

Aus dem Institut für Tierernährung
der Tierärztlichen Hochschule Hannover

**Bildung (Menge und Dynamik) von Fermentationsprodukten
von Futtermitteln mit unterschiedlichen Gehalten an fermentierbaren
Kohlenhydraten in einem in-vitro System
mit Faeces von Pferden**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Veterinärmedizin
(Dr. med. vet.)
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

Vorgelegt von
Marie-Sophie Plumhoff
aus Minden

Hannover 2004

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. Coenen

1. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. M. Coenen
2. Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. P. Valentin-Weigand

Tag der mündlichen Prüfung: 19. November 2004

MEINER FAMILIE

INHALTSVERZEICHNIS

I	EINLEITUNG	11
II	SCHRIFTTUM	12
1.	Kohlenhydrate in der Pferdefütterung	12
1.1	Stärke	13
1.2	Fruktane	16
1.3	Cellulose und Pektine	18
2.	Mikroflora des Verdauungstraktes des Pferdes	19
2.1	Magen	19
2.2	Dünndarm	20
2.3	Dickdarm	22
2.4	Faeces	25
3.	Kohlenhydratbedingte Einflüsse auf die Darmflora	26
4.	in-vitro-Techniken zur Bestimmung der Verdaulichkeit von Futtermitteln	29
4.1	in-situ	29
4.2	in-vitro	30
4.2.1	Mikrobielle Inkubation	30
4.2.2	Enzymatische Inkubation	31
4.3	Gas-Messtechniken	31
5.	Zusammenfassung	34
III	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	35
1.	Ziel der Untersuchungen	35
2.	Material und Methoden	35
2.1	Versuchsplan	35
2.2	Probanden	37
2.3	Versuchsfutter und Rationsgestaltung	38
2.4	Versuchsvorbereitungen	42
2.4.1	Vorbereitung der Versuchsfutter	42
2.4.2	Vorbereitung der Reagenzien	42
2.4.3	Vorbereitung der Glasflaschen zur Gasmessung	43
2.4.4	Vorbereitung der Filterbags	43
2.5	Methoden und Versuchsablauf	44

2.5.1	Fermentation	44
2.5.2	Gasbildung	46
2.6	Probenmaterial	48
2.6.1	Futtermittel	48
2.6.2	Kotsuspension	48
2.7	Untersuchungsmethoden	49
2.7.1	Futtermittel in den Filterbags	51
2.7.2	Kotsuspension	52
2.8	Statistische Auswertung	56
IV	ERGEBNISSE	57
1.	Abbaubarkeit der Trockenmasse	57
1.1	Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur	57
1.2	Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Verhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)	58
2.	Bildung von Metaboliten des mikrobiellen Stoffwechsels	59
2.1	Konzentration der flüchtigen Fettsäuren im Inkubationsmedium	59
2.1.1	Essigsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur	59
2.1.2	Propionsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur	60
2.2.1	Essigsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Verhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)	63
2.2.2	Propionsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Verhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)	63
2.3	Laktatkonzentration im Inkubationsmedium	65
2.3.1	Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur	65
2.3.2	Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Verhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)	66
2.4	pH-Werte im Inkubationsmedium	67
2.4.1	Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur	67
2.4.2	Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Verhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)	68

3.	Gasproduktion während der Inkubation der verschiedenen Futtermittel	69
3.1	Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur	69
3.2	Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Verhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)	72
4.	Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse	74
V	DISKUSSION	75
1.	Kritik der Methoden	75
1.1	Alter der Versuchstiere	75
1.2	Bewertung der angewendeten Systeme	76
1.2.1	Inkubationsversuch	77
1.2.2	Gasmessung	78
1.3	Auswahl der Untersuchungsparameter	78
1.4	Versuchsdesign	79
2.	Erörterung der eigenen Ergebnisse	80
3.	Abschließende Betrachtung	93
VI	ZUSAMMENFASSUNG	94
VII	SUMMERY	96
VIII	LITERATURVERZEICHNIS	98
IX	TABELLENANHANG	125

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Neben den Abkürzungen für Einheiten des internationalen Einheitensystems und den Symbolen der chemischen Elemente wurden folgende Abkürzungen verwendet:

Abb.	Abbildung
But	Buttersäure
bzw.	beziehungsweise
° C	Grad Celsius
ca.	circa
DE	verdauliche Energie
DLG	Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft
Es	Essigsäure
et al.	et altera
FFS	flüchtige Fettsäuren
Gm	Grünmehl
h	Stunde
Ha	Hafer
KM	Körpermasse
LPS	Lipopolysaccharide
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NfE	N-freie Extraktionsstoffe
NSP	Nicht-Stärke-Polysaccharide
oS	organische Substanz
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
pH	potentia hydrogenii (Wasserstoffkonzentration)
Pro	Propionsäure
Ra	Rohasche
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
Rp	Rohprotein
SD	Standardabweichung
Tab.	Tabelle

To	Topinambur
Tr	Trockenschnitzel
TS	Trockensubstanz
u.a.	unter anderem
uS	ursprüngliche Substanz
Val	Valeriansäure
VDLUFA	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalt
z.B.	zum Beispiel

I Einleitung

Der Verdauungstrakt des Pferdes als herbivore Spezies ist von Natur aus auf die Verwertung von faserreichem Pflanzenmaterial eingestellt, was sich auch in Aufbau und Funktion des Magen-Darm-Traktes des Pferdes widerspiegelt.

Während im Magen und Dünndarm der Abbau und die Resorption von leichtverdaulichen Nährstoffen wie Zucker, Stärke, Eiweiß und Fett durch körpereigene Enzyme erfolgt, findet der Aufschluß der faserreichen Bestandteile überwiegend in den großen, gekammerten Abteilungen des Dickdarmes statt. Die praecaecal noch nicht aufgeschlossenen Futterinhaltsstoffe wie Cellulose, Hemicellulosen und Pektine werden dort mikrobiell fermentiert (MEYER und COENEN, 2002).

In den letzten Jahren rückten leicht fermentierbare Kohlenhydrate wie die Fruktane im Zuge der Ursachenforschung bei der Pododermatitis diffusa aseptica, der Hufrehe des Pferdes, in den Mittelpunkt der Aufmerksamkeit. Experimentell konnte durch Gabe von chemisch reinem Fruktan Hufrehe mit profuser Diarrhoe ausgelöst werden (HUNTINGTON und POLLITT, 2002; POLLITT und VAN EPS, 2002). Da jedoch über die Abbaubarkeit der Fruktane im Verdauungstrakt des Pferdes nur bekannt ist, dass die Fruktane aufgrund ihrer Struktur zu den im Dickdarm rasch fermentierbaren Kohlenhydraten zählen (HOFFMAN et al., 2001), soll der Abbau von Fruktan im Vergleich zu klassischen Kohlenhydraten wie Stärke, Cellulose und Pektin in der vorliegenden Arbeit untersucht werden.

Zielsetzung dieser Arbeit ist die Abbaubarkeit der genannten Futtermittel, speziell ihrer Kohlenhydrat-Fraktion, zu überprüfen und über die Fermentationsprodukte Rückschlüsse auf die Interaktionen zwischen Futter und Mikroflora zu ziehen. Ferner soll in einem separaten in-vitro-Ansatz die Dynamik der mikrobiellen Umsetzung bei Zulage der unterschiedlichen Futtermittel erfasst werden.

II Schrifttum

1. Kohlenhydrate in der Pferdefütterung

Die mit der pflanzenreichen Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate stellen beim Pferd eine Hauptquelle der Energie dar (HOFFMAN, 2003). Aus ernährungsphysiologischer Sicht lassen sich die Kohlenhydrate beim Pferd in zwei große Gruppen einteilen: Während die hydrolysierbaren Kohlenhydrate mit α -glykosidischen-(1,4)-Bindungen im Molekül dem Abbau körpereigener Enzyme in Magen und Dünndarm unterliegen, gelangen die bakteriell-fermentierbaren Kohlenhydrate mit β -glykosidischen-(1,4)-Bindungen in den Dickdarm, wo sie unter Bildung von flüchtigen Fettsäuren abgebaut werden (HOFFMAN, 2003).

Zwischen Futtermitteln bestehen erhebliche Unterschiede in den Gehalten an enzymatisch abbaubaren und mikrobiell fermentierbaren Kohlenhydraten. Während in Heu und Gras die durch die Mikroflora langsam abbaubaren Polysaccharide vom Cellulose Typ dominieren, enthalten Mischfutter je nach Zusammensetzung fermentierbare oder dünndarmverdauliche Kohlenhydrate wie zum Beispiel Trockenschnitzel oder Stärke (COENEN und VERVUERT, 2002).

Abb.1 liefert eine schematische Übersicht der verschiedenen Kohlenhydratfraktionen sowohl aus pflanzen- als auch aus verdauungsphysiologischer Sicht des Pferdes.

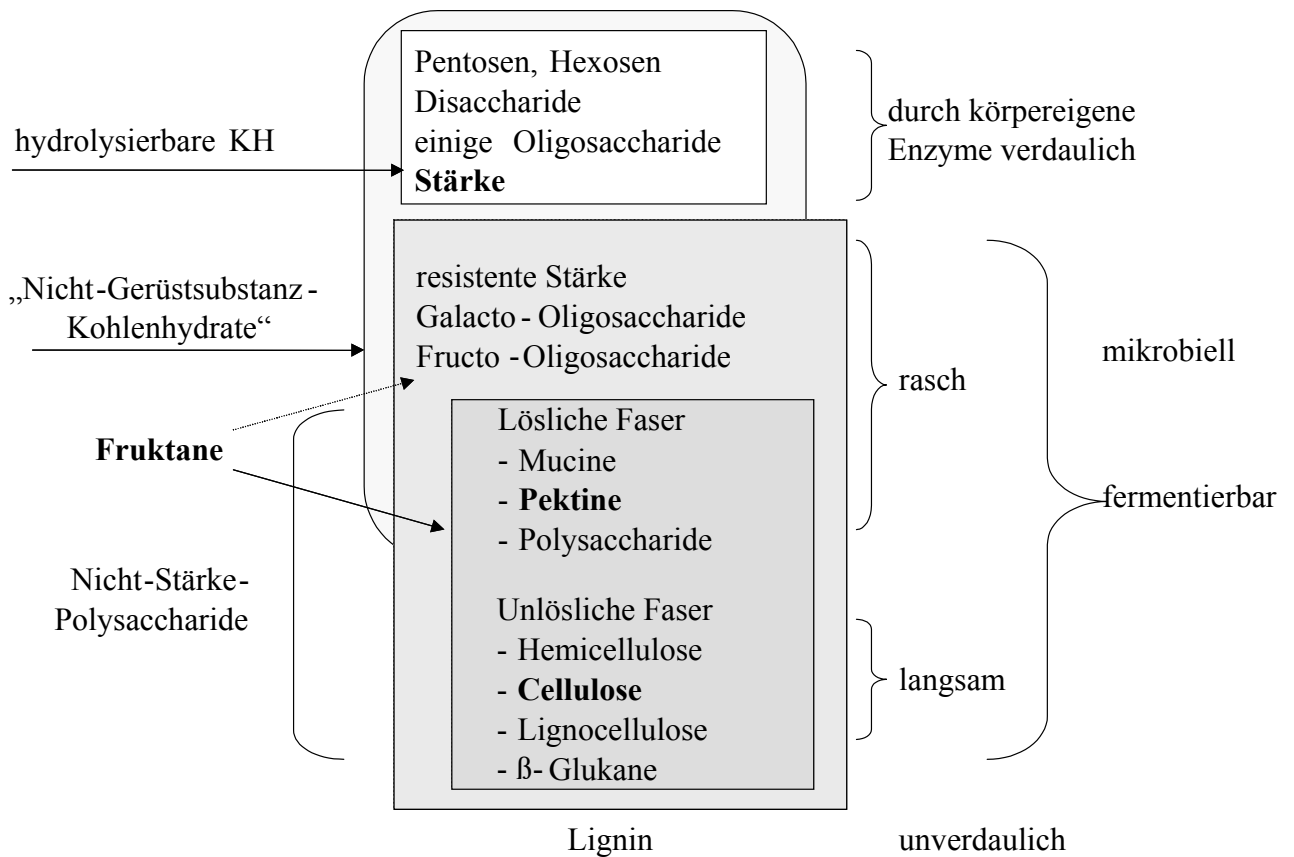


Abb. 1: Schema der verschiedenen Kohlenhydratfraktionen
(modifiziert nach HOFFMAN et al., 2001)

1.1 Stärke

Das Depot-Polysaccharid Stärke ist ein α -Glykan, das bei der Photosynthese in den Chloroplasten entsteht und zu den wichtigsten Reservestoffen der meisten höheren Pflanzen zählt. Die im Cytosol der Pflanzenzelle in Form von Granula vorliegende Stärke, besteht aus α -Amylose und Amylopectin (KARLSON et al., 1994; KIENZLE et al., 1997). Die α -Amylose, die zu 20-30 % in Getreidestärke vorkommt, besteht aus einigen tausend Glucose-Einheiten, die α -1,4-glykosidisch schraubenartig miteinander verknüpft sind (ROONEY und PFLUGFELDER, 1986). Das Amylopectin kommt zu 70-80 % in Getreidestärke vor. Da in diesem Molekül die Glucose-Reste ebenfalls α -1,4-glykosidisch verbunden sind, stellt es sich ebenfalls als schraubiges Molekül dar, das durch Wasserstoffbrücken zwischen den

Glucoseeinheiten stabilisiert wird. Zusätzlich besitzt das Amylopectin α -1,6-Bindungen, die zu einer vielfachen Verzweigung des Moleküls führen (ROONEY und PFLUGFELDER, 1986). Je nach Stärkeart beeinflusst das Verhältnis von Amylose zu Amylopectin die Abbaubarkeit der Stärke. Durch eine Vielzahl von Wasserstoffbrückenbindungen zusammengehaltene Moleküle sind schwer wasserlöslich und schlecht enzymatisch angreifbar (ROONEY und PFLUGFELDER, 1986).

