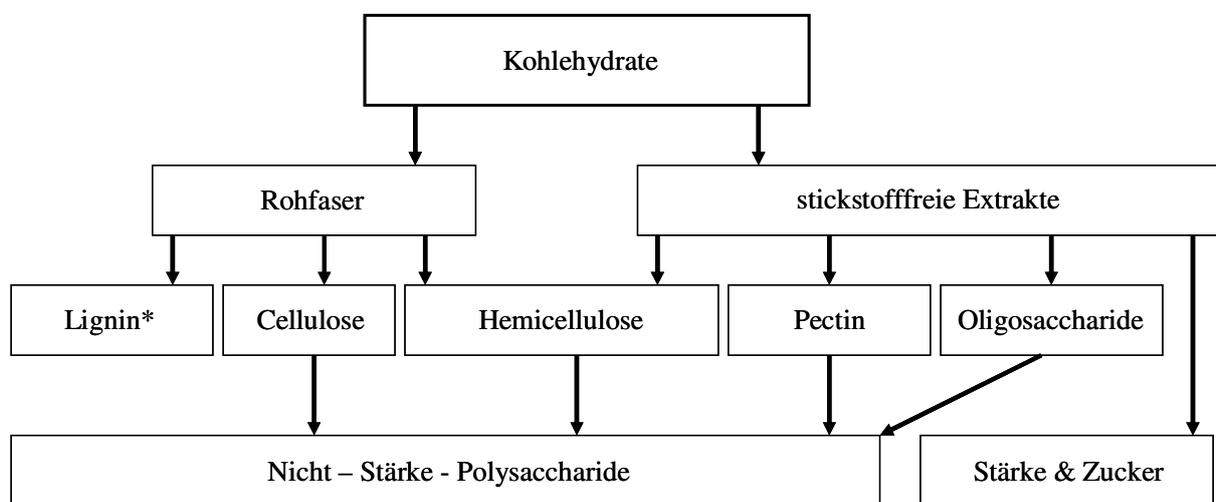


## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP)

Der Säugetierorganismus ist zwar in der Lage, Stärke bis zur Glucose abzubauen, besitzt aber zum Abbau der sogenannten Nicht-Stärke-Polysaccharide keine körpereigenen Enzyme. Der Einfachheit halber fasst man diejenigen Polysaccharide, welche in pflanzlichen Zellwänden vorkommen und durch den tierischen bzw. menschlichen Organismus nicht abgebaut werden können, als Nicht-Stärke-Polysaccharide zusammen (Jeroch *et al.* 1999). Einen Überblick über die Gruppe der Nicht-Stärke-Polysaccharide bietet die folgende Abbildung 1.



**Abbildung 1:** Klassifikation der Kohlehydrate modifiziert nach *G.C.M. Bakker et al.* (1998) (\*Anmerkung: Bei Lignin handelt es sich um kein Kohlehydrat. Siehe dazu auch S. 5 unten)

Die genaue Definition der Nicht-Stärke-Polysaccharide bereitet einige Schwierigkeiten, weil diese in pflanzlichen Gerüstsubstanzen vorkommenden Polysaccharide strukturell betrachtet eine sehr heterogene Gruppe darstellen. Es handelt sich hierbei u.a. um Cellulose, (1-3, 1-4)- $\beta$ -Glucane, Arabinoxylane (Pentosane), Mannane, Galactane, Xyloglucane und Pectine (Polygalacturonsäureketten) (Jeroch *et al.* 1999).

Eine einheitliche, allgemeingültige Klassifikation der Nicht-Stärke-Polysaccharide bzw. der Ballaststoffe existiert bisher noch nicht (Choct 1997; DeVries *et al.* 1999; Pluske *et al.* 1999; Wenk 2001; Wenk und Zurcher 1990). Häufig wird im Zusammenhang mit Nicht-Stärke-Polysacchariden insbesondere in der englischsprachigen Literatur, wenn auch sehr ungenau, einfach nur von Ballaststoffen bzw. Nahrungsfasern (dietary fibre, DF) gesprochen. Auch hier

gibt es unterschiedliche Auffassungen darüber, welche Stoffe zu den Ballaststoffen zählen (Noblet und Le Goff 2001).

Je nachdem, ob man diese nun aus physiologischer Sicht definiert oder aber das Hauptaugenmerk auf die chemische Zusammensetzung lenkt, gelangt man zu unterschiedlichen Definitionen. Physiologisch gesehen sind unter dem Begriff DF alle Komponenten einer Diät zusammengefaßt, die durch körpereigene Enzyme des Säugers nicht abbaubar sind, während die chemische Definition sie als Summe aller Nicht-Stärke-Polysaccharide inklusive Lignin beschreibt. Beispielsweise steht den Bestrebungen, zur Begrifflichkeit „dietary fibre“ auch noch die sogenannte „resistant starch“, d.h. die unverdauliche Stärke sowie die unverdaulichen Oligosaccharide hinzuzuzählen, die Tatsache entgegen, dass es dann immer schwieriger würde, eine geeignete Analytik zu finden, welche in der Lage ist, die Einzelkomponenten dieser breitgefaßten Definition in ihrer Gesamtheit zu quantifizieren (Champ *et al.* 2003).

Tastet man sich an die Klassifikation der Nicht-Stärke-Polysaccharide über die analytischen Methoden heran, mit deren Hilfe diese Polysaccharide aus pflanzlichem Material extrahiert werden, so stößt man auf den Begriff der Rohfaser (crude fibre, CF). Dieser faßt die fett- und aschefreien Reste pflanzlichen Materials nach Behandlung mit verdünnten Säuren und Laugen zusammen. Hierzu zählen variable Mengen von in Wasser unlöslichen Nicht-Stärke-Polysacchariden (Choct 1997), wie zum Beispiel die unlöslichen Anteile von Cellulose, Hemicellulose aber auch Lignin.

In Abhängigkeit vom Extraktionsmittel stößt man ferner auf die Begriffe „neutral detergent fibre“ (NDF) und „acid detergent fibre“ (ADF). Den als NDF bezeichneten Rückstand erhält man nach Kochen in neutraler Detergentienlösung (Natriumlaurylsulfat, EDTA, pH 7), während man die sogenannte ADF-Fraktion nach Kochen mit saurem Detergentium (Cetyltrimethylammoniumbromid in 1 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) gewinnt. Letztere Fraktion enthält vorwiegend Cellulose und Lignin. Die in dieser Fraktion enthaltene Cellulose kann durch 72%-ige H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hydrolysiert werden. Der danach verbleibende Rückstand ist nahezu mit dem Ligningehalt identisch und wird daher auch als „acid detergent lignin“ (ADL) bezeichnet. Den geschätzten Gehalt an Lignin erhält man rechnerisch durch Subtraktion des ADL-Gehaltes vom ADF-Gehalt. Der Gehalt an Hemicellulose ergibt sich aus der Differenz von NDF minus ADF (Meyer *et al.* 1999; Naumann *et al.* 1988).

Man kann die Nicht-Stärke-Polysaccharide aus physiologischer Sicht auch in wasserlösliche und wasserunlösliche NSP unterteilen (Pluske *et al.* 1999).

Fest steht jedenfalls, dass sämtliche Definitionen immer nur einen Kompromiss darstellen können, die komplexe Gruppe der Nicht-Stärke-Polysaccharide zu beschreiben.

## 2.2 Chemische Struktur und Vorkommen der NSP

Die Faserbestandteile der verschiedenen Getreide bestehen in erster Linie aus Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP), welche der Pflanze die nötige Stabilität verleihen, haben aber auch in vielen Hülsenfrüchten als Energieträger bzw. -speicher Bedeutung (Choct 1997).

Man unterteilt, wie eingangs bereits erwähnt, die NSP in wasserlösliche und wasserunlösliche NSP.

Pflanzliche Cellulose ist ein lineares Molekül, besteht aus 7000 bis 10.000  $\beta$ -(1,4)-glykosidisch verknüpften, kettenartig angeordneten Glucoseeinheiten und ist wegen der Konformation der Moleküle und deren supramolekularer Organisation (Stabilisierung durch Wasserstoffbrückenbindungen innerhalb der Kette und zwischen den Ketten) in Wasser nicht löslich (Koolman und Röhm 1998). Cellulose ist aufgrund seiner  $\beta$ -(1,4)-glykosidischen Bindungen ein  $\beta$ -Glucan. Die  $\beta$ -Glucane bestehen aus  $\beta$ -(1,3)- und  $\beta$ -(1,4)-glykosidisch verbundenen Glucoseeinheiten. Je mehr  $\beta$ -(1,3)-glykosidische Verbindungen die regelmäßige Struktur der  $\beta$ -(1,4)-verknüpften Ketten unterbrechen, desto wasserlöslicher werden die Glucane, weil die geschlossene Anordnung der einzelnen Glucosemoleküle dadurch verhindert wird.

