eine deutlich geringere Streuung für die Gehalte an Gesamt-P, Phytat-P sowie für die nativen Phytaseaktivitäten in allen untersuchten Körnerleguminosen festgestellt werden (Tabelle 2).

Tab. 2: Analysierte Gehalte an Trockenmasse, Gesamt-P und Phytat-P sowie native Phytaseaktivitäten in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen (Mittelwerte \pm Standardabweichung, bezogen auf TM)

Analyzed contents of dry matter, total P, phytate P and native phytase activities in field beans, peas and lupines (means \pm standard deviations, expressed in % or kg DM)

Leguminosen	n	TM (%)	Gesamt-P (g/kg)	Phytat-P		Phytaseaktivität (U/kg) ¹	
				(g/kg)	(% Ges.-P)	Extraktions- methode	direkte Methode
Ackerbohnen	11	89,9 \pm 1,0	5,6 \pm 0,9 ^a	3,9 \pm 0,8 ^a	69,5 \pm 5,2 ^a	< 50	290 \pm 78
Erbsen	18	88,7 \pm 1,4	4,1 \pm 0,5 ^b	2,4 \pm 0,4 ^b	57,6 \pm 5,8 ^b	< 50	262 \pm 73
Lupinen	14	90,2 \pm 1,0	5,7 \pm 1,5 ^a	3,5 \pm 0,9 ^a	61,7 \pm 3,6 ^b	< 50	324 \pm 59

¹ Eine Phytaseeinheit entspricht der Enzymmenge, die 1 μ mol Phosphat pro Minute aus Na-Phytat bei 37°C und pH 5,5 (Extraktionsmethode) bzw. 5,0 (direkte Methode) freisetzt.

^{a, b} Unterschiedliche Kleinbuchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p < 0,001$).

Die Gesamt-P-Gehalte in Ackerbohnen und Lupinen liegen im Mittel mit 5,6 bzw. 5,7 g/kg TM über den Vergleichswerten in Erbsen (4,1 g/kg TM). Die in Ackerbohnen ermittelten Werte sind im Mittel höher als die in Tabelle 1 publizierten Vergleichswerte (3,9 bis 5,0 g/kg TM). Für Erbsen und Lupinen befinden sich die Gesamt-P-Gehalte im Schwankungsbereich der entsprechenden Literaturangaben (3,8 bis 4,3 bzw. 2,5 bis 8,3 g/kg TM).

Während in den eigenen Untersuchungen im Mittel die Phytat-P-Gehalte in Erbsen, Lupinen und Ackerbohnen 2,4, 3,5 bzw. 3,9 g/kg TM betragen, sind in der ausgewerteten Literatur deutlich größere Schwankungsbreiten zu verzeichnen (Tabelle 1). So werden für Ackerbohnen Konzentrationen von 0,8 (VIVEROS et al. 2000) bis 4,4 g/kg TM (OLOFFS et al. 1997) angegeben, während für Lupinen die Angaben zum Phytat-P-Gehalt zwischen 0,5 (EECKHOUT und DE PAEPE 1994) und 5,3 g/kg TM (OLOFFS et al. 1997) schwanken. Dementsprechend variieren auch die Angaben zum Verhältnis von Phytat-P zum Gesamt-P-Gehalt in den einzelnen Körnerleguminosen. Nach Berechnungen von VIVEROS et al. (2000) und OLOFFS et al. (1997) beträgt in Ackerbohnen der Anteil des Phytat-P am Gesamt-P-Gehalt 21 bzw. 90 %. Die Vergleichswerte für Lupinen schwanken zwischen 20 (EECKHOUT und DE PAEPE 1994) und 63 % (OLOFFS et al. 1997). Für Erbsen ergibt sich die geringste Schwankungsbreite mit 45 (EECKHOUT und DE PAEPE 1994) bis 56 % (VIVEROS et al. 2000) Anteil des Phytat-P am Gesamt-P-Gehalt. Demgegenüber lässt sich aus den Ergebnissen der eigenen Untersuchungen für alle Körnerleguminosen ein relativ konstantes Verhältnis von Phytat-P am Gesamt-P-Gehalt ableiten. In den untersuchten Ackerbohnen, Lupinen und Erbsen liegen im Mittel ca. 70, 62 bzw. 58 % des P an Phytinsäure gebunden vor (Tabelle 2). Als Hauptursache für die teilweise extrem niedrigen Phytat-P-Gehalte in den Studien von VIVEROS et al. (2000) sowie EECKHOUT und DE PAEPE (1994) sind methodische Einflüsse zu nennen. Wie SELLE et al. (2003) berichten, ist die von diesen Autoren angewandte Analysenmethode von HAUG und LANTZSCH (1983) für die Bestimmung von Phytat-P-Gehalten in Ackerbohnen und Lupinen nicht geeignet. Es wird darauf hingewiesen, dass in diesen Körnerleguminosen eine starke Bindung von Phytat an Proteinstrukturen besteht, die eine vollständige Extraktion des Phytats erschweren.

