

Aus dem  
Veterinärwissenschaftlichen Department  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Ellen Kienzle

**Einfluss von Seltenen Erden auf die  
scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe  
bei wachsenden Ratten**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

von  
Thomas Kroth  
aus Obernburg

München 2011

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Kienzle
Korreferent/ en:	Univ.-Prof. Dr. Aigner Prof. Dr. Knospe

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

*Für meine Netti*

**INHALTSVERZEICHNIS**

INHALTSVERZEICHNIS.....	IV
TABELLENVERZEICHNIS.....	VII
ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	IX
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	X
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT.....</b>	<b>2</b>
2.1 LEISTUNGSFÖRDERER .....	2
2.1.1 <i>Einleitung und Definition</i> .....	2
2.1.2 <i>Antibiotika</i> .....	3
2.1.2.1 <i>Geschichtlicher Hintergrund</i> .....	3
2.1.2.2 <i>Wirkungsweise der Fütterungsantibiotika</i> .....	3
2.1.3 <i>Alternative Mastleistungshilfsmittel</i> .....	7
2.1.3.1 <i>Probiotika</i> .....	7
2.1.3.2 <i>Prebiotika</i> .....	11
2.1.3.3 <i>Kupfer</i> .....	12
2.1.3.4 <i>Organische Säuren</i> .....	15
2.1.3.5 <i>Formi, bzw. Kaliumdiformiat</i> .....	18
2.1.4 <i>Phytogene Futtermittelzusatzstoffe</i> .....	20
2.2 SELTENE ERDEN (REE) .....	21
2.2.1 <i>Einteilung und chemische Eigenschaften</i> .....	21
2.2.2 <i>Vorkommen und Gewinnung</i> .....	21
2.2.3 <i>Chemische und physikalische Eigenschaften</i> .....	22
2.2.4 <i>Biologische und pharmakologische Eigenschaften</i> .....	23
2.2.5 <i>Toxikologische Eigenschaften</i> .....	24
2.2.6 <i>Einsatz Seltener Erden in der Landwirtschaft</i> .....	25
2.2.6.1 <i>Seltene Erden in der Pflanzenproduktion</i> .....	25
2.2.6.2 <i>Seltene Erden in der Tierproduktion</i> .....	26
<b>3 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>32</b>
3.1 VESUCHSTIERE .....	32
3.2 HALTUNG .....	32
3.3 FÜTTERUNG .....	33
3.4 VERSUCHSAUFBAU .....	36
3.4.1 <i>Gruppeneinteilung</i> .....	36
3.5 VERDAUUNGSVERSUCH .....	37
3.5.1 <i>Unterbringung und Versorgung der Tiere</i> .....	37
3.6 PROBENGEWINNUNG .....	38

3.6.1	Kot .....	39
3.6.2	Darm.....	39
3.6.2.1	Fixierung und Einbettung.....	39
3.6.2.2	Färbung der Paraffinschnitte .....	40
3.6.2.3	Auswertung der Präparate.....	41
3.6.3	Restkörperanalyse .....	41
3.6.4	Weender-Analyse des Futters, des Kotes und der Restkörper .....	42
3.6.4.1	Bestimmung der Trockensubstanz.....	42
3.6.4.2	Bestimmung der Rohasche .....	43
3.6.4.3	Bestimmung des Rohproteins.....	43
3.6.4.4	Bestimmung des Rohfetts.....	44
3.6.4.5	Bestimmung des Energiegehalts.....	44
3.7	SONSTIGE PARAMETER .....	45
3.7.1	Entwicklung der Lebendmasse .....	45
3.7.2	Futteraufnahme .....	46
3.8	BERECHNUNGEN .....	46
3.8.1	Berechnung der Futtermittelverwertung .....	46
3.8.2	Berechnung der Energieverwertung.....	47
3.8.3	Berechnung der scheinbaren Verdaulichkeiten der Bruttoenergie, der Trockensubstanz und des Rohproteins .....	47
3.8.4	Berechnung des Energiegehalts der Tierkörper.....	48
3.9	STATISTISCHE AUSWERTUNG .....	48
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>49</b>
4.1	FÜTTERUNGSVERSUCH .....	49
4.1.1	Allgemeinzustand.....	49
4.1.2	Leistungsparameter.....	50
4.1.2.1	Futteraufnahme.....	50
4.1.2.2	Körpermasseentwicklung .....	53
4.1.2.3	Futtermittelverwertung .....	56
4.1.2.4	Energieverwertung .....	56
4.1.2.5	Scheinbare Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Bruttoenergie	58
4.2	KÖRPERZUSAMMENSETZUNG.....	58
4.2.1	Rohfett- und Rohproteingehalt der Tierkörper.....	58
4.2.2	Energiegehalt der Tierkörper.....	59
4.3	HISTOLOGISCHE AUSWERTUNG DER DÜNNDARMZOTTEN .....	60
4.4	PH-WERT DES KOTES.....	60
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>62</b>

5.1	KRITIK DER METHODEN .....	62
5.1.1	<i>Zu den Tieren</i> .....	62
5.1.2	<i>Zur Tierzahl</i> .....	62
5.1.3	<i>Zur Tierhaltung</i> .....	63
5.1.4	<i>Zum Verdauungsversuch</i> .....	63
5.1.5	<i>Zur Histometrie</i> .....	64
5.2	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE .....	65
5.2.1	<i>Möglichkeiten der Einflussnahme auf die scheinbaren Verdaulichkeiten.</i> .....	67
5.2.1.1	Oberflächenvergrößerung des Darmes .....	67
5.2.1.2	Erhöhung der Anzahl an Nährstofftransportsystemen .....	67
5.2.1.3	Erhöhung der Enzymsekretion und Enzymaktivität .....	67
5.2.1.4	Veränderung des Mikrobioms im Darm .....	68
5.2.2	<i>Schlussfolgerung</i> .....	69
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>71</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>73</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>75</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>96</b>
9.1	LEBENS LAUF .....	96
9.2	DANKSAGUNG .....	97

## TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Die Verbesserung der Wachstums- und Futtermittelnutzung bei Schweinen in verschiedenen Altersabschnitten.....</i>	<i>4</i>
<i>Tabelle 2: Physiologische, ernährungsphysiologische und metabolische Effekte von Antibiotika, die als Leistungsförderer eingesetzt werden (nach Rosen, 1995). .....</i>	<i>6</i>
<i>Tabelle 3: Als Probiotika eingesetzte Bakterien (nach Laur, 2003). .....</i>	<i>8</i>
<i>Tabelle 4: Bakterienverteilung und -zahl in den Darmabschnitten des Schweins (nach Busch, 1999). .....</i>	<i>10</i>
<i>Tabelle 5: Durchschnittliche relative Leistungssteigerung in Prozent (Min.;Max.) beim Einsatz organischer Säuren (nach Freitag et al., 1999). .....</i>	<i>17</i>
<i>Tabelle 6: Effekte von Kaliumdiformat auf das Wachstum bei Mast Schweinen (nach Overland et al., 2000). .....</i>	<i>19</i>
<i>Tabelle 7: Effekte verschiedener REE- Beimengungen in unterschiedlichen Konzentrationen diverser Spezies (modifiziert nach Miller, 2006). .....</i>	<i>30</i>
<i>Tabelle 8: Zusammensetzung des Haltungsalteinfeeders für Kleinnager. ....</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 9: Gehalte der Zusatzstoffe des Haltungsalteinfeeders (bezogen auf 1kg). ....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 10: Rohnährstoffgehalte des Haltungsalteinfeeders (in %). .....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 11: Zusammensetzung der REE-Verbindung: REE-Citrat.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabelle 12: Gruppeneinteilung .....</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 13: Durchschnittliche täglich aufgenommene Menge Futter (in g, MW <math>\pm</math>SD) von jeweils zwei Tieren eines Käfigs (n=6 Käfige, je zwei Tiere), pro Monat. ....</i>	<i>50</i>
<i>Tabelle 14: Durchschnittliche täglich aufgenommene Menge Futter (in g, MW <math>\pm</math>SD) von jeweils zwei männlichen Tieren eines Käfigs. ....</i>	<i>51</i>
<i>Tabelle 15: Durchschnittliche täglich aufgenommene Menge Futter (in g, MW <math>\pm</math>SD) von jeweils zwei weiblichen Tieren eines Käfigs, dargestellt pro Monat im Versuchszeitraum. ....</i>	<i>51</i>
<i>Tabelle 16: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme (in g, MW <math>\pm</math>SD) der Ratten der Versuchsgruppen in verschiedenen Abschnitten des Versuchs. ....</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 17: Körpermasseentwicklung der weiblichen Tiere der Versuchsgruppen (in g, MW <math>\pm</math>SD) in monatlichen Intervallen. ....</i>	<i>54</i>

<i>Tabelle 18: Körpermasseentwicklung der männlichen Tiere der Versuchsgruppen (in g, MW <math>\pm</math>SD) in monatlichen Intervallen. ....</i>	<i>54</i>
<i>Tabelle 19: Durchschnittliche Körpermassezunahme (in g, MW <math>\pm</math>SD) der Ratten der Versuchsgruppen in verschiedenen Abschnitten des Versuchs. ....</i>	<i>55</i>
<i>Tabelle 20: Durchschnittliche Futtermittelverwertung (in g aufgenommenes Futter / g Gewichtszunahme, MW <math>\pm</math>SD) der Ratten der Versuchsgruppen in verschiedenen Abschnitten des Versuchs. ....</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 21: Durchschnittliche Energieverwertung (in kJ ME / g Gewichtszunahme, MW <math>\pm</math>SD) der Ratten in verschiedenen Abschnitten des Versuchs. ....</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 22: Scheinbare Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Energie der jeweiligen Versuchsgruppen (in %, MW <math>\pm</math>SD). ....</i>	<i>58</i>
<i>Tabelle 23: Rohfett- und Rohproteingehalt im Tierkörper (in %, MW SD auf 100% US und 100% TS, bzw. fettfreien TS). ....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 24: Energiegehalt im Tierkörper (in kJ/Tierkörper, MW <math>\pm</math>SD).....</i>	<i>59</i>
<i>Tabelle 25: Zottenlängen der einzelnen Darmabschnitte der jeweiligen Versuchsgruppen (in mm, MW <math>\pm</math>SD) .....</i>	<i>60</i>
<i>Tabelle 26: Durchschnittlicher Kot-pH-Wert der jeweiligen Versuchsgruppen (aus dem Verdauungsversuch gewonnen). ....</i>	<i>61</i>
<i>Tabelle 27: Scheinbare Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Energie der jeweiligen Versuchsgruppen (in %, MW <math>\pm</math>SD). ....</i>	<i>72</i>
<i>Tabelle 28: Apparent digestibility of dry matter, gross energy and crude protein of the groups of trial.....</i>	<i>74</i>

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

*Abbildung 1: Körpermasseentwicklung (in g) der Tiere über den Versuchszeitraum;  
Pfeile stellen den 1. Verdauungsversuch, den 2. Verdauungsversuch  
sowie Beginn, Verlauf und das Ende des der Blutentnahmen dar. ....53*

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

Abb.	Abbildung
ad lib	ad-libitum
ALT	Alanin-Amino-Transferase
AP	alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Amino-Transferase
EG	Europäische Gemeinschaft
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Währungsgemeinschaft
FA	Futtermittelaufnahme
FV	Futtermittelverwertung
GE	gross energy (Bruttoenergie)
GH	growth hormone (Wachstumshormon)
GZ	Gewichtszunahme
HE	Hämatoxylin-Eosin
i.m.	intra muskulär
i.v.	intra venös
Ig A	Immunglobulin A
KDF	Kalium-diformiat
KM	Körpermasse
LD <sub>50</sub>	letale Dosis 50
LFBG	Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch
max	Maximum
ME	meatabolisable energy (metabolisierbare Energie)
MHC	Major-Histocompatibility-Complex
min	Minimum
MW	Mittelwert
NRC	National research council
pf	pair-fed
ppm	parts per million
REE	Rare earth elements
Rp	Rohprotein
s.c.	subcutan

SD	Standardabweichung
SE	REE
spf	spezifisch-pathogen-frei
sV	scheinbare Verdaulichkeit
T <sub>3</sub>	Trijodthyronin
T <sub>4</sub>	Thyroxin
TS	Trockensubstanz
US	Ursprungssubstanz

## **1 Einleitung**

Seltene Erden (REE) finden bereits seit Jahrzehnten in der chinesischen Landwirtschaft Anwendung als Leistungsförderer, sowohl in der Tier- als auch in der Pflanzenproduktion. In Deutschland wurden seit Anfang der Neunzigerjahre Leistungssteigerungen in der Tierproduktion durch REE unter westlichen Bedingungen in zahlreichen Studien nachgewiesen. Der gezielte Einsatz von REE in der Landwirtschaft ist aktuell in der Europäischen Union nur mit Ausnahmegenehmigung gestattet. Die Zulassung in der EU ist jedoch in Vorbereitung. Seit 2003 ist in der Schweiz eine befristete Zulassung eines REE-Citrats als Futtermittelzusatzstoff für Ferkel und Mastschweine erteilt.

Nachdem die Wirkung auch unter europäischen Bedingungen bestätigt werden konnte, wurden die Wirkmechanismen jedoch noch nicht geklärt. In der vorliegenden Arbeit wird der Einfluss von REE auf die scheinbare Verdaulichkeit der Roh Nährstoffe am Tiermodell Ratte untersucht. Hinzukommend soll sowohl der Einfluss der Dosierungshöhe der REE, als auch der Einfluss der Futteraufnahme untersucht werden. Hierzu wurde ein Verdaulichkeitsversuch mit 60 Ratten in fünf Gruppen (n=12/Gruppe) über acht Tage durchgeführt. Zwei verschiedene Dosierungen von Lancer®, einem REE-Citrat-Gemisch, wurden in ein Alleinfutter für Ratten eingemischt, welches die Tiere sowohl ad libitum, als auch restriktiv als pairfeeding im Vergleich zur Kontrollgruppe zugeteilt bekamen. Desweiteren werden verschiedene mögliche Mechanismen erörtert, die Einfluss auf die scheinbare Verdaulichkeit von Roh Nährstoffen nehmen können. Abschließend sollte eine mögliche lokale Wirkung der REE auf den Darm untersucht werden. Hierzu wurden nach Versuchsende Proben aus den drei Dünndarmabschnitten gewonnen und anhand dieser histomorphometrisch die Zottenlänge gemessen.

## **2 Literaturübersicht**

### **2.1 Leistungsförderer**

#### **2.1.1 Einleitung und Definition**

Um einerseits für Tiere unbedenkliche und unschädliche Futtermittel einzusetzen und andererseits für den Verbraucher sichere Lebensmittel herstellen und in Verkehr bringen zu können, bedarf es einer Regelung durch Bundes- und EU-Gesetze und Verordnungen (Castanon, 2007).

Die Zulassung und Anwendung der Futtermittelzusatzstoffe unterliegen dem LFBG (Lebensmittel-, Futtermittel- und Bedarfsgegenständegesetz), einem Bundesgesetz und der EU-Verordnung (EG) 1831/2003. In diesen sind sowohl alle für Futtermittel zugelassenen Zusatzstoffe gelistet als auch die Herstellung und die Anwendung geregelt.

Nach dem Verbot der Fütterungsantibiotika wird vermehrt nach adäquaten Alternativen gesucht. Hierzu gibt es eine Reihe verschiedenster Ansätze, die Gewichtszunahmen und die Futtermittelverwertungen zu verbessern.

## **2.1.2 Antibiotika**

### **2.1.2.1 Geschichtlicher Hintergrund**

Antibiotische Wachstumsförderer, deren Einsatz zum 1. Januar 2006 in der EU (Soulsby, 2008) verboten wurde, sind antimikrobielle Substanzen, die in nutritiven Dosen von 2-10 % der therapeutischen Dosen eingesetzt wurden (Wanner, 1999). Diese sollten eine Regulation und Stabilisierung der natürlich im Darm vorkommenden Organismen bewirken.

In den fünfziger Jahren wurden in den USA antibiotische Wachstumsförderer für die Nutztierproduktion entdeckt. Eine weltweite Verbreitung erlebten diese, nachdem Moore et al (1946) während eines Fütterungsversuchs, in dem Broiler mit niedrigen Dosen Antibiotika gefüttert wurden, positive Effekte auf Futtermittelverwertung und Gewichtszunahme beobachteten. Allerdings fanden Starr und Reynolds (1951) früh erste Hinweise auf eine Resistenzbildung gegenüber Bakterien bei der Verfütterung von Streptomycin an Puten. Zur ersten EU-weit gültigen Regelung kam es im Dezember 1970. Es wurde die Richtlinie 70/524 EWG, eine Positivliste mit genauen Anforderungen an die Zulassung von wachstumsfördernden Substanzen, eingeführt. Ersetzt wurde diese Richtlinie 2004 durch die Verordnung (EG) 1831/2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung, des europäischen Parlaments und des Rates. Sie trat am 01.01.2006 in Kraft und sah ein Verbot des Einsatzes von Antibiotika außer Kokzidiostatika und Histomonastatika als Futterzusatzstoffe vor. Einige skandinavische Länder wie Schweden und Finnland waren bereits in den neunziger Jahren Vorreiter bei der Abschaffung antibiotischer Leistungsförderer. Auch in Dänemark erklärten sich die Schweineproduzenten freiwillig dazu bereit, auf den Einsatz dieser Substanzen zu verzichten.

### **2.1.2.2 Wirkungsweise der Fütterungsantibiotika**

Corpet (2000) berichtet von verbesserten Tageszunahmen (3%-9%), von Verbesserungen der Futtermittelverwertung (3%-12%) und einem gleichmäßigeren Wachstum innerhalb der Gruppen. Eine Retrospektivstudie die von Zimmermann (1986) erstellt wurde, wertete die Ergebnisse von 239 unabhängigen Versuchen mit antimikrobiellen Futtermitteln bei Absatzferkeln aus. In ihr wird eine

durchschnittliche Verbesserung der Wachstumsrate um 15% und der Futtermittelverwertung um 6% beschrieben. Tabelle 1 ist eine Zusammenstellung der Ergebnisse verschiedener Studien über die Leistungssteigerung durch Fütterungsantibiotika bei Schweinen.

*Tabelle 1: Die Verbesserung der Wachstums- und Futtermittelverwertungsrate bei Schweinen in verschiedenen Altersabschnitten.*

	Zunahme (%)	Futtermittelverwertung (%)	Quelle
Ferkel	+ 16	- 9	Birzer&Gropp (1991)
	+ 15.7	- 8.6	Rosen (1995)
	+ 8	- 5	Pfirter (1996)
Mastschweine	+ 9	- 5.5	Birzer&Gropp (1991)
	(25-50 kg)		
	+ 3.5	- 3.0	
	(>50 kg)		
	+ 3.2	- 4.3	Lawrence (1992)
	+ 3.2	- 2.0	Rosen (1995)
	+ 5	- 3	Pfirter (1996)
+ 2.8	- 1.8	Kjeldsen (1997)	

Die Wirkungsweise der wachstumsfördernden antibiotischen Futtermittelzusatzstoffe ist bis heute nicht vollständig geklärt. Früh vermutete man als Wirkort bei der subtherapeutischen Antibiotikaaanwendung die bakterielle Darmflora. Versuche an Hühnern untermauerten diese These. Bei keimfrei aufgezogenen Hühnern, die mit normalerweise wachstumsfördernden Dosen Penicillin behandelt wurden, fand keine Steigerung des Wachstums im Vergleich zu einer unbehandelten Kontrolle statt.

Visek (1978) fasste mögliche Wirkungsweisen zusammen, die in früheren Versuchen beobachtet wurden. Die vier Punkte, die er aufstellte, beinhalteten:

- Pathogene Mikroorganismen, die für subklinische Erkrankungen sorgen, werden unterdrückt;
- die von Mikroorganismen produzierten wachstumshemmenden Toxine werden nicht gebildet;
- die von Mikroorganismen bewirkte Zerstörung der essentiellen Nährstoffe wird verhindert;
- Nährstoffe können besser resorbiert werden, da die Darmwände dünner werden.

Schädliche Keime, die beim Abbau von Proteinen und biogenen Aminen Toxine bilden, werden in ihrer Zahl reduziert, wodurch zusätzlich der Gesamtstoffwechsel entlastet wird. Auf diese Art und Weise kommt es durch eine reduzierte Ammoniakbildung zu einer geringeren Belastung der Umwelt (Visek, 1978). Eine reduzierte Anzahl an Bakterien und deren Toxine entlastet das Abwehrsystem des Darmes, was zu einer gesteigerten Abwehrbereitschaft und somit einem verbesserten Gesundheitsstatus führt (Greife und Berschauer, 1988a). Antibiotische Leistungsförderer stabilisieren das intestinale Milieu, sodass ein weitestgehend konstanter pH-Wert in den verschiedenen Abschnitten des Magen-Darm-Trakts eine optimale Enzymaktivität fördert (Kamphues, 1999). In Tabelle 2 wird ein Überblick über die Effekte der antibiotischen Mastleistungshilfsmittel vermittelt.

*Tabelle 2: Physiologische, ernährungsphysiologische und metabolische Effekte von Antibiotika, die als Leistungsförderer eingesetzt werden (nach Rosen, 1995).*

<b>Physiologische Effekte</b>	<b>Ernährungsphysiologische Effekte</b>	<b>Metabolische Effekte</b>
Passagedauer ↓	Energieeinsparung ↑	NH <sub>3</sub> Produktion ↓
Dicke der Darmwand ↓	Vitaminsynthese ↓	Produktion von biogenen Aminen ↓
Zottenlänge ↓	Stickstoffreduzierung ↑	α-Toxin Produktion ↓
Gewicht der Darmwand ↓	Vitaminabsorption ↑	Alkalische Phosphatase im Darm ↑
Verlust von Nährstoffen über den Kot ↓	Absorption anderer Nährstoffe ↑	Darm Urease ↓
Lebensdauer der Darmzotten ↑		Proteinsynthese in der Leber ↑

Der Einsatz antibiotischer Leistungsförderer ist jedoch als durchaus problematisch anzusehen. Die Bildung und Übertragung von Resistenzen gegen Bakterien führen vor allem in der Humanmedizin durch die Entstehung multiresistenter Keime zu erheblichen Problemen. Da der Einsatz der Fütterungsantibiotika seit dem Jahr 2006 europaweit verboten ist, werden nun alternative Wachstumsförderer erprobt und eingesetzt.

### 2.1.3 Alternative Mastleistungshilfsmittel

#### 2.1.3.1 Probiotika

Seit einiger Zeit werden auf der Suche nach alternativen Leistungsförderern Probiotika in der Tierernährung eingesetzt. Die Entdeckung geht auf Elie Metschnikoff zurück, der in Bulgarien eine Bevölkerungsgruppe mit außergewöhnlicher Lebenserwartung sowie die Ursache hierfür untersuchte. Er fand heraus, dass diese Menschen besonders viel an fermentierten Milchprodukten zu sich nahmen. Metschnikoff stellte daraufhin 1908 die These auf, dass aufgrund der besonderen Ernährungsweise die Menschen dieser Region eine hohe Anzahl an Bakterien aufnehmen, die in der Lage sind, Fäulnisprozesse im Darm zu unterdrücken, Arteriosklerose zu lindern und dadurch das Leben zu verlängern.

Die Bedeutung des Begriffs Probiotika, der aus dem Griechischen stammt und „Für das Leben“ bedeutet, wandelte sich im Laufe der Zeit. Ursprünglich wurde er benutzt, um von Protozoen produzierte Stoffe zu beschreiben, die wiederum andere stimulieren (Lilly und Stillwell, 1965). Später prägte Parker (1974) die Definition „lebende Mikroorganismen oder Substanzen, die das intestinale mikrobielle Gleichgewicht fördern“. Dann wurde er landläufig benutzt, um Mikroorganismen zu bezeichnen, die über ein Nahrungs- oder Futtermittel mit der Intention verabreicht werden, im Verdauungstrakt von Mensch und Tier gesundheitsfördernde Wirkungen zu erzielen. Basierend auf der Definition von Fuller (1989) versteht man heute unter einem Probiotikum „lebende Mikroorganismen, die, in ausreichender Menge aufgenommen, einen positiven Effekt auf das Gleichgewicht der intestinalen Mikroflora ausüben“.

Als probiotisch wirksame Mikroorganismen werden häufig Bakterien, vor allem Milchsäurebakterien wie Lactobacillen und Bifidobakterien eingesetzt, aber auch Enterococcen, Saccharomyceten und Lactococcen. Eine Übersicht bietet die Tabelle 3.

Tabelle 3: Als Probiotika eingesetzte Bakterien (nach Laur, 2003).

<u>Lactobacillen</u>	<u>Bifidobakterien</u>	<u>Enterococcen</u>	<u>Saccharomyceten</u>	<u>Lactococcen</u>
L. acidophilus	B. adolescentis	E. faecalis	S. boulardi	L. lactis
L. casei	B. animalis	E. faecium		
L. gasseri	B. bifidum			
L. johnsonii	B. breve			
L. plantarum	B. infantis			
L. reuteri	B. longum			
L. rhamnosus	B. thermophilum			

Weiterhin finden Pilze und Hefen ihren Einsatz als probiotische Substanzen.

Die Fähigkeit der probiotischen Kulturen besteht darin, sich antagonistisch zu den unerwünschten Keimen zu vermehren und die Darmwand zu besiedeln. Sie stabilisieren die Eubiose, verhindern eine unkontrollierte Vermehrung und Ausbreitung der Krankheitserreger und bilden eine natürliche Barriere, die es den pathogenen Bakterienstämmen erschwert, die Darmwand zu erreichen und zu besiedeln (Fuller und Turvey, 1971, Pieper et al., 2009, Barrow et al., 1980). Voraussetzung ist, dass Probiotika im Magen-Darmtrakt nicht hydrolysiert und absorbiert werden und selbstverständlich nicht pathogen oder toxikogen sein dürfen (Ouwehand et al., 2002).

Die Effekte führen zu einer Stabilisierung der Tiergesundheit. Dies zeigt sich sowohl durch geringere Tierverluste und einen reduzierten Arzneimittelaufwand als auch durch einen höheren Massezuwachs bei geringerem Futteraufwand und einem gleichmäßigerem Wachstum. Als Fermentationsprodukte bilden die Mikroorganismen kurzkettige Fettsäuren wie Acetat, Propionat, Butyrat und Lactat. Diese sind einerseits wichtige Energielieferanten, da sie vom Darm gut aufgenommen werden können und somit als Substrat dem Körper leicht zur Verfügung stehen. Andererseits ernähren sie, vor allem das Butyrat, die Enterocyten. Sie sorgen für eine höhere Zellproliferation und regeln das

Zellwachstum, was die Resorptionsoberfläche des Darmes erhöht und stärkt (Sakata, 1987, Sakata et al., 2003, Ichikawa und Sakata, 1998), und schließlich kommt es zu einer Absenkung des pH-Wertes im Gastro-Intestinal-Trakt (Awad et al., 2009, Gedek et al., 1993, Fleige et al., 2009).