Unter dem Begriff Hemicellulose versteht man ein Gemisch aus Heteroglucanen (Xylane, Xyloglucane, Arabinogalactane etc.), welches mit Cellulose-Fibrillen und Pectinen zu Komplexen vernetzt ist (Koolman und Röhm 1998).

Die Pentosane, welche aus  $\beta$ -glykosidisch verknüpften Xyloseeinheiten mit Arabinose-Seitenketten bestehen (Choct 1997; Meyer *et al.* 1999) und daher auch als Arabinoxylane bezeichnet werden, sind zumeist ebenfalls wasserunlöslich.

Die Pectine bestehen aus D-Galacturonsäureresten, die über  $\alpha$ -glykosidische (1-4)-Bindung miteinander verknüpft sind, wobei die Carboxylgruppen häufig mit Methylalkohol verestert sind (Jeroch *et al.* 1999).

Nur der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass es sich bei Lignin, welches im Zusammenhang mit den Nicht-Stärke-Polysacchariden häufig erwähnt wird, um kein Kohlehydrat handelt. Es ist eine komplexe aromatische Verbindung, die sich von Phenylalanin und Tyrosin ableitet (Lehninger *et al.* 1998) und mit verschiedenen NSP strukturelle Verbindungen eingeht, so dass man von einem „Kohlehydrat-Lignin-Komplex“ sprechen kann.

## Literaturübersicht

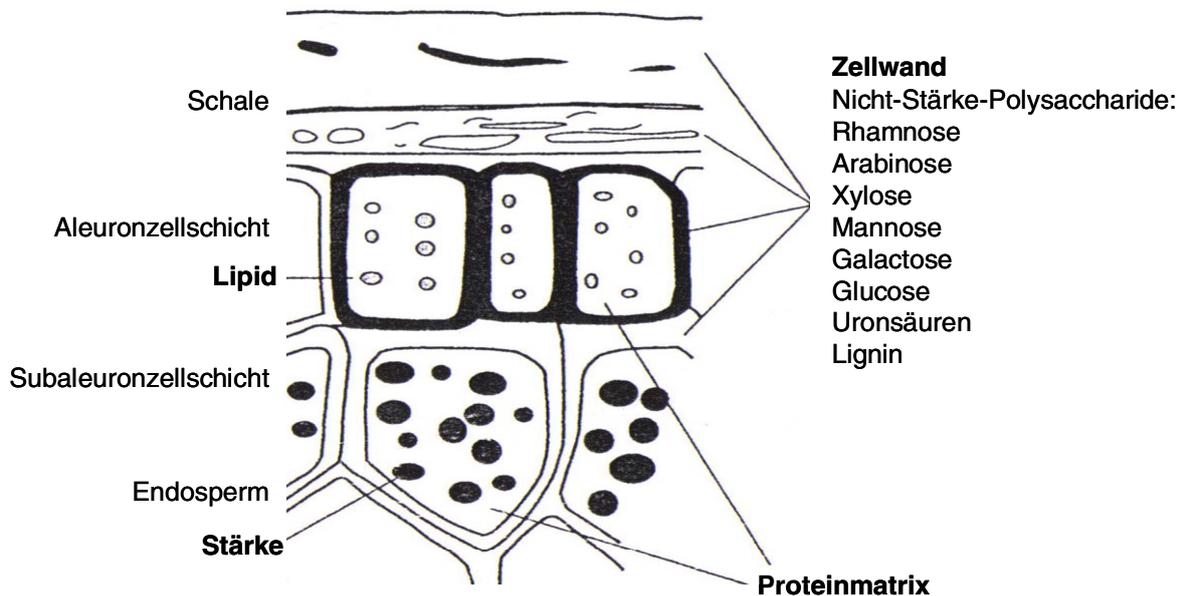
Tabelle 1 liefert einen ungefähren Überblick über das Vorkommen bzw. die Verteilung von Nicht-Stärke-Polysacchariden in den in der Schweine- und Geflügelernährung gebräuchlichsten Getreidearten am Beispiel von  $\beta$ -Glucanen und Arabinoxylanen (Pentosanen). Nicht Stärke-Polysaccharide machen 700-900 g kg<sup>-1</sup> der pflanzlichen Zellwand aus (Bach Knudsen 2001b). Zu erwähnen ist in diesem Zusammenhang, dass die Angaben hierzu in der Literatur häufig stark variieren, was vermutlich auf verschiedene Einflussfaktoren wie Sorte, regionale Herkunft, Klima und Reifestadium des Getreides zur Erntezeit zurückzuführen ist (Bach Knudsen 1997; Dusel *et al.* 1997; Steinfeldt 2003). Beim Weizen beispielsweise variiert nach einer Studie von *Dusel et al.* (1997) der NSP-Gehalt von 7,45 bis 11,45 in Prozent der Trockenmasse.

**Tabelle 1:** Gehalt an  $\beta$ -Glucanen und Arabinoxylanen (Pentosanen) bei einigen Getreidearten (Körner) in g/kg Trockensubstanz, modifiziert nach *Jeroch et al.* (1999)

<b>NSP</b>	<b>Weizen</b>	<b>Mais</b>	<b>Gerste</b>	<b>Roggen</b>	<b>Triticale</b>
$\beta$ -Glucane	3-11,5	0,3-1,7	31-55	13-17	4
Arabinoxylane (Pentosane)	35-70	33-68	58-77	59-102	91-140

Weizen, Mais, Roggen und Triticale (Gattungshybrid aus Weizen und Roggen) weisen einen vergleichsweise hohen Gehalt an Arabinoxylanen auf, welche meist in unlöslicher Form vorliegen (vgl. Tabelle 2), während Gerste, neben einem ebenfalls recht hohen Pentosangehalt, einen großen Anteil an hochmolekularem  $\beta$ -Glucan besitzt.

Die Abbildung 2 zeigt die typische Zusammensetzung einer Zellwand von Getreide im Hinblick auf die NSP am Beispiel des Hafers.



**Abbildung 2:** Beispiel für den Zellwandaufbau des Hafers modifiziert nach *Bach Knudsen* (2001b)

Das Getreidekorn ist eine Schließfrucht und besteht im wesentlichen aus drei Teilen:

- Schale (Fruchtschale und Samenschale),
- Mehlkörper (Endosperm)
- Keimling (Embryo)

Der Mehlkörper macht 75-90 % des Getreidekorns, die Schalenschichten 7-20 % und der Keimling 3-15 % aus. Der Mehlkörper enthält im wesentlichen Stärke, welche in eine Proteinmatrix eingebettet ist. Zur Schale gehören die Frucht- und Samenschale und aus Sicht des Müllereiwesens zusätzlich die Aleuronzellschicht, welche Proteine, Lipide und Mineralstoffe enthält. Die Nicht-Stärke-Polysaccharide sind Bestandteile aller Schichten der pflanzlichen Zellwand (Klingler 1995). Die Spelze gehört nicht zum eigentlichen Korn, ist aber auch sehr NSP- und ligninreich.

In der Schweinefütterung werden aus ernährungsphysiologischen und wirtschaftlichen Beweggründen vorrangig Gerste, Mais und Weizen, daneben aber auch z.T. Roggen, Triticale, Hafer sowie Getreidenachprodukte eingesetzt.

In der Aufzucht von Schweinen findet eher Weizen Verwendung, in der Mast eher Gerste (Böhme 1996).

Ein Alleinfutter für Schweine enthält beispielsweise insgesamt etwa 550 bis 700g Kohlehydrate pro Kilogramm Trockenmasse, von denen 40-70g niedermolekulare Zucker sind, etwa 250-400g sind Stärke und 150-250g werden durch die sogenannten Nicht-Stärke-Polysaccharide verkörpert (Bach Knudsen und Johansen 1995; Bakker *et al.* 1998).