Beim Nachweis der nativen Phytaseaktivität mittels der „Extraktionsmethode“ (NAUMANN und BASSLER 1976) liegen die ermittelten Werte für alle Körnerleguminosen unter der analytischen Nachweisgrenze von 50 U/kg. Bei der Anwendung der „direkten Methode“ (GREINER und EGLI 2003) wurden dagegen in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen Enzymaktivitäten von 290, 262 und 324 U/kg TM bestimmt. Einige Untersuchungen (GREINER und EGLI 2003, ZIMMERMANN et al. 2002b) belegen, dass an pflanzliche Zellwandstrukturen gebundene Phytasen mit der herkömmlichen „Extraktionsmethode“ nach ENGELN et al. (1994), die auch vom VDLUFA (NAUMANN und BASSLER 1976) angewendet wird, nur bedingt quantitativ erfasst werden. Die unterschiedliche Ausbeute bei der Anwendung der beiden Methoden unterstreicht die Notwendigkeit, die Bestimmung nativer

Phytaseaktivitäten in pflanzlichem Material methodisch exakt zu definieren, um das publizierte Datenmaterial miteinander vergleichen zu können. Die von EECKHOUT und DE PAEPE (1994) sowie VIVEROS et al. (2000) verwendete „direkte Methode“ zur Bestimmung der Phytaseaktivitäten in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen stellt eine modifizierte Variante der hier eingesetzten „direkten Methode“ dar. Dadurch könnten die teilweise erheblich niedrigeren Aktivitätswerte im Vergleich zu den eigenen Befunden erklärbar sein. So wurde in Lupinen trotz Anwendung der von EECKHOUT und DE PAEPE (1994) benutzten „direkten Methode“ keine Phytaseaktivität nachgewiesen (Tabelle 1). OLOFFS et al. (1997) publizierten für Ackerbohnen und Lupinen äußerst niedrige Werte von 10 bzw. 15 U/kg Originalsubstanz, die in der Regel kaum analytisch nachzuweisen sind und unter die Bestimmungsgrenze von 50 U/kg fallen. Ein Hinweis auf die verwendete Analysenmethode fehlt jedoch. Abschließend ist darauf hinzuweisen, dass die den Literaturwerten zugrunde liegende Datenbasis nicht in allen Fällen repräsentativ ist. So basieren die Literaturangaben in der Tabelle 1 zum Gehalt an Gesamt-P, Phytat-P und zur Phytaseaktivität in Ackerbohnen und Lupinen auf insgesamt nur 5 bzw. 8 untersuchten Proben. Im Gegensatz dazu liegt den Ergebnissen der eigenen Studie ein weitaus größerer Probenumfang ($n = 43$) zugrunde.

In Tabelle A.1 und A.2 des Anhangs sind die Gesamt- und Phytat-P-Gehalte sowie die nativen Phytaseaktivitäten für die unterschiedlichen Sorten dargestellt. Die Gehalte an Gesamt-P schwankten zwischen 3,4 (Erbsen cv. Attika) und 9,6 g/kg TM (Lupine cv. Borsaja), die Phytat-P-Gehalte zwischen 1,6 (Erbsen cv. Attika) und 5,7 g/kg TM (Lupine cv. Borsaja). Gelbe Lupinen (cv. Bernal und Borsaja) wiesen deutlich höhere Gesamt- und Phytat-P-Gehalte auf als weiße und blaue Lupinen. Die Spannbreite in den Phytaseaktivitäten für alle untersuchten Körnerleguminosen lag zwischen 144 (Erbsen cv. Livioletta) und 455 U/kg TM (Ackerbohne cv. Music).