Auf die mit Hilfe der Probiotika gebildeten flüchtigen Fettsäuren reagieren viele Pathogene äußerst empfindlich, was den Organismus entlastet, da bei einer geringeren Anzahl pathogener Keime im Darm auch weniger schädliche Stoffwechselprodukte, wie Nitrogenverbindungen, anfallen. Probiotika sollen desweiteren, einigen Autoren zufolge, um bakterielle Adhäsionsstellen konkurrieren und Toxinrezeptoren der intestinalen Mukosa zerstören, wodurch die schädliche Wirkung einiger bakterieller Toxine zusätzlich noch reduziert wird (Kos et al., 2003). Umesaki und Setoyama (2000) stellen sogar eine Verbindung zwischen der Entwicklung des Darm-Immunsystems und der Zusammensetzung der Darmflora her. Sie beschreiben den Einfluss der Mikroorganismen auf Struktur und Funktion der Mukosa bei Nagern, die Ig A Sekretion, die Bildung von Major-Histocompatibility-Complexes-Rezeptoren (MHC-Rezeptoren) und die Ausbildung der lymphatischen Einrichtungen des Darmes. Ähnliche Effekte auf das Immunsystem konnten Fleige et al. (2009) auch bei Kälbern feststellen.

Ihre volle Wirkung entfalten Probiotika vor allem, wenn entweder noch keine stabile Darmflora aufgebaut oder eine bereits intakte zerstört wurde, wie es sowohl bei Jungtieren, bei Tieren nach antibiotischer Therapie, bei mangelnder Hygiene als auch bei Stress der Fall ist (Fuller, 1989). Eine Dysbakterie kann durch die Zugabe von probiotischen Kulturen wieder hin zu einer Eubakterie verschoben werden. Dysbakterie ist als Pendant zur Eubakterie eine Abweichung vom Normalzustand der Darmbakterien sowohl in der Zahl als auch in der Art.

Eine Auflistung der im Magen-Darmtrakt eines Schweins physiologisch enthaltenen Bakterien und ihrer Anzahl zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4: Bakterienverteilung und -zahl in den Darmabschnitten des Schweins  
(nach Busch, 1999).

<b>Speiseröhre/ Magen</b> $10^1 - 10^3 / ml$	<b>/ml</b>	<b>Zwölffingerdarm</b> $10^1 - 10^4 / ml$	<b>/ml</b>	<b>Dünndarm</b> $10^5 - 10^8 / g$	<b>/g</b>	<b>Dickdarm</b> $10^9 - 10^{12} / g$	<b>/g</b>
Streptokokken	$10^1$	gleiche Keime wie im Magen		Bacteroides	$10^4 - 10^7$	Bifidus	$10^9$
Enterobakterien	$10^3$			Streptokokken		Bacteroides	$10^{10}$
Bacteroides	0			Lactobakterien	$10^3$	Enterobakterien	$10^5 - 10^7$
Nahrungskeime	$10^2$			Enterobakterien	$10^6$	Enterokokken	$10^2 - 10^5$
						Lactobazillen	
						Clostridien	$10^3$
						Fusobakterien	$10^5$
						Veillornellen	
						Staphylokokken	$10^3$
						Hefen	
						Proteus	
						Pseudomonas	$>10^3$

Nach einer Fütterung von Broilern mit der Probiotika-Mischung Protexin® stellten Gunal et al (2006) nach 21 Tagen sowohl eine signifikante Erhöhung der Zottenlängen im Jejunum um 19% und im Ileum um 26% als auch der Kryptentiefen im Jejunum um 9,6% und im Ileum um 7,8% fest. Das Zotten- zu Kriptenverhältnis lag im Jejunum um 9,9% über der Kontrolle, während hingegen im Ileum das Verhältnis um 1,3% niedriger lag. Bei den gleichen Tieren beobachteten die Autoren nach 42 Masttagen noch größere Effekte auf das Zottenwachstum. Die Zotten des Jejunums maßen nun 25,2% mehr und die des Ileums 47,6% mehr gegenüber den unsupplementierten Tieren. Die Kryptentiefe veränderte sich im Jejunum nur geringfügig im Vergleich zum Tag 21, die des Ileums stieg allerdings sogar auf 12,5% an. Durch die Zugabe von Fütterungsantibiotika wurde in der gleichen Studie eine signifikante Abnahme der Dicke der Tunica muscularis der Dünndarmwand induziert.

Eine von Awad et al (2009) durchgeführte Studie, in der ebenfalls Pro- und Synbiotika bei Broilern eingesetzt wurden, bestätigte die Ergebnisse von Gunal et al. (2006). Hier wurde neben einer Steigerung des Dünndarmgewichts sowohl eine Erhöhung der Duodenal- und Ilealzotten festgestellt als auch eine Erhöhung

der Kryptentiefe des Duodenums. Die Kryptentiefe des Ileums reduzierte sich allerdings in dem Versuch. Die Autoren schlossen daraus, dass eine positive Leistungsbeeinflussung möglicherweise durch eine Vergrößerung der Resorptionsoberfläche zustande kommen könnte.

Die positiven Effekte können in der Literatur allerdings nicht immer bestätigt werden. Es wird von einer höheren Wirksamkeit gegenüber antibiotischen Mastleistungsförderern berichtet, aber in wenigen anderen Quellen auch von einer niedrigeren Wirksamkeit. Man muss hierbei allerdings bedenken, dass negative Ergebnisse selten veröffentlicht werden.

### **2.1.3.2 Prebiotika**

Als Alternative zur Verfütterung von Keimen gibt es die Möglichkeit, dem Futter Prebiotika beizumischen, um einige der physiologisch enthaltenen Mikroorganismen des Magen-Darm-Traktes selektiv zu fördern. In den caudalen Abschnitten verschaffen die vom Wirt nicht verdaubaren Futterzusatzstoffe den Mikroorganismen der Normalflora einen Vorteil gegenüber den pathogenen Keimen (Gibson und Roberfroid, 1995).

Es ist schon länger bekannt, dass Fruktooligosaccharide eine positive Wirkung auf den menschlichen Organismus haben. In Japan wurden sie erstmals in den achtziger Jahren des zwanzigsten Jahrhunderts eingesetzt, um die Gesundheit und Leistungsfähigkeit bei Mensch und Tier zu verbessern (Hirayama, 2002).

Zu diesen selektiv geförderten Kulturen gehören Bifidobakterien und Lactobacillen, die, im Gegensatz zu anderen ubiquitären Keimen, Prebiotika spalten und energetisch nutzen können (Cummings J.H. , 2002, Bruzzese et al., 2006), während das Wachstum von zum Beispiel *E. coli*, einem potentiell pathogenem Keim, gehemmt wird.

Prebiotika entstehen aus Monosacchariden wie Glukose, Fruktose, Galaktose und Xylose, die glykosidisch zu Oligosacchariden verbunden werden. Die Bindung und die Art der Monomere bestimmen sowohl die Selektivität der Verdaulichkeit im Dünndarm als auch die Fermentation durch die Bakterien. Industriell gewonnen werden die Oligomere durch die Verknüpfung der Komponenten,

durch die Spaltung von Polymeren oder durch einfache Extraktion aus Naturprodukten (Gibson et al., 2000).

In Tierversuchen wurden die immunmodulierenden Effekte der Prebiotika untersucht. Man kam zur Erkenntnis, dass eine Steigerung der Immunglobulin A Sekretion speziell bei einer Kombination aus verschiedenen Prebiotika stattfindet (Peuranen et al., 2004). Ein großer Prozentsatz an Mikroben der Darmflora besitzt auf der Oberfläche einen Mantel aus Ig A, was eine Immunreaktion des Organismus eines Wirts gegen seine Kommensalen verhindert (van der Waaij et al., 1996).

Ziel ist es, durch den Einsatz von Prebiotika die Eubiose zu optimieren und dadurch den Gesundheitsstatus, die Verdauungskapazität und die Leistungsparameter der Nutztiere zu verbessern.

Die Kombination aus Pro- und Prebiotika wird Synbiotikum genannt. Es gibt verschiedenste Variationen. Durch den Einsatz von Synbiotika macht man sich die synergistische Wirkung im Vergleich zu der Einzelfütterung von Pro- oder Prebiotika zunutze. Wichtig ist hierbei die richtige Wahl eines Prebiotikums für eine Kombination mit den Bakterien, um eine Steigerung der Effekte erzielen zu können (Bielecka et al., 2002).

Die Pre-, Pro- und Synbiotika gehören zur Funktionsgruppe der „Darmflorastabilisatoren“ und werden futtermittelrechtlich den zootechnischen Futterzusatzstoffen zugeordnet und in der Verordnung (EG) 1831/2003 geregelt.

### **2.1.3.3 Kupfer**

Kupfer ist ein essentielles Spurenelement. Leistungsfördernd wirkt es beim Schwein in Dosierungen, die deutlich über dem Bedarf liegen. Die empfohlene Konzentration zur Bedarfsdeckung liegt bei 7-10 mg / kg (NRC, 1998). Bei Ferkeln ist Kupfer bis zu einem Alter von 12 Wochen in einer Dosierung von maximal 160 mg / kg Futter erlaubt. Sind die Tiere älter als 12 Wochen, dürfen dem Futter nur noch 25mg/kg dem Futter zugesetzt werden. Geregelt wird dies durch die EU-Verordnung (EG) 1334/2003.

Durch die Zugabe von Kupfer werden bei Ferkeln Wachstumssteigerungen von ca. 10% erzielt, gleichzeitig kann sich die Futtermittelverwertung um 2% bis 4% verbessern (Stahly et al., 1980). Bei Rindern konnten dagegen keine Effekte durch die Supplementierung von Kupfer erzielt werden (Engle und Spears, 2001).

Von dieser leistungssteigernden Wirkung wurde erstmals im Jahr 1955 berichtet als Barber et al. (1955) Schweinen 500 ppm Kupfersulfat [CuSO<sub>4</sub>] beifütterte. Es kam zu einer Steigerung der Tageszunahmen von über 8% und einer Verbesserung der Futtermittelverwertung um 5%. Auch die Futteraufnahme kann durch Kupfer um bis zu 9% gesteigert werden (Meyer und Kröger, 1973).

Braude (1967) empfiehlt für den Einsatz als Futtermittelzusatzstoff die Salze Kupfersulfat, Kupfercarbonat, Kupferoxid und Kupferchlorid. Barber et al (1961) testeten den Einsatz weiterer Kupferverbindungen wie Kupfersulfid und Kupfer-Organ-Komplexe. In den meisten Studien wurde allerdings Kupfersulfat eingesetzt (Meyer und Kröger, 1973).

Die Höhe der Effekte hängt neben dem Alter der Tiere sowohl von der Fütterungstechnik, als auch der Dosierung und Zusammensetzung des Futters, vor allem in Bezug auf Protein-, Eisen- und Zinkgehalt ab (Meyer und Kröger, 1973). Zwischen Eisen, Zink und Kupfer besteht bei ihrer Aufnahme aus dem Darm in den Organismus eine Konkurrenz (Van Campen und Scaife, 1967).

Die Mechanismen, die hinter der Wirkung von Kupfer stehen, sind bis heute noch nicht komplett geklärt. Beschrieben ist, dass Schweine eine ausgeprägte Vorliebe für Kupfer besitzen. Dies erklärt eine höhere Futteraufnahme, die bei Läufern sogar bei 9% über der normalen Aufnahme liegen kann (Braude, 1967).

Lediglich 2% bis 4% des aufgenommenen Kupfers werden resorbiert. Eine entscheidende Rolle scheint, ähnlich wie bei antibiotischen Leistungsförderern, die antimikrobielle Rolle zu spielen (Gedek, 1981). Gedek zeigte in einem in vitro-Versuch, dass Kupfer eine bakteriostatische Wirkung besitzt. In jüngeren Untersuchungen an Mastrindern konnten inhibitorische Effekte speziell auf E.coli festgestellt werden (Jacob et al., 2010).

Die Problematik der Resistenzbildung konnten mehrere Autoren bei E. coli-Bakterien feststellen. Bei coliformen Keimen ist bekannt, dass die Resistenz

gegenüber Schwermetallen mit Antibiotikaresistenzen vergesellschaftet sein kann (Tetaz und Luke, 1983, Gedek, 1981).

Für den Verbraucher besteht zumindest theoretisch die Gefahr von Kupferrückständen in den Lebensmitteln. Das von den Schweinen aufgenommene Kupfer wird im Körper des Tieres zum Teil eingelagert. Der Hauptspeicherort ist die Leber. Dabei gilt, dass die Konzentration in der Leber deutlich in Abhängigkeit zur oral aufgenommenen Menge des Kupfers steigt (Engle und Spears, 2001). So hatten Tiere mit physiologischen Kupfergaben eine Konzentration von 35 mg/kg, Tiere mit 125 mg/kg Supplementierung schon 175 mg/kg und Tiere, denen eine Konzentration von 500 mg/kg angeboten wurde, eine Konzentration von 768 mg/kg TS Kupfer in der Leber. Nach lang anhaltender Überversorgung können aber auch in Lunge, Nieren und Milz erhöhte Kupferkonzentrationen festgestellt werden. Die Konzentration in der Muskulatur ist unabhängig von einer Kupferzugabe ähnlich hoch (Hawbaker et al., 1961, Barber et al., 1957).

Die Ausscheidung erfolgt hauptsächlich über die Galle, aber auch zu geringen Teilen über den Harn. Wenn die Zufütterung 14 Tage vor Schlachtung beendet wird, reduziert sich die Konzentration bereits erheblich. Wird die Zugabe ab der Mittelmast gestoppt, so weisen die Tiere fast die gleichen Gehalte an Kupfer wie die Kontrolltiere auf (Braude, 1967).

Das von den Tieren nicht resorbierte sowie das biliär ausgeschiedene Kupfer wird über die Gülle in die Umwelt ausgetragen und es kann dann zu einer Anreicherung des Schwermetalls in den Ackerböden kommen. Es ist beschrieben, dass Schafe an einer Kupfervergiftung verendeten, als sie auf einer mit kupferhaltiger Schweinegülle gedüngten Weide grasten (Meyer und Kröger, 1973).

#### 2.1.3.4 Organische Säuren

Zum Einsatz kommen überwiegend organische Säuren und ihre Salze, die natürlicherweise im Organismus gebildet werden. Verwendet werden laut Roth und Windisch (2000) die Ameisen-, Essig-, Fumar-, Milch-, Propion-, Sorbin- und Zitronensäure sowie deren Calcium-, Kalium- und Natriumsalze. Große Vorteile bieten die Salze der Säuren, da sie Feststoffe und somit weniger flüchtig und korrosiv sind. Auch die Nahrungsaufnahme wird in höheren Dosierungen weniger negativ beeinflusst, da sie in der Regel geruchs- und geschmacksneutral sind (Kirchgessner und Roth, 1988, Partanen und Mroz, 1999).

Dass organische Säuren die Leistung der Tiere verbessern, wurde in den 70er Jahren in verschiedenen Fütterungsversuchen an Schweinen durch Kirchgessner und Roth (1978) ermittelt. Organische Säuren besitzen eine antimikrobielle Aktivität. Sie penetrieren die Zellwände der Bakterien und stören über die Veränderung des empfindlichen pH-Gleichgewichts die normalen Stoffwechsellätigkeiten von verschiedenen Bakterien. Dadurch kann es zu einer Beeinflussung von pathologischen, aber auch geringfügig von physiologischen Mikroorganismen der Darmflora kommen. Es wird angenommen, dass es zu einer Leistungsverbesserung bei den Tieren kommt, weil durch die antimikrobielle Aktivität weniger Bakterien Nährstoffe für ihren Stoffwechsel benötigen und somit die nutritiven Komponenten des Futters in höherem Maße den Tieren zur Verfügung stehen. Auch das Risiko von subklinischen Erkrankungen, die Darmmimmunantwort und die Menge der von den Organismen produzierten Toxine wird reduziert (Dibner und Buttin, 2002).

Die Zugabe von organischen Säuren bzw. ihren Salzen zum Futter führt zur Absenkung des pH-Wertes und damit bereits im Futter und später dann auch im Verdauungstrakt zu einer Hemmung des Bakterienwachstums. Bei Ferkeln ist häufig die Salzsäureproduktion im Magen nicht ausreichend, was eine unzureichende Pepsinogenaktivierung zur Folge hat. Der Magen erfüllt seine Barrierefunktion nur noch bedingt, sodass sich Bakterien nun ungehindert bis in den Dünndarm vermehren können (Manners, 1976, Kirchgessner und Roth, 1988). Durch die Förderung der Pepsinwirkung und den Einfluss auf die Mikroorganismen kommt es bei Tieren mit Säurezulagen seltener zu

Durchfallerkrankungen (Kirchgessner und Roth, 1988, Freitag et al., 1999, Lüdke und Schöne, 1991).

Die Leistungsverbesserung durch den Einsatz organischer Säuren bzw. ihren Salzen lässt sich folgendermaßen zusammenfassen (Kirchgessner und Roth, 1988):

- Erhöhung der Verdaulichkeit der Nährstoffe;
- positive Beeinflussung des Mineralstoffhaushaltes durch Erhöhung der scheinbaren Absorption;
- Auswirkungen auf den Intermediärstoffwechsel;
- energetische Nutzung der Säuren, die ähnlich effizient wie Glucose abgebaut werden.

Organische Säuren weisen einen hohen Energiegehalt auf. Durch die Möglichkeit des Organismus, diese zu metabolisieren, sollte das auch in der Energiebewertung des Futters berücksichtigt werden (Partanen und Mroz, 1999).

Die leistungsverbessernden Effekte sind von der Säure und ihrer Konzentration abhängig. Geringe Konzentrationen sind wirkungslos, während zu hohe Dosierungen, da weniger Futter aufgenommen wird, zu reduzierten Tageszunahmen führen (Freitag et al., 1999). Tabelle 5 zeigt die durchschnittliche Leistungssteigerung bei der Schweineaufzucht und –mast durch den Einsatz verschiedener Säuren.

Tabelle 5: Durchschnittliche relative Leistungssteigerung in Prozent (Min.;Max.) beim Einsatz organischer Säuren (nach Freitag et al., 1999).

Organische Säure	n <sup>1)</sup>	tägliche Zunahme	Futtermittel/kg Zuwachs
<b>Ferkelaufzucht</b>			
Ameisensäure	9	+14,7 (+3,1; +22,1)	-5,8 (-1,6; -14,5)
Sorbinsäure	5	+20,3 (+13,4; +26,7)	-10,4 (-5,9; -21,8)
Fumarsäure	14	+5,9 (-4,7; +12,6)	-2,4 (+1,7; -7,1)
andere org. Säuren <sup>2)</sup>	12	+3,0 (-2,2; +8,1)	-1,6 (+1,2; -4,8)
Kombinationen aus organischen Säuren und Salzen	20	+10,3 (+4,3; +22,0)	-4,3 (-0,6; -7,5)
<b>Schweinemast</b>			
Fumarsäure <sup>3)</sup>	9	+3,4 (0,0; +6,7)	-2,7(0,0; -5,0)
Formiate <sup>3)</sup>	4	+3,4 (+1,2; +5,8)	-2,5(-0,7; -5,4)
FormiTM LHS <sup>3)4)5)</sup>	6	+4,5 (+2,7; +5,9)	-2,9 (0,0; -5,2)

1) Anzahl berücksichtigter Untersuchungen

2) außer Propion- und Weinsäure

3) in mittlerem Dosierungsbereich

4) Kombinationen aus verschiedenen Säuren und Salzen mit hohem Anteil an Kaliumdiformat

5) Handelsname

Durch die Zugabe von organischen Säuren zum Futter konnte eine Erhöhung der scheinbaren Verdaulichkeit im Ileum von verschiedenen Aminosäuren (exkl. Arginin, Methionin und Cystein) beobachtet werden. Auch die Verdaulichkeit der Trockensubstanz, des Rohproteins, der Bruttoenergie und verschiedener Mineralstoffe wie Calcium, Natrium und Phosphat wurde positiv beeinflusst (Mroz et al., 2000). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen weitere Autoren (Eidelsburger et al., 1992, Blank et al., 1999, Kirchgessner et al., 1992). Bei einer Zulage von 0,6% und 1,2% Ameisensäure zum Futter wurde nicht nur die Aufnahme von Protein, Fett und Energie gesteigert, sondern auch der Anteil des Proteins an der Energieretention mit steigender Dosis an Ameisensäure von 44% auf 50% erhöht. Umgekehrt sank jedoch der Anteil des Fettes um 6%. Die Autoren ermittelten signifikant höhere Rohproteingehalte im Schlachtkörper (Kirchgessner et al., 1992).

Organische Säuren sind als Konservierungsstoffe zugelassen und gehören futtermittelrechtlich betrachtet zur Gruppe der technologischen Zusatzstoffe. Eingesetzt werden dürfen sie auch als Silierhilfsmittel, um über eine pH-Absenkung und die bakterio-statische Wirkung den Hygienestatus der Silage zu verbessern.

#### 2.1.3.5 Formi®, bzw. Kaliumdiformiat

Einen besonderen Stellenwert unter den organischen Säuren hat Formi® (BASF AG, Ludwigshafen). Es ist der erste von der EU zugelassene nicht-antibiotische Wachstumsförderer (VO (EG) Nr. 1334/2001). Das Produkt ist ein Kaliumsalz der Ameisensäure. Der Wirkstoff, der zu 98% in der Formulierung vorkommt, ist Kaliumdiformiat [ $\text{KH}(\text{COOH})_2$ , KDF]. Die weiteren 2% setzen sich aus Silikaten (1,5%) und Wasser zusammen. KDF ist ein kristallines Pulver, das den Vorteil hat, dass es nicht korrosiv wirkt und somit den Umgang und den Einsatz erheblich vereinfacht.

KDF wirkt sich positiv auf die Futteraufnahme, die tägliche Zunahme, die Futtermittelverwertung und die Rate der Durchfallerkrankungen aus (Paulicks et al., 2000). Eine Wirkung wird sowohl durch eine bessere Protein- und Energieverdaulichkeit, als auch durch eine Veränderung der Magen-Darmflora erzielt (Roth et al., 1998a). KDF passiert zu 85% den Magen. Erst im Duodenum werden große Teile der Ameisensäure freigesetzt, wodurch es, im Gegensatz zu den freien Säuren, nur zu einer milden Absenkung des Magen- und Duodenum-pH-Wertes kommt (Mroz et al., 2002). Die abgegebene Ameisensäure soll im gesamten Verdauungstrakt ihre Wirkung entfalten. Die höchste Konzentration erreicht sie jedoch im distalen Dünndarm (Canibe et al., 2001, Overland et al., 2003).

Kaliumdiformiat besitzt eine antimikrobielle Wirkung. Der Effekt ist bei einem pH-Wert von 3,5 bis 6 am größten. Sogar bei einem pH von 7 wurde noch das Bakterienwachstum gehemmt (Knarreborg et al., 2002). So wurde in einem Versuch mit künstlich mit *Salmonella derby* infizierten Ferkeln nachgewiesen, dass die Menge der ausgeschiedenen Erreger erheblich reduziert wurde (Papenbrock et al., 2005). Bei Mastschweinen konnten ähnlich Effekte auf das

Wachstum von Salmonellen und E. coli ermittelt werden (Hebeler et al., 2000, Overland et al., 2000, Visscher et al., 2009). Die Wirkung soll bei potentiell pathogenen Keimen (E. coli) stärker ausgeprägt sein als bei physiologischen (Lactobazillen) (Knarreborg et al., 2002).

In Tabelle 6 werden die Effekte von KDF auf das Wachstum sowie auf Mastleistungsparameter in verschiedenen Mastabschnitten bei Mastschweinen dargestellt.

*Tabelle 6: Effekte von Kaliumdiformiat auf das Wachstum bei Mastschweinen (nach Overland et al., 2000).*

	<b>MW Kontrolle</b>	<b>MW K-diformiat</b>	<b>SD</b>	<b>P</b>
Startgewicht, kg	24.3	24.3	1.3	0.9
Endgewicht, kg	81.7	88.4	3.5	0.25
Versuchstage	65	65		
<b>Mastperiode</b>				
Durchschn. Tageszunahme, g	855	957	43	0.17
Durchschn. tägl. Futteraufnahme, kg	1.96	2.05	0.08	0.50
Zunahme/Futteraufnahme	0.436	0.468	0.006	0.02
<b>Gesamter Versuchszeitraum</b>				
Durchschn. Tageszunahme, g	883	987	38	0.13
Durchschn. tägl. Futteraufnahme, kg	2.11	2.19	0.07	0.45
Zunahme/Futteraufnahme	0.419	0.450	0.008	0.04

Generell kann man die Wirkung folgendermaßen zusammenfassen:

- Reduzierung der Gesamtkeimzahl im Verdauungstrakt;
- selektive Wachstumshemmung potentiell pathogener Keime;
- positive Beeinflussung der Magendarmflora.

Im Vergleich zu den freien organischen Säuren zeigt Kaliumdiformiat geringfügig verbesserte Effekte auf den Verdauungstrakt und somit auf die Mastleistungsparameter. Da Formi® (BASF AG) als einziger in der EU zugelassener Wachstumsförderer sehr teuer ist, ist die Einsatzmöglichkeit für den Landwirt aus wirtschaftlichen Gründen häufig limitiert (Lindermayer und

Propstmeier, 2005).

#### 2.1.4 Phytogene Futtermittelzusatzstoffe

Unter phytogenen Zusatzstoffen oder Phytobiotika versteht man Kräuter, ätherische Öle und Pflanzenextrakte. Eingeordnet werden sie in die Kategorie der „Sensorischen Zusatzstoffe“. Die Kräuter werden entweder unbehandelt oder getrocknet, gerebelt oder gemahlen als Mischungen für den Einsatz als Futtermittel in den Verkehr gebracht. Die häufig als Aromastoffe eingesetzten Extrakte und ätherischen Öle müssen mittels chemischer oder physikalischer Extraktion und Destillation gewonnen werden.

Ihre Wirkung entfalten sie, indem die Futtereigenschaften wie der Geschmack oder die Konsistenz verbessert werden, sie antimikrobiell (Cowan, 1999, Windisch et al., 2008) und antioxidativ wirken (Craig, 1999). Die Wirkung hängt stark von der chemischen Zusammensetzung der Komponenten, der Konzentration im Futter, der Aufnahme und nicht zuletzt vom Gesundheitsstatus des Tieres ab (Acamovic und Brooker, 2005). Zwar wird immer wieder berichtet, dass die Phytobiotika über die Verbesserung des Geschmacks eine erhöhte Futteraufnahme bewirken (Freitag et al., 1998), jedoch gibt es auch Berichte über eine dosisabhängige Reduzierung der Futteraufnahme nach der Verabreichung von Oregano und Thymian (Jugl-Chizzola et al., 2006). Zu beachten ist hierbei, dass das Geschmacksempfinden bei Tieren anders ist als beim Menschen. Um die richtigen Komponenten in geeigneten Dosierungen zu finden, ist eine Vielzahl an Fütterungs- und Toleranzstudien notwendig (Wetscherek, 2002).