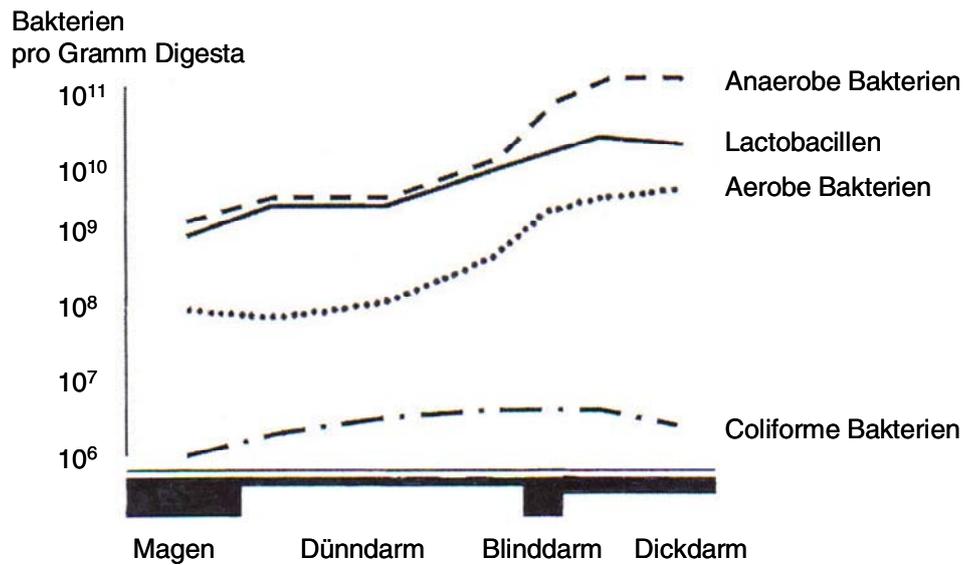
### 2.3 Eigenschaften und mikrobieller Abbau der NSP

Die Abbaubarkeit der NSP hängt in hohem Maße von deren chemischer Struktur ab (Aulrich und Flachowsky 1998). Man unterscheidet, physiko-chemisch gesehen, unlösliche von in Wasser löslichen NSP. Den Abbau betreffend, ist insbesondere der Grad der Lignifizierung entscheidend. Mit Lignin verknüpfte Nahrungsfasern unterliegen einem geringeren Abbau durch Fermentation (Wenk und Zurcher 1990) und zählen zu den unlöslichen NSP. Sie sind wesentlich am sogenannten Käfigeffekt und somit am Einschluß von Nährstoffen beteiligt. Die nicht lignifizierten Faserstoffe hingegen sind teilweise wasserlöslich (Graham *et al.* 1986) und daher aufgrund ihrer gelbildenden Eigenschaften maßgeblich am Viskositätsanstieg der Ingesta beteiligt. Des Weiteren beeinflusst auch das Alter der Tiere (Noblet und Le Goff 2001) und die Rationszusammensetzung die Fermentation der Nahrungsfasern.

Der Mensch und auch das Schwein sind, wie bereits erwähnt, nicht in der Lage, die NSP mittels körpereigener Enzyme abzubauen. Dies wird aber in begrenztem Umfang durch die Bakterien, welche hauptsächlich im hinteren Verdauungstrakt vorherrschen bzw. genauer gesagt durch die von diesen Bakterien produzierten Enzyme bewerkstelligt. Allerdings existieren bereits im Dünndarm, wenn auch in vergleichsweise geringerer Zahl, Bakterien, welche in der Lage sind NSP zu fermentieren.

Stark vereinfacht ausgedrückt, werden beim Abbau der Nahrungsfasern lange NSP-Polymere hydrolytisch in immer kürzere Ketten gespalten. Die NSP-spaltenden Enzyme sind als Endoenzyme (Polizeli *et al.* 2005; Slade *et al.* 1989) nicht in der Lage, Monomere von den Makromolekülen abzuspalten (Dusel 1998).

Bei der Hydrolyse unlöslicher NSP-Fractionen in löslichere Fractionen wird die Viskosität zunächst gesteigert, um dann anschließend durch weitere Spaltung in niedermolekulare Fragmente insgesamt gesenkt zu werden (Aulrich und Flachowsky 1998; Gruppen *et al.* 1993). Die gastrointestinale Mikroflora des Dickdarmes besteht, wie Abbildung 3 verdeutlicht, hauptsächlich aus obligaten Anaerobiern. Beim Tier und auch beim Menschen können mehr als  $10^{10}$  Bakterien pro Gramm Digesta, bestehend aus mehr als 500 verschiedenen Arten, nachgewiesen werden (Hold *et al.* 2002; Jensen 2001; Zhu *et al.* 2002).



**Abbildung 3:** Arten und Dichte der Mikroorganismen im Verdauungstrakt des Schweines nach Jörgensen und Just (1988)

Bei den NSP-abbauenden Bakterien im Verdauungstrakt von Broilern handelt es sich nach gegenwärtigem Kenntnisstand im wesentlichen um die Gattungen *Clostridium*, *Eubacterium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus* und *Enterococcus* (Beckmann *et al.* 2000; Savage 1986; Vahjen und Simon 1997a). Angehörige dieser Gattungen können auch regelmäßig im Kot von Schweinen nachgewiesen werden (Amtsberg 1984; Beckmann *et al.* 2000). Sie sind befähigt, komplex gebaute NSP-Polymere bis zu den Monomeren abzubauen. Bei hohen NSP-Konzentrationen und gleichzeitig geringem Angebot anderer Kohlenhydrate besitzen solche „NSP-Spezialisten“ unter den Bakterien einen Selektionsvorteil. Der Abbau der NSP geschieht über spezifische, zum Teil membrangebundene Enzyme. Einige Bakterien sind in der Lage, zum Beispiel  $\beta$ -Glucan-spaltende Enzyme zu produzieren. Viele Bakterien sind hingegen aber lediglich dazu befähigt, NSP-Fragmente zu verstoffwechseln, besitzen aber nicht das komplette Enzymsystem, welches zum vollständigen Abbau komplexer NSP bis auf die Ebene der Monomere notwendig wäre (Vahjen und Simon 1997a).

Die Bakterien synthetisieren beim Abbau pflanzlichen Materials in erster Linie sogenannte flüchtige bzw. kurzkettige Fettsäuren. Hierbei handelt es sich im wesentlichen um Essig-, Propion- und Buttersäure (Kritchevsky 1988). Diese auch als SCFA „short chain fatty acids“ oder VFA „volatile fatty acids“ bezeichneten Metaboliten werden direkt am Ort ihrer Produktion über die Darmwand resorbiert und anschließend entweder lokal (Butyrat) oder in der Leber bzw. in peripheren Geweben metabolisiert (Acetat und Propionat) und stehen dem

## Literaturübersicht

Stoffwechsel des Wirtsorganismus somit zur Verfügung (Bakker *et al.* 1998; Bergman 1990; Wenk 2001).

Bei der Fermentation der Nahrungsfasern entstehen bekanntermaßen neben den kurzkettigen Fettsäuren auch Gase wie Kohlendioxid, Wasserstoff und Methan aber auch Harnstoff und Wärme (Bergman 1990; Noblet und Le Goff 2001).

Der energetische Beitrag der flüchtigen Fettsäuren zum Energiebedarf des Wirtstieres ist tierartlich unterschiedlich. Beim Wiederkäuer wird er auf circa 70 %, beim Menschen auf etwa 10 % und bei Allesfressern wie z.B. dem Schwein sowie bei den übrigen Pflanzenfressern auf ungefähr 20 bis 30 % geschätzt (Bergman 1990).

### 2.4 Auswirkungen der NSP

Die Auswirkungen der NSP sind stark abhängig von deren Löslichkeitsverhalten. So schreibt man den löslichen Anteilen mit ihren gelbildenden Eigenschaften eher eine aktive Komponente bei der Regulation der Verdauung im Sinne einer Verlängerung der Passagezeit und der Absorption im vorderen Verdauungstrakt zu, während man den unlöslichen Nahrungsfasern eher Effekte im Dickdarm, wie die Steigerung der Kotmenge, die Verdünnung des Coloninhaltes und eine verminderte Passagezeit der Digesta durch den Gastrointestinaltrakt, zuordnet (Bach Knudsen 2001b).

Tabelle 2 zeigt den Gehalt ausgewählter NSP (Arabinoxylane und  $\beta$ -Glucane) in einigen Getreidekörnern sowie den jeweiligen löslichen Anteil.

**Tabelle 2:** Mittelwerte des Gesamt-NSP-Gehaltes und des Arabinoxylan- sowie  $\beta$ -Glucan-Gehaltes verschiedener Getreide (in g/kg TS) und der jeweils lösliche Anteil, entnommen (auszugsweise) aus *Geflügeljahrbuch* (2005) nach *Jeroch et al.* (1999)

Getreideart		NSP-Gesamt	Arabinoxylan	$\beta$ -Glucan
Weizen <sup>1)</sup>	gesamt	107	59	6
	löslich	42	14	-
Gerste <sup>1)</sup>	gesamt	-	65	26-66*
	löslich	-	9	24-50*
Roggen <sup>1)</sup>	gesamt	142	86	- <sup>2)</sup>
	löslich	60	29	-
Triticale <sup>1)</sup>	gesamt	155	111	-
	löslich	21	14	-
Körnermais	gesamt	89	37	-
	löslich	40	8	-

1) = jeweilige Winter-Sorte; 2) = nicht analysiert; \*Angabe entnommen aus *Jeroch et al.* (1999)