Es ergibt sich eine hohe positive Korrelation zwischen den Gehalten an Phytat- und Gesamt-P für Ackerbohnen ($r = 0,92$; $p < 0,0001$), Erbsen ($r = 0,92$; $p < 0,0001$) und Lupinen ($r = 0,97$; $p < 0,0001$) und damit über alle Körnerleguminosen ($n = 43$, $r = 0,95$; $p < 0,0001$) (Abbildung 1a). Allenfalls schwache Korrelationen sind zwischen der Phytaseaktivität und den Gehalten an Gesamt-P ($r = 0,39$; $p = 0,0099$) oder Phytat-P ($r = 0,36$; $p = 0,0170$) zu verzeichnen (Abbildung 1b). Die entsprechenden Regressionen lassen sich den Abbildungen 1a und b entnehmen. Eine positive Korrelation sowie ein linearer Zusammenhang zwischen den Gehalten an Phytat- und Gesamt-P in Körnerleguminosen konnte auch in den Untersuchungen von VIVEROS et

al. (2000) ($r = 0,79$; $R^2 = 0,62$) und EECKHOUT und DE PAEPE (1994) ($r = 0,89$; $R^2 = 0,79$) nachgewiesen werden. Im Gegensatz zur eigenen Studie ermittelten VIVEROS et al. (2000) darüber hinaus eine negative Korrelation ($r = -0,80$) zwischen Phytaseaktivität und Phytat-P-Gehalt. Diese ist möglicherweise auf die relativ niedrigen Gehalte an Phytat-P zurückzuführen, die die Autoren in den unterschiedlichen Körnerleguminosen ermittelten.