Nachdem bereits im Magen ein gewisser Anteil der Kohlenhydrate durch die Magensäure hydrolysiert worden ist, werden lösliche, leichtverdauliche Polysaccharide mit α -glykosidischer Bindung weitgehend im Dünndarm durch körpereigene Enzyme abgebaut (HOFFMAN et al, 2001; HOFFMAN, 2003). Die aus dem Pankreas stammenden Amylasen (α - und β -Amylase) spalten die 1,4-glykosidischen Bindungen von Amylose und Amylopektin (ECKERT, 1993).

Untersuchungen zur Amylaseaktivität verschiedener Spezies haben gezeigt, dass diese beim Pferd vergleichsweise gering ist (Tab. 1). Sie nimmt vom Duodenum zum Caecum hin ab (ROBERTS, 1974; RADICKE et al., 1992). Sowohl RADICKE et al. (1992) als auch KIENZLE et al. (1994) erwähnen individuelle Unterschiede der Amylaseaktivität zwischen verschiedene Pferden.

Tab. 1: Amylaseaktivität [I.E./g uS] im Dünndarmchymus verschiedener Haustierarten

Spezies	Amylase [I.E./g uS]	Autor
Katze	20-40	KIENZLE (1988)
Hund	50-600	KIENZLE (1987)
Schwein	400-600	KAMPHUES (1986)
Pferd	0-100	RADICKE et al. (1992)

Der weitere Abbau der Stärke geschieht durch die in der Dünndarmmukosa lokalisierten Oligo- und Disaccharidasen, von denen die α -Dextrinase in der Lage ist, auch die 1,6-glykosidischen Bindungen zu spalten (ROBERTS, 1974). Die entstehende Glukose wird als Endprodukt des enzymatischen Kohlenhydratabbaus von der Darmwand absorbiert.

Verschiedene Untersuchungen zur Verdaulichkeit von Stärke haben gezeigt, dass sowohl die Zubereitungsart als auch die Menge der in der Ration enthaltenen leichtverdaulichen Kohlenhydrate einen wesentlichen Einfluss darauf nehmen, ob diese im Dün- oder Dickdarm verdaut werden (Tab. 2). Während die Verdauung von relativ unlöslichen Stärkearten im

SCHRIFTTUM

Dünndarm durch technische Aufbereitung gefördert werden kann (RADICKE, 1990; POTTER et al., 1992; WILKE, 1992; KIENZLE et al., 1992; MEYER et al., 1995), führt hingegen eine Kohlenhydratüberladung und die damit verbundene Überschreitung der Enzymkapazität im Dünndarm zur vermehrten Anflutung im Dickdarm (LONGLAND und CAIRNS, 2000).

Tab 2: Übersicht zur praeilealen scheinbaren Verdaulichkeit der Stärke [%] unterschiedlicher Herkunft und Zubereitung (1,3-2,0 g Stärke/kg KM) (modifiziert nach BOTHE, 2001)

Futtermittel (Stärkegehalt, wenn >2g/kg)	sV [%]	Autoren
Hafer ganz	74,0-93,0	RADICKE, 1990; KIENZLE et al., 1992; WILKE, 1992; MEYER et al., 1993; ILLENSEER, 1994; MEYER et al., 1995
Hafer ganz (4g/kg)	79,7	MEYER et al., 1995
Quetschhafer	71,0-99,0	ARNOLD et al., 1981; KIENZLE et al., 1992; MEYER et al., 1993; MEYER et al., 1995
Quetschhafer	48	HOUSEHOLDER et al., 1977
Haferschrot	96,5-99,7	KIENZLE et al., 1992; RADICKE et al., 1992
Hafer mikronisiert	62,4	HOUSEHOLDER et al., 1977
Mais ganz	28,9-53,9	KIENZLE et al., 1992; WILKE, 1992; KLEFFKEN, 1993; MEYER et al., 1993; MEYER et al., 1995;
Bruchmais	28,9-29,9	KIENZLE et al., 1992; WILKE, 1992; MEYER et al., 1993; MEYER et al., 1995
Maisschrot	45,0-78,2	ARNOLD et al., 1981; HINKLE et al., 1983; KIENZLE et al., 1992; RADICKE et al., 1992; KLEFFKEN, 1993; MEYER et al., 1995
Mais gepufft	90,1-95,0	KLEFFKEN, 1993; MEYER et al., 1993; MEYER et al., 1995
Gerste gebrochen/gequetscht	21,4-75	KLEFFKEN, 1993; MEYER et al., 1995; HEINTZSCH, 1995
Hirse gequetscht	36	HOUSEHOLDER et al., 1977
Hirseschrot	94,3	ARNOLD et al., 1981
Hirse mikronisiert	56,4	HOUSEHOLDER et al., 1977

1.2 Fruktane

Bei den Fruktanen handelt es sich um Polysaccharide, die in verschiedenen Pflanzenarten anstelle von Stärke als Speicherkohlenhydrate in die Vakuolen vegetativer Gewebe eingelagert werden (POLLOCK, 1986; HENDRY, 1987; NINESS, 1999). Fruktane bestehen aus β -glykosidisch verbundenen Fruktoseeinheiten, an deren Kettenende, ähnlich der Saccharose, ein α -(1,2)-gebundenes Glukosemolekül vorhanden sein kann (HOEBREGS, 1997; ANDERSEN und SØRENSEN, 1999). Unter günstigen Photosynthesebedingungen und gleichzeitig geringem Energiebedarf der Pflanze werden die Fruktane aus Saccharose gebildet (POLLOCK, 1986; LONGLAND und CAIRNS, 2000; FULKERSON und DONAGHY, 2001) und zählen daher ebenso wie die Stärke zu den nicht-strukturbildenden Kohlenhydraten (VAN SOEST et al., 1991; SCHUBIGER et al., 1998).

Die chemische Formel der Fruktane wird bei ROBERFROID et al. (1998) mit GF_n , für Fruktane mit endständiger Glukose, bzw. F_m , für Fruktanen ohne Glukose, beschrieben. Hierbei bezeichnen n oder m die Anzahl der Fruktoseeinheiten im Molekül.

Neben einer selten auftretenden verzweigten Molekülform, existieren zum einen der Inulin-Typ, linear aus einem β (2,1)-Fruktosylpolymer aufgebaut, und der Levan-Typ, linear aus einem β -(2,6)-Fruktosylpolymer aufgebaut. Nach HENDRY (1987) liegen die Fruktane in einer flexiblen oder furanosiden Ringstruktur vor und sind relativ gut wasserlöslich. Sie sind zusammen mit Glukose und Saccharose in die Gruppe der wasserlöslichen Kohlenhydrate einzuordnen (LONGLAND und CAIRNS, 2000).

Einen wichtigen Vertreter in der Gruppe der Fruktane stellt das Inulin dar, das als Speicherkohlenhydrat in einer Reihe von Pflanzen vorkommt (NINESS, 1999). Die Kettenlänge dieses Fruktans reicht von 2-60 Einheiten, an deren Ende typischerweise ein Glukosemolekül in α (1,2)-glykosidischer Bindung zu finden ist (NINESS, 1999).

Fruktane wie Inulin und Oligofruktose zählen zu den Oligosacchariden, die sich aufgrund ihrer Molekülstruktur dem Abbau durch körpereigene Enzyme im Verdauungstrakt von Säugetieren entziehen und nur durch die im Dickdarm ansässige Mikroflora rasch fermentiert werden können (LEWIS, 1996; NINESS, 1999; VAN LOO et al., 1999; LONGLAND und CAIRNS, 2000; HOFFMAN et al., 2001; HUNTINGTON und POLLITT, 2002; FLICKINGER und FAHEY, 2002). MÖBELER (2004) konnte in ihren Untersuchungen jedoch beobachten, dass diese mikrobielle Fermentation nicht nur auf den Dickdarm beschränkt, sondern bereits in praecaecalen Abschnitten des Verdauungstrakts nachweisbar ist. Bisher existieren nur wenige Informationen darüber, in welchem Umfang und auf welche

Weise Fruktane im Verdauungstrakt des Pferdes abgebaut werden (LONGLAND und CAIRNS, 2000). Die Fruktangehalte in typischen Futtermitteln für Pferde sind in Tab. 3 aufgeführt.

Tab. 3: Fruktangehalte in verschiedenen Futtermitteln für Pferde in g/kg Trockensubstanz (nach BACH KNUDSEN, 1997)

Futtermittel		Fruktangehalt [g/kg TS]	
<i>Getreide</i>	Roggen ¹⁾	31	
	Weizen ¹⁾	15	
	Mais ¹⁾	6	
	Gerste ¹⁾	4	
	Hafer ¹⁾	3	
<i>Faserreiche Futtermittel</i>	Gras	1. Schnitt	60
		2. Schnitt	27
		3. Schnitt	15
	Alfafa	6	
	Trockenschnitzel	0	

¹⁾ : Getreidekörner

Die Fruktangehalte der auf europäischen Weiden vorkommenden Gräser variieren zum Teil nicht unerheblich (von 1,1 - 13,5 %TS) und sind abhängig von verschiedenen Einflussfaktoren wie Pflanzenart, Vegetationsstadium der Pflanze, Tages- und Jahreszeit, Lichtintensität, Temperatur, Düngestatus sowie Nutzungsintensität der Weide (DAHLHOFF, 2003).

Sowohl in der Humanmedizin als auch der Tierernährung fallen Inulin und Oligofruktose zum einen durch ihre Fähigkeit, die Zusammensetzung der intestinalen Mikroflora zu modifizieren (z.B. Zunahme der Bifidobakterien), zum anderen durch ihre metabolische Aktivität im Dickdarm auf (ROBERFROID et al., 1998; VAN LOO et al., 1999). Sie werden in der Literatur als Prebiotika bezeichnet, die durch selektive Stimulation der nützlichen Bakterien im Colon die Wirtsgesundheit verbessern können (DELZENNE und ROBERFROID, 1994; GIBSON und ROBERFROID, 1995). Beim Pferd jedoch stehen die Fruktane in der

Diskussion, an der Pathogenese der häufig zu Beginn der Weidesaison auftretenden, durch frisches Gras bedingten Hufrehe beteiligt zu sein (LONGLAND et al., 1999; LONGLAND und CAIRNS, 2000; HUNTINGTON und POLLITT, 2002; POLLITT und VAN EPS, 2002).

1.3 Cellulose und Pektine

Im Gegensatz zu Stärke und den Fruktanen werden β -Glykane wie Cellulose, Hemicellulosen und Pektinstoffe bei höheren Pflanzen in die nicht-plasmatischen Räume abgegeben und daher als strukturbildende Kohlenhydrate bezeichnet (VAN SOEST et al., 1991; SCHUBIGER et al., 1998).

Cellulose ist der Hauptbestandteil der Zellwände höherer Pflanzen und damit das wichtigste Zellwand-Polysaccharid. Es besteht aus bis zu 15000 Glukosemolekülen, die über β -1,4-glykosidische Bindungen zu langgestreckten, unverzweigten Kettenmolekülen miteinander verbunden sind (SÜDEKUM, 1993). Die parallele Anordnung der Cellulose-Ketten und deren Vernetzung über Wasserstoffbrückenbindungen verleiht den Cellulosefasern ihre ungewöhnliche Zugfestigkeit.

Im Gegensatz dazu sind Pektine chemisch heterogene Kohlenhydrate, deren Hauptbestandteil die Galakturonsäure darstellt (SÜDEKUM, 1993). Die einzelnen Galakturonsäure-Bausteine sind über α -1,4-glykosidische Bindungen verknüpft und bilden dadurch eine kettenartige Struktur. Die Carboxylgruppen der Galakturonsäure sind entweder mit Methanol verestert, frei oder können Kationen binden. Handelt es sich dabei um mehrfach geladene Kationen wie Magnesium und Kalzium, treten diese mit mehreren Carboxylgruppen in Wechselwirkung und es kommt zu einer Vernetzung der kettenförmigen Struktur. In regelmäßigen Abständen wird die kettenartige Struktur des Pektins von Zuckermolekülen wie L-Rhamnose, L-Arabinose, D-Xylose und D-Galaktose unterbrochen (JEROCH et al., 1993). Durch stark hydrophile Gruppen, die zur Ausbildung von Hydrathüllen führen können, sind Pektine stark quellbar (KARLSON et al., 1994).

Die Strukturpolysaccharide gehören zu den Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP), die aus ernährungsphysiologischer Sicht die energieliefernde Fraktion der Fasern darstellen. Je nach Zusammensetzung der NSP-Fraktion und der in ihr zusammengefaßten Kohlenhydrate findet ein vermehrter Abbau im Dün- oder Dickdarm statt, wo sie jeweils durch mikrobiell gebildete Enzyme fermentiert werden (HOFFMAN et al., 2001; MOORE-COLYER et al., 2003). Die NSP werden von der Darmflora zu flüchtigen Fettsäuren abgebaut, die wiederum

Energie bringend zu ATP metabolisiert werden. Hierbei ist zu beachten, dass der Energiegewinn, der durch Fermentation aus flüchtigen Fettsäuren entsteht, weniger effizient ist, als der Energiegewinn aus Glukose, die durch Hydrolyse im Dünndarm entsteht (MOORE-COLYER et al., 2003). Im Gegensatz zur NSP-Fraktion, die in Heu enthalten ist, können die in beispielsweise pektinreichen Futtermitteln enthaltenen NSP rascher fermentiert werden und leisten dadurch einen größeren Beitrag zur Energiebilanz des Tieres (GLINSKY et al., 1976; MOORE-COLYER et al., 2003).