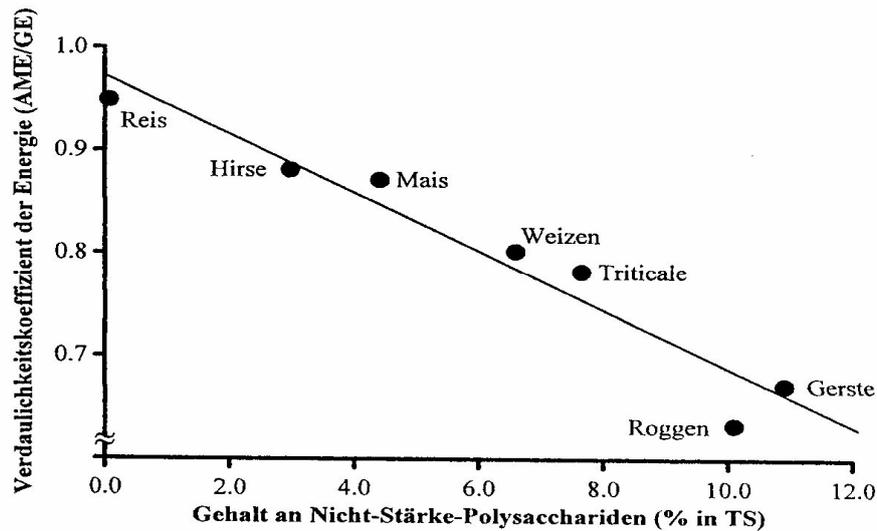
Der antinutritive Effekt NSP-reicher Diäten ist unstrittig und in zahlreichen Veröffentlichungen publiziert worden (Choct und Annison 1990, 1992a; Dierick 1989; Haberer und Schulz 1998). Im Mittelpunkt steht hierbei die viskositätssteigernde Wirkung der NSP auf den Darmchymus. Sie hat zur Folge, dass körpereigene Verdauungsenzyme und Gallensäuren nicht nur eine verminderte Diffusionsrate aufweisen, sondern auch, dass der Kontakt des Nahrungsbreies mit der resorptiven Oberfläche im Magen-Darm-Trakt vermindert ist (Förster 2003; Ikegami *et al.* 1990).

Die Viskosität des Dünndarmchymus des Schweines wird aber, aufgrund des insgesamt längeren Dünndarmes verbunden mit längerer Passagezeit und höherem Mikrobenbesatz, nie so hohe Werte erreichen wie es beim Geflügel der Fall ist (Dierick 1989). Deshalb ist eine der zentralen Fragen, ob es beim Schwein nicht vielleicht einen weiteren bzw. anderen Effekt als die reine Viskositätssenkung gibt, der dazu führt, dass durch den Einsatz NSP-spaltender Enzyme Leistungssteigerungen zu verzeichnen sind. Bartelt *et al.* (2002) stellen fest, dass offensichtlich beim Schwein nicht die Viskosität *per se* die Nährstoffabsorption im Dünndarm beeinflusst. Denn unter Zulage von Carboxymethylcellulose (CMC), die stark viskositätsbildend wirkt, können sie in ihrer Studie keine veränderte praecaecale Verdaulichkeit für die Trockenmasse, das Rohprotein und die Aminosäuren im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne CMC-Zulage beobachten.

Des weiteren scheinen die NSP, die Nährstoffe direkt einzuschließen und damit die Resorption der Rohnährstoffe zu vermindern oder sogar zu verhindern. Man geht bei dieser Modellvorstellung davon aus, dass die NSP der Zellwände die Nährstoffe im Innern der Zelle wie ein Käfig umschließen und damit den Angriff der Verdauungsenzyme erschweren oder sogar verhindern. Dies bezeichnet man als „Käfigeffekt“ (Theander *et al.* 1989).

Diese Mechanismen haben zur Folge, dass die wahre Verdaulichkeit der Rohnährstoffe und die Umsetzbarkeit der Energie mit steigendem NSP-Gehalt sinken kann.

Der Einfluss des Nicht-Stärke-Polysaccharidgehaltes der verschiedenen Getreidearten auf die Verdaulichkeit der Energie wird in Abbildung 4 deutlich.



**Abbildung 4:** Verdaulichkeitskoeffizient der Energie (AME/GE) verschiedener Getreidearten in Abhängigkeit von ihrem NSP-Gehalt (Pentosane und  $\beta$ -Glucane, % TS,  $r = -0,97$ ,  $p < 0,001$ ) ermittelt beim Broiler, nach Choct und Anison (1990) (AME = Apparent metabolizable energy; GE = Gross energy)

Wichtig in diesem Zusammenhang ist, dass es nicht ein einzelner Faktor wie zum Beispiel der NSP-Gehalt ist, der den Energiegehalt einer Getreidecharge beeinflusst, sondern dass es viele Faktoren sind, wie zum Beispiel die Genetik einer Pflanze sowie unterschiedliche Umweltbedingungen (Lagerung, eventuelle Enzymsupplementation, Verarbeitungsverfahren, Alter der Tiere etc.). Man hat verschiedentlich beobachtet, dass bei längerer Lagerung (> 4 Monate) von Weizen nach der Ernte, der Gehalt an AME steigt. Eine mögliche Ursache hierfür könnte die Aktivierung endogener Enzyme des Getreides selbst sein, die in der Lage sind, NSP zu spalten (Kim *et al.* 2005). Endogene NSP-spaltende Enzyme konnten bereits im Getreidekorn des Weizens (Schmitz *et al.* 1974), in gekeimtem Weizen und Weizenkleie (Beldman *et al.* 1996), in der Aleuronzellschicht der Gerste (Taiz und Honigman 1976) sowie in gekeimter Gerste (Slade *et al.* 1989) nachgewiesen werden.

Ferner wird die Mikrobiota des Darmes durch das Vorhandensein der NSP im Futter beeinflusst. Insofern, dass ganz allgemein betrachtet bestimmte Keimgruppen gefördert und andere zurückgedrängt werden. Ein hoher Gehalt an (1,3-1,4)- $\beta$ -D-Glucanen beispielsweise stimuliert die Entwicklung von Lactobacillen im Darm (Bach Knudsen und Canibe 2000). Lösliche NSP werden bereits im vorderen Teil des Verdauungstraktes hydrolysiert, während die dabei entstehenden Spaltprodukte (Oligomere) weiter distal, also im Dickdarm fermentiert werden (Duda 2004; Rerat 1981). Die Fermentation von  $\beta$ -Glucanen im Dickdarm resultiert in der Produktion von freien Fettsäuren und Lactat (Montagne *et al.* 2003). Die daraus resultierende Absenkung des pH-Wertes im Gastrointestinaltrakt führt zu ungünstigen

Bedingungen für die Proliferation pathogener Keime wie *E.coli* (Thomlinson und Lawrence 1981) und ist daher für den Wirt als günstig zu beurteilen.

Des Weiteren wird die Morphologie des Magen-Darmtraktes infolge NSP-reicher Fütterung in der Art beeinflusst, dass u.a. Leergewicht und Länge zunehmen. *Jørgensen et al.* (1996) berichten von höheren Gewichten von Magen, Blinddarm und Colon sowie längerem Colon bei Schweinen, die mit faserreichen Diäten gefüttert werden im Vergleich zu Tieren mit NSP-ärmerer Fütterung. *Jin et al.* (1994) können in ihrer Studie derartige Größen- bzw. Gewichtszunahmen des Gastrointestinaltraktes nicht bestätigen. Sie betonen in diesem Zusammenhang aber, dass die Tiere in ihrer Studie nur über einen kurzen Zeitraum mit einer faserreichen Diät gefüttert worden sind. Damit spielen sie auf die von anderen Autoren für die Beurteilung solcher Ergebnisse als notwendig beschriebene Adaptationszeit an (*Bakker et al.* 1998). Andererseits können sie in ihrer Studie einen gesteigerten „Zellturnover“, breitere Darmzotten und tiefere Krypten in Jejunum, Ileum und Colon nachweisen und somit den Einfluss faserreicher Fütterung auf die Darmmorphologie eindeutig belegen.

*Simon* (1998) berichtet in diesem Zusammenhang, in Anlehnung an eigene Untersuchungen, dass Veränderungen der relativen Masse und Länge des Verdauungstraktes beim Broiler mit der Viskosität im vorderen Verdauungstrakt zusammenhängen. Es kann nachgewiesen werden, dass zwischen der Viskosität im Jejunum und der relativen Darmmasse eine positive Korrelation besteht. Ähnliche Korrelationskoeffizienten ergaben sich zur gesamten Darmlänge und der Gesamtmasse des Verdauungstraktes. Seinen Untersuchungen zufolge kann man annehmen, dass die relative Darmmasse eine Funktion der Digestivviskosität ist. Ferner wurde beobachtet, dass bei erhöhter relativer Masse des Verdauungstraktes der Proteingehalt nicht verändert war, was bedeutet, dass die relative Proteinmenge des Verdauungstraktes proportional mit der relativen Gewebemasse steigt. Die mit dieser gesteigerten Gewebemasse des Verdauungstraktes einhergehende höhere relative Menge synthetisierten Proteins führt schließlich zu einer zusätzlichen Wärmeproduktion, die wiederum eine Mehrbelastung des Energieumsatzes durch Proteinturnover bedeutet, ohne Auswirkungen auf den eigentlichen Muskelproteinansatz des Tieres.

Auch die Anzahl der schleimproduzierenden Becherzellen im Epithel der Darmschleimhaut kann steigen, was zur Folge hat, dass durch die gesteigerte Mucinproduktion die Kontaktfläche zum Nahrungsbrei an der Mucosa, die sogenannte „unstirred-water-layer“, dicker wird und die Absorption insbesondere der fettlöslichen Nährstoffe sinken kann (*Schneeman et al.* 1982).