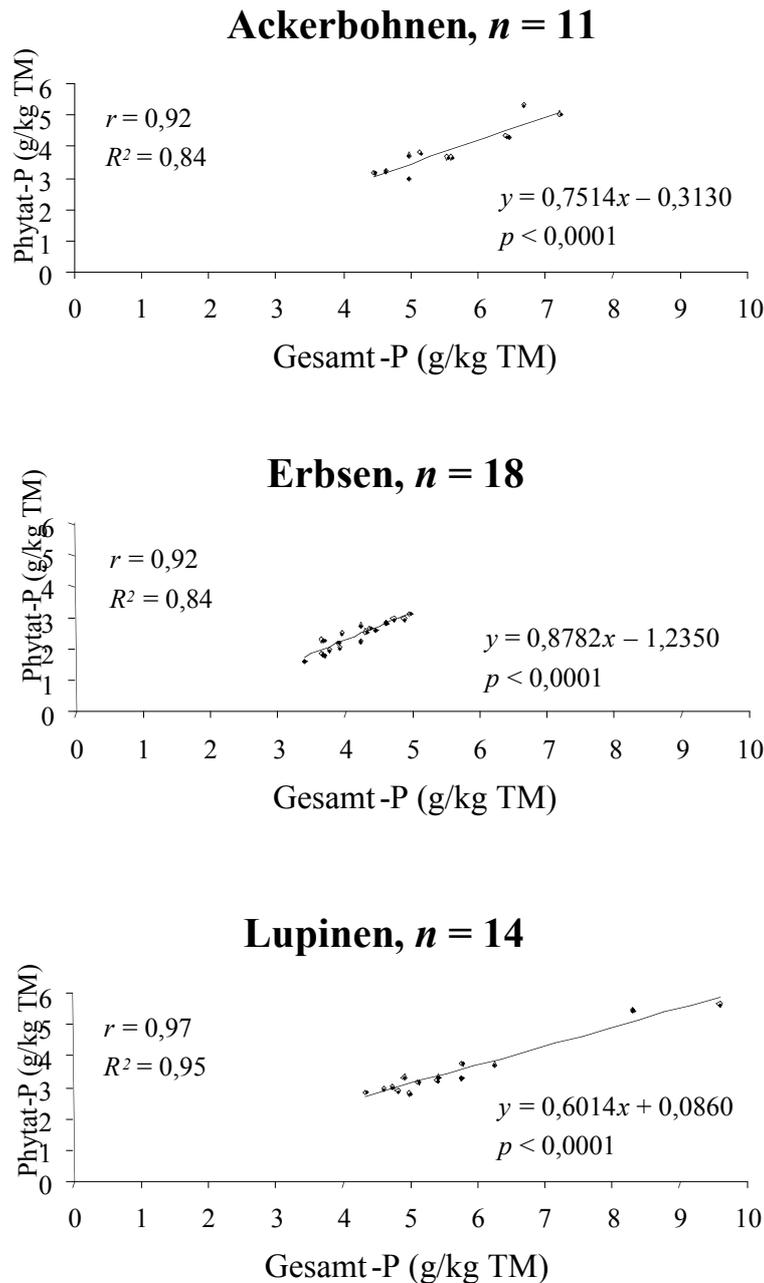


Abb. 1a: Korrelationskoeffizienten und linearer Zusammenhang zwischen Gesamt- und Phytat-P in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen

Correlation coefficients and linear relationships between total P and phytate P in field beans, peas and lupines

Körnerleguminosen, $n = 43$

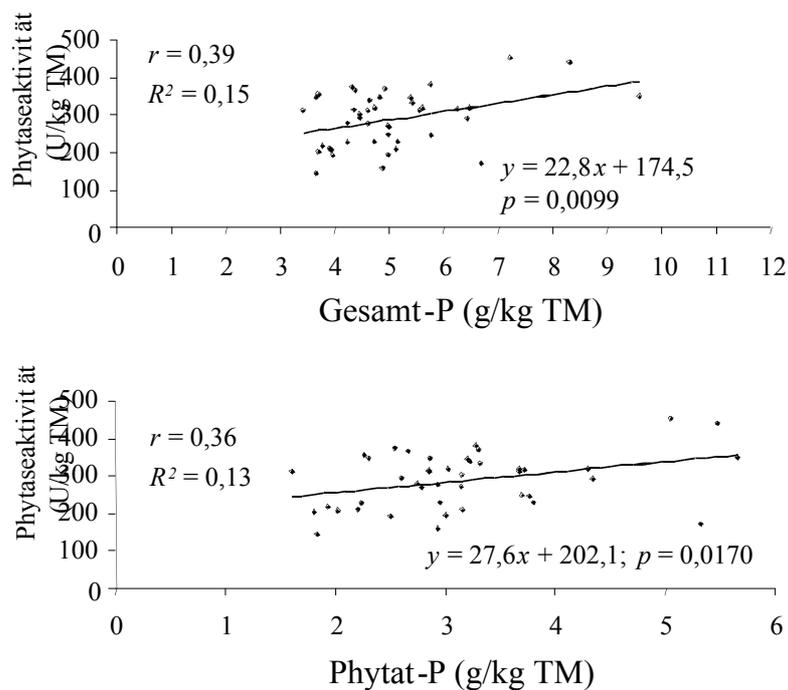
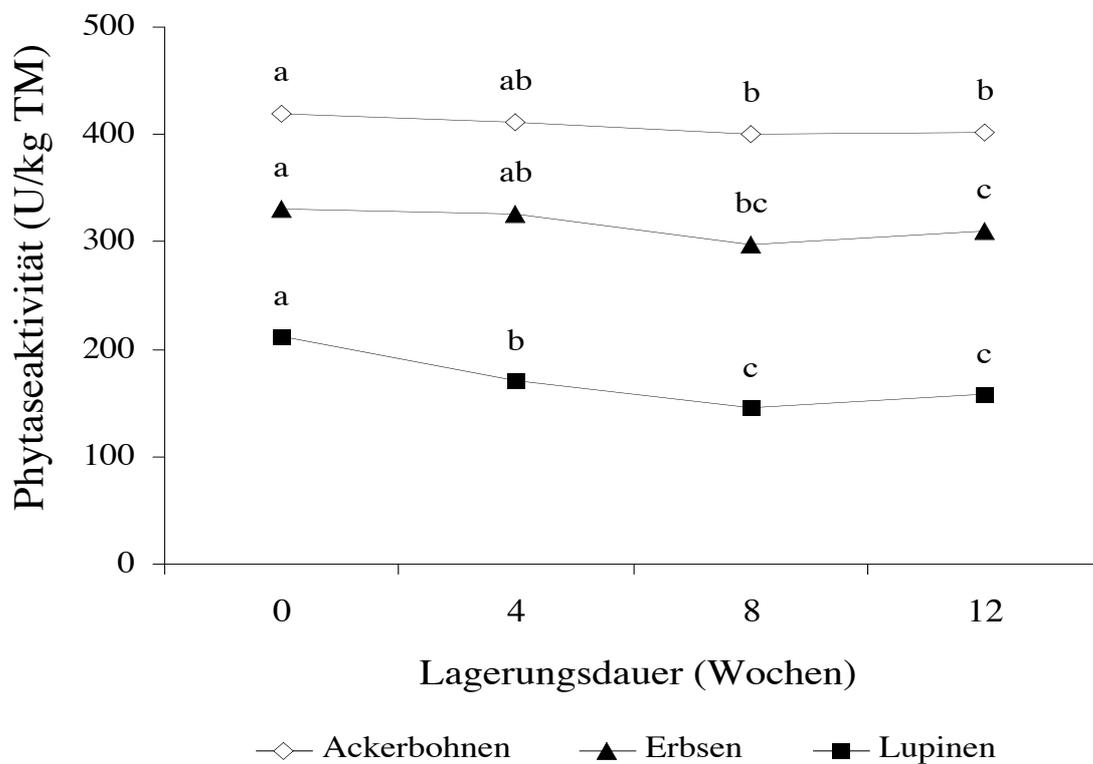