Eine Vielzahl von Pflanzen beinhaltet ätherische Öle, die das Wachstum von Bakterien und Pilzen hemmen oder diese sogar abtöten. Die aus häufig in Haushalten genutzten Kräutern und Gewürzpflanzen gewonnenen ätherischen Öle stammen unter anderem aus schwarzem Pfeffer, Nelken, Knoblauch, Oregano und Thymian. Besonders die Metaboliten der beiden letzten Gewürze Oregano und Thymian, Carvacrol bzw. Thymol, bewiesen in mehreren Studien ihre antimikrobielle Wirkung im Einsatz als Futtermittelzusatzstoff. Auch die Mastleistung verbesserte sich (Vichi et al., 2001, Hagmuller et al., 2006, Jugl-

Chizzola et al., 2005, Jugl-Chizzola et al., 2006). So beschreiben z.B. Hernandez et al. (2004) eine Verbesserung der Zunahmen um 7,7% sowie der TS- und Rohproteinverdaulichkeit bei Broilern.

Erhältlich sind phyto gene Zusatzstoffe meist als Mischkomponenten einzelner Pflanzen oder Pflanzenbestandteile. Einzelkomponenten werden als Futtermittelzusätze nur selten angeboten (Wetscherek, 2002).

## **2.2 Seltene Erden (REE)**

### **2.2.1 Einteilung und chemische Eigenschaften**

Seltene Erden oder Rare Earth Elements (REE), wie sie im Englischen genannt werden, sind Elemente der dritten Nebengruppe des Periodensystems. Zu ihnen gehören 15 Übergangsmetalle aus der Gruppe der Lanthanoide, erweitert um die Elemente Scandium [21] und Yttrium [39]. Der Gruppe der Lanthanoide, die auf das Element Lanthan [57] folgen, gehören folgende Elemente an: Cer [58], Praseodym [59], Neodym [60], Promethium [61], Samarium [62], Europium [63], Gadolinum [64], Terbium [65], Dysprosium [66], Holmium [67], Erbium [68], Thulium [69], Ytterbium [70] und Lutetium [71]. Diese werden unterschieden in „leichte REE“, die auch Ceriterden genannt werden, und „schwere REE“, die sogenannten Yttererden. Den leichten werden die Elemente Lanthan bis Europium, den schweren Gadolinum bis Lutetium und Ytterbium zugeordnet. Scandium hat keine Gruppenzuteilung (Gschneidner und Eyring, 1978)

Die REE unterscheiden sich somit nur durch die Belegung durch Elektronen der 4-f-Schale, während die chemischen Eigenschaften überwiegend durch die Belegung durch Elektronen von der 3-d-Schale bestimmt werden.

### **2.2.2 Vorkommen und Gewinnung**

Der Name Seltene Erden oder Rare Earth Elements (REE) ist eigentlich nicht gerechtfertigt, da sie durchaus häufiger zu finden sind als ihr Name vermuten lässt. Selbst das seltenste dieser Elemente, Thulium, ist häufiger als die Edelmetalle wie Gold oder Platin (Brown et al., 1990). Die REE befinden sich gebunden in der Erdkruste als Silikate, Carbonate oder Phosphate. Die wichtigsten lanthanoidhaltigen Mineralien sind:

- Bastnäsit, Monazit, Cerit und Allanit (enthalten überwiegend Ceriterden)
- Thalenit, Thortveit und Xenotim (enthalten überwiegend Yttererden)
- Euxenit und Betafit (enthalten gleiche Anteile an Ceriterden und Yttererden)

Die Hauptvorkommen, etwa 80%, was etwa 89 mio t nutzbarem Rohmaterial entspricht, lagern in China. Die restlichen 20% befinden sich in Russland, den USA, Australien, Indien, Kanada, Südafrika und Brasilien (Brown et al., 1990).

Die Verwendung der REE ist sehr vielfältig. In der Industrie werden sie auf Grund ihrer magnetischen, katalytischen und röntgenstreuenden Eigenschaften verwendet. In der Keramik- und Glasindustrie werden sie ebenso benötigt wie bei der Herstellung von Leuchtstoffröhren und Katalysatoren.

### **2.2.3 Chemische und physikalische Eigenschaften**

In elementarer Form sind die weichen, formbaren und silbrig glänzenden Elemente der REE sehr reaktionsfreudig. An der Luft reagieren sie schnell und bilden Oxide aus. Durch die in der Besetzung der Elektronen der 4-f-Schale begründeten ähnlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften war es lange Zeit schwierig, die Elemente voneinander zu trennen. Heute ist dies durch die Elektronenaustauschtechnik einfacher geworden.

Die Lanthanoide besitzen die Möglichkeit, sowohl Metallionen als auch Calciumionen aufgrund einer großen Übereinstimmung in Bezug auf Ionenradius und Koordinationsgeometrie zu ersetzen. Daher sind sie häufig an Calciumbindungsstellen zu finden und in der Lage, calciumabhängige Zellleistungen zu erfüllen (Evans, 1990). So können sie in die nervale Reizleitung, die Kontraktion der Muskulatur und die Hormonantwort eingreifen (Höber und Spaeth, 1914, Mines, 1910, Brown et al., 1990, Evans, 1990).

#### 2.2.4 Biologische und pharmakologische Eigenschaften

REE gelangen über das Trinkwasser und die Nahrung in den Körper von Mensch und Tier. Nach oraler Aufnahme werden lediglich etwa 1% in den Organismus aufgenommen (Durbin et al., 1956, Evans, 1990). Die nicht resorbierten Reste werden mit den Faeces ausgeschieden.

REE können mit Zellbestandteilen reagieren, indem sie an Nukleoproteine Aminosäuren, Phospholipide und intermediäre Metaboliten auf der Zelloberfläche binden, jedoch ohne dabei in die Zelle eindringen zu können (Das et al., 1988). Sie bewirken dennoch Steigerung der spezifischen Membranresistenz, der Membranrigidität und des Membranpotentials (Smith et al., 1972). Bei höherer Dosierung kommt es nach einer Zellaggregation durch Lanthanidbrücken auch zu einer Fusion der Membranen (Bentz et al., 1988, Evans, 1990), was sich wachstumshemmend auf Bakterien, Hefen und Pilze auswirkt (Muroma, 1958). Er beobachtete selektive Effekte auf gram-negative Bakterien, während die gram-positiven weitaus geringer beeinflusst werden. Abhängig ist das Bakterienwachstum nicht nur von der Konzentration, sondern auch von der Art der Bindung. Cer-Citrat wirkt stimulierend, während Cer-Huminsäure hemmend auf das Wachstum der Mikroorganismen wirkt (Zhang et al., 2000).

In der Literatur finden sich auch Angaben über antivirale Eigenschaften. So sollen die Lanthanoide direkt auf Viren und indirekt durch eine Steigerung des Interferons wirken (Sedmak et al., 1986). Liu et al. (1998) untersuchten in in-vitro-Versuchen mit Influenzaviren Hemmeffekte auf die Viren.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, REE in der Medizin und Pharmakologie einzusetzen. So wird als Antikoagulantien von einer Hemmung der Blutgerinnung durch REE-Gaben berichtet (Vincke und Sucker, 1950, Hunter und Walker, 1956, Beller und Mammen, 1956), die durch eine Blockade der Blutplättchenaggregation zustande kommt (Holmsen et al., 1971).

Als die effektivste Methode, das mit einem Nierenschaden osteodystrophe Syndrom zu unterbinden, gelten die Präparate Fosrenol® (zugelassen beim Menschen) von Shire Pharmaceuticals sowie Lantharenol® (zugelassen bei der Katze) von der Bayer AG (Albaaj und Hutchison, 2005). Die Nebenwirkungen

dieses aus Lanthanarbonat bestehenden Phosphatbinders sind sehr gering im Vergleich zu den auf Aluminium oder Calcium basierenden Produkten (Chiang et al., 2005). Bei Langzeitdialysepatienten tritt häufig das Problem einer Hyperphosphatämie auf, da die renale Exkretion des Phosphors durch einen Nierenschaden nicht mehr gegeben ist. Verstärkend kommt eine übermäßige Parathormonausschüttung durch eine Hypocalcämie hinzu, da die Calciumretention im Tubulussystem nicht mehr funktioniert. Das Parathormon versucht den Blutcalciumspiegel wieder auf normale Werte anzuheben, indem es eine Demineralisation der Knochen initiiert, was eine erneute Erhöhung der Hyperphosphatämie zur Folge hat. Seine Wirkung entfaltet das Lanthanarbonat-Hydrat durch die Abspaltung des Hydrates und die Bindung des Phosphates. Bei einem pH von 3 bis 5 besitzt Lanthanarbonat eine Phosphatbindungskapazität von 97%. Diese Lanthanarbonat-Phosphatbindung ist sehr stabil, sodass diese Komplexe über den Faeces ausgeschieden werden (De Broe und D'Haese, 2004).

Lanthanoide werden auch in der Krebstherapie mit Erfolg getestet. Sie zeigen offensichtlich die Tendenz, sich in Tumorgewebe anzureichern. Xiao et al (1997) zeigten in in-vitro-Versuchen, dass REE das Wachstum von Tumorzellen gehemmt haben. Dai et al. (2002) konnten in Versuchen sogar die Apoptose von Leukämiezellen mit Lanthanchlorid und Cerchlorid induzieren.

### 2.2.5 Toxikologische Eigenschaften

Die Toxizität der REE wird allgemein als sehr gering eingestuft (Haley, 1979). Unterschiede gibt es dennoch, je nach Darreichungsform, Art der Verbindung und der betreffenden Spezies (Evans, 1990). Bei oraler Applikation wird nur etwa 1% der REE aufgenommen. Darum liegt die LD<sub>50</sub> im Gramm pro Kilogramm-Bereich (Evans, 1990, Durbin et al., 1956). Bei Ratten liegt die LD<sub>50</sub> / kg KM bei oraler Aufnahme bei 2,5g Neodymiumnitrat, 4,5g Lanthannitrat und 10g Lanthanacetat (Haley, 1979). Die Verfügbarkeit bei subcutaner, intramuskulärer oder intravenöser Verabreichung ist deutlich höher. Nach intravenöser Applikation liegt die LD<sub>50</sub> bei 100%, was eine deutlich höhere Toxizität mit sich bringt. Hier liegt sie bei 10-100 mg/kg KM (Evans, 1990).

Zu den Symptomen einer akuten Vergiftung gehören unter anderem Sedation, Kümern, Ataxie, angestrenzte Atmung und Zehenspitzenengang mit gekrümmten

Rücken. Bei chronischen Vergiftungen treten erst Leber- und Milzdegenerationen, dann Blutbildveränderungen auf (Haley, 1979, Haley et al., 1964). Bei intravenöser Gabe konnten Blutdruckabfall (Graca et al., 1964) und Appetitverlust (Evans, 1990) beobachtet werden. Nach schneller Anflutung bei i.v.-Injektion verschwinden die REE rasch aus der Blutbahn, reichern sich jedoch zu etwa 78% in der Leber und den Knochen an (Nakamura et al., 1997, Evans, 1990). Die Ausscheidung erfolgt überwiegend über die Nieren, aber auch über die Galle und die Darmwand (Magnusson, 1963).

### **2.2.6 Einsatz Seltener Erden in der Landwirtschaft**

Seit über 50 Jahren finden REE Anwendung in der chinesischen Landwirtschaft, wo sie als Düngemittel in der pflanzlichen und als Leistungsförderer in der tierischen Produktion eingesetzt werden (Chang et al., 1998). Da große Teile der Weltvorkommen an REE in China lagern, sind Gemische aus Lanthanoiden dort leicht verfügbar und relativ kostengünstig.

#### **2.2.6.1 Seltene Erden in der Pflanzenproduktion**

In zahlreichen Studien wurden in China die Effekte auf das Pflanzenwachstum untersucht. Die Versuche fanden an unterschiedlichsten Pflanzen und Feldfrüchten statt. Eingesetzt wurden sie, indem man die Blätter besprühte, die Samen einweichte oder sie als Düngemittel auf die Ackerböden ausbrachte. Dabei wurden angeblich zum Teil erhebliche Ertragssteigerungen erzielt. Chang et al (1998) erkannten eine Dosisabhängigkeit, dabei kam es nach anfänglicher Leistungssteigerung ab Konzentrationen von 1g/kg Erde schnell zu Einbußen.

Nicht nur von zum Teil sensationellen Ertragssteigerungen beim Anbau u. a. von Reis (5 - 10 %), Orangen (8 - 39%), Wassermelonen (23%), Honigmelonen (75 - 111 %), Paprika (5 - 10%), Tomaten (16%) und Chinakohl (22%), sondern auch von der Steigerung einiger Qualitätsmerkmale wie dem Zuckergehalt von Orangen und Wassermelonen wird berichtet (Wan et al., 1998).

In der Literatur finden sich diverse Erklärungsansätze für die Wirkung von REE. Es wird über eine Stimulierung des Stoffwechsels, z.B. der Absorption, des Transfers und der Assimilation von Nährstoffen (Chang et al., 1998), des Wurzelwachstums (Kuang et al., 1991) und oberirdischer Pflanzenteile (Wu et al.,

1998) diskutiert. Brown (1990) beobachtete eine schnellere Entwicklung, gesteigerte Wurzelbildung, Zunahme des Chlorophyllgehalts und eine bessere Fruchtfarbe. Ein herausragender Effekt ist die Steigerung der Photosyntheserate, die bei Tabakpflanzen und Spinat in Konzentrationen von 5-20 ppm beobachtet wurde. Bei niedrigeren Dosierungen kommt es zu einer gesteigerten Phosphorylierung im Chloroplasten, während bei höheren eine Leistungssuppression vorstatten geht (Chen et al., 2001, Fashui et al., 2002). Vermutet wird, dass  $Ce^{3+}$  in den Chloroplasten gelangt und anstelle des Magnesiums an das Chlorophyll bindet.

Momentan werden REE in über 20 verschiedenen chinesischen Provinzen als Düngemittel angewendet. Hierbei gibt es verschiedene Konzepte, REE in Mischungen zu verwenden. Sie gibt es an Nitrate gebunden, an Chloride und auch in einer Mischung, bestehend aus La, Ce und Nd mit 17 verschiedenen Aminosäuren. Die Konzentration des Düngers, die Art und der Applikationsweg differieren je nach Pflanzenart (Pang et al., 2002).

#### **2.2.6.2 Seltene Erden in der Tierproduktion**

Seit mehr als fünf Jahrzehnten werden REE nun schon in der chinesischen Landwirtschaft als Leistungsförderer in der tierischen Nahrungsmittelproduktion eingesetzt (Chang et al., 1998). Die REE werden den Tieren oral über das Wasser oder mit dem Futter verabreicht. Die leistungssteigernden Effekte zeigen sich beim Einsatz der REE sowohl durch eine Verbesserung der Wachstums- und Mastparameter als auch durch eine Steigerung der Qualität des Fleisches und anderer tierischer Produkte. Zur Anwendung kommen verschiedenste Salze, Nitrate und Oxide in unterschiedlichen Reinheitsgehalten der REE, was einen Vergleich der Studien erschwert. Neuere Studien ergaben, dass Citratsalze der REE eine gleichwertige oder sogar bessere Wirkung haben als die Chloridsalze (Rambeck et al., 2004, Halle et al., 2002). Die REE-Citrate sind deutlich weniger hygroskopisch als die REE-Chloride, was eine Mischung mit dem Mineralfutter erheblich vereinfacht (Rambeck und Wehr, 2004).

Die leistungssteigernden Effekte wurden bei nahezu allen Nutztierarten, wie Mastschweinen, Mastbullen, Mastbroilern und Nutzfischen, postuliert (Shen et al., 1991, Yang und Chen, 2000, Yang et al., 2005).

Durch den Einsatz von 600 mg REE pro kg Futter konnten z.B. eine Verbesserung der Futtermittelverwertung und dadurch eine Wachstumssteigerung von angeblich 32% bei Ferkeln erzeugt werden (Hu et al., 1999). Auch eine Steigerung der Verdaulichkeit soll durch REE bewirkt werden (Li et al., 1992). So konnte sowohl die Verdaulichkeit von Rohfett als auch Rohprotein um 15% bzw. 8% gesteigert werden. Hu et al. (1999) stellten eine um 2,0% bis 3,4% verbesserte scheinbare Verdaulichkeit von essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren fest.

REE beeinflussen verschiedene Hormone (Xu et al., 1999). In Versuchen wurde eine Erhöhung des GH- (growth hormon), des T3- (Trijodthyronin) sowie des T4- (Thyroxin) Spiegels durch die Verabreichung von REE festgestellt. Xu et al. (1999) vermuten, dass Lanthan sowohl die Sekretion als auch die Synthese dieser Hormone stimulieren, wodurch die Stoffwechselrate des Organismus verstärkt wird.

Seit 1999 wurde auch in ersten Fütterungsstudien mit unterschiedlichen Tierarten versucht, unter westlichen Bedingungen die teils enormen Leistungssteigerungen der REE zu reproduzieren. Die in China eingesetzten Nutztierassen weisen allerdings auch in den meisten Fällen eine deutlich geringere Produktivität auf als die westlichen, weswegen die dort ermittelten Ergebnisse differenziert zu betrachten sind. Die Wirkung aller Mastleistungshilfsmittel ist stark von den Umweltbedingungen wie der Art der Haltung, der Hygiene und der Fütterung abhängig (Wenk, 2005). So können die leistungssteigernden Effekte der REE teilweise nur unter suboptimalen Verhältnissen auftreten oder zumindest deutlicher ausfallen.

Am Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik der Ludwig-Maximilians-Universität München wurden verschiedene Versuche an Mastschweinen, Broilern, Kälbern, Ratten und Fischen durchgeführt (He et al., 2001, Borger, 2003, Schuller et al., 2002, Feldhaus, 2006, Eisele, 2003, Miller, 2006, Renard, 2005, Halle et al., 2002, Rambeck et al., 2000).

In Studien an Schweinen konnten positive Effekte auf die Mastleistungsparameter Gewichtszunahme und Futtermittelverwertung festgestellt werden. Bei einer Dosierung von 150mg/kg, 200mg/kg bzw. 300mg/kg REE-Chlorid lag die Gewichtszunahme der Tiere 12% (Borger, 2003), 3-10% bzw. 4-5% (Eisele, 2003) über denen der

Kontrolltiere. Auch die Futtermittelverwertung wurde durch den Einsatz der 200mg/kg-Dosierung um 2% - 9% verbessert. Bei der Supplementierung von 100 mg / kg Futter wurden positive sowie auch negative Wirkungen mit Gewichtszunahmen zwischen -3,6% (Böhme et al., 2002) bis + 8,6% (Knebel, 2003) beobachtet. Die Auswirkungen auf die Leistung stellten sich bei Absatzferkeln besser dar. Hier lag bei einer Konzentration von 150 mg / kg die Gewichtszunahme um 0% - 5% über der Kontrolle, während sich die Futtermittelverwertung um 3% – 7% verbesserte (Rambeck et al., 2000). Eine andere Studie ermittelte bei gleicher Konzentration eine Steigerung der Gewichtszunahme um 19% und eine verbesserte Futtermittelverwertung um 11% (Borger, 2003).

In zwei Feldversuchen wurde von Schuller (2001) die Wirksamkeit bei Broilern und japanischen Wachteln untersucht. Es wurde nicht nur die Mastleistung der Broiler beurteilt, sondern auch die Legeleistung der Wachteln. Positive Effekte bei einer Zugabe von REE-Chlorid konnte nicht festgestellt werden. Bei der Höchstdosierung im Versuch von 300mg/kg, trat sogar eine signifikante Verschlechterung der Leistungsparameter bei den Broilern ein. Im Rahmen des Versuchs wurde auch eine Analyse der Digesta durchgeführt. Eine Beeinflussung der Gesamtkeimzahl und des Verhältnisses der Darmmikroben wie Milchsäurebakterien, Enterokokken und Enterobacteriaceen konnte nicht beobachtet werden.

Bei einem weiteren Versuch mit Broilern konnte eine Erhöhung der Mastendgewichte durch die Supplementierung von 100mg/kg REE von bis zu 7% erzielt werden. Eingesetzt wurden verschiedene REE- Verbindungen, wie REE-Ascorbat, -Nitrat, -Citrat und -Chlorid. Bei allen Formen der Gemische wurden positive Effekte der Gewichtszunahme erzielt (Halle et al., 2002).

Neben dem Einfluss der REE auf Schweine untersuchte Knebel (2004) mögliche Einflüsse auf die ruminale Fermentation. Die Studie fand an einem künstlichen Pansen (RUSITEC) statt. Es konnte jedoch keine direkte Einflussnahme auf die Fermentation beobachtet werden. Daraus schloss die Autorin, dass die Effekte nicht auf einer Beeinflussung der Pansenmikroben beruhen. Diese Ergebnisse sind allerdings nicht ohne weiteres auf monogastrische Nutztiere übertragbar, da hier unterschiedliche Verdauungsverhältnisse vorliegen.

Um die Wirkung auf wechselwarme Tiere zu untersuchen, wurden Versuche mit Forellen und Karpfen durchgeführt. In der Fischzucht konnten in diesem Versuch allerdings keine leistungssteigernden Effekte bezüglich Mastendgewicht und Futtermittelverwertung erzielt werden. Eine Beeinflussung der Qualitätsparameter Ausschlachtgewicht, pH-Wert, Fleischfestigkeit und -färbung ergab die Studie nicht (Renard, 2005).

Ein an Ratten durchgeführter Versuch ergab nach einer 18-tägigen Verfütterung von Lanthanchlorid an 50 Tiere eine Steigerung des Körpergewichts um 9% und eine um 11% verbesserte Futtermittelverwertung. Desweiteren wurden verschiedene biochemische Parameter im Blutserum ermittelt. He et al. (2003) kamen zum Ergebnis, dass die Aktivität der Alkalischen Phosphatase (AP), der Alanin-Amino-Transferase (ALT) und Aspartat-Amino-Transferase (AST) bei den supplementierten Ratten stieg. Auch die Konzentration des Kreatinins im Blut wurde erhöht, während der Blutglucosespiegel sich verringerte.

Eine Zusammenstellung der positiven Effekte von REE auf die Leistungsparameter Gewichtszunahme (GZ, MW in %) und Futtermittelverwertung (FV, MW in %) bei unterschiedlichen Nutztieren wird in Tabelle 7 wiedergegeben.

Tabelle 7: Effekte verschiedener REE-Beimengungen in unterschiedlichen Konzentrationen diverser Spezies (modifiziert nach Miller, 2006).

Spezies	Bindungsform	REE-Dosierung	Effekte	Author	
Absatzferkel	REE-Chlorid	75 mg / kg	+ 2 % GZ	RAMBECK et al. (2000)	
			- 4-5 % FV		
		150 mg / kg	+ 0-5 % GZ		
			-3-7 % FV		
Absatzferkel	REE-Chlorid	150 mg / kg	+ 19 % GZ	BORGER (2003)	
			- 11 % FV		
Mastschwein		150 mg / kg	+ 12 % GZ		
			- 3 % FV		
Mastschwein	REE-Chlorid	100 mg / kg	- 3,6 % GZ	BÖHME et al. (2002)	
	REE-Nitrat		- 3,6 % GZ		
	REE-Ascorbat		- 3,4 % GZ		
	REE-Citrat		- 1,1 % GZ		
Schwein	REE-Chlorid	300 mg / kg	+ 4-5 % GZ	EISELE (2003)	
		200 mg / kg	+ 3-10 % GZ		
			- 2-9 % FV		
Schwein	REE-Chlorid	50 mg / kg	±0 % GZ	KNEBEL (2003)	
		100 mg / kg	+ 8,6 % GZ		
		200 mg / kg	+ 22,6 % GZ		
Broiler	REE-Chlorid	100 mg / kg	+ 5 % GZ	HALLE et al. (2002)	
	REE-Nitrat		+2 % GZ		
	REE-Ascorbat		+7 % GZ		
	REE-Citrat		+ 6,5 % GZ		
Broiler	REE-Citrat	70 mg / kg	+ 5 % GZ	He et al. (2010)	
			- 3,4 % FV		
		100 mg / kg	+13,2 % GZ*		(*= Tag 21- 35 der Mastperiode)
	REE-Chlorid	40 mg / kg	Keine Effekte		
		70 mg / kg	+ 8,3 % GZ*		
Broiler	REE-Chlorid	150 mg / kg	keine Verbesserung in Aufzucht- und Legeleistung	SCHULLER et al (2002)	
		300 mg / kg			
Japanische Wachtel		75 mg / kg			
		150 mg / kg			
		300 mg / kg			
Forellen	REE-Citrat-Gemisch	100 mg / kg	keine Leistungssteigerung in GZ, FV	RENARD (2005)	
		200 mg / kg			
		400mg / kg			
Karpfen	REE-Citrat	400 mg / kg	Keine Effekte		
Ratte	REE-Citrat	75 mg / kg	+ 4-7 % GZ	HE et al. (2003)	
		150 mg / kg	+ 3-11 % FV		

(GZ = Gewichtszunahme / FV = Futtermittelverwertung)

Der Wirkmechanismus der REE ist noch ungeklärt. In der chinesischen Literatur sind nur wenige wissenschaftlich fundierte Hinweise zum Wirkmechanismus von den ergotrop wirkenden REE zu finden. In einigen Publikationen wird unter dem Einfluss REE eine Verbesserung der Verdaulichkeit und Nährstoffverfügbarkeit beschrieben (Hu et al., 1999, Li et al., 1992, Cheng et al., 1994). Diskutiert werden unter anderem zwei mögliche Mechanismen. So könnten die REE einen Einfluss auf den Intermediärstoffwechsel ausüben oder aber eine lokale Wirkung haben. Da von verschiedenen Autoren eine geringe Resorptionsrate aus dem Chymus des Gastro-Intestinal-Traktes beschrieben wird, könnte man annehmen, dass die REE eine lokale Wirkung ausüben (Durbin et al., 1956, Evans, 1990, Ji und Cui, 1988). Auch bakteriostatische Effekte im Verdauungstrakt und daraus resultierend eine Beeinflussung der Darmflora wurden erwogen (Muroma, 1958, Muroma, 1959). Die zweite Theorie über die Effekte, für die neuere Untersuchungen sprechen, ist eine Wirkungsvermittlung über die Beeinflussung intermediärer Stoffwechselprozesse, da hier eine Einflussnahme auf den Bluthormonspiegel und die Enzymaktivität verschiedener Leberenzyme ermittelt wurde (He et al., 2003). Ein anderer Ansatz für die Wirkung ist eine etwaige Beeinflussung der spezifischen Zellfunktion über die Bindung und Blockierung der Calciumkanäle (Evans, 1990).