Während anhand der Verteilung der Cellulyten im gesamten Verdauungskanal der Dickdarm als Hauptort des Zelluloseabbaus zu nennen ist, stellten MOORE-COLYER et al. (2003) fest, dass Pektine aufgrund ihrer Zusammensetzung zu etwa 20% bereits praecaecal fermentiert werden.

2. Mikroflora des Verdauungstrakts des Pferdes

Der Verdauungstrakt von Säugetieren wird in den ersten Lebensmonaten durch Mikroorganismen besiedelt (SMITH, 1965). Die Zusammensetzung dieser Flora wird zum einen autogen durch die Mikroorganismen selbst (beispielweise Nährstoffkonkurrenz, Produktion von Bakteriocinen und Stoffwechselmetaboliten), zum anderen allogon durch den Wirt und die von außen einwirkenden Faktoren (Nährstoffangebot, Darmmotilität, pH-Wert, u.a.) beeinflusst (SAVAGE, 1982).

2.1 Magen

Bereits ELLENBERGER und HOFMEISTER (1886) sowie HOPFFE (1913) wiesen mikrobielle Stoffwechselforgänge im Magen des Pferdes nach. In dem mit cutaner Schleimhaut ausgekleideten, drüsenlosen Anfangsteil des Magens herrscht mit einem pH-Wert von 5,9 ein Milieu, das den mikrobiellen Abbau von fermentierbaren Kohlenhydraten ermöglicht (MEYER und COENEN, 2002). Die Angaben zu Gesamtkeimzahlen im Magen liegen bei verschiedenen Autoren zwischen 10^8 und 10^9 Bakterien pro Gramm Mageninhalt (MEYER, 1995; FRAPE, 1998; PILLNER, 1999; DE FOMBELLE et al., 2003). Nachgewiesen wurden säuretolerante Bakterien, die einen Teil der löslichen Kohlenhydrate

zu Laktat abbauen (ALEXANDER und DAVIES, 1963; SMITH, 1965; ARGENZIO et al., 1974; COENEN, 1992; MEYER et al., 1995; DE FOMBELLE et al., 2003). Neben *Lactobacillus bifidus* als einem der wichtigsten Milchsäurebildner, isolierten ALEXANDER und DAVIES (1963) α - und β -hämolyisierende Streptokokken sowie verschiedene Streptokokken der Lancefield-Gruppen B, C, D, G und N. Aus Gruppe D konnten unter anderem *Streptococcus bovis* und *Streptococcus equinus*, aus Gruppe N *Streptococcus lactis* identifiziert werden.

Während das Laktat nach FRAPE (1998) entweder im Dünndarm resorbiert oder im Dickdarm von Mikroorganismen weiter zu Propionat verstoffwechselt wird, diskutieren DE FOMBELLE et al. (2003) die Fermentation des Laktats im Magen zu flüchtigen Fettsäuren.

Im distalen Abschnitt des Magens sinken mit einsetzender HCl- und Magensaftsekretion die pH-Werte bei gleichzeitiger Abnahme der mikrobiellen Aktivität (KERN et al., 1974; MEYER und COENEN, 2002). KERN et al. (1974) wiesen hier log 2-2,5 celluloseabbauende Bakterien /g Mageninhalt und eine 20x größere Anaerobierpopulation im Fundus als in der Pylorusregion nach. KAMPHUES et al. (1992) ermittelten anhand des Lipopolysaccharid-Gehaltes (LPS), der als Indikator für die Konzentration gram-negativer Bakterien genutzt wird, in der Antrum-Region höhere Konzentrationen (ca. 10 μ g/g Chymusfrischmasse) als zum Magenausgang hin (0,7 μ g/g Chymusfrischmasse).

2.1 Dünndarm

Die Anzahl der Mikroorganismen im Dünndarm nimmt vom Duodenum zum Ileum hin stark zu (ALEXANDER und DAVIES, 1963). SMITH (1965) wies für *Escherichia coli* sowie Streptokokken in kaudaler Richtung vom Duodenum bis zum Ileum ansteigende Werte von log 3,0-5,4 bzw. log 5,0-6,1 nach, während die Anzüchtung von *Bacteroides*-Keimen, Clostridien und Hefen aus Dünndarmmaterial nicht möglich war.

Während KERN et al. (1974) mittels Direktausstrich im Ileum von mit Heu gefütterten Pferden Gesamtkeimzahlen von log 9,3 nachweisen konnte, führten MACKIE und WILKINS (1988) bakteriologische Untersuchungen am Dünndarm von mit Gras gefütterten Schlachtpferden durch. Auszählungen der Gesamtkeimzahlen im Direktausstrich ergaben auch hier steigende Keimzahlen in kaudaler Richtung. Während im Duodenuminhalt log 6,6 Keime anzüchtbar waren, fanden die Autoren im Jejunum log 8,1 und im Ileum log 8,2 Bakterien pro Gramm Probe. Weiterhin ließen sich unter anaeroben Bedingungen für die

entsprechenden Dünndarmabschnitte in den Proben Keimzahlen von log 6,5, log 7,5 und log 7,6 nachweisen, wobei die Anzahl der im Ileum anaerob anzüchtbaren Keime jenen von KERN et al. (1974) entsprach. Während 95% aller Bakterien im Duodenum als Laktobazillen anzusprechen sind, nimmt ihr Anteil an der Gesamtkeimzahl im Verlauf des Dünndarms mit 17,6% im Jejunum und nur noch 5,2% im Ileum stetig ab (MACKIE UND WILKINS, 1988). Die absoluten Zahlen in den genannten Abschnitten bleiben dabei relativ stabil (SMITH, 1965; MACKIE und WILKINS, 1988).

Anhand ihrer Untersuchungen zum Keimspektrum des Jejunums unterteilten KOLLARCZIK et al. (1992) die nachgewiesenen Mikroorganismen in eine Haupt-, Begleit- und Restflora. Während sich die Hauptflora aus Laktobakterien, obligat anaerobe gram-positive und gram-negative Keime zusammensetzt, umfasst die Begleitflora die Gruppen der Enterobacteriaceae und Enterokokken. Zur Restflora zählen die Autoren Clostridien, Proteus, Staphylokokken, Pseudomonas, Hefen der Gattung Candida sowie weitere apathogene und fakultativ pathogene Bakterien. In den Proben von fistulierten Ponys verglichen die Autoren die Keimzahlen in nüchternem Zustand und postprandial nach Heufütterung (Tab. 4).

In Untersuchungen zur Zusammensetzung der Darmflora wies KROPP (1991) im Dünndarm regelmäßig α - und β -hämolyisierende Streptokokken, Laktobacillus spp., Escherichia coli, Micrococcus spp. sowie coryneforme Keime, Staphylokokken und Actinobacillus spp. mit steigenden Keimgehalten vom Jejunum zum Ileum nach.

Werden im Dünndarm nach Aufnahme von Heu anhand des Lipopolysaccharid-Gehaltes ähnlich niedrige Konzentrationen gram-negativer Bakterien gemessen wie in der Pylorusregion des Magens (ca. 1 μ g LPS/g Chymusfrischmasse), so steigen die Gehalte nach kraftfutterreicher Ration um den Faktor 10 an (KAMPHUES et al., 1992). Hierbei handelt es sich jedoch wahrscheinlich nicht um eine selektive Förderung, sondern um eine absolute Zunahme der Gesamtkeimzahl. Im Vergleich der einzelnen Dünndarmabschnitte zeigte sich fütterungsunabhängig ein Anstieg der Keimzahlen vom Jejunum zum Ileum.

Zusammenfassend lässt sich damit über das Keimspektrum im Dünndarm des Pferdes sagen, dass die Zahl der Anaerobier unter den ermittelten Konzentrationen im Magen liegt. Während die Keimzahlen von Laktobazillen und Laktatverwertern vom Magen zum Dünndarm hin abnehmen, steigt die Konzentration der Streptokokken (DE FOMBELLE et al., 2003).

Tab. 4: Durchschnittliche Keimzahlen im Jejunum von Pferden [log/g Chymus] (zitiert nach KOLLARCZIK et al., 1992)

Keimart	Nüchtern	nach Heufütterung
Hauptflora		
Laktobakterien	7,3	7,8
anaerobe gram-positive Keime	8,0	8,5
anaerobe gram-negative Keime	8,0	8,5
Begleitflora		
Enterobacteriaceae	7,8	8,3
Enterokokken	5,3	6,7
Restflora	<3	<3

2.3 Dickdarm

Zu den wichtigsten Aufgaben des Dickdarms zählt neben der Rückresorption von Elektrolyten und Wasser die mikrobielle Fermentation der bis einschließlich Ileum noch nicht abgebauten löslichen und der unlöslichen Futterbestandteile, die unverdaut aus dem Dünndarm in den Dickdarm gelangen (HINTZ et al., 1971; ARGENZIO et al., 1974).

Die Dickdarmflora des Pferdes setzt sich aus Bakterien, Protozoen und Pilzen zusammen (BONHOMME-FLORENTIN, 1969; KERN et al., 1973; MOORE und DEHORITY, 1988), wobei individuelle Unterschiede zu beobachten sind (BONHOMME-FLORENTIN, 1988).

Die Bakterien des Dickdarms lassen sich in verschiedene funktionelle Gruppen einteilen. Die glykolytischen, hemicellolytischen und cellolytischen Bakterien sind maßgeblich am Abbau der Kohlenhydrate beteiligt sind (MACKIE und WILKINS, 1988).

Neben BARUC et al. (1983), die nach Rauhfuttergabe Gesamtkeimzahlen von log 8,64-8,7 Keimen/ml Caecuminhalt nachweisen konnten, lagen die Zahlen von MACZULAK et al. (1985) bei log 8,42-8,62 Keimen/ml Caecuminhalt. Ähnliche Zahlen wiesen auch KERN et al. (1974) mit log 8,69 Keimen /g Caecuminhalt bei mit Heu gefütterten Pferden nach. KROPP (1991) ermittelte log 7-7,3 pro Gramm Chymus im Dickdarm von Ponies, wobei insbesondere Streptokokken (log 6-6,9/g) und Laktobazillen (log 5,3-6/g) auffielen.

MACKIE und WILKINS (1988) wiesen Keimzahlen von log 9,4 im Caecum und log 8,8 im Colon nach, von denen jedoch ein Hauptteil als proteolytische Bakterien identifiziert wurde (log 9,2 im Caecum bzw. log 8,5 im Colon).

Die Zahl der unter anaeroben Bedingungen anzüchtbaren Keime ist im Caecum mit Werten zwischen log 8,4 und log 9,7 pro Gramm Darminhalt im Vergleich zu anderen Darmabschnitten am niedrigsten (MC CREERY et al., 1971; KERN et al., 1973, 1974; BARUC et al., 1983; MACZULAK et al., 1985; GOODSON et al., 1988; MACKIE und WILKINS, 1988; DE FOMBELLE et al., 2003). Nach KERN et al. (1973) sind 40-45% der Mikroorganismen im Caecum obligat anaerob. Dominierende Keime sind u. a. Enterobakteriazeen, Bazillen und Clostridien neben Laktobazillen und Streptokokken (SMITH, 1965; LINERODE und GOODE, 1970; GARNER et al., 1978; SPROUSE und GARNER, 1982). Die Enterobacteriaceae besaßen mit log 10,7 die höchsten Keimzahlen, gefolgt von anaeroben Bazillen mit log 9,8 Streptokokken mit log 9,6 Bazillen mit log 8,6 sowie Laktobazillen mit einem Wert von log 5,3 und Clostridien mit log 4,7 (SPROUSE und GARNER, 1982). Hierbei sind die Konzentrationen von Laktobazillen, Streptokokken und Laktatverwertern im Caecum am geringsten (DE FOMBELLE et al., 2003).

Die Angaben über Keimzahlen cellulytischer Bakterien schwanken bei den verschiedenen Autoren zwischen log 2,9 und log 7,8 pro Gramm (DAVIES, 1964; KERN et al., 1973; KERN et al., 1974; GOODSEN et al., 1988; MACKIE und WILKINS, 1988; JULLIAND et al., 1993). Und obwohl die cellulytische Aktivität im Caecum sehr hoch ist (KERN et al., 1973) (Tab. 5), machen die cellulytischen Bakterien prozentual nicht mehr als 1% der Caecalflora aus (KERN et al., 1974; MACKIE und WILKINS, 1988; JULLIAND et al., 1999).

Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus flavefaciens und Ruminococcus albus, die drei wichtigsten cellulytischen Bakterien im Pansen des Wiederkäuers konnten auch beim Pferd identifiziert werden (DAVIES, 1964; BONHOMME, 1988). Ruminococcus flavefaciens, der als vorherrschende Keim angesprochen wird, zeigt jedoch genetisch einige Unterschiede zu dem aus dem Pansen isolierten gleichnamigen Keim (JULLIAND et al., 1999).

