

1.	Einleitung.....	1
2.	Problemstellung .....	2
3.	Grundlagen .....	4
3.1	NSP–hydrolysierende Enzyme, die als Futterzusatzstoffe von Bedeutung sind .....	4
3.2	Substrate zur Enzymaktivitätsbestimmung .....	5
3.2.1	Xylane .....	5
3.2.2	$\beta$ -Glucane .....	6
3.3	Futtermittel.....	7
3.4	Literaturübersicht.....	7
3.4.1	Häufig angewendete Methoden in der Enzymanalytik.....	7
3.4.2	Verwendung modifizierter Substrate.....	10
4.	Materialien, Methoden und Versuchsdurchführung .....	15
4.1	Charakterisierung der Enzyme .....	15
4.1.1	Extraktionsmethode .....	15
4.1.2	Proteinbestimmung.....	15
4.1.3	Enzymaktivität über die Bildung von Reduktionsäquivalenten .....	15
4.1.4	Enzymreinigung .....	16
4.1.5	Bestimmung der Molmassen und Verteilung der aktiven Komponenten mit Hilfe der Gelelektrophorese .....	17
4.1.6	Bestimmung der pH–Optima.....	17
4.1.7	Temperaturverhalten der Enzympräparate .....	18
4.1.8	Bestimmung der isoelektrischen Punkte.....	18
4.1.9	Bestimmung der Hydrolysemuster mittels HPLC .....	18
4.2	Aktivitätsbestimmung in komplexen Medien .....	19
4.2.1	Verdünnung der Enzymlösungen .....	19
4.2.2	Agardiffusionstest .....	19
4.2.3	Viskositätsmessung .....	20
4.2.4	Chromogene Substrate.....	21

4.2.4.1	Substrate mit Reaktivfarbstoffen .....	22
4.2.4.2	Substrate mit ionischen Farbstoffen.....	23
4.2.4.3	Substrat mit kationischem Farbstoff (Rutheniumrot) .....	23
4.2.5	Farbreaktionsmethode .....	23
4.3	Substratmodifikationen .....	24
4.3.1	Physikalische Substratmodifikation .....	24
4.3.2	Chemische Substratmodifikation .....	25
4.3.2.1	Löslichkeitsverbesserung .....	25
4.3.2.2	Farbstoffkopplung .....	27
4.3.3	Enzymatische Substratmodifikation.....	31
4.3.4	Substratcharakterisierung.....	32
4.3.5	Futtermittel .....	33
4.4	Enzymbestimmung durch Farbreaktion .....	36
5.	Ergebnisse .....	37
5.1	Enzymcharakterisierung .....	37
5.1.1	Biochemische Charakterisierung.....	37
5.1.2	Hydrolysemuster der verschiedenen Enzympräparate .....	42
5.2	Enzymaktivitätsbestimmung in komplexen Medien.....	46
5.2.1	Agardiffusionstest.....	46
5.2.1.1	Xylanase–Aktivitätsbestimmung .....	47
5.2.1.2	Bestimmung der $\beta$ -Glucanaseaktivität.....	63
5.2.2	Bestimmung der Enzymaktivität auf Basis der Viskositätsabnahme.....	66
5.2.3	Enzymaktivitätsbestimmung mit chromogenen Substraten .....	72
5.2.3.1	Vergleich der chromogenen Substrate .....	90
5.3	Farbreaktion — Methodenentwicklung und Anwendung .....	91
5.4	Substratmodifikation .....	97
5.4.1	Physikalische Substratmodifikation .....	97
5.4.2	Chemische Modifikation .....	98
5.4.2.1	Saure bzw. basische Behandlung.....	98
5.4.2.2	Acetylierung .....	98
5.4.3	Enzymatische Modifikation.....	98
5.5	Substratcharakterisierung.....	98

5.6	Einfluß des Futtermittels auf die Enzymaktivitätsbestimmung.....	103
5.7	Zusammenfassung der Ergebnisse.....	105
6.	Diskussion .....	109
7.	Zusammenfassung.....	121
8.	Abstract.....	124
9.	Anhang.....	127
9.1	Puffer und Reagenzien.....	127
9.2	Produktbeschreibung Haferspelzenxylan .....	130
9.3	Gradienten-Programm der HPLC.....	130
10.	Literatur .....	131
11.	Danksagung .....	139
12.	Lebenslauf.....	141