Denkbar wäre auch eine mögliche Einflussnahme der REE auf die Morphologie, funktionelle Einheiten, Enzymsysteme oder das Mikrobiom des Darmes.

### **3 Material und Methoden**

Zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus von Lanthanoiden im Organismus wurden in der vorliegenden Arbeit Auswirkungen auf die scheinbare Verdaulichkeit von Roh Nährstoffen sowie auf die Histomorphometrie des Dünndarms untersucht. Hierbei wurde insbesondere auf eine mögliche Beeinflussung der Zottenlängen im Duodenum, Jejunum und Ileum sowie des Kot-pH-Wertes nach Supplementierung von Lanthanoiden eingegangen.

#### **3.1 Versuchstiere**

Die Untersuchungen wurden an Ratten des Stammes Wistar Han, einem spf-Auszuchtstamm der Firma Janvier (Le Genest-St-Isle, Frankreich), durchgeführt. 60 Tiere, zu gleichen Teilen männliche wie weibliche, wurden mit einem Alter von drei Wochen und einem durchschnittlichen Gewicht von 50g  $\pm$ 5g erworben und eingestallt.

Die Studie wurde nach Genehmigung des Versuchsvorhabens durch die Regierung von Oberbayern durchgeführt.

#### **3.2 Haltung**

Die Tiere wurden in Räumlichkeiten des Physiologischen Instituts der LMU in einem fensterlosen Raum mit Lichtprogramm in Makrolon Typ IV Käfigen mit einem erhöhten Drahtdeckel mit eingesenkter Futterraufe und Trinkflaschenhalterung der Firma Techniplast (Hohenpeißenberg) zur Eingewöhnung zu acht untergebracht. Das Material Makrolon besteht aus einem Polycarbonat. Dieses lässt sich auch bis Temperaturen von 120°C sterilisieren. Die Abmessungen der Käfige beträgt 59,5 cm x 38 cm x 20 cm. Für den Versuch fanden je vier Käfige in einer Reihe mit fünf Reihen pro Edelstahlständer Platz. Somit konnten insgesamt 20 Käfige pro Ständer untergebracht werden.

Eingestreut waren diese mit Sägemehl der Marke Lignocel® von der Firma Rettenmaier und Söhne GmbH & Co KG. Die Einstreu wurde wöchentlich gewechselt.

Ein konstantes Lichtprogramm regelte während der gesamten Versuchszeit jeweils 12 Stunden Licht und Dunkelheit. Das Raumklima von 23°C und einer Luftfeuchte von durchschnittlich 43% wurde eingehalten.

Als Enrichment für die Ratten ist jedem Käfig ein Holzwürfel mit 7,5 cm x 7,5 cm x 7,5 cm Kantenlänge beigefügt worden.

### 3.3 Fütterung

Gefüttert wurden alle Tiere mit einem pellettierten Grundfutter auf Getreidebasis, die einzelnen Gehalte sind in Tabelle 8 dargestellt.

*Tabelle 8: Zusammensetzung des Haltungsalleinfutters für Kleinnager.*

Zusammensetzung:	
21%	Sojaextraktionsschrot [dampferhitzt]
17%	Weizen [geschrotet]
10%	Gerste [geschrotet]
10%	Mais
5%	Futtermehl
5%	Malzkeime
5%	Luzernegrünmehl
5%	Sonnenblumenschrot
4%	Leinexpeller
2,5%	Zuckerrübenmelasse
3%	Weizenkleie
3%	Hafer [geschrotet]
2,5%	Molkepulver

Tabelle 9 zeigt die Zusatzstoffe in i.E. oder mg je kg Futter.

*Tabelle 9: Gehalte der Zusatzstoffe des Haltungsalleinfutters (bezogen auf 1kg).*

Zusatzstoffe:	
75000 i.E.	Vitamin A
2500 i.E.	Vitamin D3
150mg	Vitamin E
1,25mg	Vitamin B1
5,0mg	Vitamin B2
3,75mg	Vitamin B6
20mg	Vitamin B12
7,5mg	Calcium-d-Panhotenat
20mg	Niacin
0,5mg	Folsäure
1,25mg	Vitamin K <sub>3</sub>
150mg	Zink [Zinkoxid]
225mg	Mangan [ManganIIoxid]
125mg	Biotin
75mg	Cholin
25mg	Eisen [EisenIIsulfat]
2,5mg	Jod [Calciumjodat]
2,5mg	Kobalt [Kobaltsulfat]
1,25mg	Kupfer [Kupfersulfat]

Daraus ergeben sich die in Tabelle 10 aufgeführten Gehalte an Rohnährstoffen.

Tabelle 10: Rohnährstoffgehalte des Haltungsallesinutters (in %).

Inhaltsstoffe:	
22%	Rohprotein
7,5%	Rohfaser
2,5%	Rohfett
9,5%	Rohasche

In Tabelle 11 wird die REE-Supplementierung zum Futter dargestellt. Die einzelnen REE-Elemente werden in %, anteilig am Gesamtgehalt des REE-Citrates im Futter, angegeben.

Tabelle 11: Zusammensetzung der REE-Verbindung: REE-Citrat.

Zusammensetzung des REE-Citrats	
Citrat	73%
REE-Mix	27%
REE-Mix bestehend aus	
REE	Anteil im REE-Mix (in %)
Cer	55 %
Lanthan	30 %
Neodym	10 %
Praseodym	5 %

Frisches Wasser stand den Tieren durchgehend unbegrenzt aus 0,5 Liter-Nippelflaschen zur Verfügung.

### 3.4 Versuchsaufbau

#### 3.4.1 Gruppeneinteilung

Nach einer Eingewöhnungsphase von drei Wochen wurden die Tiere mit einem durchschnittlichen Gewicht von 171g fünf Gruppen mit jeweils 12 Tieren, zu gleichen teilen männliche wie weibliche, zugeordnet.

Es wurden je zwei Tiere pro Käfig eingestallt. Zur Unterscheidung der beiden Tiere eines Käfigs wurden alle Tiere mit gerader Zahl mit einem schwarzen Punkt auf dem Schwanz markiert.

Sie wurden nach Gewicht den Gruppen zugeteilt, so dass jede der Versuchsgruppen dasselbe Durchschnittsgewicht hatte. Die Kontrollgruppe erhielt ausschließlich Grundfutter, während die vier Versuchsgruppen in das Grundfutter ein Gemisch aus REE-Citrat auf Stärkebasis eingemischt bekamen. Zwei der mit REE gefütterten Gruppen erhielten eine Konzentration von 500 ppm REE-Citrat und die zwei übrigen eine Konzentration von 2500 ppm. Um differenzieren zu können, ob die Effekte REE auf einer Steigerung des Appetites beruhen oder aber andere Ursachen hinter einem erhöhten Endgewicht stehen, wurde je einer Gruppe der jeweiligen REE-Citratkonzentration eine pair-fed und eine ad-libitum Gruppe eingerichtet. Den pair-fed Tieren wurde entsprechend das des Vortags im Durchschnitt aufgenommene Futter der Kontrolltiere zugeteilt. Die Kontrollgruppe wurde ad-libitum mit dem Grundfutter versorgt. Tabelle 12 zeigt die Einteilung in die jeweiligen Versuchsgruppen.

Tabelle 12: Gruppeneinteilung

Gruppeneinteilung			
Gruppe	Gruppenart	Konzentration an REE-Citrat	Fütterungsart
1	Kontrollgruppe	0 ppm	ad-libitum
2	Wirkstoffgruppe	500ppm	ad-libitum
3	Wirkstoffgruppe	500ppm	pair-fed (zur Kontrolle)
4	Wirkstoffgruppe	2500ppm	ad-libitum
5	Wirkstoffgruppe	2500ppm	pair-fed (zur Kontrolle)

### 3.5 Verdauungsversuch

#### 3.5.1 Unterbringung und Versorgung der Tiere

Während des Versuchs wurden die Tiere in einen achttägigen Verdauungsversuch genommen.

Zunächst wurde die Hälfte der Tiere, gleichmäßig verteilt aus allen Gruppen und Geschlechtern, einzeln in Stoffwechselkäfige TEC-XXX der Firma FMI GmbH, Seeheim, verbracht. Die Zuteilung des Futters erfolgte wie im Fütterungsversuch. Wasser stand ad libitum zur Verfügung. Die Ratten nahmen allerdings innerhalb von drei Tagen bis zu 17 Gramm ab, sodass der Verdaulichkeitsversuch in diesen Käfigen abgebrochen wurde. Im Anschluss daran wurde der Rest der Tiere ebenfalls für die drei Tage in die Stoffwechselkäfige verbracht, um gleiche Bedingungen für alle Tiere zu erhalten.

Nach einer Erholungszeit von 7 Tagen wurde ein neuer Verdauungsversuch begonnen. Hierzu wurden die Tiere mit ihrem Partner in den Makrolon Typ IV Käfigen belassen, jedoch mit nichtklumpendem Katzenstreu der Marke Thomas® eingestreut, um Verfälschungen des Analyseergebnisses durch aufgenommenes

oder an den Kot anhaftendes Sägemehl zu verhindern. Die Futterzuteilung und Rationierung erfolgte weiterhin wie im Fütterungsversuch. Die Futtermenge wurde jeweils eingewogen und eventuelle Restmengen am Folgetag rückgewogen, um die tägliche Futteraufnahme bestimmen zu können. Der gesamte Kot jedes Käfigs wurde täglich gesammelt und bis zur weiteren Analyse in separaten Gefäßen bei -20°C aufbewahrt.

### **3.6 Probengewinnung**

Nach circa sechs Monaten endete der Fütterungsversuch. Das Versuchsende erstreckte sich aus technischen Gründen über vier Tage. Die Tiere wurden mit einer Triple-Narkose, bestehend aus Medetomidin als Muskelrelaxans, Midazolam als Sedativum und Fentanyl als Analgetikum im Verhältnis 9: 24: 9 mit einer Dosierung von 1,4 ml/ kg KM, betäubt. Anschließend wurde den Ratten das Abdomen und der Thorax eröffnet. Nun wurden mit einer Infusion aus PBS-Puffer, nachdem ein Zugang in die linke Herzkammer gelegt und die Vena cava abdominalis eröffnet wurde, die Bauchorgane blutleer gespült. Unmittelbar nach der Tötung durch Blutentzug wurde die Leber, anschließend der Darm, die Nieren und eine Muskelprobe der langen Sitzbeinmuskulatur entnommen. Für weitere Analysen im Rahmen einer Dissertation, die parallel angefertigt wird, wurden je drei Proben aus der Leber, dem Duodenum, dem Jejunum und dem Ileum gewonnen. Als Rückstellproben wurden den Ratten zusätzliche Proben aus der Leber, dem Darm, den Nieren und der langen Sitzbeinmuskulatur, einmal in Formalin fixiert und einmal als Gefrierprobe, entnommen.

Dem Darm wurden aus dem cranialen Abschnitt der Pars descendens des Duodenums, einem Mittelstück des Jejunums und aus dem Ileum je zwei ca. 1,5 cm lange, gerade ausgerichtete Stücke entnommen. Diese wurden zum einen in 4%igem Formalin und zum anderen in Bouinscher Lösung [Pikrinsäure+ 2,5% Kupferacetat+ 3,5% Formol in Aqua dest.] fixiert, um eine unmittelbar einsetzende Autolyse zu stoppen.

### 3.6.1 Kot

Der Kot wurde zur Bestimmung des pH-Wertes nach der Tötung der Tiere direkt dem Rektum entnommen. Der Kot-pH wurde mittels pH-Meter [inolab pH level1 pH-meter, WTW GmbH+Co KG, Weilheim] einer pH-Elektrode [SenTix 81, WTW, Weilheim] gemessen. Hierzu wurde der kurz zuvor entnommene Kot in 50ml-PP-Sedimentröhrchen [NERBE PLUS GmbH, Winsen/Luhe] 1:1 mit bidestilliertem Wasser vermischt und 12 Stunden stehen gelassen, so dass sich der Kot im Wasser gelöst hatte.

Vor den Messungen erfolgte eine Kalibration der pH-Elektrode mit Standard pH-Lösungen.

### 3.6.2 Darm

Für die Auswertung der Darmzottenlänge wurden die Tiere der Gruppen mit dem höchsten zu erwartenden Ergebnis herangezogen. Es wurden, nachdem die Tiere der pair-fed-Gruppen am Versuchsende ein geringeres Durchschnittsgewicht aufwiesen als die der ad-libitum-Gruppen, die Tiere der Kontrollgruppe und die der Gruppen II und IV ausgewertet. Zur Verfügung standen in der Kontrollgruppe und in der Gruppe II jeweils zwölf, und in der Gruppe IV zehn Tiere.

#### 3.6.2.1 Fixierung und Einbettung

Die entnommenen Darmstücke wurden für 24 Stunden in 4%igem Formalin und in Boinscher Lösung 4% belassen. Anschließend wurden die Proben einer aufsteigenden Alkoholreihe zugeführt, beginnend mit 70%igem Alkohol für zwei Stunden. Die formalinfixierten Proben mussten im Vorfeld zwei Stunden gewässert werden. Da der Alkohol durch das Wasser bzw. die Boinsche Lösung verdünnt war, wurden nach Abgießen und erneutem Befüllen mit 70%igem Alkohol die Proben für zehn Tage zur vollständigen Entwässerung ruhen gelassen. Nun wurden die Gefäße für wieder zwei Stunden mit 96% Alkohol befüllt und nach Abgießen über Nacht in gleicher Verdünnung gelassen.

Anschließend wurden die Darmstücke für jeweils 12 Stunden zwei mal in zuerst Isopropanol, dann in Xylol überführt.

Die entwässerten und geklärten Proben konnten vor der Einbettung nun je 24 Stunden in weiches und anschließend in hartes Paraffin gegeben werden.

Die aufgequollenen Enden der vorbereiteten Darmrohre wurden mit einem Skalpell entfernt, um sie senkrecht in die Ausgussformen stellen zu können.

Je ein Stück pro entnommenem Darmabschnitt, somit insgesamt drei eines Tieres, wurde in die Formen gegeben, um sie einzubetten.

Nach der Aushärtung des Paraffins waren Proben fertig zum Anfertigen der fünf mikrometerdicken, histologischen Schnitte, die mittels Microtom geschnitten wurden. Je zwei der Schnitte wurden auf einen Objektträger aufgezogen.

Für morphologische und morphometrische Untersuchungen wurden die 5–7 µm dicken Schnitte mit HE gefärbt.

Vor der Färbung der histologischen Schnitte erfolgte eine Entparaffinierung. Dazu wurden die Schnitte zweimal für fünf Minuten in Xylol getaucht und anschließend über eine absteigende Alkoholreihe ins Wasser überführt.

### **3.6.2.2 Färbung der Paraffinschnitte**

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung ist die Standard-Übersichtsfärbung. Bei dieser färben sich die Zellkerne blauviolett und das Zytoplasma sowie die Muskulatur und das kollagene Bindegewebe rot an und das elastische Bindegewebe zeigt sich blassrosa. Muzine nehmen den Farbstoff nicht an und hinterlassen eine ungefärbte Fläche in den Becherzellen (Lang, 2006).

Um die Schnitte färben zu können, musste zunächst das Paraffin entfernt werden. Hierzu wurden die Präparate jeweils fünf Minuten in Xylol gegeben, anschließend je zwei Minuten in Isopropanol, 96%igen, 70%igen Alkohol und destilliertes Wasser. Die Kernfärbung erfolgte für zehn Minuten in Hämalaun. Nach dem Bläuen unter fließendem Wasser gab man die Präparate in Eosin. Anschließend wurden die Schnitte mittels Isopropanol und Xylol je fünf Minuten entwässert, um nach einer Trocknungsphase eingedeckelt zu werden.

### 3.6.2.3 Auswertung der Präparate

Zur Auswertung wurden der erste, dritte, sechste, achte, elfte, dreizehnte, sechzehnte und achtzehnte Schnitt herangezogen. Je nach Qualität des Schnitts wurde der erste oder dritte, der achte oder elfte sowie der sechzehnte oder achtzehnte Schnitt zur Messung benutzt. Diese wurden mittels einer Stereolupe der Marke Olympus mit dem dazugehörigen Programm Cell-D bei einer 4-fachen Vergrößerung abfotografiert und anschließend vermessen. Durch das Programm war es möglich, direkt in dem Bild jeweils eines Darmrohrschnitts einen Messbalken einzubrennen und mittels einer Vermessungsfunktion durch Messstrecken und Polygone die Längen von Zottenspitze zur Zottenbasis darzustellen.

Ausgewertet wurden die zehn längsten, möglichst gerade ausgerichteten Zotten eines Darmabschnittes.

Das Programm Cell-D bot weiterhin die Möglichkeit, die Messstrecken mittels Microsoft Excel tabellarisch aufzustellen sowie den Mittelwert und die Standardabweichung zu errechnen. Nach einer Sortierung der Werte absteigend nach der Länge wurde aus den zehn längsten Zotten ein Mittelwert erzeugt. Somit wurden je drei Mittelwerte eines jeden Tieres der jeweiligen Dosierung der REE für jeden Darmabschnitt gesondert ermittelt.

Die ermittelten Mittelwerte der jeweiligen Darmabschnitte der 3. und 5. REE-Gruppe wurden mit denen der Kontrollgruppe verglichen.

### 3.6.3 Restkörperanalyse

Die Restkörper der Ratten wurden tiefgekühlt. Nachdem die Ratten durchgefroren waren und eine Kerntemperatur von  $-19^{\circ}\text{C}$  erreicht hatten, wurden 6 männliche Tiere der Kontrolle und 6 männliche Tiere der IV. Gruppe gewogen und in vorbeschriftete Aluminiumschalen gegeben, um sie zu lyophilisieren. Ausgewählt wurden die Tiere der IV. Gruppe zum Vergleich mit den Kontrolltieren, da diese die höchste durchschnittliche Masse am Ende des Versuchs aufwiesen. Der Lyophilisator besteht aus zwei Kammern. In der ersten wird das zu trocknende

Tier auf eine beheizbare Stellfläche, sogenannte Horden, verbracht. In dieser Kammer wird ein Vakuum erzeugt. Man macht sich den Effekt der Sublimation zu nutze. Hier geht das Wasser direkt aus dem festen Aggregatzustand in den gasförmigen über, da es auch im gefrorenen Zustand einen ausreichend hohen Dampfdruck hat. Bei der Sublimation wird viel Energie aufgenommen, die der Umgebungstemperatur entzogen wird. Daher wird durch die beheizbaren Horden der Kammer eben soviel Energie in Form von Wärme wieder zugefügt wie durch den Prozess verloren ging. In der zweiten Kammer befinden sich Rohrschlangen, die auf  $-55^{\circ}\text{C}$  gekühlt werden. An diesen kann die Feuchtigkeit aus der ersten Kammer kondensieren. Nach 3 Tagen waren die Ratten nahezu vollständig entwässert. Nun wurden die Tiere zurückgewogen und somit die Trockensubstanz (TS) bestimmt. Die fortan in verschlossenen Plastikbeuteln verwahrten und transportierten Ratten wurden gemahlen, um eine Ganzkörperanalyse einleiten zu können. Zum Einsatz kam die Schneidmühle SM 2000 der Firma Retsch aus Haan. Nach jedem Tier wurde die Mühle sorgfältig gereinigt, um keinen Übertrag von einem auf das nächste Tier und damit verfälschte Untersuchungsergebnisse zu erhalten. Im Anschluss wurden die Tiere in einer „Moulinette“ nachzerkleinert. Die Ratten wurden jetzt einer Weender-Analyse unterzogen, wie sie im folgenden Kapitel beschrieben ist.

#### **3.6.4 Weender-Analyse des Futters, des Kotes und der Restkörper**

Die Nährstoffe und deren Gehalte werden mittels der Weender-Analyse bestimmt. Die Parameter, die ermittelt wurden, sind die Trockensubstanz, Rohasche, Rohprotein, Rohfett und die Rohfaser.

##### **3.6.4.1 Bestimmung der Trockensubstanz**

Circa 1g des Futters wurde zur Bestimmung der Trockensubstanz zerkleinert und gemörsert, um eine kleine Körnung mit großer Oberfläche zu erhalten. Im Trockenschrank wurde bei  $103^{\circ}\text{C}$  nun bis zur Gewichtskonstanz der Ursprungssubstanz getrocknet. Der nichtflüchtige Anteil des Futters ergab die Trockensubstanz in Prozent der Ursprungssubstanz.

### 3.6.4.2 Bestimmung der Rohasche

Das zu untersuchende Substrat wurde in Porzellantiegel eingewogen. Im Muffelofen wurde bei 550°C etwa 36h lang verascht. Die Rohasche wurde gewogen und in Prozent der Ursprungssubstanz angegeben.

### 3.6.4.3 Bestimmung des Rohproteins

Um das Rohprotein zu bestimmen, kam das Kjeldahlverfahren zum Einsatz. Hier wird der enthaltene Stickstoff ermittelt und daraus mittels Umrechnungsfaktor [N x 6,25] das Protein errechnet.

#### Materialien und Geräte

- Foss Kjelttec 2400, Dispenser 0-25ml, Foss, Hamburg
- Schwefelsäure 98%ig, Art.Nr. 100748, Merck, Darmstadt
- Natronlauge 21%ig, Art.Nr. 105593, Merck, Darmstadt
- Natronlauge 32%ig, Art.Nr. 105590, Merck, Darmstadt
- Salzsäure 0,2n, Art.Nr. 113134, Merck, Darmstadt
- Borsäurelösung 1%ig, Art.Nr. 100160, Merck, Darmstadt
- Kjeltabs Cu/3,5 [3, 5gK<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + 0, 4gCuSO<sub>4</sub> × 5H<sub>2</sub>O], VWR International GmbH, Wien, Österreich

#### Durchführung

In eine 250ml Tube kamen ca. 1g Ursprungssubstanz der Substanz, ein bis zwei Kjeltabs und 10ml konzentrierte Schwefelsäure mit dem Dispenser. Im Aufschlussblock wurde die bestückte Tube bei 380°C gekocht. Hierbei geht der Stickstoff in Ammoniumsulfat über. Bei anschließender Destillation unter Zugabe von Natronlauge wurde Ammoniak in Borsäure überführt. Die Stickstoffmenge in Form des NH<sub>4</sub>OH-Gehalts, die in der Vorlage enthalten war, konnte mittels Titration mit Salzsäure bestimmt werden. Die Umrechnung von Stickstoff auf %

Rohprotein erfolgte automatisch.

#### 3.6.4.4 Bestimmung des Rohfetts

##### Material und Geräte

- Soxtec Avanti 2050, Foss, Hamburg
- Soxlet-Hülsen, Foss, Hamburg
- Siedesteinchen [Glasperlen], bezogen von VWR International GmbH, Wien, Österreich
- Petrolether [40-60 \_C], Art.Nr. T173.3, Roth, Karlsruhe
- Trockenschrank
- Glasmörser [Ah00 Staatl. Berlin]

##### Durchführung

Die mit einem Mörser zerkleinerten Proben wurden per Analysenwaage auf 1 bis 2g in die Filterhülsen eingewogen. Das Gewicht des Topfes und der drei Siedesteinchen wurde ermittelt und notiert. Nachdem der Fettextractor mit den Probengefäßen bestückt und mit 80ml Petroläther befüllt wurde, wurden die Proben bei Programm 1 mit 135°C extrahiert. Nach der Trocknung im Trockenschrank bei 103°C für 60min und anschließender Abkühlung im Exsikkator konnte durch die Gewichts Differenz das Rohfett in % bestimmt werden.

#### 3.6.4.5 Bestimmung des Energiegehalts

Mit dem Bombenkalorimeter kann der Brennwert eines Stoffes unter Sauerstoffatmosphäre und hohem Druck bestimmt werden. Dazu wird in einem doppelwandigen Stahlcontainer mit gleichmäßig temperiertem Wasser eine sogenannte Bombe aus Edelstahl in den Innenkessel eingelassen.

In der Bombe befindet sich neben der Probe zusätzlich verdichteter Sauerstoff mit

einem Druck von 25-30 bar. Der zu bestimmende Stoff wird in einem Tiegel in der Bombe platziert und mit einer Zündvorrichtung gezündet und verbrannt. Durch die Messung der Wassererwärmung im Innenkessel kann auf den Brennwert geschlossen werden.

#### Geräte und Materialien

- Kalorimetersystem IKA C 2000 basic, IKARUS GmbH & Co. KG, Staufen
- Externes Thermostat KV 500, IKARUS GmbH & Co. KG, Staufen
- Sauerstoff, Linde-Gas

#### Durchführung

Von den Proben wurde jeweils ca. 0,5g in einen Tiegel eingewogen. Dieser wurde in den Tiegelhalter des Bombenkalorimeters eingehängt, ein Baumwollfaden mittig am Zünddraht mit einer Schlaufe befestigt und so ausgerichtet, dass er in den Tiegel hineinhangt.

Dann wurde der Deckel in das Aufschlussgefäß eingesetzt, bis zum Anschlag festgedrückt und die Überwurfmutter handfest zugeschraubt. Das Aufschlussgefäß wurde nun in den Messzellendeckel bis zum Einrasten senkrecht eingehängt. Die Messung erfolgte automatisch.

Der spezifische Brennwert einer Probe errechnete sich aus:

- Masse der Brennstoffprobe
- Wärmekapazität [C-Wert] des Kalorimetersystems
- Temperaturerhöhung des Wassers im Innenkessel der Messzelle

### **3.7 Sonstige Parameter**

#### **3.7.1 Entwicklung der Lebendmasse**

Das Körpergewicht der Ratten wurde über den gesamten Versuchsverlauf wöchentlich für jedes Tier separat ermittelt.

### **3.7.2 Futterraufnahme**

Die Futterraufnahme wurde bei den REE-Tieren wöchentlich in Kombination mit der Körpergewichtsbestimmung ermittelt. Nach dem Abzug der Restfuttermenge von der ursprünglich den Tieren zur Verfügung gestellten Menge Futters ergab sich die Futterraufnahme. Sie stellt allerdings nur die durchschnittliche Aufnahme eines Käfigs dar, da immer zwei Ratten pro Käfig gehalten wurden. Die Futterraufnahme wurde für verschiedene Versuchsabschnitte und nach dem Alter getrennt ermittelt. Es wurden vier Zeiträume definiert:

Die Tiere befinden sich bis zur 10. Lebenswoche in ihrer Hauptwachstumsphase. Dieses Alter erreichen die Tiere am Ende des ersten Versuchsmonats (Tag 33). Die anschließende Phase wird als Haltungsphase bezeichnet (Tag 34 bis 133).