Abb. 1b: Korrelationskoeffizienten und linearer Zusammenhang zwischen Phytaseaktivität und Gesamt-P bzw. Phytat-P in Körnerleguminosen
Correlation coefficients and linear relationships between phytase activity and total P or phytate P, respectively, in legume seeds

3.2 Einfluss einer Konservierung mit Propionsäure auf die nativen Phytaseaktivitäten in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen

Um dem Verderb von Körnerleguminosen durch Pilze, Hefen und Bakterien während der Lagerung vorzubeugen, ist es notwendig, das Erntegut bei Feuchtegehalten von mehr als 12 % zu konservieren. Ein geeignetes Verfahren stellt neben der Trocknung

die Feuchtkonservierung mit organischen Säuren, insbesondere Propionsäure, dar. Der Einfluss der Konservierung von Körnerleguminosen mit Propionsäure in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer auf den Verlauf der nativen Phytaseaktivitäten in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen ist in Abbildung 2 dargestellt. Im Verlauf der Lagerung ergab sich eine leichte, dennoch aber signifikante ($p < 0,05$) Abnahme der Phytaseaktivitäten.



a, b, c Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Behandlungen innerhalb einer Körnerleguminose

Abb. 2: Phytaseaktivitäten in Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen bei Konservierung mit Propionsäure in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

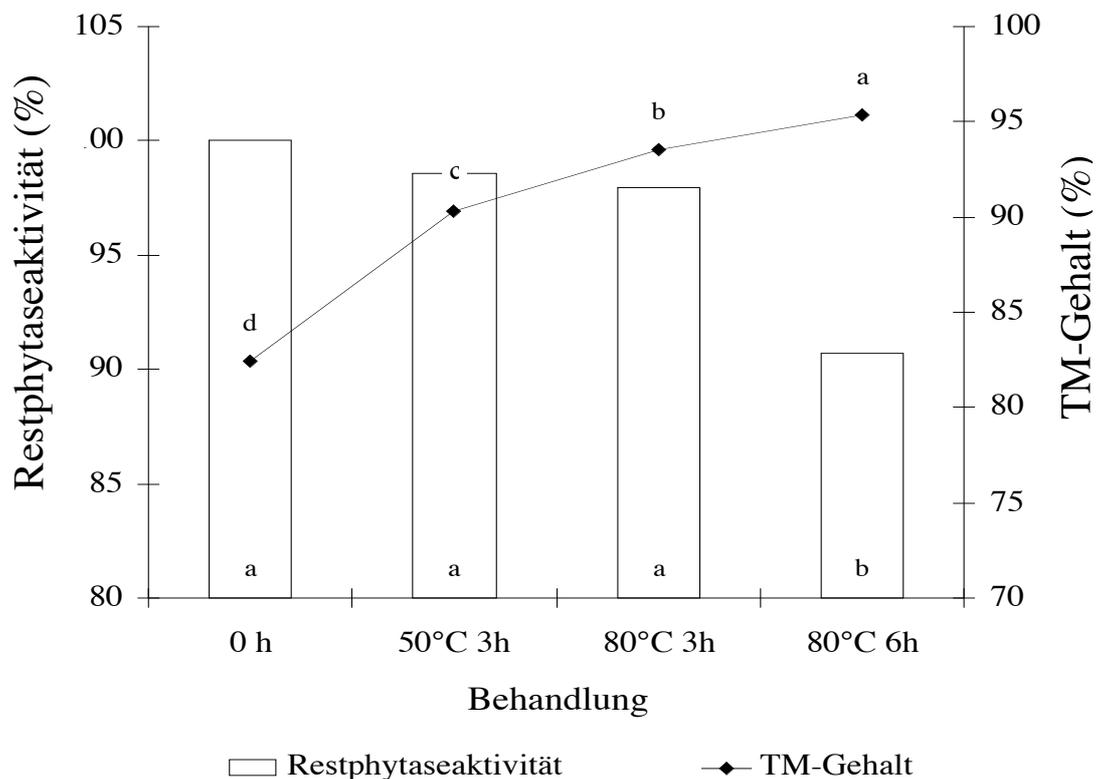
Effect of propionic acid on phytase activities in field beans, peas and lupines as influenced by treatment time