Tab. 5: Anzahl der cellulytischen Bakterien im Verdauungstrakt des Pferdes nach Heufütterung (nach KERN et al., 1974)

Darmabschnitt	log / g Chymus
Magen, Fundusregion	2
Magen, Pylorusregion	2,48
Dünndarm	0,85
Caecum	7,63
Colon	6,85

Im Vergleich zu den anderen Abschnitten des Verdauungskanals läßt sich im Caecum die höchste Konzentration gram-negativer Bakterien (11 µg LPS/g Chymusfrischmasse nach Heu bzw. 104 µg LPS/g Chymusfrischmasse nach Kraftfutter) nachweisen (KAMPHUES et al., 1992). Vom Caecum zum Colon nehmen die LPS-Gehalte deutlich ab. Auch KERN et al. (1974) bestätigten, dass die gramnegativen Bakterien in diesem Abschnitt des Verdauungskanals beim gesunden Pferd gegenüber den Grampositiven überwiegen.

Über die Protozoen und Pilze des Dickdarms ist im Gegensatz zu den Bakterien recht wenig bekannt. Obwohl die Protozoen mit Gesamtkeimzahlen zwischen 10^3 /ml und 10^4 /ml bei TISSERAND (1992) angegeben werden, tragen sie aufgrund ihrer Größe mit einer den Bakterien vergleichbar großen Gesamtmasse zur Dickdarmflora bei.

Als typische Dickdarmprotozoen sind Cycloposthium spp. und Blepharocorys spp. aus Caecum und Colon isoliert worden (BONHOMME-FLORENTIN, 1969; KERN et al., 1973; JULLIAND, 1992). Sie sind in der Lage, Zellwand-Polysaccharide wie Cellulose, Hemicellulosen und Pektin abzubauen. Während MOORE und DEHORITY (1993) nach Entfernen der Protozoen aus dem Dickdarm keinerlei Einfluss auf die Celluloseverdauung feststellen konnten, wird bei anderen Autoren der Celluloseabbau durch Protozoen beschrieben (BONHOMME-FLORENTIN, 1988; FONTY und GOUET, 1989). Vermutlich übernehmen in Abwesenheit von Protozoen Bakterien und Pilze deren Aufgaben. Nach GEYER und DREPPER (1973) liegt die ernährungsphysiologische Bedeutung der Protozoen eher in ihrer hohen Beweglichkeit und der damit verbundenen Vermischung des Nahrungsbreis als im Kohlenhydratabbau.

Die Pilze des Dickdarms, die in der Lage sind, strukturbildende Polysaccharide abzubauen, gehören zu den strikt anaeroben Phykomyceten (ORPIN, 1981) und spielen eine untergeordnete Rolle.

2.4 Faeces

Über die Gesamtkeimzahlen in Kotproben von klinisch gesunden Pferden existieren in der Literatur unterschiedliche Angaben. Während SINHA (1972) zwischen log 6-10/g Kot ermittelte, lagen die Keimzahlen bei IKE et al. (1983) durchschnittlich bei log 10,08/ml Faeces. Die Zahl der anaerob anzüchtbaren Bakterien lag zwischen log 6 und log 10 (SINHA, 1972; KERN et al., 1974). Die Anzahl der aerob wachsenden Keime schwankt bei KROPP (1991) zwischen log 6,0 und log 7,1, während FEY (1994) Werte zwischen log 7,2 und 7,9 angibt.

Bakteriologische Untersuchungen der Faeces zur Nachweishäufigkeit unterschiedlicher Keimgruppen wiesen coliforme Bakterien, Fäkalstreptokokken, Laktobazillen, Bakteroides, Hefen, Schimmelpilze und Clostridien als physiologische Kotflora nach (SMITH und CRABB, 1961; BECKER, 1964; NURMIO et al., 1973; WIERUP und DIPIETRO, 1981; KROPP, 1991; FEY, 1994), wobei auch hier die Angaben über die Gehalte der einzelnen Keime variieren (Tab. 6).

Tab. 6: Gesamtkeimzahlen der verschiedenen Darmabschnitte beim Pferd [log/g Chymus bzw. Faeces]

Magen	Dünndarm	Caecum	Colon	Faeces	Autor
				6-10	SINHA (1972)
		9,78	9,48		KERN et al. (1974)
		8,7			BARUC et al. (1983)
				10,08	IKE et al. (1983)
		8,3-8,6			MACZULAK et al. (1985)
	6,48 - 7,6	9,4	8,78		MACKIE und WILKINS (1988)
	6,4 - 6,8	7,08-7,15	7,08-7,30	6	KROPP (1991)
	8,15 - 9,51				KOLLARCZIK et al. (1992)
8,3	6,48 - 7,6	6,78-9,4	7-8,78	7-8,78	MEYER et al. (1995)
8 - 9	8 - 9	8,7-9,7	8,7-9,7		FRAPE (1998)
9 - 9,1	7,9 - 8,8	7,6 - 7,7	8,1 - 9,1	8,3-8,6	DE FOMBELLE et al. (2003)

3. Kohlenhydratbedingte Einflüsse auf die Darmflora

In der Pferdefütterung, die evolutionär durch die Verwertung faserreichen Materials geprägt war, haben im Laufe der Zeit stärkereichen Futtermitteln zunehmend an Bedeutung gewonnen. In der Literatur existieren zahlreiche Untersuchungen zu Veränderungen des Keimspektrums nach Gabe stärkereicher Futtermittel im Vergleich zu raufutterreichen Rationen, die belegen, dass die Zusammensetzung der Mikroflora des Verdauungstrakts im Wesentlichen durch das zur Verfügung stehende Substrat beeinflusst wird. Hierbei können die ersten Veränderungen in der Zusammensetzung des Keimspektrums bereits in den ersten fünf Stunden postprandial beobachtet werden (DROGOUL et al., 2001).

KOLLARCZIK et al. (1992) untersuchten die Einflüsse verschiedener Futterzusammensetzungen auf das Keimspektrum jejunum-fistulierter Pferde. Im Vergleich zu reiner Heufütterung, bei der ein Anstieg aller Vertreter sowohl der Haupt- als auch der Begleitflora (Tab. 4) beobachtet werden konnte, war nach Gerstefütterung nur bei den Laktobakterien und obligat anaeroben grampositiven Keimen eine Zunahme der durchschnittlichen Keimzahlen zu verzeichnen, während die obligat anaeroben gramnegativen Keime und die Vertreter der Begleitflora abnahmen.

Die Konzentration der Cellulyten ist bei faserreicher Ration in allen Abschnitten des Verdauungstraktes höher als nach Gabe stärkereicher Futtermittel (Tab. 7), bei denen mit sinkender Cellulytenkonzentration auch die Rate des Celluloseabbaus sinkt (GOODSON et al., 1988; DROGOUL et al., 2001; JULLIAND et al., 2001; MEDINA et al., 2002; DE FOMBELLE et al., 1999b und 2003b). Bei obligaten und fakultativen Anaerobiern dagegen sind bei Heufütterung im Vergleich zu stärkereichen Rationen geringere Keimzahlen zu verzeichnen (KERN et al., 1973; GOODSON et al., 1988; JULLIAND et al., 2001; MEDINA et al., 2002; DE FOMBELLE et al., 2001 und 2003b). Lediglich für das Colon beschreiben DE FOMBELLE et al. (2003b) rationsunabhängige anaerobe Keimzahlen.

Die Konzentrationen von Laktobazillen, Streptokokken und Laktat-Verwertern wiederum ist grundsätzlich praecaecal höher; die höchsten Keimzahlen für Laktobazillen sind im Magen nachweisbar, während die Streptokokken gleichmäßig über den Verdauungstrakt verteilt zu sein scheinen (DE FOMBELLE et al., 2003b). Für Laktobazillen und Streptokokken beschreiben DE FOMBELLE et al. (2003b) nach Gabe stärkereicher Rationen praecaecale Effekte. Hierbei konnten für Laktobazillen die höchsten Werte in Magen und Ileum, für Streptokokken nur im Ileum beobachtet werden. Gleichzeitig werden erhöhte Konzentrationen für Caecum und Colon beschrieben (DE FOMBELLE et al., 2001 und

2003b; JULLIAND et al., 2001; MEDINA et al., 2002; BAILEY et al., 2002), wobei DE FOMBELLE et al. (2001) die Veränderungen hauptsächlich im Colon beobachteten. Auch für laktatverwertende Keime sind unterschiedliche Angaben in der Literatur zu finden. In einigen Studien werden nach Fütterung von Getreide ansteigende Keimzahlen beobachtet werden (GOODSON et al., 1988; MEDINA et al., 2002). DE FOMBELLE et al. (2003b) beschreiben lediglich einen praecaecalen Anstieg der Konzentrationen, während die Konzentrationen in Caecum und Colon im Vergleich zu faserreicher Fütterung als niedriger beschrieben werden.

Tab. 7: Keimzahlen [log/ml Ingesta] in verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes des Pferdes in Abhängigkeit der Fütterung (DE FOMBELLE et al., 2003b)

	Cellulyten		Laktobazillen		Streptokokken		Laktatverwertende Keime	
	R	G	R	G	R	G	R	G
Magen	1,4	1,0	7,8	8,4	7,3	7,5	6,8	7,6
Jejunum	1,8	0,9	6,5	6,8	8,1	7,5	6,7	6,5
Ileum	1,7	1,0	6,4	7,2	7,4	8,0	6,5	7,2
Caecum	6,0	5,0	6,2	6,1	6,2	6,3	6,1	5,6
RV Colon	6,0	5,5	6,5	7,0	7,1	7,6	5,8	6,0
LD Colon	5,6	4,7	7,4	7,0	7,4	6,9	6,5	5,9
Rektum	5,2	5,0	7,5	7,4	7,4	7,8	6,3	6,2

R: raufutterbetonte Ration; G: getreidebetonte Ration

RV: Rechts Ventral; LD: Links Dorsal

Die Erhöhung des Stärkeanteils der Ration hat im Vergleich zu faserreicher Fütterung zunächst eine Zunahme der Gesamtkeimzahlen zur Folge (KERN et al., 1973; GARNER et al., 1978; JULLIAND, 1992; DE FOMBELLE et al., 1999b; MEDINA et al., 2001), die mit einer gesteigerten Produktion von FFS und einem Absinken des pH-Wertes vergesellschaftet ist (KERN et al., 1973; ARGENZIO et al., 1974; GARNER et al., 1975; WILLARD et al., 1977; RADICKE et al., 1991; MEDINA et al., 2001; DE FOMBELLE et al., 1999b und 2003b). Im Gegensatz zum Jejunum korreliert der pH-Wert-Abfall im Caecum nicht mit der Laktatkonzentration, sondern mit der Konzentration an FFS (LANDES, 1992). Durch die Azidierung des Darminhaltes kommt es zur Vermehrung von säuretoleranten Laktatbildner wie *Streptococcus bovis*, *Lactobacillus* ssp. und *Bacteroides* ssp. (KERN et al., 1973;

GARNER et al., 1978; MOORE et al., 1979; ROWE et al., 1994 ; DE FOMBELLE et al., 1999; MUNGALL et al., 2001 ; MEDINA et al., 2001 und 2002). Die, durch das vermehrt gebildeten Laktat (GLINSKY et al., 1976; WILLARD et al., 1977; ROWE et al., 1994; MOORE-COLYER et al., 2000; DE FOMBELLE et al., 2001; JULLIAND et al., 2001; MEDINA et al., 2002), verstärkte Azidose bedingt das Absterben von weniger säuretoleranten Bakterienpopulationen wie beispielsweise Keime der Familie der Enterobacteriaceen (GARNER et al., 1978; MOORE et al., 1979). Das Überangebot an sauren Metaboliten des mikrobiellen Stoffwechsels führt zum Verlust der gramnegativen und zur Dominanz der grampositiven Bakterien (HUNTINGTON und POLLIT, 2002). Aus der Literatur ist zudem bekannt, dass beim Absterben gramnegativer Bakterien vasoaktive Endotoxine freigesetzt werden (MOORE et al., 1979; KAMPHUES et al., 1992), die in der Pathogenese der Hufrehe des Pferdes eine wichtige Rolle zu spielen scheinen (GARNER et al., 1978; MUNGALL et al., 2001; POLLITT und VAN EPS, 2002).

Ein Teil der postileal gebildeten flüchtigen Fettsäuren wird mit dem Kot ausgeschieden (DROCHNER und MEYER, 1991). Rationsbedingte Veränderungen im caecalen Milieu lassen sich anhand der Konzentration und des Musters der flüchtigen Fettsäuren und anhand des pH-Wertes im Kotwasser nachvollziehen (GÜNTHER, 1984). Geringe praecaecale Stärkeverdaulichkeit spiegelte sich in steigender Fettsäuren-Konzentrationen, einem sich verengendem Azetat:Propionat-Verhältnis und sinkendem pH-Wert wider. Auch RADICKE (1990) ermittelte bei der Fütterung stärkehaltiger Rationen einen Zusammenhang zwischen dem pH-Wert im Caecum und im Kot. Bei erhöhter Getreidegabe beobachteten ZEYNER et al. (1992) einen Abfall des pH-Wertes im Kotwasser, der sich mit Ergebnissen im Caecum deckt (WILLARD et al., 1977; MEYER et al., 1982; AHRENS, 1986; RADICKE, 1990). Die Gesamtkonzentration der Fettsäuren sowie das Verhältnis von Azetat und Propionat im Kot verhalten sich bei Haferzulage entsprechend den Ergebnissen im Caecum (ZEYNER et al., 1992).