Im 1. Abschnitt des Versuchs (Tag 1 bis 81) befanden sich die Tiere ausschließlich im Fütterungsversuch. Im 2. Abschnitt (Tag 82 bis 133) wurde neben dem fortlaufenden Fütterungsversuch im Rahmen einer weiteren Dissertation ein Glukosetoleranztest mit Blutentnahmen durchgeführt. Hierzu mussten die Tiere mehrmals nüchtern gesetzt werden.

## **3.8 Berechnungen**

### **3.8.1 Berechnung der Futtermittelnutzung**

Zur Berechnung der Futtermittelnutzung wurde die durchschnittliche Futterraufnahme (in g) durch die Körpermassenzunahme (in g) dividiert. Dies wurde für die jeweiligen Versuchsabschnitte einzeln errechnet. Zur Darstellung wurden die Daten getrennt für die Wachstums- und Haltungsphase ermittelt.

Die Tiere befinden sich bis zur 10. Lebenswoche in ihrer Hauptwachstumsphase. Dieses Alter erreichen die Tiere am Ende des ersten Versuchsmonats (Tag 33). Die anschließende Phase wird als Haltungsphase bezeichnet (Tag 34 bis 133).

### 3.8.2 Berechnung der Energieverwertung

Für die Energieverwertung wurde die GE des Futters der jeweiligen Versuchsgruppen in die Stufe der ME umgerechnet. Über die aufgenommene Menge an Futter wurde die Tagesaufnahme an Energie (in kJ ME/ Tier und Tag) errechnet. Diese umgerechnet auf die Tageszunahme ergibt die Energieverwertung (in kJ ME / g KM-Zunahme).

Die Energieverwertung wurde wie in Kapitel 3.7.2 beschrieben für verschiedene definierte Zeiträume ermittelt.

### 3.8.3 Berechnung der scheinbaren Verdaulichkeiten der Bruttoenergie, der Trockensubstanz und des Rohproteins

Die scheinbare Verdaulichkeit ist die in Prozent der Nährstoffaufnahme angegebene Differenz zwischen der mit dem Futter aufgenommenen und der mit dem Kot ausgeschiedenen Nährstoffmenge und lässt sich durch die folgende Formel bestimmen:

$$sV (\%) = \frac{F - K}{F} \times 100 \quad \begin{array}{l} F = \text{Futter} \\ K = \text{Kot} \end{array}$$

Die GE wurde wie in Kapitel 3.7.3.1 beschrieben, bestimmt.

Die scheinbare Verdaulichkeit der im Futter enthaltenen Bruttoenergie (GE, gross energy) lässt sich durch die Bestimmung der GE des Futters und des Kotes und durch Berechnung mittels folgender Formel bestimmen:

$$sV \text{ GE}(\%) = \frac{GE_{\text{Futter}} - GE_{\text{Kot}}}{GE_{\text{Futter}}} \times 100$$

Die TS wurde wie in Kapitel 3.7.3.2 beschrieben, bestimmt.

Entsprechend der scheinbaren Verdaulichkeit der Energie wurde die scheinbare Verdaulichkeit des Rohproteins durch folgende Formel berechnet

$$sV \text{ TS}(\%) = \frac{TS_{\text{Futter}} - TS_{\text{Kot}}}{TS_{\text{Futter}}} \times 100$$

Das Rp wurde wie in Kapitel 3.7.3.4 beschrieben, bestimmt.

Entsprechend der scheinbaren Verdaulichkeit der Energie und der TS wurde die scheinbare Verdaulichkeit des Rohproteins durch folgende Formel berechnet:

$$sV \text{ Rp}(\%) = \frac{\text{Rp}_{\text{Futter}} - \text{Rp}_{\text{Kot}}}{\text{Rp}_{\text{Futter}}} \times 100$$

Untersucht wurde, ob sich die scheinbare Verdaulichkeit der Futtermittel durch die Zugabe von REE verbessert.

Die Analysen von Kot und Futter erfolgten im Labor des Lehrstuhls für Tierernährung und Diätetik in Oberschleißheim.

### **3.8.4 Berechnung des Energiegehalts der Tierkörper**

Der Energiegehalt ergab sich aus der Addition der Einzelenergiegehalte von Protein und Fett. Für 1g Fett wurde ein Brennwert von 38 kJ und für 1g Protein wurden 24 kJ angenommen.

### **3.9 Statistische Auswertung**

Die Auswertung der Daten fand mit Hilfe des Statistikprogramms SIGMASTAT, Version 3.0, SYSTAT SOFTWARE Inc., Richmond, CA, USA, statt.

Die Ergebnisse der Analysen wurden als arithmetischer Gruppenmittelwert [MW] und der dazugehörigen Standardabweichung [SD] angegeben.

Es wurde zum Vergleich der Mittelwerte eine one way ANOVA mittels Kruskal Wallis-Test durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Fütterungsversuch

#### 4.1.1 Allgemeinzustand

Eine Woche nach dem Versuchsbeginn zeigten zwei weibliche Ratten eines Käfigs der REE 500ppm-Gruppe ein deutlich reduziertes Allgemeinbefinden. Dies war geprägt durch Apathie, gesträubtes Fell und Fressunlust. Die Tiere wurden separiert und es wurden ersatzweise zwei Reservetiere des gleichen Geschlechtes mit gleicher Masse in den Versuch aufgenommen. Nachdem die erkrankten Tiere allerdings bereits nach drei Tagen wieder ein normales Verhalten zeigten und auch der Futterverbrauch stetig auf gewöhnliches Maß anstieg, beließ man sowohl die gesunden, als auch die zusätzlichen Tiere im Versuch. Die Tierzahl der Gruppe III [REE 500 ppm pair-fed] wuchs daher auf 14 statt 12 Tiere, sechs männliche und acht weibliche.

Im Laufe des Versuchs fiel ein männliches Tier der 3. Versuchsgruppe auf. Der durchschnittliche Futterverbrauch des Käfigs war deutlich geringer als der der anderen. Tier 36 des Käfigs magerte ab. Nach klinischer Untersuchung konnte eine Zahnfehlstellung der Incisiven festgestellt werden. Diese hatten keine Okklusionsflächen und nutzten sich somit nicht ab, sodass die Zähne der Ratte übermäßig wuchsen. Das Tier musste euthanasiert werden. Ein Ersatztier wurde nicht eingestallt.

Da im Rahmen des Versuchs parallel eine weitere Dissertation mit anderer Zielsetzung angefertigt wird, mussten die Tiere für eine Glukosetoleranzstudie eine Kurznarkose erhalten. Dabei kamen zwei weibliche Tiere (Tier 37 und 38) zum Tod. Beide Ratten stammten aus demselben Käfig derselben Gruppe [Gruppe IV/ 2500 ppm ad lib].

Alle übrigen Tiere zeigten bis zum Ende, die gesamte Versuchsdauer über, ein ungestörtes Allgemeinbefinden.

## 4.1.2 Leistungsparameter

### 4.1.2.1 Futteraufnahme

Die Futteraufnahme wurde bei den ad-libitum Tieren in drei- bis acht-tägigen Abständen ermittelt, die der pair-fed-Gruppen täglich. Die Mengen beziehen sich auf den Käfig von zwei Tieren pro Tag während zwei Wiegeterminen.

Die durchschnittlich täglich aufgenommene Futtermenge wird in Tabelle 13 dargestellt. Diese Werte wurden rechnerisch durch den Gesamtverbrauch zwischen zwei Wiegeterminen durch die Anzahl der verstrichenen Tage ermittelt. Die Werte geben allerdings in allen nachfolgenden Tabellen nur eine durchschnittliche Aufnahme eines Käfigs, sprich von zwei Tieren wieder, da immer zwei Tiere aus Tierschutzgründen in einem Käfig untergebracht waren. Die Futteraufnahme lag bei den Tieren der jeweiligen Versuchsgruppen in etwa auf gleichem Niveau. Lediglich die restriktiv mit Futter versorgten Tiere der Gruppe mit der 500ppm- und 2500ppm-pair-fed-REE-Ration nahmen durchschnittlich weniger Futter auf.

In der Tabelle 13 wird die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme (in g, MW  $\pm$ SD) von jeweils zwei Tieren eines Käfigs (n=6 Käfige, je zwei Tiere) im 1., 2., 3. und 4. Monat dargestellt.

*Tabelle 13: Durchschnittliche, täglich aufgenommene Menge Futter (in g, MW  $\pm$ SD) von jeweils zwei Tieren eines Käfigs (n=6 Käfige, je zwei Tiere), pro Monat.*

<b>Gruppe</b>	<b>Kontrolle [I]</b>	<b>REE 500 ad lib [II]</b>	<b>REE 500 pair-fed [III]</b>	<b>REE 2500 ad lib [IV]</b>	<b>REE 2500 pair-fed [V]</b>
<b>Tag</b>	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD
0-33	48g $\pm$ 9	47g $\pm$ 9	44g $\pm$ 10	48g $\pm$ 10	46g $\pm$ 9
34-60	47g $\pm$ 10	47g $\pm$ 10	44g $\pm$ 11	46g $\pm$ 11	45g $\pm$ 11
61-95	43g $\pm$ 11	44g $\pm$ 10	42g $\pm$ 10	44g $\pm$ 11	42g $\pm$ 10
96-133	44g $\pm$ 10	42g $\pm$ 9	37g $\pm$ 10	44g $\pm$ 10	42g $\pm$ 10

(\*  $p < 0,05$ )

Getrennt nach Geschlechtern wird die täglich aufgenommene Futtermenge des 1., 2., 3. und 4. Versuchsmonats in den Tabellen 14 und 15 dargestellt. Die wiedergegebenen Zahlen wurden rechnerisch ermittelt durch die Subtraktion der

Aus- von der Einwaage, dividiert durch die Anzahl der Tage, die zwischen Ein- und Auswaage verstrichen sind.

*Tabelle 14: Durchschnittliche, täglich aufgenommene Menge Futter (in g, MW  $\pm$ SD) von jeweils zwei männlichen Tieren eines Käfigs.*

<b>Gruppe</b>	<b>Kontrolle [I]</b>	<b>REE 500 ad lib [II]</b>	<b>REE 500 pair-fed [III]</b>	<b>REE 2500 ad lib [IV]</b>	<b>REE 2500 pair-fed [V]</b>
<b>Tag</b>	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD
0-33	55 $\pm$ 5	53 $\pm$ 4	54 $\pm$ 2	55 $\pm$ 6	54 $\pm$ 2
34-60	56 $\pm$ 5	55 $\pm$ 5	55 $\pm$ 3	56 $\pm$ 3	54 $\pm$ 4
61-95	52 $\pm$ 7	54 $\pm$ 5	54 $\pm$ 1	55 $\pm$ 2	51 $\pm$ 2
96-133	51 $\pm$ 9	53 $\pm$ 4	42 $\pm$ 18	53 $\pm$ 2	50 $\pm$ 6

*Tabelle 15: Durchschnittliche, täglich aufgenommene Menge Futter (in g, MW  $\pm$ SD) von jeweils zwei weiblichen Tieren eines Käfigs, dargestellt pro Monat im Versuchszeitraum.*

<b>Gruppe</b>	<b>Kontrolle [I]</b>	<b>REE 500 ad lib [II]</b>	<b>REE 500 pair-fed [III]</b>	<b>REE 2500 ad lib [IV]</b>	<b>REE 2500 pair-fed [V]</b>
<b>Tag</b>	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD
0-33	41 $\pm$ 4	39 $\pm$ 3	37 $\pm$ 5	40 $\pm$ 5	38 $\pm$ 3
34-60	39 $\pm$ 3	38 $\pm$ 2	35 4	36 $\pm$ 3	36 $\pm$ 2
61-95	33 $\pm$ 5	36 $\pm$ 3	34 $\pm$ 2	36 $\pm$ 5	33 $\pm$ 2
96-133	36 $\pm$ 5	36 $\pm$ 2	33 $\pm$ 5	36 $\pm$ 1	33 $\pm$ 4

8,7%, bzw. 4,2% lagen die Tiere der Versuchsgruppen der pair-fed-Fütterung mit dem REE-Citrat-Gemisch in den Dosierungen 500 ppm und 2500 ppm unter dem Niveau der Kontrolltiere. Bei den Tieren der jeweiligen ad-libitum-Gruppen (II, IV) liegen die Differenzen mit 1,6% und 0,5% nur knapp unter der Kontrolle.

Die durchschnittliche Futterraufnahme (in g, MW  $\pm$ SD) der Versuchsgruppen in unterschiedlichen Versuchs- und Entwicklungsphasen wird in Tabelle 16 dargestellt.

Tabelle 16: Durchschnittliche, tägliche Futteraufnahme (in g, MW  $\pm$ SD) der Ratten der Versuchsgruppen in verschiedenen Abschnitten des Versuchs.

gesamt	Kontrolle [I]	REE 500 ad lib [II]	REE 500 pair-fed [III]	REE 2500 ad lib [IV]	REE 2500 pair-fed [V]
MW $\pm$ SD gesamt	23,0 <sup>a</sup> $\pm$ 4,80	22,3 <sup>a</sup> $\pm$ 4,39	21,0 <sup>a</sup> $\pm$ 4,84	22,6 <sup>a</sup> $\pm$ 4,78	21,6 <sup>a</sup> $\pm$ 4,58
MW $\pm$ SD 1.Abschnitt	24,0 <sup>a</sup> $\pm$ 4,91	23,0 <sup>a</sup> $\pm$ 4,29	21,4 <sup>a</sup> $\pm$ 5,11	22,8 <sup>a</sup> $\pm$ 4,92	22,1 <sup>a</sup> $\pm$ 4,51
MW $\pm$ SD 2. Abschnitt	21,5 <sup>a</sup> $\pm$ 4,32	21,2 <sup>a</sup> $\pm$ 4,44	20,5 <sup>a</sup> $\pm$ 4,45	22,3 <sup>a</sup> $\pm$ 4,63	20,7 <sup>a</sup> $\pm$ 4,66
MW $\pm$ SD Wachstumsphase	24,0 <sup>a</sup> $\pm$ 3,94	22,8 <sup>a</sup> $\pm$ 3,97	21,1 <sup>a</sup> $\pm$ 4,69	23,4 <sup>a</sup> $\pm$ 4,28	22,2 <sup>a</sup> $\pm$ 4,08
MW $\pm$ SD Haltungsphase	22,8 <sup>a</sup> $\pm$ 5,00	22,1 <sup>a</sup> $\pm$ 4,52	21,0 <sup>a</sup> $\pm$ 4,92	22,4 <sup>a</sup> $\pm$ 4,93	21,4 <sup>a</sup> $\pm$ 4,72
<b>weiblich</b>					
MW $\pm$ SD gesamt	18,7 <sup>a</sup> $\pm$ 1,68	18,2 <sup>a</sup> $\pm$ 1,45	17,0 <sup>a</sup> $\pm$ 1,36	17,7 <sup>a</sup> $\pm$ 1,38	17,2 <sup>a</sup> $\pm$ 1,07
MW $\pm$ SD 1.Abschnitt	19,5 <sup>a</sup> $\pm$ 1,56	19,0 <sup>a</sup> $\pm$ 1,12	17,1 <sup>a</sup> $\pm$ 1,68	18,1 <sup>a</sup> $\pm$ 1,49	17,7 <sup>a</sup> $\pm$ 0,63
MW $\pm$ SD 2. Abschnitt	17,6 <sup>a</sup> $\pm$ 1,07	17,0 <sup>a</sup> $\pm$ 1,11	16,7 <sup>a</sup> $\pm$ 0,60	16,8 <sup>a</sup> $\pm$ 0,42	16,3 <sup>a</sup> $\pm$ 1,01
MW $\pm$ SD Wachstumsphase	20,3 <sup>a</sup> $\pm$ 0,32	19,2 <sup>a</sup> $\pm$ 1,25	17,3 <sup>a</sup> $\pm$ 1,22	19,4 <sup>a</sup> $\pm$ 1,21	18,3 <sup>a</sup> $\pm$ 0,48
MW $\pm$ SD Haltungsphase	18,3 <sup>a</sup> $\pm$ 1,65	18,0 <sup>a</sup> $\pm$ 1,42	16,9 <sup>a</sup> $\pm$ 1,40	17,2 <sup>a</sup> $\pm$ 0,96	16,9 <sup>a</sup> $\pm$ 0,99
<b>männlich</b>					
MW $\pm$ SD gesamt	27,3 <sup>a</sup> $\pm$ 2,53	26,3 <sup>a</sup> $\pm$ 1,72	26,4 <sup>a</sup> $\pm$ 1,14	26,8 <sup>a</sup> $\pm$ 1,24	26,0 <sup>a</sup> $\pm$ 1,08
MW $\pm$ SD 1.Abschnitt	28,4 <sup>a</sup> $\pm$ 2,32	26,9 <sup>a</sup> $\pm$ 1,69	27,0 <sup>a</sup> $\pm$ 0,86	27,5 <sup>a</sup> $\pm$ 1,00	26,5 <sup>a</sup> $\pm$ 0,82
MW $\pm$ SD 2. Abschnitt	25,5 <sup>a</sup> $\pm$ 1,78	25,4 <sup>a</sup> $\pm$ 1,36	25,5 <sup>a</sup> $\pm$ 0,89	25,9 <sup>a</sup> $\pm$ 0,94	25,2 <sup>a</sup> $\pm$ 0,96
MW $\pm$ SD Wachstumsphase	27,6 <sup>a</sup> $\pm$ 1,48	26,5 <sup>a</sup> $\pm$ 1,13	26,3 <sup>a</sup> $\pm$ 0,25	27,4 <sup>a</sup> $\pm$ 0,92	26,1 <sup>a</sup> $\pm$ 0,35
MW $\pm$ SD Haltungsphase	27,2 <sup>a</sup> $\pm$ 6,41	26,3 <sup>a</sup> $\pm$ 6,27	26,4 <sup>a</sup> $\pm$ 5,39	26,7 <sup>a</sup> $\pm$ 6,31	26,0 <sup>a</sup> $\pm$ 5,85

MW = Mittelwert / SD = Standardabweichung

1. Abschnitt = 1. - 81. Versuchstag (vor der Versuchsreihe) / 2. Abschnitt = 82. - 133. Versuchstag (während und nach der Versuchsreihe)

Wachstumsphase = bis 33. Versuchstag (<10. Lebenswoche) / Haltungsphase = ab 34. Versuchstag (>10. Lebenswoche)

(Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant)

#### 4.1.2.2 Körpermasseentwicklung

Die Tiere wurden wöchentlich gewogen. Die Ratten der einzelnen Gruppen wiesen zu Beginn des Versuchs durchschnittlich die gleiche Masse auf, da sie nach Masse den jeweiligen Gruppen zugeordnet wurden. Auch zum Abschluss des Versuchs unterschied sich die durchschnittliche Körpermasse der Tiere in den jeweiligen Versuchsgruppen so gut wie nicht.

Die Abbildung 1 zeigt die durchschnittliche Körpermasseentwicklung (in g) der Tiere der jeweiligen Versuchsgruppen über den Versuchszeitraum sowie eine Stagnation in der Wachstumskurve während dieser Versuche.

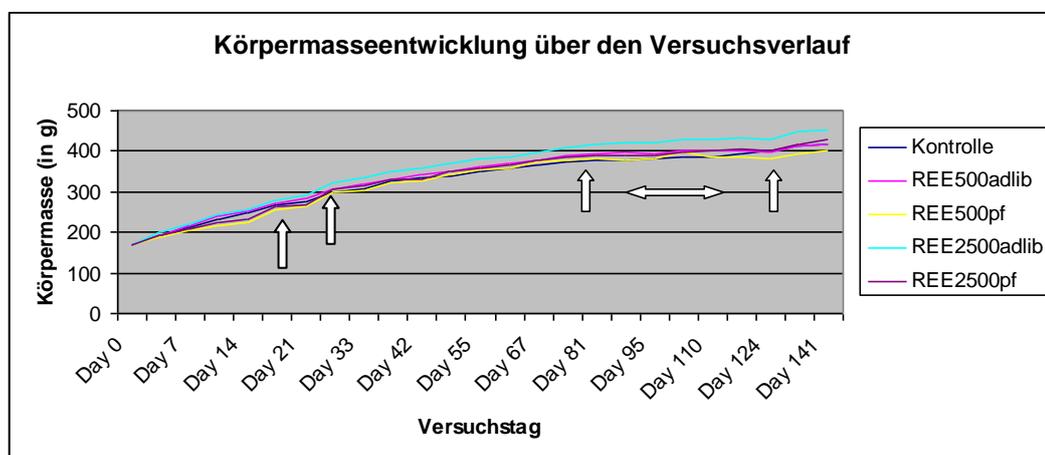


Abbildung 1: Körpermasseentwicklung (in g) der Tiere über den Versuchszeitraum; Pfeile stellen den 1. Verdauungsversuch, den 2. Verdauungsversuch sowie Beginn, Verlauf und das Ende des der Blutentnahmen dar.

Sehr ähnliche Ergebnisse kommen zutage, wenn man gesondert die Körpermasseentwicklung der weiblichen Tiere betrachtet. Die Gewichte liegen deutlich näher an denen der Kontrolle. In Tabelle 17 wird die Körpermassenentwicklung der weiblichen Tiere gesondert dargestellt. Die wöchentlich ermittelten Körpermassen werden als Durchschnitt einer Gruppe pro Monat angegeben.

*Tabelle 17: Körpermasseentwicklung der weiblichen Tiere der Versuchsgruppen (in g, MW  $\pm$ SD) in monatlichen Intervallen.*

<b>Gruppe</b> ♀	<b>Kontrolle</b> <b>[I]</b>	<b>REE 500</b> ad lib <b>[II]</b>	<b>REE 500</b> pair-fed <b>[III]</b>	<b>REE 2500</b> ad lib <b>[IV]</b>	<b>REE 2500</b> pair-fed <b>[V]</b>
<b>Tag</b>	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD
0-33	242 <sup>a</sup> $\pm$ 11	254 <sup>a</sup> $\pm$ 12	236 <sup>a</sup> $\pm$ 10	247 <sup>a</sup> $\pm$ 15	248 <sup>a</sup> $\pm$ 19
34-60	275 <sup>a</sup> $\pm$ 14	275 <sup>a</sup> $\pm$ 19	269 <sup>a</sup> $\pm$ 10	272 <sup>a</sup> $\pm$ 20	279 <sup>a</sup> $\pm$ 21
61-95	288 <sup>a</sup> $\pm$ 14	297 <sup>a</sup> $\pm$ 25	277 <sup>a</sup> $\pm$ 13	279 <sup>a</sup> $\pm$ 26	289 <sup>a</sup> $\pm$ 21
96-141	311 <sup>a</sup> $\pm$ 10	318 <sup>a</sup> $\pm$ 23	297 <sup>a</sup> $\pm$ 14	304 <sup>a</sup> $\pm$ 34	313 <sup>a</sup> $\pm$ 24

(Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant)

In Tabelle 18 wird die Körpermasseentwicklung der männlichen Tiere in den jeweiligen Versuchsgruppen, monatlich ermittelt, dargestellt.

*Tabelle 18: Körpermasseentwicklung der männlichen Tiere der Versuchsgruppen (in g, MW  $\pm$ SD) in monatlichen Intervallen.*

<b>Gruppe</b> ♂	<b>Kontrolle</b> <b>[I]</b>	<b>REE 500</b> ad lib <b>[II]</b>	<b>REE 500</b> pair-fed <b>[III]</b>	<b>REE 2500</b> ad lib <b>[IV]</b>	<b>REE 2500</b> pair-fed <b>[V]</b>
<b>Tag</b>	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD	MW $\pm$ SD
0-33	374 <sup>a</sup> $\pm$ 28	380 <sup>a</sup> $\pm$ 24	354 <sup>a</sup> $\pm$ 23	396 <sup>a</sup> $\pm$ 39	379 <sup>a</sup> $\pm$ 32
34-60	440 <sup>a</sup> $\pm$ 37	455 <sup>a</sup> $\pm$ 42	427 <sup>a</sup> $\pm$ 35	466 <sup>a</sup> $\pm$ 48	452 <sup>a</sup> $\pm$ 35
61-95	478 <sup>a</sup> $\pm$ 32	492 <sup>a</sup> $\pm$ 44	463 <sup>a</sup> $\pm$ 40	517 <sup>a</sup> $\pm$ 39	494 <sup>a</sup> $\pm$ 35
96-141	525 <sup>a</sup> $\pm$ 38	520 <sup>a</sup> $\pm$ 40	493 <sup>a</sup> $\pm$ 41	555 <sup>a</sup> $\pm$ 50	544 <sup>a</sup> $\pm$ 37

(Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant)

Es gab keine Unterschiede in der Körpermasseentwicklung.

Die Tabelle 19 stellt die durchschnittliche Körpermassezunahme der Versuchsgruppen in unterschiedlichen Versuchs- und Entwicklungsphasen dar.