Andererseits bietet die Schleimschicht an der luminalen Darmwand einen Schutz vor Infektionen sowie vor physikalisch, chemisch und enzymatisch bedingten Schädigungen. Dafür muss die Schleimschicht quantitativ (Dicke) wie qualitativ (Fähigkeit Bakterien zu binden) intakt sein. Man weiß, vorwiegend aus Untersuchungen an Ratten, dass faserreiche Diäten einen vielgestaltigen Einfluss auf die Mucinschicht haben. Es wird nicht nur die Mucin-Zusammensetzung selbst beeinflusst, sondern unter faserreicher Fütterung kann auch eine vermehrte Abnutzung der Mucinschicht beobachtet werden. Dem wird aber gleichzeitig durch vermehrte Schleimsekretion durch die Becherzellen der Darmschleimhaut entgegengewirkt. Die Modifikation der Schleimzusammensetzung führt möglicherweise zu einer veränderten Zusammensetzung der Mikrobiota. Einige Bakterien haben die Eigenschaft, direkt an die Schleimschicht gebunden zu sein. Diese Bindung von Bakterien an den Schleim kann sich für das Tier günstig oder auch schädlich auswirken. Dies hängt davon ab, ob die Mucinschicht als Barriere durch Fixation pathogener Bakterien fungiert oder ob sie bestimmten Erregern erst die Kolonisation erleichtert durch deren Bindung. Diese veränderten Gegebenheiten könnten schließlich zu einer veränderten Konkurrenzsituation zwischen der kommensalen und der pathogenen Mikroflora führen (Montagne *et al.* 2003).

Die Auswirkungen von Faserstoffen auf die Morphologie der Darmepithelien und die Zellerneuerungsrate sind variabel und hängen in hohem Maße von den physiko-chemischen Eigenschaften der NSP, der Dauer der Fütterung (Adaptationszeit), der Tierart, dem Alter (Bedford 1995) der Tiere und dem Abschnitt des Verdauungstraktes ab (Montagne *et al.* 2003). Ein Kriterium für die Einschätzung der Verdauungskapazität des Dünndarmes ist das Verhältnis aus Darmzottenlänge zur Kryptentiefe. Eine Abnahme dieses Verhältnisses kann als nachteilig für Verdauung und Absorption betrachtet werden (Montagne *et al.* 2003). McDonald *et al.* (2001) können in ihrer Studie beobachten, dass die Zulage von hochvisköser Carboxymethylcellulose (CMC) zu einer Diät für Absetzferkel, basierend auf tierischem Protein und gekochtem Reis, zu einer abnehmenden Darmzottenlänge bei steigender Kryptentiefe führt.

Der Einfluss der NSP auf das Auftreten der durch *Serpulina hyodysenteriae* ausgelösten Schweinedysenterie wird sehr kontrovers diskutiert. Während australische Studien belegen, dass Diäten mit hohen Anteilen löslicher NSP und unverdaulicher Stärke die Ausbildung der Schweinedysenterie durch gesteigerte Fermentation begünstigen, kann dies in Dänischen Studien nicht reproduziert werden (Bach Knudsen 2001a; Durmic *et al.* 2002; Durmic *et al.* 1998).

Bei der bei Absatzferkeln vorkommenden PWC (post-weaning colibacillosis, Coli-Enterotoxämie oder Ödemkrankheit der Ferkel), hervorgerufen durch enterotoxinbildende *E.coli*, verhält es sich auf den ersten Blick ähnlich widersprüchlich. Bei dieser Erkrankung handelt es sich um eine multifaktoriell bedingte, schwere sekretorische Diarrhoe. Es ist angenommen worden, dass die Zulage von einigen faserreichen Stoffen zu Diäten für Absatzferkel zu reduziertem Auftreten und weniger schwerem Verlauf der PWC führt (Montagne *et al.* 2003). Fasern von Hafer, Weizen und Gerste sollen angeblich eine protektive Wirkung gegen die Proliferation von *E. coli* und das Auftreten der PWC beim Ferkel haben (Armstrong und Cline 1976; Bertschinger und Eggenberger 1978; Palmer und Hulland 1965; Smith und Halls 1968; Thomlinson und Lawrence 1981). Aber dies ist, wenn man es so allgemein formuliert nur bedingt richtig, weil die protektive Wirkung stark abhängig ist von dem Teil des Getreidekorns, welcher verfüttert wird.

*Hopwood et al.* (2002; 2004) können in ihren Studien zeigen, dass sich das Vorhandensein löslicher Faserstoffe in Diäten für Absatzferkel schädlich auswirkt. Zulage löslicher, viskositätssteigernder Carboxymethylcellulose oder Gerstengraupen führte zur Vermehrung von enterotoxischen *Escherichia coli* Stämmen im Dünndarm bzw. gehäuftem Auftreten von Durchfall. Die Tiere wurden in dieser Studie auf Basis einer Reisdiät mit Zusatz von CMC bzw. Gerstengraupen zur Steigerung der Digestivviskosität gefüttert. Von CMC, einem wasserlöslichen, synthetischen Polysaccharid, ist bekannt, dass es die Viskosität der Digesta steigert. Es wird durch die Mikrobiota des Dünndarmes kaum, im Colon hingegen recht gut fermentiert.

Bei Infektionen mit enterotoxischen *E. coli* kommt es u.a. deshalb zu solch schweren, wässrigen Durchfällen, weil die von diesen Erregern produzierten Endotoxine in der Lage sind, sich an die Enterozyten zu heften und dort die Synthese cyclischen Adenosinmonophosphates (cAMP) stimulieren. Das so vermehrt entstehende cAMP vermittelt seinerseits den Transfer von Wasser und Elektrolyten ins Darmlumen und führt so zu einer sogenannten sekretorischen Diarrhoe. Von Reis weiß man, dass er diese „sekretorische Antwort“ der Enterozyten auf das cAMP blockiert; zudem ist Reis arm an Faserstoffen. Deshalb wird in den Studien von *Hopwood et al.* (2002; 2004) Reis als Rationsgrundlage ausgewählt.

Während man die Verfütterung löslicher Fasern als prädisponierenden Faktor für das Auftreten der PWC betrachten kann, wird unlöslichen Faserstoffen hingegen sogar eine den Krankheitsverlauf der PWC mildernde Eigenschaft zugesprochen (Bertschinger und Eggenberger 1978). Nun ist aber die Verfütterung von Diäten mit einem hohen Anteil an

## Literaturübersicht

unlöslichen NSP an Absetzferkel keinesfalls empfehlenswert, weil die übrigen antinutritiven Effekte der NSP zu einer unerwünschten Leistungsdepression mit geringeren Gewichtszunahmen führen würden.

Abschließend seien noch einige allgemeine -positive wie negative- Auswirkungen faserreicher Diäten erwähnt:

- Faserreiche Futtermittelkomponenten sind vergleichsweise preiswert (Bakker *et al.* 1998).
- Eine gesteigerte Futteraufnahme bei faserreicher Diät aufgrund des vergleichsweise niedrigen Energiegehaltes reduziert stereotypes Verhalten bzw. Verhaltensstörungen wie z.B. Kannibalismus oder Stangenbeißen bei den Tieren, weil sie länger damit beschäftigt sind, zu fressen (Schnippe 2003).
- Des weiteren treten weniger streßbedingte Erkrankungen wie z.B. Magengeschwüre auf (Friendship 2003).
- Eine Reduktion der Stickstoffausscheidung mit dem Harn ist ebenso zu verzeichnen wie die potentielle Behinderung der Kolonisation pathogener Bakterien durch Absenkung des pH-Wertes im Darm (Prohaszka 1986)
- Der gesteigerte Anfall von Dung und Nebenprodukten bei der Schlachtung ist hingegen ein nachteiliger Effekt NSP-reicher Fütterung. (Infolge längerfristiger Fütterung NSP-reicher Diäten erfahren Magen, Blind- und Dickdarm eine Längen- und Gewichtszunahme.)

## 2.5 Einsatz von NSP-spaltenden Enzymen als Futterzusatzstoffe

In Diäten für Mastgeflügel und Ferkel setzt man Nicht-Stärke-Polysaccharid-hydrolysierende Enzyme in Form von Xylanasen und  $\beta$ -Glucanasen ein. Bei Gerste- bzw. Hafer-betonten Diäten kommen in erster Linie  $\beta$ -Glucanasen zum Einsatz (Graham *et al.* 1989), bei Weizen- bzw. Roggen-betonten Rationen hingegen eher Xylanasen (Steenfeldt und Pettersson 2001) sowie Enzympräparate, welche beide Enzymaktivitäten enthalten (Haberer *et al.* 1998).