Über den mikrobiellen Abbau der Fruktane und ihre Beeinflussung der Mikroflora existieren bisher sehr wenige Daten. In der Literatur werden neben den Bifidobakterienstämmen auch *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* und *epidermis*, *Streptococcus bovis*, *Enterococcus faecialis*, *Enterococcus faecium*, *Bacteroides vulgatus*, *ovatus* und *fragilis*, *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Lactobacillus acidophilus*, *Clostridium* ssp., *Selenomonas ruminantium* und *Treponema saccharophilum* als Keime angesprochen, die in der Lage sind, Fruktane abzubauen (POLLITT und VAN EPS, 2002). Insbesondere *Streptococcus bovis*

kommt möglicherweise eine Schlüsselrolle in der Entstehung einer fruktanbedingten Hufrehe zu, die experimentell nach einmaliger Gabe von 750 g chemisch reiner Fruktane je 100 kg KM bereits beim Pferd ausgelöst werden konnte (POLLITT und VAN EPS, 2002).

4. in vitro-Techniken zur Bestimmung der Verdaulichkeit von Futtermitteln

Zur Bestimmung der Verdaulichkeit von Futtermitteln sind im Laufe der Zeit unterschiedliche Methoden entwickelt worden. Und obwohl die in-vivo-Systeme zu den genauesten Techniken zur Bestimmung der Verdaulichkeit von Futtermitteln zählen, haben sich zunehmend die arbeits-, kosten- und zeitsparenderen in-situ- und in-vitro-Systeme etabliert.

Eine Übertragbarkeit der ursprünglich für den Wiederkäuer entwickelten in-vitro-Techniken auf das Pferd wird in der Literatur bestätigt (APPELGATE und HERSHBERGER, 1969; TREVER-JONES et al.; 1991; LOWMAN, 1998).

Die Fermentationskinetik eines Futtermittels ist abhängig von der Zusammensetzung von löslichen, unlöslichen, aber abbaubaren und nicht-abbaubaren Bestandteilen. Mittels mathematischer Auswertungen kann aus den während der Inkubation gesammelten Daten für jedes Futtermittel ein Fermentationsprofil erstellt werden (ØRSKOV und MC DONALD, 1979; GROOT et al., 1996).

4.1 in-situ

Die von QUIN et al. (1938) entwickelte Nylonbeutel-Technik stellt eine Kombination aus in-vivo und in-vitro dar. Bei dieser Technik werden die zu untersuchenden Futtermittel in Beuteln in den Verdauungstrakt fistulierter Tiere eingebracht, um sowohl die Abbaurate als auch die Menge des abgebauten Substrates zu unterschiedlichen Zeitpunkten bestimmen zu können (QUIN et al., 1938; CHENOST et al., 1970; MEHREZ und ØRSKOV, 1977). DEWHURST et al. (1995) verglichen die Beuteltechnik mit der in vitro-Methode von TILLEY und TERRY (1963) und stellten fest, dass die in situ ermittelten Werte über den von TILLEY und TERRY (1963) ermittelten Daten lagen. Limitierend für den Einsatz dieser Methode ist neben der begrenzten Probenzahl pro Inkubation, die Notwendigkeit auf

fistulierte Tiere zurückgreifen zu müssen, deren Haltung sehr arbeits- und kostenintensiv und nicht in jedem Labor verfügbar sind.

4.2 in-vitro

4.2.1 Mikrobielle Inkubation

Die Technik von TILLEY und TERRY (1963) ist eine in der Beurteilung von Wiederkäuerfutter etablierte Methode. Die Fermentation findet in einem Zwei-Stufen-System statt, bei dem das Futtermittel zunächst für 48 Stunden mit Pansensaft inkubiert wird. Daraufhin folgt eine ebenfalls 48-stündige Inkubation mit dem Enzym Pepsin. Modifiziert wurde diese Technik von GOERING und VAN SOEST (1970), indem der Rückstand nach 48-stündiger Inkubation mit neutraler Detergenzienlösung behandelt wurde, um eine Einschätzung der wahren Trockensubstanz-Verdaulichkeit zu erhalten. Als nachteilig ist bei dieser Methode anzusprechen, dass es sich um eine so genannte Endpunkt-Technik handelt, mit der nur das Ergebnis, nicht aber die Kinetik des Prozesses untersucht werden kann (THEODOROU et al., 1994).

Eine simple in vitro-Methode zur Messung und Beurteilung des Faserabbaus bietet der Daisy^{II}-Inkubator (Ankom[®] Tech., Fairport, NY, USA). Diese Apparatur ermöglicht die gleichzeitige Inkubation einer großen Zahl von Proben, wobei die erzielten Ergebnisse mit denen aus der Methode von TILLEY und TERRY (1963) und der in-situ-Technik vergleichbar sind (ROBINSON et al., 1999; MABJEESH et al., 2000; WILMAN und ADESOGAN, 2000).

Da die Mikroorganismen des Verdauungskanals mit den Pflanzenbestandteilen und deren Zelltrümmern eng verbunden sind, werden diese nachweislich auch mit dem Kot ausgeschieden (VAN SOEST, 1982; THEODOROU et al., 1993). Aufgrund der anaeroben Verhältnisse in der Kotmasse kann die Mikroflora nach Exkretion noch mehrere Stunden außerhalb des Organismus überleben (HOLTER, 1991). Faeces als in vitro-Inokulum haben gegenüber der bis dahin verwendeten Digesta mehrere Vorteile. Faeces sind kostengünstig, ein beinahe jederzeit verfügbares Reservoir an Mikroorganismen, für das man keine fistulierten Tiere benötigt. Sowohl beim Wiederkäuer (EL-SHAER et al., 1987; HARRIS et al., 1995;

JONES und BARNS, 1996; MACHEBOEUF und JESTIN, 1997; MAURICIO et al., 1997; CONE et al., 2002) als auch beim Pferd (LOWMAN, 1998; MACHEBOEUF et al., 1998; LOWMAN et al., 1999) haben verschiedene Autoren gezeigt, dass Faeces anstelle von Ingesta als Inokulum für in vitro-Techniken in Frage kommen.

4.2.2 Enzymatische Inkubation

Bei Techniken, die mit Enzymen anstelle von Mikroorganismen arbeiten (JOHNS und HAYWARD, 1975; DOWMAN und COLLINS, 1982; DE BOEVER et al., 1986), handelt es sich ebenfalls um Endpunkt-Techniken. Eingesetzt werden von Pilzen gewonnene, kommerziell erhältliche Cellulasen und Hemicellulasen (LOWMAN, 1998).

Der Vorteil gegenüber den mit Mikroorganismen arbeitenden Methoden ist die Tatsache, dass hierbei keine fistulierten Spendertiere benötigt werden (THEODOROU et al., 1993).

4.3 Gas-Messtechniken

Basierend auf der Tatsache, dass bei der mikrobiellen Fermentation von Futtermitteln Gase entstehen, begann die Entwicklung der Gas-Messtechniken in den vierziger Jahren des letzten Jahrhunderts (QUIN, 1943) und fand nach der Arbeit von MENKE et al. (1979) Aufnahme in die Reihe der Techniken zur Untersuchung von Futtermitteln.

Während andere in vitro-Methoden den Abbau von Substrat nachweisen, konzentrieren sich die Gas-Messtechniken auf die Bildung von Gas während der Fermentation. Unter Verwendung nur geringer Probenmengen ermöglicht die Gasmessung Einblicke in die Fermentationskinetik der zu untersuchenden Futtermittel (BLÜMMEL und ØRSKOV, 1993).

Im Folgenden werden die auf unterschiedlichen Techniken beruhenden Methoden zur Untersuchung von Futtermitteln anhand mikrobieller Fermentationsvorgänge kurz vorgestellt:

- Manometrische Methode

Bei dieser Methode wird das Probenmaterial mit künstlichem Speichel (MC DOUGALL, 1949) und Pansensaft für einen definierten Zeitraum inkubiert und die Gasbildung gemessen (MC BEE, 1953; EL-SHAZLY und HUNGATE, 1965; CZERKAWSKI und BECKENRIDGE, 1969 u. 1970; WAGHORN und STAFFORD, 1993). Da allerdings die Bearbeitung großer Probenmengen mittels dieser Methode nicht ohne weiteres möglich ist, findet dieses System keine routinemäßige Anwendung.

- Hohenheimer Gastest

MENKE et al. (1979) entwickelten ein in vitro-System, in dem 200 mg Futtertrockensubstanz über 24 Stunden inkubiert werden. Das in diesem Zeitraum gebildete Gasvolumen wird in Verbindung mit anderen chemischen Untersuchungen zur Bewertung der metabolisierbaren Energie eines Futtermittels herangezogen (MENKE und STEINGASS, 1988). Die gewählte Probengröße ermöglicht eine einfache Handhabung, die die Auswertung relativ vieler Proben zulässt. Im Laufe der Zeit fanden einige Modifikationen der Methode nach MENKE et al. (1979) statt. Während BLÜMMEL und ØRSKOV (1993) zur Minimierung der Temperaturverluste die Inkubation vom Inkubator ins Wasserbad verlegten, vergrößerten andere Autoren das Probengewicht von 200 mg auf 500 mg bei gleichzeitiger Verdopplung der Puffermenge (BLÜMMEL et al., 1997; MAKKAR et al., 1995).

- Flüssigkeits-Verdrängungssystem

Im geschlossenen System von BEUVINK et al. (1992) wird das zu untersuchende Futtermittel mit 60 ml gepuffertem Inokulum für 24 Stunden in einer Fermentationsflasche inkubiert. Die Flasche steht im Wasserbad bei 39°C und ist mit einem System verbunden, in dem das fermentativ gebildete Gas Flüssigkeit verdrängt. Diese verdrängte Flüssigkeit wird gesammelt, gewogen und die Daten an einen Computer weitergeleitet. Aufgrund von zeit- und arbeitsaufwendigen Arbeitsabläufe findet dieses System kaum Anwendung.

- Druckübertragungs-System

WILKINS (1974) entwickelte eine automatische *Druckübertragungs*-Methode zur Messung der Gasproduktion, auf deren Grundlage weitere Druckübertragungs-Systeme zur Untersuchung von Futtermitteln entwickelt wurden.

PELL und SCHOFIELD (1993) untersuchten die Kinetik von Futtermitteln mittels eines computerisierten Systems. Drucksensoren leiteten während der 48-stündigen Inkubation die Daten der einmal pro Stunde durchgeführten Messungen direkt an einen Computer weiter. Mittels ihrer Methode untersuchten die Autoren die Einflüsse von Probe, Inokulum und Gefäßgröße auf die Gasproduktion. Im Vergleich von Messungen mit Probengrößen von 200 mg mit geringeren Probenmengen (100 mg) wurden bei den kleineren Mengen signifikante Fehler bei der Gasproduktion ermittelt. Obwohl PELL und SCHOFIELD (1993) im Vergleich unterschiedlicher Inokulummengen keine Veränderungen in der produzierten Gesamtgasmenge feststellen konnten, so scheint doch bei kleineren Mengen Inokulum eine geringe Fermentationsverzögerung stattzufinden.

Bei der Methode von THEODOROU et al. (1994) wird für jede Messung die mit dem Druckmessgerät verbundene Nadel durch den das Inkubationsgefäß verschließenden Gummistopfen gestochen und der im Gefäß über der Flüssigkeit entstandene Gasdruck gemessen. Das Gasvolumen wird mittels einer Spritze abgezogen, bis über der Flüssigkeit wieder Umgebungsdruck herrscht. Bei dieser Methode wird im Gegensatz zu PELL und SCHOFIELD (1993) nur ein Druckmessgerät verwendet, was sich bei Untersuchungen von vielen Proben als kostengünstiger Vorteil erweist.

CONE et al. (1996) modifizierten die oben beschriebene Technik durch Kombination mit einem elektrischen Ventil. Bei Erreichen eines bestimmten Drucks öffnet sich das elektronische Ventil und sorgt für Druckausgleich. Jede Öffnung des Ventils wird vom Computer registriert und steht für 0,7 ml produziertes Gas. Diese Methode erlaubt im Gegensatz zur punktuellen Messung bei den oben beschriebenen Techniken eine kontinuierliche Überwachung der Gasproduktion über den gesamten Inkubationszeitraum.

5. Zusammenfassung

Aus der Literatur geht hervor, dass bei der Untersuchung von Futtermitteln in-vivo-Techniken in vielen Bereichen von in-vitro-Methoden abgelöst worden sind. Neben der Bestimmung von Abbaubarkeitsraten unterschiedlicher Futterinhaltsstoffe kann mittels in-vitro-Methoden auch die Abbaukinetik eines Futtermittels untersucht werden. Zur Beurteilung der Fermentationsleistung können neben Mikroorganismen auch Fermentationsprodukte als indirekte Parameter herangezogen werden.

Inhalt dieser Studie ist die Untersuchung der Fermentation von Kohlenhydraten in einem in-vitro-System, in dem Faeces als Inokulum genutzt werden. Besondere Aufmerksamkeit gilt hierbei der Fermentation des Inulins als Vertreter der Fruktane. Der Vergleich mit Cellulose, Stärke und Pektin soll Aufschluss über die Abbaubarkeit und Kinetik der Fruktane ermöglichen. Darüber hinaus steht auch die Adaptation der Mikroflora an die verschiedenen Kohlenhydrate, gemessen an den indirekten Parametern der Fermentationsleistung, im Vordergrund dieser Untersuchung.

III Eigene Untersuchungen

1. Ziel der Untersuchungen

In dieser Studie soll die Abbaubarkeit und Bildung von Fermentationsprodukten cellulose-, stärke-, pektin- bzw. inulinhaltiger Futtermittel (Grünmehl, Hafer, Trockenschnitzel, Topinambur) unter in-vitro Bedingungen überprüft werden. Als Inkubationsmedium dient eine Kotsuspension, die repräsentativ die Dickdarmflora des Pferdes darstellen soll. Als Parameter werden die Trockensubstanz, die Abbaubarkeit von Rohfaser und Gerüstkohlenhydraten, Rohasche, pH-Werte, Laktat und flüchtige Fettsäuren genutzt.