Tabelle 19: Durchschnittliche Körpermassezunahme (in g, MW  $\pm$ SD) der Ratten der Versuchsgruppen in verschiedenen Abschnitten des Versuchs.

gesamt	Kontrolle [I]	REE 500 ad lib [II]	REE 500 pair-fed [III]	REE 2500 ad lib [IV]	REE 2500 pair-fed [V]
MW $\pm$ SD gesamt	1,63 <sup>a</sup> $\pm$ 1,68	1,69 <sup>a</sup> $\pm$ 1,77	1,69 <sup>a</sup> $\pm$ 1,71	1,97 <sup>a</sup> $\pm$ 1,83	1,77 <sup>a</sup> $\pm$ 1,64
MW $\pm$ SD 1.Abschnitt	2,31 <sup>a</sup> $\pm$ 1,76	2,53 <sup>a</sup> $\pm$ 1,80	2,36 <sup>a</sup> $\pm$ 1,88	2,65 <sup>a</sup> $\pm$ 2,00	2,47 <sup>a</sup> $\pm$ 1,78
MW $\pm$ SD 2. Abschnitt	0,61 <sup>a</sup> $\pm$ 0,45	0,44 <sup>a</sup> $\pm$ 0,62	0,64 <sup>a</sup> $\pm$ 0,47	0,84 <sup>a</sup> $\pm$ 0,56	0,72 <sup>a</sup> $\pm$ 0,43
MW $\pm$ SD Wachstumsphase	4,14 <sup>a</sup> $\pm$ 1,74	4,43 <sup>a</sup> $\pm$ 1,67	3,97 <sup>a</sup> $\pm$ 2,19	4,71 <sup>a</sup> $\pm$ 2,07	4,30 <sup>a</sup> $\pm$ 1,74
MW $\pm$ SD Haltungsphase	1,00 <sup>a</sup> $\pm$ 0,75	1,01 <sup>a</sup> $\pm$ 0,94	1,11 <sup>a</sup> $\pm$ 0,92	1,25 <sup>a</sup> $\pm$ 0,82	1,14 <sup>a</sup> $\pm$ 0,80
<b>weiblich</b>					
MW $\pm$ SD gesamt	1,02 <sup>a</sup> $\pm$ 0,91	0,97 <sup>a</sup> $\pm$ 1,14	0,91 <sup>a</sup> $\pm$ 0,78	1,09 <sup>a</sup> $\pm$ 0,92	1,05 <sup>a</sup> $\pm$ 0,93
MW $\pm$ SD 1.Abschnitt	1,42 <sup>a</sup> $\pm$ 0,93	1,59 <sup>a</sup> $\pm$ 0,98	1,31 <sup>a</sup> $\pm$ 0,77	1,43 <sup>a</sup> $\pm$ 0,97	1,49 <sup>a</sup> $\pm$ 0,97
MW $\pm$ SD 2. Abschnitt	0,41 <sup>a</sup> $\pm$ 0,40	0,04 <sup>a</sup> $\pm$ 0,59	0,31 <sup>a</sup> $\pm$ 0,21	0,44 <sup>a</sup> $\pm$ 0,26	0,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,18
MW $\pm$ SD Wachstumsphase	2,57 <sup>a</sup> $\pm$ 0,32	2,87 <sup>a</sup> $\pm$ 0,25	2,19 <sup>a</sup> $\pm$ 0,47	2,68 <sup>a</sup> $\pm$ 0,37	2,73 <sup>a</sup> $\pm$ 0,36
MW $\pm$ SD Haltungsphase	0,63 <sup>a</sup> $\pm$ 0,48	0,50 <sup>a</sup> $\pm$ 0,67	0,59 <sup>a</sup> $\pm$ 0,42	0,64 <sup>a</sup> $\pm$ 0,33	0,63 <sup>a</sup> $\pm$ 0,36
<b>männlich</b>					
MW $\pm$ SD gesamt	2,25 <sup>a</sup> $\pm$ 1,93	2,41 <sup>a</sup> $\pm$ 2,00	2,76 <sup>a</sup> $\pm$ 2,05	2,64 <sup>a</sup> $\pm$ 2,07	2,48 <sup>a</sup> $\pm$ 1,89
MW $\pm$ SD 1.Abschnitt	3,21 <sup>a</sup> $\pm$ 1,95	3,46 <sup>a</sup> $\pm$ 1,97	3,76 <sup>a</sup> $\pm$ 2,02	3,67 <sup>a</sup> $\pm$ 2,09	3,44 <sup>a</sup> $\pm$ 1,89
MW $\pm$ SD 2. Abschnitt	0,81 <sup>a</sup> $\pm$ 0,41	0,84 <sup>a</sup> $\pm$ 0,31	1,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,30	1,10 <sup>a</sup> $\pm$ 0,56	1,05 <sup>a</sup> $\pm$ 0,34
MW $\pm$ SD Wachstumsphase	5,72 <sup>a</sup> $\pm$ 0,76	5,99 <sup>a</sup> $\pm$ 0,48	6,33 <sup>a</sup> $\pm$ 0,63	6,40 <sup>a</sup> $\pm$ 0,94	5,86 <sup>a</sup> $\pm$ 0,82
MW $\pm$ SD Haltungsphase	1,38 <sup>a</sup> $\pm$ 0,66	1,51 <sup>a</sup> $\pm$ 0,84	1,83 <sup>a</sup> $\pm$ 0,63	1,70 <sup>a</sup> $\pm$ 0,69	1,64 <sup>a</sup> $\pm$ 0,66

MW = Mittelwert / SD = Standardabweichung

1. Abschnitt = 1. - 81. Versuchstag (vor der Versuchsreihe) / 2. Abschnitt = 82. - 133. Versuchstag (während und nach der Versuchsreihe)

Wachstumsphase = bis 33. Versuchstag (<10. Lebenswoche) / Haltungsphase = ab 34. Versuchstag (>10. Lebenswoche)

(Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant)

### 4.1.2.3 Futtermittelverwertung

Der Futteraufwand in g Futter / g Zunahme betrug während der Wachstumsphase (bis 33. Versuchstag) zwischen 5 und 6,5 g. Bei einem Vergleich, getrennt nach Geschlechtern, konnten sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Tieren Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt werden, die sich statistisch sichern ließen. Bei den Weibchen zeigen die Gruppen der 500ppm-REE-ad-libitum-Ration und der 2500ppm-REE-pair-fed-Ration während der Hauptwachstumsphase eine Verbesserung gegenüber den weiblichen Tieren der Kontrolle. Bei den Männchen hingegen waren es die 500ppm-pair-fed- und die 2500ppm-ad-libitum-Versuchsgruppe, die einen Unterschied in der Futtermittelverwertung aufwiesen.

Die Tabelle 20 stellt die durchschnittliche Futtermittelverwertung der Versuchsgruppen in unterschiedlichen Versuchs- und Entwicklungsphasen dar.

*Tabelle 20: Durchschnittliche Futtermittelverwertung (in g aufgenommenes Futter / g Gewichtszunahme, MW  $\pm$ SD) der Ratten der Versuchsgruppen in verschiedenen Abschnitten des Versuchs.*

<b>weiblich</b>	<b>Kontrolle [I]</b>	<b>REE 500 ad lib [II]</b>	<b>REE 500 pair-fed [III]</b>	<b>REE 2500 ad lib [IV]</b>	<b>REE 2500 pair-fed [V]</b>
MW $\pm$ SD <i>Wachstumsphase</i>	8,00 <sup>ac</sup> $\pm$ 0,99	6,72 <sup>b</sup> $\pm$ 0,69	8,13 <sup>a</sup> $\pm$ 1,33	7,26 <sup>bc</sup> $\pm$ 1,10	6,80 <sup>b</sup> $\pm$ 0,99
MW $\pm$ SD <i>Haltungsphase</i>	32,3 <sup>a</sup> $\pm$ 21,0	33,4 <sup>a</sup> $\pm$ 19,8	45,0 <sup>a</sup> $\pm$ 47,0	37,4 <sup>a</sup> $\pm$ 33,8	34,3 <sup>a</sup> $\pm$ 20,3
<b>männlich</b>					
MW $\pm$ SD <i>Wachstumsphase</i>	4,91 <sup>a</sup> $\pm$ 0,73	4,43 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,26	4,18 <sup>b</sup> $\pm$ 0,38	4,35 <sup>b</sup> $\pm$ 0,68	4,52 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,64
MW $\pm$ SD <i>Haltungsphase</i>	21,8 <sup>a</sup> $\pm$ 18,2	29,1 <sup>a</sup> $\pm$ 25,5	17,9 <sup>a</sup> $\pm$ 48,2	20,7 <sup>a</sup> $\pm$ 31,9	20,9 <sup>a</sup> $\pm$ 14,7

MW = Mittelwert / SD = Standardabweichung

Wachstumsphase = bis 33. Versuchstag (<10. Lebenswoche) / Haltungsphase = ab 34. Versuchstag (>10. Lebenswoche)

(Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant;  $p < 0,05$ )

### 4.1.2.4 Energieverwertung

Es gab keine Unterschiede in der Energieverwertung zwischen den Tieren der unterschiedlichen Versuchsgruppen.

Tabelle 21 stellt die durchschnittliche Energieverwertung der Versuchsgruppen in unterschiedlichen Versuchs- und Entwicklungsphasen dar.

*Tabelle 21: Durchschnittliche Energieverwertung (in kJ ME / g Gewichtszunahme, MW  $\pm$ SD) der Ratten in verschiedenen Abschnitten des Versuchs.*

<b>gesamt</b>	<b>Kontrolle [I]</b>	<b>REE 500 ad lib [II]</b>	<b>REE 500 pair-fed [III]</b>	<b>REE 2500 ad lib [IV]</b>	<b>REE 2500 pair-fed [V]</b>
MW $\pm$ SD <i>gesamt</i>	162 <sup>a</sup> $\pm$ 135	180 <sup>a</sup> $\pm$ 214	168 <sup>a</sup> $\pm$ 156	177 <sup>a</sup> $\pm$ 243	169 <sup>a</sup> $\pm$ 187
MW $\pm$ SD <i>1.Abschnitt</i>	116 <sup>a</sup> $\pm$ 115	93 <sup>a</sup> $\pm$ 58	101 <sup>a</sup> $\pm$ 86	88 <sup>a</sup> $\pm$ 57	91 <sup>a</sup> $\pm$ 63
MW $\pm$ SD <i>2. Abschnitt</i>	232 <sup>a</sup> $\pm$ 135	323 <sup>a</sup> $\pm$ 291	279 <sup>a</sup> $\pm$ 182	324 <sup>a</sup> $\pm$ 347	285 <sup>a</sup> $\pm$ 244
MW $\pm$ SD <i>Wachstumsphase</i>	40 <sup>a</sup> $\pm$ 11	40 <sup>a</sup> $\pm$ 9	42 <sup>a</sup> $\pm$ 15	37 <sup>a</sup> $\pm$ 11	36 <sup>a</sup> $\pm$ 9
MW $\pm$ SD <i>Haltungsphase</i>	193 <sup>a</sup> $\pm$ 134	217 <sup>a</sup> $\pm$ 227	201 <sup>a</sup> $\pm$ 179	218 <sup>a</sup> $\pm$ 267	202 <sup>a</sup> $\pm$ 195
<b>weiblich</b>					
MW $\pm$ SD <i>gesamt</i>	210 <sup>a</sup> $\pm$ 167	226 <sup>a</sup> $\pm$ 283	218 <sup>a</sup> $\pm$ 185	227 <sup>a</sup> $\pm$ 278	221 <sup>a</sup> $\pm$ 232
MW $\pm$ SD <i>1.Abschnitt</i>	154 <sup>a</sup> $\pm$ 149	115 <sup>a</sup> $\pm$ 67	130 <sup>a</sup> $\pm$ 100	117 <sup>a</sup> $\pm$ 71	116 <sup>a</sup> $\pm$ 75
MW $\pm$ SD <i>2. Abschnitt</i>	296 <sup>a</sup> $\pm$ 160	426 <sup>a</sup> $\pm$ 404	370 <sup>a</sup> $\pm$ 199	406 <sup>a</sup> $\pm$ 393	377 <sup>a</sup> $\pm$ 298
MW $\pm$ SD <i>Wachstumsphase</i>	50 <sup>a</sup> $\pm$ 6,2	48 <sup>a</sup> $\pm$ 5,2	54 <sup>a</sup> $\pm$ 8,8	47 <sup>a</sup> $\pm$ 7,1	44 <sup>a</sup> $\pm$ 6,4
MW $\pm$ SD <i>Haltungsphase</i>	251 <sup>a</sup> $\pm$ 163	275 <sup>a</sup> $\pm$ 303	263 <sup>a</sup> $\pm$ 184	267 <sup>a</sup> $\pm$ 285	265 <sup>a</sup> $\pm$ 240
<b>männlich</b>					
MW $\pm$ SD <i>gesamt</i>	114 <sup>a</sup> $\pm$ 66	137 <sup>a</sup> $\pm$ 108	100 <sup>a</sup> $\pm$ 62	145 <sup>a</sup> $\pm$ 222	116 <sup>a</sup> $\pm$ 106
MW $\pm$ SD <i>1.Abschnitt</i>	78 <sup>a</sup> $\pm$ 43	71 <sup>a</sup> $\pm$ 37	62 <sup>a</sup> $\pm$ 35	62 <sup>a</sup> $\pm$ 28	66 <sup>a</sup> $\pm$ 36
MW $\pm$ SD <i>2. Abschnitt</i>	168 <sup>a</sup> $\pm$ 58	236 <sup>a</sup> $\pm$ 103	163 <sup>a</sup> $\pm$ 40	269 <sup>a</sup> $\pm$ 318	192 <sup>a</sup> $\pm$ 132
MW $\pm$ SD <i>Wachstumsphase</i>	31 <sup>a</sup> $\pm$ 4,6	32 <sup>a</sup> $\pm$ 1,9	28 <sup>a</sup> $\pm$ 2,5	28 <sup>a</sup> $\pm$ 4,4	29 <sup>a</sup> $\pm$ 4,1
MW $\pm$ SD <i>Haltungsphase</i>	135 <sup>a</sup> $\pm$ 149	164 <sup>a</sup> $\pm$ 304	119 <sup>a</sup> $\pm$ 114	175 <sup>a</sup> $\pm$ 252	138 <sup>a</sup> $\pm$ 139

SD = Standardabweichung

1. Abschnitt = 1. - 81. Versuchstag (vor der Versuchsreihe) / 2. Abschnitt = 82. - 133. Versuchstag (während und nach der Versuchsreihe)

Wachstumsphase = bis 33. Versuchstag (<10. Lebenswoche) / Haltungsphase = ab 34. Versuchstag (>10. Lebenswoche)

(Mittelwerte, die nicht mit demselben Buchstaben überschrieben sind, unterscheiden sich signifikant)

#### 4.1.2.5 Scheinbare Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Bruttoenergie

Durch die Zufütterung des REE-Citrates wurden die scheinbaren Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, des Rohproteins signifikant und im Falle der Energie sogar hochsignifikant gegenüber der Kontrolle verbessert. Die Unterschiede innerhalb einer Konzentrationsstufe des REE-Citrates sind, außer bei der scheinbaren Verdaulichkeit der Energie, marginal. Tabelle 22 zeigt die scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Energie der jeweiligen Versuchsgruppen (in %, MW  $\pm$ SD).

Tabelle 22: Scheinbare Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Energie der jeweiligen Versuchsgruppen (in %, MW  $\pm$ SD).

Gruppe	sV TS (MW $\pm$ SD)	sV Rp (MW $\pm$ SD)	sV Energie (MW $\pm$ SD)
Kontrolle	75,9 $\pm$ 0,4	73,6% $\pm$ 0,2	78,8% $\pm$ 0,39
REE 500 ad lib	79,1 $\pm$ 1,4***	75,4% $\pm$ 0,7*	81,3% $\pm$ 1,26***
REE 500 pair-fed	78,9 $\pm$ 1,3***	75,2% $\pm$ 1,9*	80,9% $\pm$ 0,58***
REE 2500 ad lib	77,3 $\pm$ 2,2*	75,6% $\pm$ 1,5*	80,2% $\pm$ 0,61**
REE 2500 pair-fed	77,6 $\pm$ 2,2**	75,9% $\pm$ 1,0*	79,9% $\pm$ 1,11**

(\*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle)

(\*\* $p < 0,01$  vs. Kontrolle)

(\*\*\*  $p < 0,001$  vs. Kontrolle)

## 4.2 Körperzusammensetzung

### 4.2.1 Rohfett- und Rohproteingehalt der Tierkörper

Der Rohfettgehalt auf 100% TS gerechnet ist im Körper der 2500ppm-ad-libitum-Gruppe um 11,4% höher als der der Kontrollgruppe. Wenn dieser auf die Ursprungssubstanz bezogen wird, ist der Körperfettanteil der mit REE supplementierten Gruppe 15,5% höher als der der Kontrolle ( $p > 0,05$ ).

Der Rohproteinanteil in der fettfreien Trockensubstanz ist bei den Männchen der der REE-Tiere um 1,1%-Punkte höher als der der Kontrolle. Wenn man diesen allerdings auf die Ursprungssubstanz umrechnet, ergibt sich, da die mit REE

gefütterten Männchen der 4. Versuchsgruppe insgesamt einen höheren Energieansatz hatten, ein nahezu gleicher Proteinansatz der Tiere.

Tabelle 23 bietet eine Übersicht über die Körperfett und Körperproteingehalte der männlichen Tiere der Kontrollgruppe und der 2500ppm-REE-ad-libitum-Gruppe.

*Tabelle 23: Rohfett- und Rohproteingehalt im Tierkörper (in %, MW SD auf 100% US und 100% TS bzw. fettfreien TS).*

	<b>Rfe in 100% TS</b>	<b>Rfe in 100% US</b>	<b>Rp in der fettfreien TS</b>	<b>Rp in 100% US</b>
<b>Kontrolle</b>	33,4 ±6,1	12,5 ±2,9	84,4 ±1,7	20,5 ±0,5
<b>REE 2500 ad lib</b>	37,7 ±3,6	14,8 ±2,1	85,5 ±1,4	20,7 ±0,5

(\*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle)

#### 4.2.2 Energiegehalt der Tierkörper

Für die Tierkörper der Kontrollgruppe wurde durchschnittlich ein Energiegehalt von 5012 kJ ±820 / Tierkörper und die der 2500 ppm-REE-Gruppe 5782 kJ ±810 / Tierkörper errechnet. Die Tierkörper der 2500ppm-ad-libitum-REE-Männchen lagen im Energiegehalt um 13,7% über dem der Kontrolle ( $p > 0,05$ ).

In Tabelle 24 wird der Gesamtenergiegehalt der Tierkörper (in kJ, MW ±SD) der Männchen der 4. Versuchsgruppe dem der Männchen der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

*Tabelle 24: Energiegehalt im Tierkörper (in kJ/Tierkörper, MW ±SD)*

	<b>Energiegehalt (in kJ, MW ±SD) der Tierkörper</b>
<b>Kontrolle</b>	5012 ±820
<b>REE 2500 ad lib</b>	5782 ±810

Die Tendenz zu höheren Energiegehalten ließ sich bei der geringen Tierzahl statistisch nicht absichern.

### 4.3 Histologische Auswertung der Dünndarmzotten

Um Rückschlüsse auf eine eventuell vergrößerte Resorptionsoberfläche ziehen zu können, wurden in dieser Arbeit die Zottenlängen der drei Dünndarmabschnitte histometrisch vermessen.

In Tabelle 25 wird die Zottenlänge der unterschiedlichen Gruppen für den jeweiligen Darmabschnitt der einzelnen Versuchsgruppen gesondert dargestellt. Man sieht Unterschiede zwischen den Darmabschnitten, jedoch keine zwischen den Versuchsgruppen.

*Tabelle 25: Zottenlängen der einzelnen Darmabschnitte der jeweiligen Versuchsgruppen (in mm, MW  $\pm$ SD)*

<b>Gruppe</b>	<b>Duodenum</b>	<b>Jejunum</b>	<b>Ileum</b>	<b>n</b>
<b>Kontrolle</b>	0,35 $\pm$ 0,05	0,55 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,04	12
<b>REE 500</b>	0,37 $\pm$ 0,05	0,58 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,04	10
<b>REE 2500</b>	0,41 $\pm$ 0,07	0,58 $\pm$ 0,06	0,21 $\pm$ 0,03	12

(\*  $p < 0,05$  vs Kontrolle)

### 4.4 pH-Wert des Kotes

Der pH-Wert der REE-Gruppen differierte von dem der Kontrolle und war durchweg saurer. Den niedrigsten pH-Wert wiesen die Tiere der 2. Versuchsgruppe auf, den höchsten unter den REE-Gruppen die 3. Versuchsgruppe. Die Unterschiede rangieren von 0,21 bis 0,34 zwischen den REE-Gruppen und der Kontrolle ( $p > 0,05$ ). In Tabelle 26 werden die jeweiligen pH-Werte der unterschiedlichen Versuchsgruppen als Übersicht dargestellt.

Tabelle 26: Durchschnittlicher Kot-pH-Wert der jeweiligen Versuchsgruppen  
(aus dem Verdauungsversuch gewonnen).

<b>Gruppe</b>	<b>MW <math>\pm</math>SD</b> (Ø Wert der Gruppe)
Kontrolle	6,30 $\pm$ 0,20
REE 500 ad lib	5,96 $\pm$ 0,35*
REE 500 pair-fed	6,09 $\pm$ 0,37
REE 2500 ad lib	6,04 $\pm$ 0,21*
REE 2500 pair-fed	6,00 $\pm$ 0,27*

(\*  $p < 0,05$  vs Kontrolle)

## **5 Diskussion**

Ziel der vorliegenden Studie war zu überprüfen, ob die leistungsfördernde Wirkung der REE zum Teil auf einer Verbesserung der Nährstoffverdaulichkeit beruht.

### **5.1 Kritik der Methoden**

#### **5.1.1 Zu den Tieren**

Die Ratte wurde als Versuchstier gewählt, da sie von relativ kleiner Größe, kostengünstig, leicht im Umgang ist und nur eine kurze Zeit für die Aufzucht benötigt. Durch jahrzehntelange Zucht sind die tierindividuellen Unterschiede sehr gering. Dadurch lassen sich die Tiere in Tiermodellen sehr gut untersuchen und vergleichen.

Die Ergebnisse, die am Tiermodell der Ratte ermittelt wurden, sind auf diverse Tiere übertragbar, da REE in vielen Versuchen an unterschiedlichsten Spezies Effekte zeigten und die Ratte keine Sonderstellung einnimmt.

#### **5.1.2 Zur Tierzahl**

Für den Verdauungsversuch wurde eine durchschnittliche Anzahl von 6 Käfigen pro Gruppe gewählt, um aussagekräftige Ergebnisse erhalten zu können. Entsprechend der bei der Verdaulichkeit zu erwartenden Streuung reicht diese aus, um Unterschiede statistisch abzusichern. Dies bestätigt sich auch durch die Ergebnisse. Im Zuge der Arbeit wurden selbstverständlich auch andere Parameter wie z.B. die Körpermasseentwicklung, die Futterverwertung oder die Zottenlängen des Dünndarms erfasst. Für diese nebenbei ermittelten Daten ist die Tierzahl nicht immer ausreichend, um einen Unterschied statistisch zu sichern. Umso bemerkenswerter ist es, dass sich bei dieser Tierzahl eine Differenz in der Futterverwertung während der Wachstumsphase absichern ließ.

### **5.1.3 Zur Tierhaltung**

Der Versuch wurde in einem zugelassenen Versuchstierstall des tierphysiologischen Lehrstuhls der Ludwig-Maximilians-Universität München durchgeführt. Der Stall bot die Infrastruktur, einen standardisierten Versuch durchzuführen, da er über ein geregeltes Lichtprogramm ohne Tageslichteinfall, eine Vollklimatisierung sowie über eine Spülküche mit Käfigspülmaschine sowie Käfigdesinfektionsmöglichkeiten verfügte.

Die Käfige entsprechen mit ihren Abmessungen den Tierschutznormen. Pro Käfig dürfen 2,5kg Ratte zugeteilt werden, die in der vorliegenden Arbeit zu keinem Zeitpunkt des Versuchs erreicht oder überschritten wurden. Pro Käfig wurden aus Tierschutzgründen immer zwei Tiere eingestallt, was allerdings den Nachteil mit sich bringt, dass es bei einigen Parametern nur durchschnittliche Ergebnisse für zwei Tiere eines Käfigs gibt.

### **5.1.4 Zum Verdauungsversuch**

Es wurde ein Verdauungsversuch in einem Stoffwechselkäfig durchgeführt, der allerdings nach drei Tagen abgebrochen werden musste, da die Tiere zum Teil erheblich an Körpermasse verloren und somit das Wachstum schwer auswertbar war.

Im Anschluss an diesen Verdauungsversuch wurde eine 7-tägige Pause gemacht um den Tieren die Möglichkeit zur Erholung und Normalisierung zu geben, bevor der zweite Verdauungsversuch gestartet wurde.

Während des einwöchigen Verdauungsversuchs wurden die Tiere mit ihrem jeweiligen gewohnten Partner in ihren Makrolon-Typ IV-Käfigen belassen. Lediglich die Einstreuart wurde von Sägemehl auf nicht klumpendes Katzenstreu umgestellt. Durch den Verdauungsversuch zeigten die Tiere, außer dem anfänglich normalen exploratorischen, kein verändertes Verhalten und fraßen unverändert die gleichen Mengen der Rationen.

Eine Einstreu wird grundsätzlich benötigt. Katzenstreu als Einstreumaterial ist eine sehr gute Methode, den Kot selektiv aufzufangen. Da es keinerlei

organisches Material enthält, kann nichts hinzukommen, was die scheinbaren Verdaulichkeiten beeinflussen könnte, die in der vorliegenden Studie bestimmt wurden. Da der Rattenkot nur eine sehr geringe Restfeuchte aufweist, ist es unwahrscheinlich, dass das Katzenstreu dem Kot Bestandteile entzieht. Dies wird durch die plausiblen Ergebnisse mit geringer Streuung bestätigt.

Verunreinigungen durch Futter sind nahezu auszuschließen, da die Futterpartikel nicht bzw. nur sehr schwer an der Oberfläche des Kots haften.

Der Urin wird direkt durch das Katzenstreu aufgenommen und kann daher die Analyseergebnisse des Kots so gut wie nicht beeinflussen.

### 5.1.5 Zur Histometrie

Das in dieser Arbeit verwendete Verfahren zur Analyse der Darmzottenlängen ist als Standard überholt, da es zur exakten Bestimmung der Darmoberfläche zu ungenau ist (Lorenz-Meyer et al., 1976, Fisher und Parsons, 1950). Heute wird als Goldstandard die stöchiometrische Methode verwendet. Für diese Arbeit sollte allerdings nicht die genaue Darmoberfläche ermittelt werden, sondern mit relativ einfachen Methoden tendenzielle Unterschiede der Zottenlängen wiedergeben werden, um Rückschlüsse auf eine Oberflächenveränderung ziehen zu können.

In der vorliegenden Studie sind im Verlauf des Dünndarms deutliche Unterschiede der Zottenlängen ermittelt worden. Das Ergebnis deckt sich für das Jejunum und das Ileum mit dem von Clarke (1969). Mit gleicher Messmethode erhoben beschreibt er eine fortschreitende Abnahme in der Zottenlänge, mit den längsten Zotten im Duodenum und den kürzesten im Ileum, entlang des Dünndarmkanals bei Ratten. Das Duodenum betreffend konnte diese Beobachtung in diesem Versuch nicht gemacht werden. Es stellten sich die Zotten aus dem mittleren Abschnitt des Jejunums als die längsten heraus, während die des Duodenums in der Länge zwischen denen des Jejunums und denen des Ileums lagen. Eine Erklärung hierfür könnte der von Altmann (1971) beobachtete Einfluss des exocrinen Pancreas auf das Wachstum der Dünndarmzotten sein. Da die Darmproben des Duodenums in der vorliegenden Arbeit unmittelbar caudal des Pylorus entnommen wurden, lagen wahrscheinlich die Ausführungsgänge des

Pancreas caudal der Entnahmestelle. Somit fehlten die Einflüsse der Pancreassekrete, und die Duodenalzotten stellen sich kürzer dar, was eine Aussage über die Veränderungen im Duodenum (6-17%) nur schwer zulässt.

## 5.2 Besprechung der Ergebnisse

Die scheinbaren Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, Bruttoenergie und des Rohproteins zeigten sich bei allen REE-Gruppen, unabhängig von Dosierung und Fütterungsart, signifikant gegenüber der Kontrolle verbessert. Das wird durch das Ergebnis unterstrichen, dass die Tiere der Gruppen mit REE-Supplementierung während der Wachstumsphase eine verbesserte Futtermittelverwertung, aber keine Unterschiede in der Energieverwertung aufwiesen. Deshalb muss der Effekt auf einer verbesserten scheinbaren Verdaulichkeit beruhen.