Allgemein betrachtet, besteht der Gesamteffekt der NSP-hydrolysierenden Enzyme in einer Verbesserung von Leistungsparametern wie Lebendmassezunahme und Futteraufwand, einem verminderten Auftreten klebriger Exkreme (Annison 1992) sowie einer Erhöhung der umsetzbaren Energie des Getreides. Kurz gesagt, ist das Ziel der Supplementation der Futtermittel mit den NSP-hydrolysierenden Enzymen die Eliminierung oder zumindest Abschwächung der im vorigen Abschnitt ausführlich beschriebenen antinutritiven Effekte der NSP.

Die strukturelle Komplexität der NSP bedingt, dass sie, wie bereits mehrfach erwähnt, sehr unterschiedliche physiko-chemische Eigenschaften besitzen. Deshalb ist eine genauere Betrachtung der einzelnen Fraktionen der NSP hinsichtlich ihres Löslichkeitsverhaltens für die Beurteilung der Wirkung NSP-hydrolysierender Enzyme von großer Bedeutung. Leider wird die NSP-Analytik bei zahlreichen Studien vernachlässigt.

Außerdem ist die Wirkung NSP-spaltender Enzyme abhängig von deren Quelle und Aktivität (Vahjen *et al.* 1997).

Bei Untersuchungen zu den Auswirkungen des Enzymeinsatzes auf die Mikrobiota des Verdauungstraktes und insbesondere bei der Betrachtung und Interpretation dieser Ergebnisse darf man niemals außer Acht lassen, dass die Aussagekraft hinsichtlich der vorkommenden Bakterien und der Zellzahl in sehr hohem Maße von der Verwendung adäquater Kultivierungsbedingungen abhängt (Allison 1989). So sind auch die häufig widersprüchlichen Darstellungen zu den in bestimmten Darmabschnitten vorherrschenden Bakterienpopulationen zu erklären. Es lassen sich nur diejenigen Bakterien nachweisen, welche man in der Lage ist, zu kultivieren bzw. welche man mit Hilfe molekularbiologischer Methoden erfassen kann. Die Verschiedenheit dieser Untersuchungs- und Nachweismethoden führt wiederum dazu, dass man die Ergebnisse nicht direkt miteinander vergleichen kann.

Abschließend seien der Übersichtlichkeit halber nocheinmal die möglichen Wirkungsebenen der NSP-spaltenden Enzyme nach *Simon* (1998) zusammengefaßt:

Der partielle Abbau sowohl der löslichen als auch der unlöslichen NSP im vorderen Verdauungstrakt führt im Falle der löslichen NSP zu einer Absenkung der Digestaviskosität, im Falle der unlöslichen NSP, die dadurch in eine löslichere Form überführt werden, zu einer Aufweichung des sogenannten „Käfigeffektes“. Diese beiden Effekte vermitteln auch noch nach derzeitigem Kenntnisstand den positiven (Haupt-) Effekt der NSP-spaltenden Enzyme. Die Viskositätssenkung im vorderen Verdauungstrakt hat zur Folge, dass die Diffusion von Substraten und Enzymen erleichtert wird und eine bessere Durchmischung der Digesta mit den Verdauungsenzymen erfolgt. Dadurch steigt die praecaecale Nährstoffverdaulichkeit.

Des weiteren führt die unter Supplementation mit NSP-hydrolysierenden Enzymen gesenkte Digestaviskosität zu einer vergleichsweise geringeren Darmmasse, denn die relative Darmmasse ist eine Funktion der Digestaviskosität. Diese morphologisch-histologischen Veränderungen des Verdauungstraktes haben einen reduzierten Protein- und Energieumsatz dieser Gewebe zur Folge, was zu einer verminderten Produktion von Wärme führt.

Darüber hinaus wirkt sich die Viskositätssenkung auf die intestinale Mikrobiota über folgende mögliche Effekte aus (*Simon* 1998):

### *1. Beschleunigte Digestapassage:*

Benachteiligung von Mikroorganismen mit langen Generationszeiten, infolge Verkürzung der Wachstumsphase luminaler Keime

### *2. Verbesserte praecaecale Nährstoffresorption bzw. Verlagerung der Nährstoffresorption cranialwärts*

Dies hat ein vermindertes Angebot leicht verfügbarer Nährstoffe (insbesondere Energielieferanten) für die Mikroorganismen zum Dünndarmende hin zur Folge.

### *3. Reduzierte Darmlänge*

Geringere Gesamtkeimzahl im Verdauungstrakt, weil der luminale und wandassoziierte Besiedelungsraum für die Mikroorganismen kleiner wird.

### *4. Verminderte Viskosität selbst und Mucinbildung*

Infolge veränderter Anheftungs- und Assoziationsbedingungen wäre eine Veränderung des Artenspektrums denkbar.

Auch unabhängig von der im Darmlumen vorherrschenden Viskosität kann die intestinale Mikrobiota durch NSP-spaltende Enzyme beeinflusst werden (Simon 1998). Durch Solubilisierung unlöslicher NSP und Abbau löslicher NSP zu kleineren Molekülen, kann zum Dünndarmende hin eine Bereitstellung leichter abbaubarer Substrate für „NSP-Spezialisten“ erfolgen. Darüber hinaus könnten auch Endprodukte des NSP-Abbaus (Monomere) entstehen, die dann auch von nicht auf den NSP-Abbau spezialisierten Mikroorganismen als Energiequelle genutzt werden könnten.

Unabhängig davon kann die intestinale Mikrobiota durch Produktion von Gallensäurehydrolasen die Dekonjugation von Gallensalzen hervorrufen und dadurch die Fettresorption im Dünndarm negativ beeinflussen.

## 2.6 NSP-hydrolysierende Enzyme, Fettverdauung und bakterielle Gallensäurehydrolasen

Gallensäuren werden in der Leber aus Cholesterol synthetisiert, an Taurin oder Glycin gebunden (konjugiert) und anschließend in der Gallenblase gespeichert, um im Bedarfsfall ins Duodenum abgegeben zu werden. In dieser konjugierten Form dienen die Gallensalze der Emulgierung von Fetten im Verdauungstrakt und sind essentiell für die zur Fettverdauung notwendige Micellenbildung (Dusel 1998).

Konjugierte Gallensäuren sind jedoch infolge ihrer emulgierenden Wirkung schädlich für die Mikroben des Verdauungstraktes und sie wirken bakterizid. Einige Mikroorganismen, wie z.B. *Clostridium perfringens*, verschiedene Streptokokken, Bifidobakterien, Lactobacillen sowie Bacteroides- und Eubacteriumarten (Christiaens *et al.* 1992; Coates *et al.* 1981; Cole und Fuller 1984; Coleman und Hudson 1995; Gilliland und Speck 1977; Hylemon 1985; Masuda 1981), haben dagegen aber einen Abwehrmechanismus entwickelt, in dem sie sogenannte Gallensäurehydrolasen bilden (Feighner und Dashkevicz 1987, 1988). Sie dekonjugieren und dehydroxylieren die Gallensäuren und heben damit sowohl deren bakterizide als auch deren emulgierende Wirkung auf oder schwächen diese Wirkungen zumindest erheblich ab. Dadurch können diese Mikroorganismen die Micellenbildung und Fettabsorption einschränken.

Durch Zulage von Weizenpentosanen zu einer NSP-armen Kontrolldiät beobachten Choct und Annison (1992b) schlechtere praecaecale Verdaulichkeiten von Stärke, Stickstoff und Fetten. Die Fettverdaulichkeit ist im Vergleich zur Kontrollgruppe um 26 % erniedrigt. Viele Untersuchungen zeigen, dass insbesondere bei Einsatz von Talg die leistungsmindernden Eigenschaften der NSP besonders ausgeprägt sind (Choct und Annison 1992b; Dänicke *et al.* 1999a; Dänicke *et al.* 1997). Eine Ursache dafür könnte der, im Vergleich zu anderen

Fettquellen, hohe Schmelzpunkt von Talg sein mit seinen langkettigen, gesättigten Fettsäuren (Ward und Marquardt 1983) und die daraus resultierende schlechtere Durchmischung der Digesta.

In Untersuchungen am Broiler von *Hübener* (2001) wurde belegt, dass Gallensäuredekonjugierende Mikroorganismen durch Xylanasezusatz zum Futter zurückgedrängt werden. Damit ist der positive Effekt von Xylanasen auf die Fettverdaulichkeit zumindest beim Geflügel erklärbar. Ob man beim Schwein ähnliche Beobachtungen machen kann, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Außerdem ist es wichtig, in diesem Zusammenhang zu erwähnen, dass insbesondere die Verdaulichkeit der Fette, weniger die anderer Nährstoffe, durch entsprechende Enzymzulagen zu den Diäten zwar verbessert werden kann, die Höhe dieses Effektes aber entscheidend durch die Art der in der Diät eingesetzten Fette abhängt. *Dänicke et al.* (1999b) setzten in einer Studie mit Broilern Sojaöl bzw. Talg als Fettquelle ein und supplementierten die Diät jeweils mit einer Xylanase bzw. ließen den Enzymzusatz weg. Sowohl das Lebendgewicht der mit Sojaöl gefütterten Broiler als auch das der enzymsupplementierten Tiere war signifikant höher als das der Tiere, die mit Talg oder ohne Enzymzusatz ernährt worden waren. Die Zulage der Xylanase zu der „Soja“- bzw. „Talg“-Diät führte im proximalen Verdauungsabschnitt zu einer signifikanten Verringerung der Enterobakterien bzw. der Gesamtzahl der Anaerobier und zu einer Verringerung der grampositiven Kokken und Enterokokken. Bei den Tieren mit der „Talg-Diät“ war die Zahl der grampositiven Kokken und Enterokokken hingegen signifikant erhöht. Dies zeigt, dass sowohl die Xylanase als auch die „Futterfette“ mit der Mikrobiota des Darmes interagieren. Hierbei spielt die Beeinflussung der Verweildauer der Digesta im Verdauungstrakt ebenso eine Rolle, wie die Zusammensetzung der Fette hinsichtlich des Fettsäuremusters und den damit verbundenen Auswirkungen zum Beispiel auf den pH-Wert im Darm.