2. Material und Methoden

2.1 Versuchsplan

Der experimentelle Teil der Arbeit wurde zusammen mit Frau Anne Kathrin Mößler durchgeführt, die Untersuchungen zum Thema *„H₂-Exhalationsversuch zur Überprüfung cellulose-, stärke-, pektin- bzw. inulinhaltiger Futtermittel auf die mikrobielle Darmaktivität beim Pferd“* durchführt.

Die in vitro Untersuchungen wurden mit Kot von 6 Pferden durchgeführt. Die Fütterungsbedingungen waren folgendermaßen:

Einer mindestens zehntägigen Wash-out-Phase, in der eine dem Erhaltungsbedarf des jeweiligen Pferdes entsprechende Menge Heu gefüttert wurde, folgte ein 10tägiger Versuchsdurchgang. In diesem Zeitraum wurden die verschiedenen Futtermittel als Zulage in randomisierter Reihenfolge (Tab. 8) bei den sechs Pferden überprüft. An jede Fütterungsperiode schloss sich wieder eine mindestens zehntägige Wash-out-Periode mit Heu an. Das Sammeln des Kots, der als Inkubationsmedium diente, erfolgte am 1. und 10. Tag des jeweiligen Fütterungsdurchgangs, diese Tage werden im Ergebnisteil als Tag 1 und Tag 10 des Versuches gekennzeichnet.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tab. 8: Reihenfolge der Versuchsfutterzulage bei den Pferden

	Durchgang I	Durchgang II	Durchgang III	Durchgang IV
Pferd 1	Hafer	Grünmehl	Topinambur	Trockenschnitzel
Pferd 2	Trockenschnitzel	Topinambur	Grünmehl	Hafer
Pferd 3	Grünmehl	Trockenschnitzel	Hafer	Topinambur
Pferd 4	Grünmehl	Topinambur	Trockenschnitzel	Hafer
Pferd 5	Trockenschnitzel	Grünmehl	Hafer	Topinambur
Pferd 6	Topinambur	Hafer	Trockenschnitzel	Grünmehl

Der Versuchsplan beinhaltet zwei verschiedene Versuchsabschnitte:

1. Versuchsabschnitt:

Im ersten Abschnitt des Versuchs wurden vier verschiedene Futtermittel Grünmehl, Hafer, Trockenschnitzel und Topinambur unter in-vitro-Bedingungen in definierter Menge in einer vom jeweiligen Pferd stammenden Kotsuspension inkubiert, wobei der Kot am 1. und 10. Versuchstag unmittelbar vor der morgentlichen Fütterung rektal entnommen und genutzt wurde. In diesem Versuchsabschnitt waren sechs Pferde einbezogen.

2. Versuchsabschnitt:

Im zweiten Abschnitt wurde die in-vitro Fermentation mit Trockenschnitzel und Topinambur zu unterschiedlichen Anteilen an Heu überprüft.

Hier stammte die Kotsuspension von vier Pferden, die ausschließlich mit Heu gefüttert wurden.

Folgende Kombinationen mit Heu wurden inkubiert:

- Trockenschnitzel (Tr, n = 2)
 - 100 % Heu
 - 70 % Tr plus 30 % Heu
 - 50 % Tr plus 50 % Heu
 - 30 % Tr plus 70 % Heu

- Topinambur (To, n = 2)
 - 100 % Heu
 - 70 % To plus 30 % Heu
 - 50 % To plus 50 % Heu
 - 30 % To plus 70 % Heu

Neben der Inkubation zur Überprüfung der Abbaubarkeit von Nährstoffen, erfolgte in beiden Versuchsabschnitten auch eine Überprüfung der Gasbildung aus dem entsprechenden Futtermittel.

In den hierfür verwendeten Glasflaschen wurden in definierten Zeitabständen der entstandene Gasdruck und die gebildete Gasmenge ermittelt.

2.2 Probanden

Für die Versuche standen sechs Traber im Alter von 3 bis 22 Jahren zur Verfügung. In Tabelle 9 sind Geschlecht, Geburtsjahr und das Gewicht vor Beginn und nach Ende der gesamten Versuchsphase angegeben. Die Tiere standen in Einzelboxen auf Stroh und hatten über eine Selbsttränke jederzeit freien Zugang zu frischem Wasser. Außer an den Versuchstagen erhielten die Pferde täglich einige Stunden Auslauf auf Sandpaddocks.

Tab. 9: Geschlecht, Geburtsjahr und Gewicht [kg] der Probanden

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

	Geschlecht	Geburtsjahr	Gewicht in [kg]	
			Beginn der Versuchsphase	Ende der Versuchsphase
Pferd 1	Wallach	1981	465	452
Pferd 2	Wallach	2000	493	493
Pferd 3	Wallach	1994	565	551
Pferd 4	Wallach	1997	460	447
Pferd 5	Wallach	1991	457	431
Pferd 6	Wallach	1994	438	418

2.3 Versuchsfutter und Rationsgestaltung

Als Versuchsfutter wurden Grünmehl, Hafer, Trockenschnitzel und Topinambur als Vertreter von cellulose-, stärke-, pektin- bzw. inulinhaltigen Futtermitteln verfüttert.

Der Hafer wurde in gequetschter, das Grünmehl in pelletierter Form verfüttert. Die Trockenschnitzel wurden aufgrund ihres starken Quellvermögens am Vorabend des Versuchstages in Wasser im Verhältnis 1:4 eingeweicht und vorgequollen verfüttert. Die eingesetzten Mengen der einzelnen Versuchsfuttermittel orientierten sich bei Grünmehl, Hafer und Trockenschnitzeln an einer vergleichbaren Zufuhr der NfE-Fraktion, d.h. 1,5 g NfE / kg KM.

Bei der Gabe von Topinambur wurde eine Dosierung von 1,5 g Inulin / kg KM gewählt.

Die Analysenwerte der Roh Nährstoffe, Mengen- und Spurenelementen der einzelnen Futtermittel sind in Tab. 10 und Tab. 11 aufgeführt.

Tab. 10: Roh Nährstoffgehalte der eingesetzten Versuchsfutter (Angaben in g / kg TS)

Futtermittel	TS	Ra	Rp	Rfe	Rfa	Nfe	Stärke	Zucker	Inulin
Heu 1	886	54,27	99,76	17,38	288	427	k.A.	k.A.	k.A.
Heu 2	915	25,47	61,03	10,49	355	463	2,72	110,58	k.A.
Tr	905	70,45	86,61	6,52	123	618	96,83	235	k.A.
Gm	944	122	113	21	229	458	k.A.	k.A.	k.A.
To	954	47,28	89,36	6,44	34,42	777	n.n.	674	500
Ha	876	17,94	92,48	40,26	88,67	637	417	7,28	k.A.

n.n.: unterhalb der Nachweisgrenze

k.A.: keine Analyse des entsprechenden Parameters

Tab. 11: Mengen- und Spurenelementgehalte der eingesetzten Versuchsfutter (Angaben der Mengenelemente in g / kg TS; Angaben der Spurenelemente in mg / kg TS)

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Futtermittel	Ca	Mg	P	Na	K	Cl	Cu	Zn	Se
Heu 1	3,16	1,22	2,3	0,43	16,3	6,49	5,86	22,57	0,003
Heu 2	3,69	1,2	1,42	0,64	5,44	3,17	4,51	19,28	k.A.
Tr	6,26	1,38	0,67	1,04	17,22	0,98	6,81	28,45	0,12
Gm	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
To	0,66	0,62	2,68	0,09	21,28	1,79	6,74	17,17	0,05
Ha	0,52	0,99	3,02	0,15	4,31	1,3	4,12	31,8	0,01

k.A.: keine Analyse des entsprechenden Parameters

Während der 10-tägigen Wash-out-Phasen zwischen den Fütterungsdurchgängen erhielten die Pferde nur Heu. Die Heuration wurde in Abhängigkeit vom Körpergewicht für den Erhaltungsbedarf jedes Pferdes kalkuliert und lag zwischen 7,5 und 9 kg uS. Lediglich Pferd I stellte eine Ausnahme dar. Da das Tier im Vorversuch die kalkulierte Heumenge nicht aufnahm, bekam dieses Pferd im zweiten und dritten Durchgang eine um 2,5 kg Heu reduzierte, im ersten und vierten Durchgang eine um 1,5 kg Heu reduzierte Ration.

Die Gesamtration wurde in drei gleichen Teilmengen morgens, mittags und abends verfüttert.

In den jeweils 10-tägigen Fütterungsdurchgängen erhielten die Pferde am 1., 3., 8. und 10. Versuchstag nach 12-stündigem Fasten morgens das Versuchsfutter und erst abends wieder Heu (je Pferd 3 kg uS). Die Vorgehensweise am Tag 3 und Tag 8 war für den experimentellen Teil des Dissertationsvorhaben Möbeler (Möbeler, 2004) notwendig. Um die Strohaufnahme aus der Einstreu zu verhindern, standen die Pferde in einstreulosen Boxen (Gummimatten), wobei Wasser ad libitum über Selbsttränken zur Verfügung stand. Das Topinambur wurde an diesen Tagen per Nasenschlundsonde verabreicht, wozu ein Teil des Topinamburs in gemahlener Form (Porengröße 0,75 mm) in ca. 7-10 Litern Leitungswasser gelöst wurde.

Am 2., 4.-7. und 9. Versuchstag, an denen freier Zugang zu Einstreu und Wasser möglich war, erhielten die Pferde morgens das Versuchsfutter und die für das jeweilige Tier kalkuliert Heumenge in drei Teilrationen morgens, mittags und abends. Das Topinambur wurde an diesen Tagen in der ursprünglichen Form als Granulat verfüttert.

An jeden Fütterungsdurchgang schloss sich wieder eine 10-tägige Wash-out-Phase an.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die Rationen für die Versuchsfutter und das Heu wurde für das jeweilige Pferd in Anlehnung an die von der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere (DLG-Verlag, 1994) herausgegebenen Werte im Erhaltungsbedarf errechnet und auf 0,1 kg TS gerundet (Tab. 12-15). Da die Pferde 4, 5 und 6 aufgrund eines nahezu identischen Erhaltungsbedarfs annähernd gleiche Rationen erhielten, ist der errechnete Energie- und Nährstoffgehalt für diese Pferde in Tab. 8 zusammengefasst.

Tab. 12: Energie- und Nährstoffbedarf und -versorgung für die verschiedenen Futtermittelvarianten; Pferd 1

	Futtermenge TS (kg)	DE (MJ)	vRp (g)	Ca (g)	P (g)	Mg (g)	Na (g)	Cl (g)	K (g)	Cu (mg)	Zn (mg)	Se (mg)
Bedarf		60	300	23	14	9	9	37	23	47	465	1,2
Heu	5,49	57	204	22	8	7	4	19	32	27	116	0,1
Heu	6,86	71	255	28	11	9	5	24	41	34	145	0,1
Heu + Gm	5,49 + 1,13	70	295	22	8	7	4	19	32	27	116	0,1
Heu + Ha	6,86 + 0,88	84	327	28	14	10	5	25	45	38	177	0,1
Heu + To	5,49 + 1,43	77	315	23	12	8	4	22	64	37	142	0,1
Heu + Tr	6,86 + 0,84	82	305	34	12	10	6	25	57	40	172	0,1

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tab. 13: Energie- und Nährstoffbedarf sowie –versorgung für die verschiedenen Futtermittelvarianten; Pferd 2

	Futtermenge TS (kg)	DE (MJ)	vRp (g)	Ca (g)	P (g)	Mg (g)	Na (g)	Cl (g)	K (g)	Cu (mg)	Zn (mg)	Se (mg)
Bedarf		63	314	25	15	10	10	39	25	49	493	1,2
Heu	7,78	81	289	31	12	10	5	27	46	38	164	0,1
Heu + Gm	7,78 + 1,23	95	388	31	12	10	5	27	46	38	164	0,1
Heu + Ha	7,78 + 0,96	95	368	32	15	11	5	29	51	43	199	0,1
Heu + To	7,78 + 1,48	102	404	33	16	11	5	30	79	49	191	0,2
Heu + Tr	7,78 + 0,91	92	354	38	13	12	6	28	63	45	193	0,2

Tab. 14: Energie- und Nährstoffbedarf sowie –versorgung für die verschiedenen Futtermittelvarianten; Pferd 3

	Futtermenge TS (kg)	DE (MJ)	vRp (g)	Ca (g)	P (g)	Mg (g)	Na (g)	Cl (g)	K (g)	Cu (mg)	Zn (mg)	Se (mg)
Bedarf		70	348	28	17	11	11	45	28	57	565	1,4
Heu	8,23	86	306	33	13	11	5	29	49	41	174	0,09
Heu + Gm	8,23 + 1,32	101	412	33	13	11	5	29	49	41	174	0,09
Heu + Ha	8,23 + 1,05	101	392	34	16	12	6	30	54	45	212	0,1
Heu + To	8,23 + 1,62	108	432	34	17	12	6	32	85	52	203	0,2
Heu + Tr	8,23 + 1,00	98	378	40	13	12	7	30	68	48	205	0,2

Tab. 15: Energie- und Nährstoffbedarf sowie –versorgung für die verschiedenen Futtermittelvarianten; Pferde 4, 5 und 6

	Futtermenge TS (kg)	DE (MJ)	vRp (g)	Ca (g)	P (g)	Mg (g)	Na (g)	Cl (g)	K (g)	Cu (mg)	Zn (mg)	Se (mg)
Bedarf												
Pfd 4		60	298	23	14	9	9	37	23	46	460	1,2
Pfd 5		59	297	23	14	9	9	37	23	46	457	1,1
Pfd 6		57	287	22	13	9	9	35	22	44	438	1,1
Heu	7,32	76	272	30	11	10	5	26	43	36	154	0,08
Heu + Gm	7,32 + 1,13	89	363	30	11	10	5	26	43	36	154	0,1
Heu + Ha	7,32 + 0,88	89	344	31	14	11	5	27	48	40	186	0,1
Heu + To	7,32 + 1,38	96	379	31	15	10	5	29	74	46	179	0,2
Heu + Tr	7,32 + 0,81	86	331	35	12	11	6	27	59	42	180	0,2

2.4 Versuchsvorbereitungen

2.4.1 Vorbereitung des Versuchsfutters

Vor Beginn aller Versuchsdurchgänge wurden Proben von allen vier Versuchsfuttern und dem zu verfütternden Heu genommen und gemahlen (Porengröße 0,75 mm). Diese gemahlene Proben wurden über den gesamten Versuchszeitraum in Plastikflaschen mit Schraubverschluss bei Raumtemperatur gelagert und für die Inkubations- und Gasmessung verwendet.