Da in den REE-Gruppen die Tiere mehr Trockensubstanz, Rohprotein und Energie aus der aufgenommenen Nahrung absorbierten, ist von einer lokalen Wirkung des REE-Citrats auf die Verdauung oder Absorption der Nahrung bzw. Nährstoffe im Darm auszugehen. Schon Li et al. (1992) diskutierten verbesserte Verdaulichkeiten durch den Einfluss von REE. Auch Xu et al (1998) stellten bei einem Fütterungsversuch mit einem Lanthan-Gemisch an Schweinen neben einer statistisch gesicherten Verbesserung der Tageszunahmen und Futtermittelverwertung um 13,26% bzw 6,53% auch eine Steigerung der scheinbaren Verdaulichkeit der Trockensubstanz (+7,82%), des Rohfetts (+15,41%) und des Rohproteins (+5,32%) fest.

In einer weiteren Studie wurden die verschiedenen Verdaulichkeiten bei Schweinen in verschiedenen REE-Konzentrationen überprüft. Die Autoren stellten eine signifikante Verbesserung der Leistungsparameter fest. So steigerte sich die Körpermassezunahme in der 400 ppm Dosierung um 8,93%, während die Futtermittelverwertung um 4,65% reduziert wurde ( $p < 0,05$ ). Die Ration mit den 600 ppm REE-Inhalt wiesen sogar eine Steigerung der Gewichtsentwicklung um 32 % und eine Verbesserung der Futtermittelverwertung 11% ( $p < 0,01$ ) auf. Die scheinbare Verdaulichkeit der Bruttoenergie der Gruppe mit 400 mg/kg Futter verbesserte sich um 2,3% und die der Gruppe mit 600 mg/kg Futter um sogar 4,0% im

Vergleich zur Kontrollgruppe (Hu et al., 1999).

Auch die von Han und Thacker (2010) durchgeführten Versuche an Ferkeln zeigten nach der Verfütterung von einem REE-Hefe-Gemisch als Zusatz eine signifikante Verbesserung der Futterverwertung und der Körpermasseentwicklung. Diese versuchten die Autoren unter anderem durch eine bei den Tieren der REE-Hefe-Ration verbesserte Verdaulichkeit der Energie gegenüber einer mit Fütterungsantibiotika, einer mit Zinkoxid supplementierten und einer mit Futter ohne Zusatz versorgten Gruppe zu erklären.

Im Gegensatz zu diesen Studien konnte in der vorliegenden Arbeit kein Unterschied in der Körpermassezunahme ermittelt werden. Allerdings wird die Beurteilung der Ergebnisse bzw. des Einflusses der REE auf die Zunahmen erschwert, da die Tiere ab einem Alter von etwa 6 Wochen in den Versuch aufgenommen wurden. Als Hauptwachstumsphase der Ratte wird ein Zeitraum bis zur 10. Lebenswoche angenommen (GV-SOLAS, 1998), sodass sich die Tiere nur bis zum 33. Versuchstag im Wachstum befanden. Während die Tiere in anderen Studien mit REE-Supplementierung sich noch im Wachstum befanden und somit neben einer verbesserten scheinbaren Verdaulichkeit auch eine höhere Körpermassezunahme zeigten, befanden sich die Tiere dieser Arbeit die überwiegende Zeit (100 Tage =  $\frac{3}{4}$  des Versuchszeitraums) in der Haltungsphase, in der davon auszugehen ist, dass die Ratten kaum noch wachsen, aber, wie bei adulten Tieren üblich, einen erhöhten Fettansatz zeigen. So setzten die Tiere entsprechend der höheren Energieaufnahme (vergleichbare Futtermenge bei verbesserter scheinbarer Verdaulichkeit) mehr Energie an.

Allerdings konnten im Gegensatz zu den in dieser Arbeit beobachteten scheinbaren Verdaulichkeiten der Roh Nährstoffe in einer Fütterungsstudie an Schweinen, die Böhme et al. (2002) durchführten, keine Beeinflussung nach einer Applikation verschiedener REE-Gemische festgestellt werden.

Im Folgenden wird über die Möglichkeiten der Einflussnahme der REE auf die Verdaulichkeiten der Roh Nährstoffe eingegangen. Ein Teil der beeinflussenden Mechanismen wurde in dieser Arbeit in Ansätzen untersucht, andere müssen in nachfolgenden Studien ermittelt oder ausgeschlossen werden.

## **5.2.1 Möglichkeiten der Einflussnahme auf die scheinbaren Verdaulichkeiten.**

### **5.2.1.1 Oberflächenvergrößerung des Darms**

Eine Möglichkeit, die scheinbare Verdaulichkeit des Futters zu erhöhen, erfolgt über eine Steigerung der Resorptionsleistung, die durch eine Oberflächenvergrößerung des Darms erfolgen kann, wie im Kapitel 2.1 für verschiedene Leistungsförderer ausgeführt ist.

Biologisch relevante Veränderungen sind erheblich, wie eine Untersuchung von hochträchtigen Spitzmäusen zeigte. Die Tiere entwickelten im Vergleich zu den Kontrolltieren (nicht trächtig/ nicht laktierend) eine um 21% vergrößerte Darmoberfläche, um den erhöhten Nährstoffbedarf zu decken (Jaroszewska und Wilczyńska, 2006).

Da keine Unterschiede in den Zottenlängen trotz einer deutlichen Verbesserung der scheinbaren Verdaulichkeiten erkennbar waren, ist davon auszugehen, dass die REE nicht über eine Darmoberflächenvergrößerung wirken.

### **5.2.1.2 Erhöhung der Anzahl an Nährstofftransportsystemen**

Die meisten Nähr- und Mineralstoffe wie Glucose, Aminosäuren und Proteine bzw. Natrium, Kalium und Chlorid werden über verschiedene Transportsysteme in den Organismus aufgenommen. Dies erfolgt nach der Aufschlüsselung in die einzelnen Substanzen oder Moleküle häufig aktiv über Transporter, Co-Transporter oder ligandenabhängige Kanäle. Da der Einfluss der REE auf eben diese Einrichtungen der Darmmukosa auf der Ebene des Genoms nicht überprüft wurde, müssen eigene Studien dazu angefertigt werden.

### **5.2.1.3 Erhöhung der Enzymsekretion und Enzymaktivität**

Eine weitere Möglichkeit, die scheinbaren Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe zu erhöhen, stellt eine gesteigerte Aktivierung der Verdauungsenzyme dar. In etlichen Untersuchungen (Luo und Dove, 1996, Yang et al., 2010, Hedemann et

al., 2006a, Basmacioglu Malayoglu et al., 2010) wurde ein Einfluss der Nahrung und der Nahrungsbeschaffenheit auf eine erhöhte Sekretion verschiedener Verdauungsenzyme festgestellt. Diese Enzyme können sowohl vom exocrinen Pancreas, den Bürstensaumzellen als auch von einer Vielzahl anderer Zellen der Darmmukosa gebildet werden.

Durch Supplementieren von Zinkoxid (2500ppm), einem Schwermetall, beobachteten Hedemann et al. (2006b) in einem Versuch an Schweinen eine erhöhte Sekretion der Pancreasenzyme Amylase, Carboxypeptidase A, Chymotrypsin, Trypsin und Lipase. Die Autoren stellten eine Dosisabhängigkeit in der Aktivitätssteigerung der einzelnen Enzyme fest. Bei einer Dosierung von 100mg Zink/kg Futter schienen überwiegend die Amylase und die Carboxypeptidase A aktiviert zu werden, während bei einer Dosierung von 2500mg Zink/kg Futter das Chymotrypsin am stärksten aktiviert wurde. Neben Effekten auf den Pancreas und seine Enzyme konnten sowohl eine vermehrte Induktion der Enzyme Maltase, Sucrase und Lactase aus den Mikrovilli des cranialen als auch der Aminopeptidase N aus den Mikrovilli des caudalen Dünndarms beobachtet werden. In der gleichen Studie wurde versucht, auch durch Kupfer eine Ausschüttung der Verdauungsenzyme zu stimulieren. Effekte blieben allerdings aus.

Im Gegensatz dazu konnte in einer anderen Studie, die sich mit dem Einfluss von Kupfer auf die Verdauungsenzyme beschäftigte, eine gesteigerte Aktivität der intestinalen Lipase sowie der Phospholipase A festgestellt werden (Luo und Dove, 1996).

Auf eine mögliche Beeinflussung der Verdauungsenzyme durch REE wurde nicht näher eingegangen.

#### **5.2.1.4 Veränderung des Mikrobioms im Darm**

Es ist bekannt, dass die Zusammensetzung des Mikrobioms einen großen Einfluss sowohl auf die Verdauungsleistung des Magen-Darm-Trakts als auch auf den Gesundheitsstatus des Tiers ausübt.

Da Muroma (1958) bereits eine dosisabhängige Hemmung bei geringer bzw.

Steigerung des Bakterienwachstums bei höherer Konzentration an REE feststellte, wäre es möglich, dass diese bei den Tieren mit Supplementierung die Darmflora dahingehend beeinflusste, dass daraus eine verbesserte scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz, des Proteins und der Bruttoenergie resultierte. Im Gegensatz dazu konnten in Studien an Broilern (Schuller, 2001) und einem RUSITEC-Modell (Knebel, 2003) keinerlei Veränderungen der Mikroflora des Darms bzw. an deren Fermentationsprodukten festgestellt werden.

Eine gesteigerte Bildung von kurzkettigen Fettsäuren durch die Mikroben, wie Acetat, Propionat, Butyrat und der Carbonsäure Lactat, kann mittels einer Absenkung des pH-Werts erfasst werden (von Engelhardt et al., 1998). In der vorliegenden Arbeit konnte bei allen REE-Gruppen eine milde Absenkung des pH-Wertes beobachtet werden. Am deutlichsten war sie bei den Gruppen, die die beste Energieverwertung aufwiesen.

Ob die pH-Absenkung durch im Darmtrakt gebildete organische Säuren oder womöglich durch das im REE-Citrat-Gemisch enthaltene Citrat erfolgte, gilt es in einer nachfolgenden Arbeit abzuklären. Ein solcher Einfluss des im REE-Citrat-Gemisch enthaltenen Citrats auf den pH-Wert und auf die scheinbaren Verdaulichkeiten erscheint jedoch als sehr unwahrscheinlich, da die Mengen an Citrat, die im REE-Citrat-Gemisch enthalten sind und folglich im Futter durch die geringe eingemischte Menge (183 mg / kg, bzw. 913 mg / kg) nur einen Bruchteil dessen darstellt, was in der Literatur als leistungssteigernde Dosen beschrieben sind ((Chowdhury et al., 2009), 8 g / kg);(Burnell et al., 1988, Fasshauer und Kienzle, 1995).

### **5.2.2 Schlussfolgerung**

In der vorliegenden Arbeit führte der Zusatz von REE zu einer signifikanten Verbesserung der scheinbaren Verdaulichkeit der Rohnährstoffe. Da es gleichzeitig eine Veränderung des Kot-pH-Wertes gab, jedoch keine Verlängerung der Darmzottenlänge, ist anzunehmen, dass die Darmflora an den Verbesserungen der scheinbaren Verdaulichkeit beteiligt ist.

Die angefertigte Arbeit bestätigt Ergebnisse aus dem Schrifttum, steht aber auch

im Widerspruch zu anderen. Hier besteht Bedarf an weiteren Forschungen, um zu klären, welche Bedingungen zu den widersprüchlichen Ergebnissen geführt haben.

## 6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals die Wirkung der REE auf die scheinbare Verdaulichkeit der Rohnährstoffe bei Ratten untersucht.

60 Wistar-Han Ratten, die zufallsverteilt nach Geschlecht und Gewicht in fünf Versuchsgruppen (n=12 / Gruppe, davon 6 Männchen und 6 Weibchen) eingeteilt wurden, erhielten ein REE-Citrat-Stärke-Gemisch in zwei verschiedenen Konzentrationen (500ppm und 2500ppm, davon je 50% Maisstärke und 50% REE-Citrat mit einem Anteil von 27,2% Lanthanoiden; La, Ce, Pr, Nd und 72,8% Citrat). Das Futter jeder REE-Citrat-Konzentration wurde sowohl ad libitum als auch restriktiv (pair-fed) den Tieren dargereicht. Der Kontrollgruppe stand das Futter ad libitum zur Verfügung. Der achttägige Verdauungsversuch mit den Untersuchungsparametern scheinbare Verdaulichkeit der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Bruttoenergie wurde mit den Ratten in einem Alter der Tiere von neun Wochen durchgeführt. Weiterhin wurde in diesem Rahmen Kot gewonnen, dessen pH-Wert ermittelt wurde.

Durch die Supplementierung der REE stieg dosisunabhängig die scheinbare Verdaulichkeit sowohl der Trockensubstanz als auch der Bruttoenergie und des Rohproteins erheblich an, während der pH-Wert des Kots signifikant absank (siehe Tabelle 27).

Am Ende des Versuchs war der Energiegehalt der Tierkörper von den Ratten mit REE-Supplementierung um 13,7% höher als der von der Kontrolle.

Tabelle 27: Scheinbare Verdaulichkeiten der Trockensubstanz, des Rohproteins und der Energie der jeweiligen Versuchsgruppen (in %, MW  $\pm$ SD).

Gruppe	sV TS (MW $\pm$ SD)	sV Rp (MW $\pm$ SD)	sV Energie (MW $\pm$ SD)	Kot-pH-Wert (MW $\pm$ SD)
Kontrolle	75,9 $\pm$ 0,4	73,6% $\pm$ 0,2	78,8% $\pm$ 0,39	6,30 $\pm$ 0,20
REE 500 ad lib	79,1 $\pm$ 1,4***	75,4% $\pm$ 0,7*	81,3% $\pm$ 1,26***	5,96 $\pm$ 0,35*
REE 500 pair-fed	78,9 $\pm$ 1,3***	75,2% $\pm$ 1,9*	80,9% $\pm$ 0,58***	6,09 $\pm$ 0,37
REE 2500 ad lib	77,3 $\pm$ 2,2*	75,6% $\pm$ 1,5*	80,2% $\pm$ 0,61**	6,04 $\pm$ 0,21*
REE 2500 pair-fed	77,6 $\pm$ 2,2**	75,9% $\pm$ 1,0*	79,9% $\pm$ 1,11**	6,00 $\pm$ 0,27*

(\*  $p < 0,05$  vs. Kontrolle)

(\*\* $p < 0,01$  vs. Kontrolle)

(\*\*\*  $p < 0,001$  vs. Kontrolle)

Eine Supplementierung von REE erhöht nicht nur die scheinbaren Verdaulichkeiten der Rohnährstoffe, sondern führt auch zu einer Absenkung des Kot-pH-Wertes, ein Effekt der dahingehend interpretiert werden kann, dass die REE über eine Beeinflussung des Mikrobioms wirken.

## 7 Summary

In the present study for the first time effects of Rare Earth Elements on the apparent digestibility of rats was analysed.

According to sex and weight 60 Wistar-Han rats were randomly assorted into five experimental groups (n=12, of which 6 male and 6 female). They were fed two different concentrations of a REE-citrate-starch mixture (500ppm and 2500ppm, of which each containing 50 % maize starch and 50 % REE-citrate consisting of 27.2 % Lanthanides; La, Ce-Pr, Nd and 72,8 % Citrate). Each REE-Citrate concentration was fed to the animals ad libitum as well as pair-fed. The control group was fed ad libitum. The digestion trial with the parameters apparent digestibility of dry matter, crude protein and gross energy was carried out over the period of eight days, the animals were nine weeks old. Furthermore the pH of the faeces was ascertained (is shown in tablet 28).

By the supplementing of REE, independent of the dosage there was both, an increase in apparent digestibility of dry matter, gross energy and crude protein and a lowering of pH-value of the faeces.

At the end of the trial, the energy content of the bodies of REE-supplemented was 13,7% higher than the bodies of control animals.

*Table 28: Apparent digestibility of dry matter, gross energy and crude protein of the groups of trial.*

<b>group</b>	<b>ad dm</b> (MW $\pm$ SD)	<b>ad cp</b> (MW $\pm$ SD)	<b>ad gross energy</b> (MW $\pm$ SD)	<b>pH of faeces</b> (MW $\pm$ SD)
control	75,9 $\pm$ 0,4	73,6% $\pm$ 0,2	78,8% $\pm$ 0,39	6,30 $\pm$ 0,20
REE 500 ad lib	79,1 $\pm$ 1,4***	75,4% $\pm$ 0,7*	81,3% $\pm$ 1,26***	5,96 $\pm$ 0,35*
REE 500 pair-fed	78,9 $\pm$ 1,3***	75,2% $\pm$ 1,9*	80,9% $\pm$ 0,58***	6,09 $\pm$ 0,37
REE 2500 ad lib	77,3 $\pm$ 2,2*	75,6% $\pm$ 1,5*	80,2% $\pm$ 0,61**	6,04 $\pm$ 0,21*
REE 2500 pair-fed	77,6 $\pm$ 2,2**	75,9% $\pm$ 1,0*	79,9% $\pm$ 1,11**	6,00 $\pm$ 0,27*

(\*  $p < 0,05$  vs. control)

(\*\* $p < 0,01$  vs. control)

(\*\*\*  $p < 0,001$  vs. control)

Supplementation of REE-citrates not only increases the apparent digestibility of the crude nutrients, furthermore the ph-value of faeces is lowered, an effect that can be interpreted as caused by interaction with the microbiome which might display their mode of action.

## **8 Literaturverzeichnis**

### **Gesetze und Verordnungen**

LFGB. Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch vom 14. Dezember 2010 und zuletzt geändert am 27. Juli 2011 durch Bundesgesetzblatt Jahrgang 2011 Teil I Nr. 41, S.1608, Art.1 vom 03. August 2011

RL (70/524/EWG). Richtlinie des Rates vom 23. November 1970 über Zusatzstoffe in der Tierernährung.

VO (EG) Nr. 1334/2001. Verordnung (EG) Nr. 1334/2001 der Kommission vom 2. Juli 2001 zur vorläufigen Zulassung eines neuen Zusatzstoffes in der Tierernährung.

VO (EG) Nr. 1334/2003. Verordnung (EG) Nr. 1334/2003 der Kommission vom 25. Juli 2003 zur Änderung der Bedingungen für die Zulassung einer Reihe von zur Gruppe der Spurenelemente zählenden Futtermittelzusatzstoffen.

VO (EG) 1831/2003. Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 des europäischen Parlaments und des Rates vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung.

ACAMOVIC, T. & BROOKER, J. D. 2005. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 64, 403-412.

ALBAAJ, F. & HUTCHISON, A. J. 2005. Lanthanum carbonate (Fosrenol®): a novel agent for the treatment of hyperphosphataemia in renal failure and dialysis patients. *International Journal of Clinical Practice*, 59, 1091-1096.

ALTMANN, G. G. 1971. Influence of bile and pancreatic secretions on the size of the intestinal villi in the rat. *American Journal of Anatomy*, 132, 167-177.

AWAD, W. A., GHAREEB, K., ABDEL-RAHEEM, S. & BOHM, J. 2009. Effects of dietary inclusion of probiotic and synbiotic on growth performance, organ weights, and intestinal histomorphology of broiler chickens. *Poult Sci*, 88, 49-56.

BARBER, R. S., BOWLAND, J. P., BRAUDE, R., MITCHELL, K. G. & PORTER, J. W. 1961. Copper sulphate and copper sulphide (CuS) as supplements for growing pigs. *Br J Nutr*, 15, 189-97.

BARBER, R. S., BRAUDE, R., MITCHELL, K. G., ROOK, J. A. & ROWELL, J. G. 1957. Further studies on antibiotic and copper supplements for fattening pigs. *Br J Nutr*, 11, 70-9.

BARROW, P. A., BROOKER, B. E., FULLER, R. & NEWPORT, M. J. 1980. The Attachment of Bacteria to the Gastric Epithelium of the Pig and its Importance in the Microecology of the Intestine. *Journal of Applied Microbiology*, 48, 147-154.

BASMACIOGLU MALAYOGLU, H., BAYSAL, S., MISIRLIOGLU, Z., POLAT, M., YILMAZ, H. & TURAN, N. 2010. Effects of oregano essential

oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. *Br Poult Sci*, 51, 67-80.

BELLER, F. K. & MAMMEN, E. 1956. Der Angriffspunkt der seltenen Erden Neodym im Gerinnungssystem. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 187, 319-336.

BENTZ, J., ALFORD, D., COHEN, J. & DUZGUNES, N. 1988. La<sup>3+</sup>-induced fusion of phosphatidylserine liposomes. Close approach, intermembrane intermediates, and the electrostatic surface potential. *Biophys J*, 53, 593-607.

BIELECKA, M., BIEDRZYCKA, E. & MAJKOWSKA, A. 2002. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. *Food Research International*, 35, 125-131.

BLANK, R., MOSENTHIN, R., SAUER, W. C. & HUANG, S. 1999. Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on ileal and fecal amino acid digestibilities in early-weaned pigs. *J. Anim Sci.*, 77, 2974-2984.

BÖHME, H., FLECKENSTEIN, J., HU, Z. & SCHNUG, E. Year. Bilanzversuche zum Einsatz von Von Seltenen Erden in der Schweinemast. In: 114. VDLUFA Kongress Ressourcenschutz und Produktsicherheit- Qualitätssicherung in der Landwirtschaft, 16.-20.09. 2002 Leipzig. VDLUFA Schriftenreihe.

BORGER, C. 2003. *Alternative Methoden in der Schweinemast: Untersuchung zum leistungssteigernden Potential Seltener Erden und zur Jodanreicherung im Gewebe durch die Verfütterung von Meeresalgen.* Dissertation, Tierärztliche Fakultät der LMU

BRAUDE, R. 1967. The effect of changes in feeding patterns on the performance of pigs. *Proceedings of the Nutrition Society*, 26, 163-181.

BROWN, P. H., RATHJEN, A. H., GRAHAM, R. D. & TRIBE, D. E. 1990. Chapter 92 Rare earth elements in biological systems. *In: KARL A. GSCHNEIDNER, JR. & LEROY, E. (eds.) Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*. Elsevier.

BRUZZESE, E., VOLPICELLI, M., SQUAGLIA, M., TARTAGLIONE, A. & GUARINO, A. 2006. Impact of prebiotics on human health. *Digestive and Liver Disease*, 38, S283-S287.

BURNELL, T. W., CROMWELL, G. L. & STAHLY, T. S. 1988. Effects of Dried Whey and Copper Sulfate on the Growth Responses to Organic Acid in Diets for Weanling Pigs. *J. Anim Sci.*, 66, 1100-1108.

BUSCH, A. 1999. Probiotika in der Tierernährung. *In: AGRIMEDIA (ed.)*. Bergen: Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung e.V.

CANIBE, N., STEIEN, S. H., OVERLAND, M. & JENSEN, B. B. 2001. Effect of K-diformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations. *J Anim Sci*, 79, 2123-33.

CASTANON, J. I. 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poult Sci*, 86, 2466-71.

CHANG, J., ZHU, W., ZHANG, L., XIONG, J., ZHANG, J. & HU, Z. Year. Study on environmental effects of rare earth elements. *In: 2nd International Symposium on Trace Elements and Food Chain*, 15.-17.11. 1998 Wuhan, China.

CHEN, W. J., TAO, Y., GU, Y. H. & ZHAO, G. W. 2001. Effect of lanthanide chloride on photosynthesis and dry matter accumulation in tobacco seedlings. *Biol Trace Elem Res*, 79, 169-76.

CHENG, Q., GAO, J., JING, B. & PONG, X. 1994. The apparent digestibility of Rare Earth Elements and their effect on crude protein and fat digestibility in pigs. *Jiangsu Agriculture Sci. (Chinese)*, 1, 59-61.

CHIANG, S.-S., CHEN, J.-B. & YANG, W.-C. 2005. Lanthanum carbonate (Fosrenol) efficacy and tolerability in the treatment of hyper phosphatemic patients with end-stage renal disease. *Clinical nephrology*, 63, 461-470.

CHOWDHURY, R., ISLAM, K. M., KHAN, M. J., KARIM, M. R., HAQUE, M. N., KHATUN, M. & PESTI, G. M. 2009. Effect of citric acid, avilamycin, and their combination on the performance, tibia ash, and immune status of broilers. *Poult Sci*, 88, 1616-22.

CLARKE, R. M. 1969. Mucosal architecture and epithelial cell production rate in the small intestine of the albino rat. *J. Anat.*, 107, pp. 519-529.

CORPET, D. E. 2000. Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 151, 99-104.

COWAN, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12, 564-582.

CRAIG, W. J. 1999. Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr*, 70, 491S-499.

CUMMINGS J.H. , M. G. T. 2002. Gastrointestinal effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 87, 145-151

DAI, Y., LI, J., YU, L., DAI, G., HU, A., YUAN, L. & WEN, Z. 2002. Effects of rare earth compounds on growth and apoptosis of leukemic cell lines. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 38, 373-5.

DAS, T., SHARMA, A. & TALUKDER, G. 1988. Effects of lanthanum in cellular systems. A review. *Biol Trace Elem Res*, 18, 201-28.

DE BROE, M. E. & D'HAESE, P. C. 2004. Improving outcomes in hyperphosphataemia. *Nephrol Dial Transplant*, 19 Suppl 1, i14-8.

DIBNER, J. J. & BUTTIN, P. 2002. Use of Organic Acids as a Model to Study the Impact of Gut Microflora on Nutrition and Metabolism. *J APPL POULT RES*, 11, 453-463.

DURBIN, P. W., WILLIAMS, M. H., GEE, M., NEWMAN, R. H. & HAMILTON, J. G. 1956. Metabolism of the lanthanons in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med*, 91, 78-85.

EIDELSBURGER, U., KIRCHGESSNER, M. & ROTH, F. X. 1992. Zum Einfluß von Fumarsäure, Salzsäure, Natriumformiat, Tylosin und Toyocerin auf tägliche Zunahmen, Futteraufnahme, Futterverwertung und Verdaulichkeit. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 68, 82-92.

EISELE, N. 2003. *Untersuchung zum Einsatz Seltener Erden als Leistungsförderer beim Schwein*. Dissertation, Tierärztliche Fakultät der LMU.

ENGLE, T. E. & SPEARS, J. W. 2001. Performance, carcass characteristics, and lipid metabolism in growing and finishing Simmental steers fed varying concentrations of copper. *J Anim Sci*, 79, 2920-5.

EVANS 1990. *Biochemistry of lanthanides*, New York and London, Plenum Press.

FASHUI, H., LING, W., XIANGXUAN, M., ZHENG, W. & GUIWEN, Z. 2002. The effect of cerium (III) on the chlorophyll formation in spinach. *Biol Trace Elem Res*, 89, 263-76.