### 2.7 Mikrobielle Besiedelung des Verdauungstraktes beim Schwein

Der vordere Verdauungstrakt (Magen und Dünndarm) des monogastrischen Schweines ist von einer Mikrobiota besiedelt, welche von Lactobacillen, meist *Lactobacillus* und *Streptococcus*, dominiert wird. Beide Gattungen sind sowohl in den Digesta als auch darmwandassoziiert nachzuweisen. Die drüsenfreie *Pars oesophagea* im Magen des Schweines ist dicht mit Lactobacillen besiedelt (*Fuller et al.* 1977).

Das Duodenum und das proximale Jejunum sind, im Vergleich zum distalen Darmtrakt, relativ keimarm. Zum Ileum hin steigen die Keimzahlen allmählich an, um im Caecum und

Colon vergleichsweise hohe Werte mit bis zu  $10^{11}$  Keimen pro Gramm Darminhalt zu erreichen. Hier dominieren strikte Anaerobier wie zum Beispiel Angehörige der Gattung *Bacteroides* (Amsberg 1984).

Die Mikrobiota des Darmes stellt eine Lebensgemeinschaft von Mikroorganismen dar, die sich im Idealfall in einem ausgewogenen Gleichgewicht zueinander befinden (*Eubiose*). Dieses Gleichgewicht unterliegt komplexen Regulationsvorgängen, die einerseits vom Wirtsorganismus selbst ausgehen (allogene Faktoren), andererseits aber auch durch die Interaktionen zwischen den im Darm vorkommenden Bakterien (autogene Faktoren) beeinflusst werden. Einen Überblick hinsichtlich dieser Faktoren liefert die Tabelle 3:

**Tabelle 3:** Faktoren, die nach *Fuller* (1980) und *Savage* (1980) regulierend auf die Zusammensetzung der Mikrobiota wirken

<b>Faktoren</b>	<b>Wirtsorganismus (allogen)</b>	<b>Darmflora (autogen)</b>
<i>Verfügbare Nährstoffe</i>	+	+
<i>Konkurrenz um Nährstoffe</i>	+	+
<i>pH-Wert</i>	+	+
<i>Redoxpotential</i>	+	+
<i>Gallensäuren</i>	+	+
<i>Peristaltik</i>	+	
<i>Temperatur</i>	+	
<i>Turnover der Epithelzellen</i>	+	
<i>Antikörper</i>	+	
<i>Phagozytose</i>	+	
<i>Muzin</i>	+	
<i>Lysozym</i>	+	
<i>langkettige Fettsäuren</i>	+	
<i>kurzkettige Fettsäuren</i>		+
<i>Schwefelwasserstoff</i>		+
<i>Bacteriocine</i>		+
<i>Bacteriophagen</i>		+

## Literaturübersicht

Die Zusammensetzung der Mikrobiota wird maßgeblich durch die Konkurrenz um die verfügbaren Nährstoffe beeinflusst. Die bei der Verdauung von Nährstoffen anfallenden Abbau- und Zwischenprodukte beeinflussen die Vermehrung der Bakterien im Darm ganz entscheidend. Werden beispielsweise durch den Einsatz NSP-hydrolysierender Enzyme, lange NSP-Polymere hydrolytisch in immer kürzere Ketten gespalten, so ist vorstellbar, dass dadurch diejenigen Bakterienarten gefördert werden, welche in der Lage sind, diese Spaltprodukte zu verwerten.

Ist der oben erwähnte Gleichgewichtszustand gestört, so spricht man von einer *Dysbiose* (Gedek 1984). Allerdings sind die Übergänge fließend und daher nur schwer abgrenzbar bzw. definierbar. Deshalb sollte man die Begriffe *Eubiose* und *Dysbiose* nur sehr zurückhaltend verwenden bzw. lediglich die sich dahinter „verbergenden“ Zustände zu umschreiben versuchen. Eine *Dysbiose*, oder besser formuliert ein gestörtes Gleichgewicht innerhalb der Mikrobiota, muss nicht zwangsläufig mit dem Auftreten von pathogenen Keimen vergesellschaftet sein. Oft begünstigt das Vorliegen eines gestörten Gleichgewichtes aber zumindest die Ansiedelung enteropathogener Keime.

Andererseits übt eine im Gleichgewicht befindliche Mikrobiota eine gewisse Schutzfunktion aus, indem sie die Vermehrung enteropathogener Erreger hemmt. Wichtig in diesem Zusammenhang ist aber, dass auch dieser Zustand für das Wirtstier eine Belastung darstellt. In vergleichenden Untersuchungen mit keimfreien Tieren kann man beobachten, dass der Keimbesatz des Darmes mit einer Zunahme der Darmwanddicke, einer erhöhten Zellerneuerungsrate im Magen-Darm-Trakt und einer vermehrten IgA-Produktion einhergeht (Abrams *et al.* 1963; March 1979; Visek 1978). Dies führt zu einem Verlust an Energie und einer verminderten Resorption von Nährstoffen und dadurch zu einem langsameren Wachstum im Vergleich zu keimfreien Tieren und verdeutlicht einmal mehr wie problematisch die Begrifflichkeiten der *Eubiose* bzw. *Dysbiose* sind.

Man differenziert bei der Magen-Darm-Mikrobiota die sogenannten residenten Bakterienarten wie zum Beispiel *Lactobacillus sp.*, *Bacteroides sp.*, *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli* und *Clostridium sp.* von den sogenannten transienten Bakterienarten wie zum Beispiel *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas sp.* und *Proteus sp.*. Während die residenten Bakterienarten hervorragend an das Wirtstier bzw. den Makroorganismus angepasst sind, gelingt es den transienten Bakterien nicht, für längere Zeit im Darm zu verweilen. Sie stammen meist aus der Umgebung (Nahrung, Wasser, Luft, Boden), besiedeln den Darmkanal nur vorübergehend und werden schließlich wieder ausgeschieden. Dies verdeutlicht, dass die Mikrobiota ständigen Umwandlungen unterworfen ist. Wichtig in diesem Zusammenhang ist

ferner, dass die Mehrheit der im Magen-Darm-Kanal vorkommenden Bakterien nach *Leser et al.* (2002) bisher nicht charakterisiert worden ist. Die Interaktionen innerhalb der Mikrobiota und auch die Wechselwirkungen zwischen den Mikroben und dem Wirt sind zudem multifaktoriell und komplex (Allison 1989).

Die entscheidende Voraussetzung für die Ansiedelung von Bakterien im Gastrointestinaltrakt des Wirtstieres ist zum einen, dass der Verdauungstrakt über die Verbindung der Maulhöhle mit der Außenwelt ein offenes System darstellt und zum anderen, dass die Bakterien ein geeignetes Milieu bzw. eine geeignete Nische vorfinden, die sie besetzen können. Von *Freter* (1992) werden vier verschiedene Habitate bzw. Mikrohabitate im Gastrointestinaltrakt beschrieben:

- Oberfläche der Epithelzellen
- Schleimschicht des Darmes
- Darmlumen
- Schleim in den Krypten

Diese Mikrohabitate werden noch weiter unterteilt. Die Oberfläche der Epithelzellen weist, unter anderem zwecks Oberflächenvergrößerung, sogenannte Mikrovilli und eine Schleimschicht auf. Bakterien, die sich an der Epithelzelloberfläche ansiedeln, müssen in der Lage sein, sich mittels Rezeptoren an diese anzuheften, um vom Weitertransport mit der Digesta verschont zu bleiben. Der Schleim, welcher der gesamten inneren Oberfläche des Gastrointestinaltraktes anhaftet, wird von den sogenannten Becherzellen gebildet. Der Mucus hat, zusammen mit den dort anhaftenden Bakterien und deren Stoffwechselaktivität, eine Barrierefunktion und stellt somit eine Schutzschicht gegenüber von außen eindringenden, möglicherweise pathogenen Erregern dar (Gedek 1986). Man vermutet, dass hier vor allem bewegliche Keime einen geeigneten Lebensraum vorfinden. Allerdings müssen diese Bakterien beweglich genug sein, um dem stetigen Schleimfluß standzuhalten (Lee 1985). Im Schleim der Darmkrypten halten sich spiralförmige, bewegliche Bakterienarten auf. Sie besitzen die Fähigkeit zur Chemotaxis in Richtung Epithelzelle und sind dadurch vor dem Abtransport mit dem Mucus geschützt (Harris und Kinyon 1974). Wegen der vergleichsweise schnelleren Passage der Digesta im vorderen Darmabschnitt, ist die Mikrobiota des Dünndarmes teilweise an die Oberfläche der Epithelzellen oder die Schleimschicht assoziiert, während im Dickdarmbereich eher das Lumen als Lebensraum für die Bakterien fungiert (Roze *et al.* 1982; Savage 1977; Savage *et al.* 1968).