Unter den standardisierten Laborbedingungen waren die Unterschiede innerhalb der Behandlungen sehr gering, so dass sich bereits relativ geringe numerische

Differenzen (z.B. Ackerbohnen: 4,1 %) als signifikant erwiesen. In Ackerbohnen, Erbsen und Lupinen betrug die Phytaseaktivität nach 12-wöchiger Lagerung noch 96, 94 bzw. 75 % der anfänglichen Aktivität. Es kann daher angenommen werden, dass Propionsäure bei intakten Körnern kaum in die Zellwandstrukturen penetriert, so dass keine nachhaltige Reduzierung der nativen Phytaseaktivitäten bei ungemahlene Körnerleguminosen erfolgt. Eine Behandlung mit Propionsäure zur Konservierung erntefeuchter Körnerleguminosen kann daher ohne Einschränkung empfohlen werden.

3.3. Einfluss unterschiedlicher Hitzebehandlungen auf die nativen Phytaseaktivitäten in Erbsen

In mehreren Untersuchungen wurden die hitzelablen Eigenschaften nativer pflanzlicher Phytasen aufgezeigt (SCHINDLER 1999, EECKHOUT und DE PAEPE 1999, BERK und SCHULZ 1996). In diesen Studien konnten native Getreidephytasen durch eine Mikrowellenbehandlung oder Extrusion teilweise oder ganz inaktiviert werden. Im Exp. 3 wurde deshalb am Beispiel von Erbsen untersucht, ob durch die Trocknung erntefeuchten, ungemahlene Materials ebenfalls die native Phytaseaktivität reduziert wird. Der Effekt einer unterschiedlichen Hitzebehandlung hinsichtlich Temperatur und Dauer auf die nativen Phytaseaktivitäten ist in der Abbildung 3 dargestellt.



a, b, c, d Signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen den Behandlungen

Abb. 3: Phytaseaktivität und Trockenmassegehalt in Erbsen nach unterschiedlichen Hitzebehandlungen

Phytase activity and dry matter content of peas as influenced by different heat treatments

Die Erhitzung von 3 h Dauer bei 50 bzw. 80°C hatte keinen signifikanten Einfluss ($p > 0,05$) auf die Entwicklung der Phytaseaktivität. Die Erhitzung bei 80°C über einen Zeitraum von 6 h führte dagegen zu einer geringen aber signifikanten ($p < 0,001$) Reduzierung der Phytaseaktivität um ca. 9 %. Erwartungsgemäß stieg der TM-Gehalt im Probenmaterial mit zunehmender Behandlungsdauer bzw. -temperatur signifikant ($p < 0,001$) an. Eine dreistündige Behandlung bei 50°C war bereits ausreichend, um stabile Lagerungsbedingungen (Feuchtegehalt < 12 %) zu erreichen. Offenbar ist native Phytase in ungemahlene Körnerleguminosen hochgradig hitzeresistent, so dass auch bei Temperaturen von 80°C über einen Zeitraum von 6h nur eine geringgradige Inaktivierung der Enzyme erfolgt. Demzufolge kann eine Trocknung feuchten Erntematerials bei 50°C, wie sie in der landwirtschaftlichen Praxis durchgeführt wird, ohne Vorbehalt praktiziert werden.