2.4.2 Vorbereitung der Reagenzien

Für die Kotsuspension wurden zwei verschiedene Pufferreagenzien benötigt:

Puffer A:

KH_2PO_4	10,0 g/l
$\text{Mg}_2\text{SO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5 g/l
NaCl	0,5 g/l
$\text{CaCl} \times 2 \text{H}_2\text{O}$	0,1 g/l
Harnstoff	0,5 g/l

Puffer B:

Na_2CO_3	16,0 g/l
$\text{Na}_2\text{S} \times 9 \text{H}_2\text{O}$	1,0 g/l

Am Vorabend des Versuchstages wurden pro Ansatz ca. 266 ml Puffer A mit 1330 ml Puffer B gemischt. Nachdem das Gemisch aus beiden Reagenzien im Wasserbad auf 39° C erwärmt worden war, wurde durch Zugabe von HCl ein pH-Wert von 6,8 eingestellt.

Insgesamt wurden zur Vorbereitung eines Versuchstages 5400 ml des Gemisches aus Puffer A und Puffer B benötigt.

Für jedes Pferd wurde eine Inkubationsflasche, die durch ein Plastikgitter in zwei Abteilungen unterteilt war, mit jeweils 1600 ml des hergestellten Puffergemisches gefüllt und zusammen

mit dem Rest des Gemisches, der in verschlossenen Glasflaschen umgefüllt wurde, über Nacht ca. zwölf Stunden im Wärmeschrank bei 39° C gelagert.

2.4.3 Vorbereitung der Glasflaschen zur Gasmessung

Zur Messung der bei Inkubation der Versuchsfutter entstehenden Gasmenge und des Gasdrucks wurden Glasflaschen verwendet, die ein Fassungsvermögen von 120 ml besitzen. Für jedes Pferd wurden insgesamt vier Fläschchen vorbereitet. In drei der vier Fläschchen wurde jeweils genau 1 g Versuchsfutter eingewogen. Das vierte Fläschchen lief ohne Futtermittel als Kontrolle mit. Alle Fläschchen wurden mit Alufolie verschlossen und bei Raumtemperatur gelagert.

2.4.4 Vorbereitung der Filterbags

Die zum Einfüllen des Futters benötigten Filtertüten (ANKOM *Technology* – F 57 Filter Bags) wurden ca. fünf Minuten in Aceton gespült und danach unter dem Abzug ca. dreißig Minuten getrocknet. Anschließend trockneten sie über Nacht bei 105° C im Trockenschrank, um dann am nächsten Tag nach Abkühlung im Exsikkator gewogen zu werden. Das Gewicht der mit fortlaufenden Nummern gekennzeichneten Filterbags wurde notiert, das jeweilige Versuchsfutter in gemahlener Form mit $0,25 \text{ g} \pm 0,00001 \text{ g}$ in den Beutel eingewogen, die Einwaage notiert und der Beutel mit etwa 0,5 cm Abstand vom Rand verschweißt.

Insgesamt wurden pro Pferd und Versuchstag zwanzig Filterbags mit Versuchsfutter und zwei ebenfalls verschweißte Leerbeutel vorbereitet und in Plastikbeuteln gelagert.

2.5 Methoden und Versuchsablauf

2.5.1 Fermentation

- Methode

Die Fermentationsversuche wurden im DAISY^{II}-Inkubator (Fa. ANKOM *Technology*, Fairport, N.Y.) durchgeführt.

In den Inkubator konnten bei konstant gehaltener Temperatur von 39° C + 0,5° C und gleichmäßiger Rotation vier Inkubationsflaschen gleichzeitig gelegt werden. Die Temperatur im Inkubator wurde über eine externe Anzeige kontrolliert. Die Inkubationsflaschen, die jeweils ein Fassungsvermögen von ca. 5 Litern aufwiesen, waren durch ein Plastikgitter mit gleichmäßig verteilten, runden Löchern in zwei gleichgroße Abteilungen geteilt. Durch die Löcher im Gitter und die konstante Rotation der Flaschen war eine gleichmäßige Durchmischung der Kotsuspension zwischen den Abteilungen gewährleistet.

- Versuchsablauf

Vor Inkubation:

Am Vorabend der Inkubationsversuche wurden die vorbereiteten Inkubationsflaschen aus dem Wärmeschrank genommen und die ebenfalls vorbereiteten Filterbags gleichmäßig auf beide Seiten des Gitters verteilt, so dass auf jeder Seite elf mit Futter gefüllte und je ein Leerbeutel mitgeführt wurden. Die geschlossenen Flaschen wurden in den auf 39° C vorgewärmten Inkubator (ANKOM *Technology* – DAISY^{II}-Incubator) gelegt und der Inkubator für fünfundzwanzig bis dreißig Minuten bei gleichmäßiger Rotation der Flaschen verschlossen, um eine gleichmäßige Temperaturverteilung zu gewährleisten.

Am 1. und 10. Versuchstag wurden den Pferden morgens nach 12-stündigem Fasten vor der ersten Fütterung jeweils 350 bis 500 g Kot rektal entnommen. Die zur kurzfristigen Lagerung des Frischkotes (maximal 30 Minuten) verwendeten Dewar-Gefäße wurden vorher mit ca. 40° C warmem Wasser gefüllt, kurz stehen gelassen und nach Leerung des Wassers angewärmt verschlossen.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Direkt im Anschluß an die Probennahme erfolgte die Weiterverarbeitung des Frischkotes im Labor zur Kotsuspension:

350 g Frischkot und 700 g vorgewärmte Pufferlösung (siehe Probenvorbereitung) wurden mit einem Stabmixer im Wasserbad bei 39° C im Becherglas homogenisiert. Um den Lufteintrag in das Kot-Puffer-Gemisch möglichst gering zu halten und weitgehend anaerobe Verhältnisse zu schaffen, fand sowohl während des Homogenisierens als auch im Anschluß daran für ca. 5 Minuten eine Spülung mit CO₂ statt. Nach der CO₂-Spülung erfolgte ein Siebvorgang, bei dem das Kot-Puffer-Gemisch durch ein Sieb der Porenweite 0,2 mm in einen vorgewärmten Behälter gefüllt wurde. 400 ml dieser gesiebten Suspension (Verhältnis Kot : Puffer 1:3) wurden zur Inkubation der Filterbags in die Inkubationsflaschen gefüllt (Verhältnis Suspension : Puffer 1:5) und diese wieder für achtundvierzig Stunden in den Inkubator gelegt.

Nach Inkubation:

Nach achtundvierzigstündiger Inkubation bei konstanten 39° C erfolgte die Entnahme der Inkubationsflaschen. Die Suspension wurde nach Probennahme verworfen und die Filterbags mit destilliertem Wasser solange gespült, bis das ablaufende Wasser klar blieb. Die anschließende Trocknung der Filterbags fand für vierundzwanzig Stunden im Trockenschrank bei 105° C statt. Nach Auskühlung im Exsikkator wurden die Beutel gewogen, das Gewicht notiert und anschließend in einem Plastikbeutel bei -20° C für weitere Analysen eingefroren. In Tabelle 16 sind die analysierten Parameter aufgeführt.

Tab. 16: Versuchsparameter und Messzeitpunkte (Fermentation)

Probenmaterial (Fermentation)	Parameter	Messzeitpunkte	
		vor Inkubation	nach Inkubation
Futtermittel	TS	X	X
	Rfa	X	X
Kotsuspension	pH	X	X
	FFS	X	X
	Laktat	X	X

2.5.2 Gasbildung

- Methode

Bei diesem Versuchsteil wurden sowohl Gasdruck als auch Gasvolumen, die während der Inkubation des entsprechenden Versuchsfutters in den Glasflaschen entstanden, ermittelt. Die Messungen fanden nach 2, 4, 6, 8, 10, 12 und 24 Stunden statt.

Hierzu erfolgte zuerst die Druckmessung in der Glasflasche mittels eines Druckmessgerätes (Tracker 200 Series, Fa. DATA TRACK PROCESS INSTRUMENTS, Christchurch, Dorset), das die in der Glasflasche herrschende Spannung in mV angab. Das Messgerät war über einen Dreiwegehahn mit einer Kanüle verbunden. Nach Ablesung des angezeigten „Nullwertes“ (= atmosphärischer Druck), wurde diese Kanüle durch den Gummistopfen in die Flasche eingestochen. Hierbei war durch die Stellung des Dreiwegehahns nur die Verbindung zwischen Druckmesser und Flasche freigegeben, so dass die in der Flasche herrschende Spannung abgelesen werden konnte. Von dieser angezeigten Spannung wurde der „Nullwert“ abgezogen.

Zur anschließenden Messung des Gasvolumens wurde nach Umlegen des Dreiwegehahns mittels unterschiedlicher Plastik-Einmalspritzen (5 ml, 10 ml, 50 ml) das Gasvolumen aus der Flasche einmalig aspiriert, bis sich der anfangs gemessene, außerhalb der Flasche herrschende „Nullwert“ auf der Anzeige einstellte. In der Suspension gelöstes Gas, das durch Aufschäumen erst langsam aus der Flüssigkeit entwich, wurde nicht berücksichtigt, sondern verblieb in der Flasche. Zu keiner Zeit fand ein direkter Druckausgleich zwischen Flasche und Atmosphäre statt.

Um die gemessenen Werte als Druck in mbar angeben zu können, fand nach Abschluß aller Messungen eine Kalibration durch Anlegen definierter Drücke an das Messgerät statt. In Abb. 2 ist die Korrelation zwischen Druck und Spannung dargestellt.

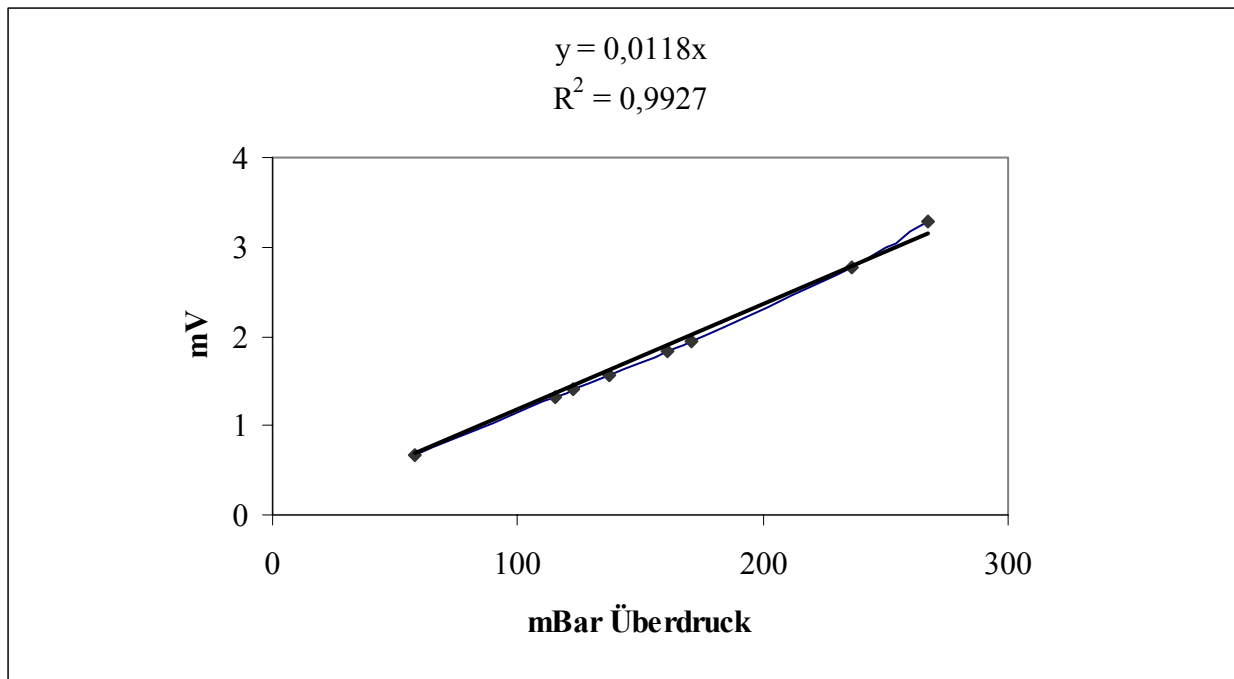


Abb. 2: Kalibration des Druckmessgerätes

- Versuchsablauf

Vor Inkubation:

100 ml der hergestellten Kotsuspension (siehe Fermentation) wurden in einem angewärmten Becherglas mit 400 ml erwärmten Puffer gemischt (Verhältnis Suspension : Puffer (Gemisch aus Puffer A und Puffer B, 1:5).