FASSHAUER, U. & KIENZLE, E. 1995. Effect of citric acid, olaquinox, zinc-bacitracin and zinc oxide on precaecal digestion of crude nutrients and ileocaecal flow of minerals in minipigs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 74, 219-226.

FELDHAUS, A. 2006. *Wirkung von Seltenen Erden auf den osteoporotisch veränderten Knochen im Tiermodell der ovariectomierten Ratte*. Dissertation, Tierärztlichen Fakultät der LMU

FISHER, R. B. & PARSONS, D. S. 1950. The gradient of mucosal surface area in the small intestine of the rat. *J Anat*, 84, 272-82.

FLEIGE, S., PREISSINGER, W., MEYER, H. H. & PFAFFL, M. W. 2009. The immunomodulatory effect of lactulose on *Enterococcus faecium* fed preruminant calves. *J Anim Sci*, 87, 1731-8.

FREITAG, M., HENSCHKE, H.-U., SCHULTE-SIENBECK, H. & REICHELT, B. 1999. Biologische Effekte konventioneller und alternativer Leistungsförderer. *Kraftfutter*, 2, 49-57.

FREITAG, M., HENSCHKE, H. U., SCHULTE-SIENBECK, H. & REICHELT, B. 1998. Kritische Betrachtung des Einsatzes von Leistungsförderern in der Tierernährung. Soest: Forschungsberichte des Fachbereichs Agrarwissenschaft.

FULLER, R. 1989. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol*, 66, 365-78.

FULLER, R. & TURVEY, A. 1971. Bacteria Associated with the Intestinal Wall of the Fowl (*Gallus domesticus*). *Journal of Applied Microbiology*, 34, 617-622.

GEDEK, B. 1981. Zur Wirkung von Kupfer im Tierfutter als Selektor antibiotikaresistenter E.-coli-Keime beim Schwein. *Tierärztl. Umschau*, 36, 6 – 21.

GEDEK, B., KIRCHGESSNER, M., WIEHLER, S., BOTT, A., EIDELSBURGER, U. & ROTH, F. X. 1993. [The nutritive effect of *Bacillus cereus* as a probiotic in the raising of piglets. 2. Effect and microbial count, composition and resistance determination of gastrointestinal and fecal microflora]. *Arch Tierernahr*, 44, 215-26.

GIBSON, G. R., OTTAWAY, P. B. & RASTALL, R. A. 2000. Prebiotics: New Developments in Functional Foods.

GIBSON, G. R. & ROBERFROID, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*, 125, 1401-12.

GRACA, J. G., DAVISON, F. C. & FEAVEL, J. B. 1964. COMPARATIVE TOXICITY OF STABLE RARE EARTH COMPOUNDS. III. ACUTE TOXICITY OF INTRAVENOUS INJECTIONS OF CHLORIDES AND CHELATES IN DOGS. *Arch Environ Health*, 8, 555-64.

GREIFE, H. A. & BERSCHAUER, F. 1988a. Growth promoters in animal nutrition: Status and prospects. *Uebersichten zur Tierernaehrung*, v. 16, p. 27-77.

GSCHEIDNER, J. K. A. & EYRING, L. 1978. *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*, Elsevier.

GV-SOLAS 1998. Ratte. *Fütterungskonzepte und -methoden in der Versuchstierhaltung und im Tierversuch*.

HAGMULLER, W., JUGL-CHIZZOLA, M., ZITTERL-EGLESEER, K., GABLER, C., SPERGSEER, J., CHIZZOLA, R. & FRANZ, C. 2006. The use of Thymi Herba as feed additive (0.1%, 0.5%, 1.0%) in weanling piglets with assessment of the shedding of haemolysing E. coli and the detection of thymol in the blood plasma. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 119, 50-4.

HALEY, T. J. 1979. Chapter 40 Toxicity. In: KARL A. GSCHEIDNER, JR. & LEROY, E. (eds.) *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*. Elsevier.

HALEY, T. J., KOMESU, N., EFROS, M., KOSTE, L. & UPHAM, H. C. 1964. Pharmacology and toxicology of praseodymium and neodymium chlorides. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 6, 614-620.

HALLE, I., FLECKENSTEIN, J., HU, Z. Y., FLACHOWSKY, G. & SCHNUG, E. 2002. Untersuchungen zum Einfluss von Seltenen Erden auf das Wachstum und die Schlachtleistung von Broilern. *114.VDLUFA-Kongress Leipzig*.

HAN, Y. K. & THACKER, P. A. 2010. *Effects of Antibiotics, Zinc Oxide or a Rare Earth Mineral-Yeast Product on Performance, Nutrient Digestibility and Serum Parameters in Weanling Pigs*, Kwachon-Shi, Kyunggi-Do, COREE, REPUBLIQUE DE, Asian-Australasian Association of Animal Production Societies.

HAWBAKER, J. A., SPEER, V. C., HAYS, V. W. & CATRON, D. V. 1961.

Effect of Copper Sulfate and Other Chemotherapeutics in Growing Swine Rations. *J. Anim Sci.*, 20, 163-167.

HE, M. L., RANZ, D. & RAMBECK, W. A. 2001. Study on the performance enhancing effect of rare earth elements in growing and fattening pigs. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 85, 263-70.

HE, M. L., WANG, Y. Z., XU, Z. R., CHEN, M. L. & RAMBECK, W. A. 2003. Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 87, 229-35.

HE, M. L., WEHR, U. & RAMBECK, W. A. 2010. Effect of low doses of dietary rare earth elements on growth performance of broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 94, 86-92.

HEBELER, D., KULLA, S., WINKENWERDER, F., KAMPHUES, J., ZENTEK, J. & AMTSBERG, G. 2000. Influence of a formic acid-potassiumformate-complex on chyme composition as well as on the intestinal microflora of weaned piglets. *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology*, 9, 63ff.

HEDEMANN, M. S., ESKILDSEN, M., LAERKE, H. N., PEDERSEN, C., LINDBERG, J. E., LAURINEN, P. & KNUDSEN, K. E. 2006a. Intestinal morphology and enzymatic activity in newly weaned pigs fed contrasting fiber concentrations and fiber properties. *J Anim Sci*, 84, 1375-86.

HEDEMANN, M. S., JENSEN, B. B. & POULSEN, H. D. 2006b. Influence of dietary zinc and copper on digestive enzyme activity and intestinal morphology in weaned pigs. *J Anim Sci*, 84, 3310-20.

HERNANDEZ, F., MADRID, J., GARCIA, V., ORENGO, J. & MEGIAS, M. 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poult Sci*, 83, 169-174.

HIRAYAMA, M. 2002. Novel physiological functions of oligosaccharides. *Pure Appl. Chem*, 1271-1279.

HÖBER, R. & SPAETH, R. A. 1914. Über den Einfluss seltener Erden auf die Kontraktilität des Muskels. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, 159, 433-456.

HOLMSEN, H., WHAUN, J. & DAY, H. 1971. Inhibition by lanthanum ions of ADP-induced platelet aggregation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 27, 451-453.

HU, Z., WANG, J., YANG, Y. & MA, Y. 1999. Effect of REE on the nutrients digestibility for growing pigs. *Feed World*, 11, 29-31.

HUNTER, R. B. & WALKER, W. 1956. Anticoagulant Action of Neodymium 3-Sulpho-isonicotinate. *Nature*, 178, 47-47.

ICHIKAWA, H. & SAKATA, T. 1998. Stimulation of epithelial cell proliferation of isolated distal colon of rats by continuous colonic infusion of ammonia or short-chain fatty acids is nonadditive. *J Nutr*, 128, 843-7.

JACOB, M. E., FOX, J. T., NAGARAJA, T. G., DROUILLARD, J. S., AMACHAWADI, R. G. & NARAYANAN, S. K. 2010. Effects of feeding elevated concentrations of copper and zinc on the antimicrobial susceptibilities of fecal bacteria in feedlot cattle. *Foodborne Pathog Dis*, 7, 643-8.

JAROSZEWSKA, M. & WILCZYŃSKA, B. 2006. Dimension of surface area of alimentary canal of pregnant and lactating female common shrews. *Journal of Mammalogy*, 87, 589-597.

JI, Y. J. & CUI, M. Z. 1988. Toxicological studies on safety of rare earths

used in agriculture. *Biomed Environ Sci*, 1, 270-6.

JUGL-CHIZZOLA, M., SPERGSEER, J., SCHILCHER, F., NOVAK, J., BUCHER, A., GABLER, C., HAGMULLER, W. & ZITTERL-EGLESEER, K. 2005. Effects of *Thymus vulgaris* L. as feed additive in piglets and against haemolytic *E. coli* in vitro. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 118, 495-501.

JUGL-CHIZZOLA, M., UNGERHOFER, E., GABLER, C., HAGMULLER, W., CHIZZOLA, R., ZITTERL-EGLESEER, K. & FRANZ, C. 2006. Testing of the palatability of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. as flavouring feed additive for weaner pigs on the basis of a choice experiment. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 119, 238-43.

KAMPHUES, J. 1999. [Antibiotic growth promoters for the view of animal nutrition]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 112, 370-9.

KIRCHGESSNER, M., ECKEL, B., ROTH, F. X. & EIDELSBURGER, U. 1992. Zum Einfluß von Ameisensäure auf Körperzusammensetzung und Nährstoffretention. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 67, 101-110.

KIRCHGESSNER, M. & ROTH, F. X. 1978. [Effect of fumaric acid on nutrient and energy metabolism]. *Z Tierphysiol Tierernähr Futtermittelkd*, 41, 71-6.

KIRCHGESSNER, M. & ROTH, F. X. 1988. Ergotrope Effekte durch organische Säuren in der Ferkelaufzucht und Schweinemast. *Übers. Tierernährg.*, 16, S. 93-108.

KNARREBORG, A., MIQUEL, N., GRANLI, T. & JENSEN, B. B. 2002. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. 99, 131-140.

KNEBEL, C. 2003. *Untersuchungen zum Einfluss Seltener Erd-Citrate auf Leistungsparameter beim Schwein und die ruminale Fermentation im künstlichen Pansen (RUSITEC)*. Dissertation, Fakultät der LMU.

KOS, B., ŠUŠKOVIĆ, J., VUKOVIĆ, S., ŠIMPRAGA, M., FRECE, J. & MATOŠIĆ, S. 2003. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 981-987.

KUANG, Y., LIU, Q., ZHEN, Y., DENG, Z. & XU, S. 1991. Studies on the absorption, distribution of rare earth elements and its effect on absorption of phosphorus and potassium in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Acta Agriculturae Nucleatae Sinica*, 5, 146-152.

LANG, G. 2006. *Histotechnik: Praxislehrbuch für die Biomedizinische Analytik*, Wien, New York, Springer Verlag.

LAUR, P. F. 2003. *Wirkung von Lactoferrin auf den Organismus neonataler Hundewelpen*. Tierärztlichen Fakultät der LMU.

LI, D., SHE, W., GONG, L., YANG, W. & YANG, S. 1992. Effects of the rare earth element on growth and nitrogen balance of growing pigs. *Feed BoLan*, 4, 3-4.

LILLY, D. M. & STILLWELL, R. H. 1965. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147, 747-8.

LINDERMAYER, H. & PROPSTMEIER, G. 2005. Ferkelaufzuchtversuch mit Fumarsäure, Sanocid und Kaliumdiformiat („Formi“). *In: INSTITUT FÜR TIERERNÄHRUNG UND FUTTERWIRTSCHAFT, I.-S. (ed.). Grub: Landesanstalt für Landwirtschaft*

LIU, X. & BYRNE, R. 1998. Comprehensive Investigation of Yttrium and Rare Earth Element Complexation by Carbonate Ions Using ICP–Mass Spectrometry. *Journal of Solution Chemistry*, 27, 803-815.

LORENZ-MEYER, H., KÖHN, R. & RIECKEN, E. O. 1976. Vergleich verschiedener morphometrischer Methoden zur Erfassung der Schleimhautoberfläche des Rattendünndarms und deren Beziehung zur Funktion. *Histochemistry and Cell Biology*, 49, 123-129.

LÜDKE, H. & SCHÖNE, F. Year. Untersuchungen zum Einsatz von Säuren im Mischfutter für Absetzferkel.

Vitamine und weitere Zusatzstoffe bei Mensch und Tier. *In:* 3. Symposium, 26.-27.9.1991 1991 Stadtroda bei Jena/Thüringen. 349 - 352.

LUO, X. G. & DOVE, C. R. 1996. Effect of dietary copper and fat on nutrient utilization, digestive enzyme activities, and tissue mineral levels in weanling pigs. *J. Anim Sci.*, 74, 1888-1896.

MAGNUSSON, G. 1963. The behaviour of certain Lanthanons in rats. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 20, SUPPL2:1-95.

MANNERS, M. J. 1976. The development of digestive function in the pig. *Proceedings of the Nutrition Society*, 35, 49-55.

MEYER, H. & KRÖGER, H. 1973. Kupferfütterung beim Schwein. *Übers. Tierernährg.*, 1, 9 – 44.

MILLER, T. 2006. *Einfluss Seltener Erden in der Schweine- und Kälbermast*. Dissertation, Tierärztliche Fakultät der LMU.

MINES, G. R. 1910. The action of Beryllium, Lanthanum, Yttrium and Cerium on the frog's heart. *J. Physiol.*, 40, 327-345.

MROZ, Z., JONGBLOED, A. W., PARTANEN, K. H., VREMAN, K., KEMME, P. A. & KOGUT, J. 2000. The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. *J Anim Sci*, 78, 2622-32.

MROZ, Z., REESE, D. E., OVERLAND, M., VAN DIEPEN, J. T. & KOGUT, J. 2002. The effects of potassium diformate and its molecular constituents on the apparent ileal and fecal digestibility and retention of nutrients in growing-finishing pigs. *J. Anim Sci.*, 80, 681-690.

MUROMA, A. 1958. Studies in the bactericidal action of salts of certain rare earth metals. *Ann Med Exp Biol Fenn*, 36, 1-54.

MUROMA, A. 1959. The bactericidal action of the rare earth metals: further studies. *Ann Med Exp Biol Fenn*, 37, 336-40.

NAKAMURA, Y., TSUMURA, Y., TONOGAI, Y., SHIBATA, T. & ITO, Y. 1997. Differences in Behavior among the Chlorides of Seven Rare Earth Elements Administered Intravenously to Rats. *Toxicological Sciences*, 37, 106-116.

NRC 1998. *Nutrient requirements of swine*.

OUWEHAND, A., SALMINEN, S. & ISOLAURI, E. 2002. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 279-289.

OVERLAND, M., GRANLI, T., KJOS, N. P., FJETLAND, O., STEIEN, S. H. & STOKSTAD, M. 2000. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora, and stomach alterations in growing-finishing pigs. *J. Anim Sci.*, 78, 1875-1884.

OVERLAND, M., KJELDSEN, C. C. & GRANLI, T. 2003. Dietary potassium as feed additive. *Feed magazine*, 5, 146-152.

PANG, X., LI, D. & PENG, A. 2002. Application of rare-earth elements in the agriculture of China and its environmental behavior in soil. *Environ Sci Pollut Res Int*, 9, 143-8.

PAPENBROCK, S., STEMME, K., AMTSBERG, G., VERSPOHL, J. & KAMPHUES, J. 2005. Investigations on prophylactic effects of coarse feed structure and/or potassium diformate on the microflora in the digestive tract of weaned piglets experimentally infected with Salmonella Derby. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 89, 84-87.

PARKER, D. S. 1990. Manipulation of the functional activity of the gut by dietary and other means (antibiotics/probiotics) in ruminants. *J Nutr*, 120, 639-48.

PARTANEN, K. H. & MROZ, Z. 1999. Organic acids for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Reviews*, 12, 117-145.

PAULICKS, B. R., ROTH, F. X. & KIRCHGESSNER, M. 2000. Effects of potassium diformate (Formi® LHS) in combination with different grains and energy densities in the feed on growth performance of weaned piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 84, 102-111.

PEURANEN, S., TIIHONEN, K., APAJALAHTI, J., KETTUNEN, A., SAARINEN, M. & RAUTONEN, N. 2004. Combination of polydextrose and lactitol affects microbial ecosystem and immune responses in rat gastrointestinal tract. *British Journal of Nutrition*, 91, 905-914.

PIEPER, R., JANCZYK, P., URUBSCHUROV, V., KORN, U., PIEPER, B. & SOUFFRANT, W. B. 2009. Effect of a single oral administration of *Lactobacillus plantarum* DSMZ 8862/8866 before and at the time point of

weaning on intestinal microbial communities in piglets. *Int J Food Microbiol*, 130, 227-32.

RAMBECK, W. A., HE, M. L., CHANG, J., ARNOLD, R., HENKELMANN, R., LIN, X. L. & SN<sup>-</sup>, A. Year. Possible role of rare earth elements as growth promoters. *In:* 54. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, 7.-9.03. 2000 AMS Göttingen (Germany). p. 47.

RAMBECK, W. A., HE, M. L. & WEHR, U. Year. Influence of the alternative growth promotor "Rare Earth Elements" on meat quality in pigs. *In:* Pig and poultry meat quality- genetic and non-genetic factors, 14.-15.10. 2004 Krakow, Poland. British Society of Animal Science.

RAMBECK, W. A. & WEHR, U. 2004. Rare earth elements as alternative growth promoters in pig production. München: Institute for Animal Physiology, Physiological Chemistry and Animal Nutrition, LMU.

RENARD, B. 2005. *Seltene Erden als Leistungsförderer in der Fischzucht, Untersuchung an Regenbogenforellen und Karpfen*. Dissertation, Tierärztliche Fakultät der LMU.

ROTH, F. X., WINDISCH, W. & KIRCHGESSNER, M. 1998a. Effects of potassium diformate (FormiTMLHS) on nitrogen metabolism and nutrient digestibility in piglets at graded dietary lysine supply. *Agribiol. Res.*, 51, 165-175.

SAKATA, T. 1987. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in the rat intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *Br J Nutr*, 58, 95-103.

SAKATA, T., KOJIMA, T., FUJIEDA, M., TAKAHASHI, M. & MICHIBATA, T. 2003. Influences of probiotic bacteria on organic acid production by pig

caecal bacteria in vitro. *Proc Nutr Soc*, 62, 73-80.

SCHULLER, S. 2001. *Seltene Erden als Leistungsförderer beim Geflügel. Untersuchungen an Broilern und Japanischen Wachtel*. Dissertation, Tierärztliche Fakultät der LMU.

SCHULLER, S., BORGER, C., HE, M. L., HENKELMANN, R., JADAMUS, A., SIMON, O. & RAMBECK, W. A. 2002. [The effectiveness of rare earth elements as a possible alternative growth promoter for pigs and poultry]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 115, 16-23.

SEDMAK, J. J., MACDONALD, H. S. & KUSHNARYOV, V. M. 1986. Lanthanide ion enhancement of interferon binding to cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 137, 480-485.

SHEN, Q., ZHANG, J. & WANG, C. 1991. Application of Rare Earth Elements on animal production. *Feed Industry*, 12, 21-22(Chinese).

SMITH, T. C., MIKITEN, T. M. & LEVINSON, C. 1972. The effect of multivalent cations on the membrane potential of the ehrlich ascites tumor cell. *Journal of Cellular Physiology*, 79, 117-125.

SOULSBY, L. O. S. P. 2008. The 2008 Garrod Lecture: antimicrobial resistance--animals and the environment. *J Antimicrob Chemother*, 62, 229-33.

STAHLY, T. S., CROMWELL, G. L. & MONEGUE, H. J. 1980. Effects of the dietary inclusion of copper and(or) antibiotics on the performance of weanling pigs. *J Anim Sci*, 51, 1347-51.

TETAZ, T. J. & LUKE, R. K. 1983. Plasmid-controlled resistance to copper in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 154, 1263-1268.

UMESAKI, Y. & SETOYAMA, H. 2000. Structure of the intestinal flora responsible for development of the gut immune system in a rodent model. *Microbes and Infection*, 2, 1343-1351.

VAN CAMPEN, D. R. & SCAIFE, P. U. 1967. Zinc interference with copper absorption in rats. *J Nutr*, 91, 473-6.

VAN DER WAAIJ, L. A., LIMBURG, P. C., MESANDER, G. & VAN DER WAAIJ, D. 1996. In vivo IgA coating of anaerobic bacteria in human faeces. *Gut*, 38, 348-54.

VICHI, S., ZITTERL-EGLESEER, K., JUGL, M. & FRANZ, C. 2001. Determination of the presence of antioxidants deriving from sage and oregano extracts added to animal fat by means of assessment of the radical scavenging capacity by photochemiluminescence analysis. *Food / Nahrung*, 45, 101-104.

VINCKE, E. & SUCKER, E. 1950. Über Ein Neues Antithromboticum, Das Neodymsulfoisonicotinat. *Journal of Molecular Medicine*, 28, 74-75.

WISEK, W. J. 1978. The Mode of Growth Promotion by Antibiotics. *J Anim Sci*, 46, 1447-1469.

VISSCHER, C. F., WINTER, P., VERSPOHL, J., STRATMANN-SELKE, J., UPMANN, M., BEYERBACH, M. & KAMPHUES, J. 2009. Effects of feed particle size at dietary presence of added organic acids on caecal parameters and the prevalence of Salmonella in fattening pigs on farm and at slaughter. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93, 423-430.

VON ENGELHARDT, W., BARTELS, J., KIRSCHBERGER, S., MEYER ZU DUTTINGDORF, H. D. & BUSCHE, R. 1998. Role of short-chain fatty acids in the hind gut. *Vet Q*, 20 Suppl 3, S52-9.

WAN, Q., TIAN, J., PENG, H., ZHANG, X., LEE, D., WOO, C., RYU, J. & PARK, C. Year. The effects of rare earth on increasing yield, improving quality and reducing agricultural chemical remained in crop products. *In*: 2nd International Symposium on Trace Elements and Food Chain, 12.-15.11. 1998 Wuhan, China.

WANNER, M. 1999. [Antimicrobial growth promoters--retrospect and alternatives]. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 141, 93-7.

WENK, C. Year. Einsatz von Kräutern deren Extrakten in der Tierernährung: Erwartungen und Möglichkeiten. *In*: 4. BOKU-Symposium Tierernährung, Tierernährung ohne antibiotische Leistungsförderer, 27.10. 2005 Wien. Tagungsband:17-27.

WETSCHEREK, W. Year. Phyto gene Futterzusatzstoffe für Schwein und Geflügel. *In*: 1. BOKU-Symposium, Tierernährung, 5.12. 2002 Wien. 18-23.

WINDISCH, W., SCHEDLE, K., PLITZNER, C. & KROISMAYR, A. 2008. Use of phyto genic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim Sci.*, 86, E140-148.

WU, G., CHEN, G. & WANG, G. Year. Effect of rare earth element on tissue culture of *Chaenomeles Spiciosa*. *In*: 2nd International Symposium on Trace Elements and Food Chain, 12.-15.11. 1998 Wuhan, China.

XU, Z., WANG, M. & CHEN, L. 1999. Growth response of pigs fed supplemental lanthanum and approach of mechanism. *Journal of the Chinese Rare Earth Society*, 17, 53-59.

YANG, H., ZHANG, Q., CHEN, J., ZHAN, H. & ZHU, Y. 2005. Effect of supplementing Rare-earth Complex Compound with Fumaric in Ration on Live weight gain in Yellow hybrid Broiler. *Chinese Qunghai Journal of*

*Animal and Veterinary Sciences*, 35, p. 7-8.

YANG, Y., KIARIE, E., SLOMINSKI, B. A., BRULE-BABEL, A. & NYACHOTI, C. M. 2010. Amino acid and fiber digestibility, intestinal bacterial profile, and enzyme activity in growing pigs fed dried distillers grains with solubles-based diets. *J Anim Sci*, 88, 3304-12.

YANG, Z. & CHEN, L. 2000. Effect of lanthanum on egg hatching of *Macrobrachium nipponense*. *Aquiculture*, 6, 31-32.

ZHANG, H., FENG, J., ZHU, W., LIU, C. & GU, J. 2000. Bacteriostatic effects of cerium-humic acid complex. *Biological Trace Element Research*, 73, 29-36.

ZIMMERMAN, D. R. 1986. Role of subtherapeutic levels of antimicrobials in pig production. *J. Anim Sci.*, 62, 6-16.

## 9 Anhang

### 9.1 Lebenslauf

#### Persönliche Angaben

Name:	Thomas Kroth
Geboren:	am 01.09.1982 in Darmstadt
Staatsangehörigkeit:	Deutsch
Familienstand:	ledig
Eltern:	Eberhard Kroth Barbara Kroth, geb. Müller
Geschwister:	Sebastian Kroth Nicolas Kroth

#### Ausbildung, Weiterbildung und berufliche Tätigkeit

1989 – 1994	Johannes-Obernburger Volksschule
1994 – 2002	Julius-Echter-Gymnasium Elsenfeld
2003 – 2005	Szent-István- Egyetem Budapest
2005 – 2009	Ludwig-Maximilians-Universität München
2009 – 2010	Praxisvertreter in Gemischtpraxen
Seit 01.03.2011	Assistent in Gemischtpraxis

## 9.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. E. Kienzle für die Überlassung des interessanten Themas und die großzügige Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten am Lehrstuhl bedanken. Sehr herzlich möchte ich mich noch für die überaus gute, geduldige Betreuung und große Unterstützung vor allem in der Endphase bedanken.

Herrn Prof. Dr. W. Rambeck möchte ich meinen Dank für die Betreuung des Literaturteils aussprechen.

Mein besonderer Dank gilt Frau Silvia von Rosenberg für die großartige Unterstützung sowohl beim Versuchsaufbau, der Durchführung und Beurteilung der Ergebnisse, als auch eigentlich allen anderen Problemen und Fragen. Ihre fröhliche Begeisterung war beeindruckend.

Ein ganz besonderer Dank gilt Frau Mitterer, die auch in einem endloserscheinenden Berg aus histologischen Schnitten noch hilfreich mit Wort und Tat zur Seite stand und auch bis zur entgeltigen Veröffentlichung mitfieberte.

Ganz herzlich bedanke ich mich auch bei den wissenschaftlichen Mitarbeitern und den Laborkräften und den Pflegern am Institut in Oberschleissheim und am OWF in der Innenstadt, die jederzeit hilfsbereit zur Stelle waren.

Ganz herzlich möchte ich mich noch bei der Familie Kähn bedanken, die mich während dieser Zeit sowohl in tierärztlichen Belangen, als auch bei sämtlichen Fragen und Wirren mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ganz besonders bedanken möchte ich mich bei meiner Familie, die mich immer sowohl bei der Berufswahl, als auch auf dem Weg dahin nicht nur finanziell unterstützt hat, sondern auch in jeder Lebenslage einen großen Rückhalt geboten haben.

Meiner Netti ein besonderes Dankeschön für die vielen aufmunternden, aber auch antreibenden und motivierenden Worte. Sie war und ist mir eine große Stütze.