4. Schlussfolgerung

Zwar weisen Körnerleguminosen im Vergleich zu Getreide etwas höhere Gesamt-P-Gehalte auf, doch aufgrund der deutlich niedrigeren nativen Phytaseaktivitäten ist der Beitrag nativer Phytasen für die Hydrolyse von phytatgebundenem P aus pflanzlichen Futtermitteln für Schweine zu vernachlässigen. Die Anwendung praxisüblicher Konservierungsverfahren verursacht kaum eine Reduzierung der vorhandenen Phytaseaktivitäten in Körnerleguminosen. Dies gilt sowohl für die Behandlung mit Propionsäure in geringer Dosierung als auch für die Trocknung im Bereich von 50°C.

5. Literaturverzeichnis

- BERK, A., E. SCHULZ, 1996: Beitrag zur Bedeutung nativer und mikrobieller Phytase für die Phosphorverwertung beim Schwein. *Züchtungskunde* **68** 229-239
- EECKHOUT, W., M. DE PAEPE, 1999: In vitro and in vivo comparison of microbial and plant phytase. In: *Phytase in Animal Nutrition and Waste Management*.

M. B. Coelho and E. T. Kornegay (ed.) BASF Corp., Mount Olive, NJ.
237–241

EECKHOUT, W., M. DE PAEPE, 1994: Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology* 47 19-29

ENGELEN, A. J., F. C. VAN DER HEEFT, P. H. G. RANDSDORP, E. L. C. SMIT, 1994: Simple and rapid determination of phytase activity. *Journal of AOAC International* 77 760-764

GREINER, R., I. EGLI, 2003: Determination of the activity of acidic phytate-degrading enzymes in cereal seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 847-850

HAN, Y. M., F. YANG, A. G. ZHOU, E. R. MILLER, P. K. KU, M. G. HOGBERG, X. G. LEI, 1997: Supplemental phytase of microbial and cereal sources improve dietary phytate phosphorus utilization by pigs from weaning through finishing. *Journal of Animal Science* 75 1017-1025

HARLAND B. F., D. OBERLEAS, 1986: Anion-exchange method for determination on phytate in foods: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 69 667-670

HAUG, W., H.-J. LANTZSCH, 1983: Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34 1423-1426

MOST, E., J. PALLAUF, G. RIMBACH, H. NEUSSER, 1993: Zur Analytik von Phytase und Phytinsäure in Lebens- und Futtermitteln. 105. VDLUFA-Kongress, 20.-25.09.1993 in Hamburg, Kongressband 37 405-408

NAUMANN, K., R. BASSLER: VDLUFA-Methodenbuch Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Mit Ergänzungslieferungen 1983, 1988, 1993, 1997. VDLUFA-Verlag, Darmstadt

OLOFFS, K., J. COSSA, H. JEROCH, 1997: Phosphor-Bilanzierung bei Legehennen. 109. VDLUFA-Kongress, 15.-19.09.1997 in Leipzig, Kongressband 46 199-202

SAS, 1999: SAS Online Doc[®], Version 8, SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA

SCHINDLER, B., 1999: Untersuchungen zur vergleichenden Wirksamkeit und zur Additivität pflanzlicher und mikrobieller Phytasen beim wachsenden Schwein. Dissertation, Universität Hohenheim

- SELLE, P. H., A. R. WALKER, W. L. BRYDEN, 2003: Total and phytate-phosphorus contents and phytase activity of Australian-sourced feed ingredients for pigs and poultry. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 43 475-479
- VIVEROS, A., C. CENTENO, A. BRENES, R. CANALES, A. LOZANO, 2000: Phytase and acid phosphatase activities in plant feedstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 4009-4013
- ZIMMERMANN, B., H.-J. LANTZSCH, R. MOSENTHIN, F.-J. SCHÖNER, H. K. BIESALSKI W. DROCHNER, 2002a: Comparative evaluation of the efficacy of cereal and microbial phytases in growing pigs fed diets with marginal phosphorus supply. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82 1298-1304
- ZIMMERMANN, B., H.-J. LANTZSCH, U. LANGBEIN, W. DROCHNER, 2002b: Determination of phytase activity in cereal grains by direct incubation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 86 347-352