### 2.8 Besonderheiten des Verdauungstraktes beim Ferkel

Der Aufschluß der Nahrung erfolgt beim Ferkel enzymatisch. Die Verwertbarkeit und auch Verträglichkeit der Nährstoffe ist deshalb stark abhängig von der Reife der intestinalen Enzymsysteme. Diese entwickeln erst etwa nach der sechsten Lebenswoche ihre volle Aktivität. Zuvor ist der Verdauungstrakt des Ferkels auf die Verdauung von Sauenmilch ausgerichtet und besitzt zu diesem Zweck eine hohe Lactaseaktivität (Kirchgeßner 1997).

Auch die Salzsäuresekretion im Magen fehlt beim Saugferkel fast völlig und ist erst etwa im Alter von neun Lebenswochen mit der adulter Tiere vergleichbar. Dies bedingt, dass beim Saugferkel die Fähigkeit zur Verdauung milchfremder Proteine stark eingeschränkt ist, weil die für die Proteinverdauung notwendige Umwandlung bzw. Aktivierung von Pepsinogenen zu Pepsin nur in geringem Ausmaß stattfindet. Beim Saugferkel erfolgt die Magensäuerung nämlich nur auf Grundlage der Milchsäurebildung durch Lactobazillen aus der Lactose der Sauenmilch. Die Ferkel nehmen diese Lactobacillen und auch andere Keime von der Muttersau, deren Kot und aus der Umgebung auf (Savage 1977). Die Besiedelung des Verdauungstraktes des Ferkels mit Bakterien beginnt demzufolge erst nach der Geburt. Das ungeborene Ferkel kann man als keimfrei betrachten. Erst durch den Geburtsvorgang und den Kontakt mit Muttertier und Umwelt werden beträchtliche Mengen an Keimen durch das Ferkel oral aufgenommen (Amtsberg 1984; Pluske *et al.* 1999; Tannock *et al.* 1990).

Der vergleichsweise hohe pH-Wert im Magen des Ferkels kann auch zu einer verstärkten mikrobiellen Besiedelung mit unerwünschten, pathogenen Keimen führen. Daraus wird verständlich, dass die Ferkel nach dem Absetzen von der Muttersau besonders anfällig für Verdauungsstörungen sind. Denn mit dem Absetzen der Ferkel versiegt auch die den Lactobazillen als Nahrungsquelle dienende Milch- bzw. Lactosezufuhr. Die demzufolge zurückgehende Milchsäurefermentation führt zum Anstieg des pH-Wertes im Magen, da die nun langsam verstärkt einsetzende Salzsäuresekretion noch nicht voll ausgebildet ist (Kirchgeßner 1997).

Ähnlich wie mit den Verhältnissen im Magen des Ferkels, verhält es sich auch mit der Mikrobiota des Darmtraktes. In den ersten Lebensmonaten kommt es zu permanenten Veränderungen sowohl der Bakterienspecies als auch der Bakteriendichte im Verdauungstrakt wachsender Schweine (Mul und Perry 1994). Besonders in der Absetzphase ist die Mikrobiota noch sehr instabil und nicht voll adaptiert an die sich nun ändernden Verhältnisse bzw. Anforderungen. Mit zunehmendem Alter stabilisiert sich die Zusammensetzung der Darmflora (Savage 1977), wobei es zur Ausbildung einer individuellen, faecalen Mikrobeipopulation kommt (Zoetendal *et al.* 1998).

## 2.9 Charakterisierung der in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Enzympräparate

Im Folgenden soll näher auf die Charakteristika der in dieser Arbeit verwendeten Enzympräparate *Ronozyme WW* und *Roxazyme G2* (DSM Nutritional Products Germany, Grenzach-Wyhlen, Germany) eingegangen werden.

### 2.9.1 Enzymaktivitäten von *Roxazyme G2* und *Ronozyme WX*

*Roxazyme G2* ist ein nahezu geruchloses Granulat. Es enthält vom Pilz *Trichoderma longibrachiatum* abgeleitete und mit Ligninsulfonat und Calciumsulfat-Dihydrat stabilisierte Enzyme.

Dieses Multienzympräparat weist drei Hauptaktivitäten auf:

Endo-(1,4)- $\beta$ -Glucanase (EC 3.2.1.4.)

Endo-(1,3-1,4)- $\beta$ -Glucanase (EC 3.2.1.6.)

Endo-(1,4)- $\beta$ -Xylanase (EC 3.2.1.8) (Roche 2001b)

Aktivitäten von *Roxazyme G2* mit unterschiedlichen Substraten (Multienzympräparat):

<b>Substrat</b>	<b>IE/g</b>
(1,4)- $\beta$ -Arabinoxylan	3000
(1,3-1,4)- $\beta$ -Glucan	2800
(1,4)- $\beta$ -Arabinogalactan (Kartoffel)	140
(1,4)- $\beta$ -Galactomannan	190
(1,3)- $\beta$ -Pachyman	90
(1,4)- $\beta$ -Arabinogalactan (Lärche)	90
(1,4)- $\beta$ -Polygalacturonsäure	100
(1,4)- $\beta$ -Carboxymethylcellulose	160

*Roxazyme G2* ist bei Raumtemperatur stabil, kann jedoch durch Feuchtigkeit und Wärme, insbesondere beim Pelletiervorgang und auch bei der Lagerung beeinträchtigt werden (Roche 2001b).

Das Granulat *Ronozyme WX* hingegen enthält nur eine Enzymart. Eine „Endo“- (1,4)- $\beta$ -Xylanase (EC-Nr.: 3.2.1.8.), welche von *Thermomyces lanuginosus ssp.* stammt. Somit

handelt es sich um ein sogenanntes Monoenzympräparat. Die Aktivität liegt bei etwa 3600 IE/g Ausgangssubstanz mit (1,4)- $\beta$ -Arabinoxylan als Substrat. Ein spezielles Coating-Verfahren, bei dem das Präparat mit einer Fettschicht ummantelt wird, macht dieses Enzympräparat vergleichsweise widerstandsfähig gegenüber thermischen und mechanischen Einwirkungen (Roche 2001a; Schuster 2003).

### 2.9.2 Beschreibung der eingesetzten Enzympräparate bezüglich Temperaturoptimum und –stabilität sowie pH-Optimum

Die Hauptaktivität der (1,3-1,4)- $\beta$ -Glucanase vom Multienzympräparat *Roxazyme G2* liegt nach *Schuster* bei 60°C, während die Hauptaktivität der (1,4)- $\beta$ -Arabinoxylanase bei 50°C angesiedelt ist.

Bedingt durch eine Körpertemperatur beim Schwein von etwa 39 °C, liegen beim Einsatz dieser Futterzusatzstoffe keine optimalen Temperaturbedingungen für die Wirkung der Enzyme vor, so dass sie im Tier niemals ihre volle mögliche Wirkung entfalten können werden (Schuster 2003).

Hinsichtlich der Temperaturstabilität der beiden Enzympräparate ist zu sagen, dass die Xylanase von *Ronozyme WX* die beste Temperaturstabilität aufweist. Nach 5 min Hitzeeinwirkung von 80°C sind nach Untersuchungen von *Schuster* (2003) noch rund 86% der Xylanaseaktivität nachweisbar. Allerdings war das Enzym nach 10 min bereits inaktiviert. Bei dem Multienzympräparat *Roxazyme G2* zeigte die Glucanase eine bessere Thermostabilität als die Xylanase (Hauptaktivitäten). Nach fünfminütiger Einwirkung von 80°C waren noch etwa 73% Aktivität zu verzeichnen.

Die pH-Optima beider Enzympräparate liegen im sauren Bereich. Die Xylanase von *Ronozyme WX* besitzt im pH-Bereich zwischen 3,5 und 6,5 noch eine Aktivität von 90% und darüber. Das Maximum liegt bei pH 4,5. Die (1,4)- $\beta$ -Arabinoxylanase, als eine der Hauptaktivitäten des *Roxazyme G2*, hat in einem pH-Bereich zwischen 3,5 und 5,5 noch über 80% Enzymaktivität. Das Maximum liegt für dieses Enzym ebenfalls bei pH 4,5 (Schuster 2003).