Anhang

Tab. A.1: Analyisierte Gehalte an Trockenmasse, Gesamt-P und Phytat-P sowie native Phytaseaktivitäten in verschiedenen Sorten von Ackerbohnen und Erbsen (bezogen auf TM)

Analyzed contents of dry matter, total P, phytate P and native phytase activities in different varieties of field beans and peas (expressed per DM)

Leguminosen	TM (%)	Gesamt-P (g/kg)	Phytat-P		Phytaseaktivität ¹ (U/kg)
			(g/kg)	(% Gesamt-P)	
<i>Ackerbohnen (Vicia faba)</i>					
Beluga	90,59	5,14	3,80	73,9	230
Compass	91,03	4,97	3,70	74,4	248
Condor	90,39	5,60	3,67	65,5	319
Gloria	89,24	6,47	4,30	66,5	319
Hobbit	90,26	4,63	3,22	69,5	340
Limbo	88,96	5,55	3,67	66,1	314
Music	87,75	7,22	5,05	69,9	455
Nile	89,36	6,42	4,34	67,6	292
Samba	90,41	4,45	3,15	70,8	303
Scirocco	90,81	4,97	3,00	60,4	195
Valeria	89,96	6,68	5,32	79,6	172
<i>Erbsen (Pisum sativum)</i>					
Apollo	88,44	4,23	2,74	64,8	280
Attika	87,78	3,40	1,60	47,1	313
Catania	89,59	3,65	2,30	63,0	349
Classic	89,68	4,37	2,66	60,9	368
Davina	86,47	4,60	2,85	62,0	313
Florida	90,72	3,77	1,93	51,2	218
Hardy	86,79	3,95	2,50	63,3	192
Laser	88,59	3,69	1,80	48,8	203
Lido	88,74	3,69	2,26	61,2	356

Lisa	87,24	4,72	2,95	62,5	230
Livioletta	87,25	3,65	1,83	50,1	144
Madonna	91,02	3,92	2,02	51,5	207
Miami	90,42	3,90	2,20	56,4	211
Phönix	89,96	4,97	3,14	63,2	271
Pinochio	86,99	4,45	2,60	58,4	295
Santana	89,51	4,23	2,23	52,7	228
Sponsor	88,76	4,31	2,54	58,9	375
Swing	89,44	4,87	2,93	60,2	160

¹ Ermittelt mit „direkter Methode“ (GREINER und EGLI 2003).

Tab. A.2: Analyierte Gehalte an Trockenmasse, Gesamt-P und Phytat-P sowie native Phytaseaktivitäten in verschiedenen Lupinensorten (bezogen auf TM)

Analyzed contents of dry matter, total P, phytate P and native phytase activities in different varieties of lupines (expressed per DM)

Leguminosen	TM (%)	Gesamt-P (g/kg)	Phytat-P		Phytaseaktivität ¹ (U/kg)
			(g/kg)	(% Gesamt-P)	
<i>Weißer Lupinen (Lupinus albus)</i>					
Amiga	91,46	5,12	3,16	61,7	210
Fortuna	89,96	5,77	3,76	65,2	248
<i>Gelber Lupinen (Lupinus luteus)</i>					
Bornal	90,69	8,30	5,47	65,9	442
Borsaja	90,65	9,59	5,66	59,0	350
<i>Blaue Lupinen (Lupinus angustifolius)</i>					
Arabella	88,26	4,61	2,93	63,6	278
Bolivio	87,80	4,91	3,30	67,2	371
Boltensia	90,53	5,39	3,20	59,4	346
Bora	90,90	4,99	2,78	55,7	270
Bordako	90,17	4,34	2,85	65,7	316
Borlana	90,40	4,81	2,86	59,5	350
Borlu	89,93	4,73	3,02	63,8	319
Boruta	89,88	5,75	3,28	57,0	382
Borweta	91,40	6,24	3,72	59,6	318
Sonet	90,04	5,42	3,31	61,1	333

¹ Ermittelt mit „direkter Methode“ (GREINER und EGLI 2003).