Nach Befüllung der vier vorbereiteten Glasflaschen (siehe Versuchsvorbereitungen) mit jeweils 100 ml der verdünnten Suspension (Verhältnis Futter : Kotsuspension 1:101) und einem Magnetrührer, wurden die Flaschen luftdicht mit Gummistopfen und Deckeln so verschlossen, dass ein Durchstechen der Gummistopfen mit Kanülen zur Messung möglich blieb. Die Inkubation erfolgte auf einer Magnetrührplatte im 39° C warmem Wasserbad bei ca. 400 Umdrehungen pro Minute.

Nach Inkubation:

Nach vierundzwanzig Stunden Inkubation wurde die Kotsuspension nach Probennahme verworfen.

2.6 Probenmaterial

2.6.1 Futtermittel

Von allen vier Versuchsfuttern und dem Heu wurden vor Verfütterung Proben für die Bestimmung der Roh Nährstoffe, Mengen- und Spurenelemente genommen (Tab. 10 und 11).

2.6.2 Kotsuspension

- Fermentation

Die Probennahme der Kotsuspension vor Inkubation fand nach dem letzten Ablaufschritt nach einminütiger Durchmischung von Suspension und Puffergemisch statt. Die Suspension wurde direkt in das vorbereitete Plastik-Reagenzglas geschüttet, dieses mit einem Deckel verschlossen und bis zur weiteren Analyse bei -20°C eingefroren.

Nach Entnahme der Flaschen aus dem Inkubator erfolgte die Probennahme der jeweiligen Kotsuspension nach Inkubation direkt aus der Inkubationsflasche in das vorbereitete Plastik-Reagenzglas, welches mit einem Deckel verschlossen und für weitere Analysen bei -20°C eingefroren wurde.

- Gasbildung

Die Proben der Kotsuspension, die zur Messung von Gasdruck und Gasmenge hergestellt worden waren, wurden vor Inkubation direkt in das vorbereitete Plastik-Reagenzglas gegeben, welches mit einem Plastikdeckel verschlossen und bis zur weiteren Verwendung bei -20°C eingefroren wurde.

Die nach Inkubation aus jedem der je vier Glasflaschen entnommene Kotsuspension wurde ebenfalls direkt in das Plastik-Reagenzglas gefüllt, mit einem Deckel verschlossen und für weitere Analysen bei -20° C eingefroren.

2.7 Untersuchungsmethoden

• **Trockensubstanz- und „Roh-“Nährstoffgehalt mittels Weender Analyse (nach VDLUFA, 1997)**

Zur Bestimmung der Trockensubstanz (TS) wird die Probe in einen Porzellantiegel eingewogen und im Trockenschrank bei 105° C vierundzwanzig Stunden getrocknet.

Nach Abkühlung im Exsikkator erfolgt die Auswaage.

Zur Bestimmung der Rohasche (Ra) wird die Probe in Porzellantiegel mindestens sechs Stunden im Muffelofen bei 500° C verascht und nach Auskühlung im Exsikkator ausgewogen.

Aus der Differenz von Trockensubstanz und Rohasche errechnet sich die organische Substanz (oS) mit folgender Formel:

$$oS = TS - Ra$$

Zur Bestimmung des Rohfasergehaltes (Rfa) wird die Probe dreißig Minuten mit 1,25 %iger Schwefelsäure gekocht. Danach wird die Probe mit heißem Wasser gewaschen und anschließend mit 1,25 %iger Natronlauge erneut dreißig Minuten gekocht.

Der beim Kochen entstandene Rückstand wird getrocknet, gewogen und bei 500° C im Muffelofen verascht. Der Rohfasergehalt errechnet sich aus Subtraktion des Rohaschewertes vom Rohfaser Trockengewicht.

Zur Analyse des Rohfettes (Rfe) findet nach dem Säureaufschluß mit konz. Salzsäure eine achtstündige Extraktion der Probe mit Petroläther im Soxhletapparat statt.

Zur Bestimmung des Rohproteins (Rp) bedient man sich des Kjeldahlverfahrens. Durch Oxidation des Futtermittels mit konz. Schwefelsäure wird der Stickstoff der Aminosäure in die Ammoniumform überführt. Nach Zusatz von 30%iger Natronlauge wird Ammoniak freigesetzt und mit Hilfe von 3%iger Borsäure aufgefangen. Titrimetrisch (0,03 mol/l Salzsäure) lässt sich daraufhin der Ammoniumgehalt ermitteln und auf Stickstoff umrechnen. Durch Multiplikation des Stickstoffgehaltes mit dem Faktor 6,25 lässt sich die Menge des Rohproteins errechnen.

Die N-freien Extraktionsstoffe (NfE) werden nur rechnerisch erfasst:

$$\text{NfE} = \text{TS} - (\text{Ra} + \text{Rfe} + \text{Rfa} + \text{Rp})$$

• Stärke

Der Stärkegehalt wurde durch das von der VDLUFA (1997) beschriebene Untersuchungsverfahren ermittelt.

• Zucker

Die Bestimmung des Zuckergehaltes in den Versuchsfuttern fand mittels der Methode nach LUFF-SCHOARL statt.

• Inulin

Der Inulingehalt im Topinambur wurde mit Hilfe des „Fructan assay kit“-Testsatzes der Firma Megazyme International enzymatisch ermittelt.

• Mineralstoffe

Zur Analyse der Mineralstoffe wird zunächst die Rohasche in verdünnter Säure gelöst.

Im weiteren Verlauf werden Natrium und Kalium flammenimmisionsspektrophotometrisch, Phosphor photometrisch nach der Vanadat-Molybdat-Methode analysiert. Zur Bestimmung von Kalzium, Magnesium, Kupfer, Zink wird die Methode nach SLAVIN (1968) angewendet, wobei das Gerät Unicam SOLAAR 969 mit elementspezifischen Hohlkathodenlampen benutzt wird. Der Gehalt der Futtermittel an Selen wird im Hybridsystem des Gerätes Unicam VP 90 ermittelt. Nach dem Prinzip der Fällungstitration wird Chlorid im Corning Chlorid Analyser 925 bestimmt.

2.7.1 Futtermittel in den Filterbags

• **Trockensubstanz (TS)**

Die TS wurde vor Inkubation nach dem in der Weender Analyse beschriebenen Verfahren bestimmt. Eine definierte Menge Futterprobe wurde in Porzellentiegeln bei 105° C getrocknet und nach Abkühlung im Exsikkator ausgewogen.

Zur Bestimmung der TS nach Inkubation wurden alle inkubierten Filterbags für vierundzwanzig Stunden im Trockenschrank bei 105° C getrocknet und nach Abkühlung im Exsikkator zurückgewogen. Der TS-Gehalt konnte nun unter Berücksichtigung eines aus den beiden mitgeführten Leerbeuteln ermittelten Leerwert-Faktors (Korrektur) berechnet werden.

• **Rfa**

Der Rohfasergehalt wurde sowohl vor als auch nach Inkubation in den Filterbags bestimmt.

Im Zuge einer Doppelbestimmung fand eine Analyse von zwei Beuteln pro Pferd und Futtermittel statt. Pro Analysenvorgang liefen zwei Leerbeutel mit, die später bei der Berechnung des Rohfasergehaltes Berücksichtigung fanden.

Der erste Kochvorgang in 1,25%iger Schwefelsäure dauerte bei 100° C 45 Minuten. Nach Ablassen der Säuren wurden die Beutel dreimal für fünf Minuten in heißem Wasser gespült. Nun folgte der zweite Kochvorgang in 1,25%iger Natronlauge ebenfalls bei 100° C für 45

Minuten. Auch hier schloss sich der oben beschriebene Spülvorgang an. Die letzte Spülung fand in diesem Fall mit heißem bidestilliertem Wasser statt.

Die Filterbags wurden aus den Einsätzen genommen, ca. fünf Minuten in Aceton gespült und über Nacht in den Trockenschrank bei 105° C gestellt. Nach Abkühlen im Exsikkator erfolgten Auswaage und anschließende Veraschung für mindestens sechs Stunden bei 500° C im Muffelofen.

Der Rohfasergehalt wurde unter Berücksichtigung des Leerbeutel-Faktors und der Aschekorrektur errechnet.

2.7.2 Kotsuspension

• pH-Wert

Der pH-Wert wurde im Anschluß an die Probennahme innerhalb einer Stunde mittels eines pH-Meters mit Einstabmesskette (Multical[®] WTW pH 526; Eichung zwischen pH 4 und 9; Auflösung 0,01) bei allen Proben ermittelt.

• Flüchtige Fettsäuren (FFS)

Probenvorbereitung:

Zur Vorbereitung für die quantitative Bestimmung von Essig-, Propion-, I-Buttersäure und N-Buttersäure sowie I-Valeriansäure und N-Valeriansäure wurden alle Proben am Versuchstag innerhalb von einer Stunde nach Probennahme im Verhältnis 1:11 mit einem internen Standard (4-Methylvaleriansäure und Ameisensäure 1:101) versetzt. Zur Kalibration lief in regelmäßigem Abstand jeweils auf vier Proben ein definierter Standard mit. Die Proben wurden bei -20° C eingefroren.

Vor Bestimmung der Fettsäuren wurden die Proben auf Zimmertemperatur aufgetaut und bei 4000 g für zehn Minuten zentrifugiert und danach der Überstand für die Messung abpipettiert.

Analyse:

Zur Analyse werden die kurzkettigen Fettsäuren nach gaschromatographischer Auftrennung durch einen Flammenionisationsdetektor (Shimadzu GC 14 A FID) detektiert.

Im Gaschromatographen (PYE Unicam PU 4550 capillary chromatograph, Fa. Phillips) werden die injizierten Proben unter Zustrom von Stickstoff als Trägergas bei 175° C im Injektor mit Hilfe von Wasserstoff als Brenngas verdampft und durch eine mit Kieselgel (GP 10% / SP 1000/1 % H₃PO₄ auf 100/120 Chromosorb WAW) beschickte Säule geleitet. Die je nach Größe und Verzweigungsgrad aufgetrennten Fettsäuren gelangen zeitlich gestaffelt in den FID und werden dort über die Menge der anfallenden CH-Radikale quantitativ bestimmt.

• **Laktat**

Probenvorbereitung:

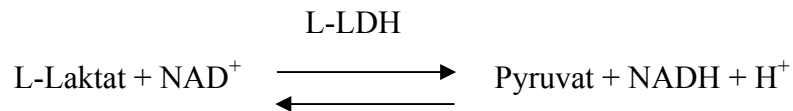
Die Vorbereitung der Proben aus der Fermentation fand am Versuchstag innerhalb einer Stunde nach Probennahme statt. Hierfür wurde zunächst 1ml jeder Probe im Verhältnis 1:2 mit 1-molarer Perchlorsäure enteweißt und durch anschließend Zugabe von Kalilauge der pH-Wert zwischen 8 und 10 eingestellt. Die Proben wurden bei -20° C bis zur weiteren Verwendung eingefroren.

Am Tag der Analyse wurden die Proben auf Zimmertemperatur aufgetaut und 200 ml jeder Probe im Verhältnis 1:5 mit bidestilliertem Wasser verdünnt.

Analyse:

Die Analyse des L- Laktatgehaltes erfolgte mittels eines enzymatischen UV-Tests. Dazu wurde eine L-Milchsäure (L-Laktat) - Testkombination (UV-Test zur Bestimmung von L-Milchsäure in Lebensmitteln und anderen Probematerialien, Fa. Roche) verwendet.

Das Prinzip des Tests basiert auf der enzymatischen Reaktion der L-Milchsäure (L-Laktat) zu Pyruvat, die durch die L-Laktat-Dehydrogenase (L-LDH) katalysiert wird. Bei dieser Reaktion wird gleichzeitig NAD⁺ zu NADH umgesetzt.



Da die gebildete NADH-Menge der L-Milchsäure-Menge äquivalent ist, wird NADH als Meßgröße bei 340 nm bestimmt.

Das Gleichgewicht bei dieser Reaktion liegt aber weitgehend auf Seiten des Laktats. Daher wird in der nachgeschalteten Reaktion mit Hilfe des Enzyms Glutamat-Pyruvat-Transaminase das Pyruvat in Gegenwart von L-Glutamat abgefangen und das Verhältnis auf die Seite von Pyruvat und NADH verschoben.



Die Probe wird mit den Testreagenzien gemischt; fünf Minuten nach dem Mischen wird die erste Extinktion im Photometer (UV-Visible Spectrophometer UV 1602, Fa. Shimadzu mit CPS-Kontroller) gegen den Leerwert gemessen (E1). Durch Zugabe der L-LDH wird dann die Reaktion gestartet und nach zwanzig bis dreißig Minuten wird erneut die Extinktion (E2) gemessen.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration gilt:

$$c = \frac{V * MG}{\epsilon * d * v * 1000} * \Delta E * F \quad [g/l]$$

V = Testvolumen [ml]

v = Probenvolumen [ml]

MG = Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz [g/mol]

d = Schichtdicke [cm]

ϵ = Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm [$l * mmol^{-1} * cm^{-1}$]

ΔE = $(E_2 - E_1)_{Probe} - (E_2 - E_1)_{Leerwert}$

F = Verdünnungsfaktor

2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mit Hilfe der Programme Statistica[®] und Exel 7.0[®].

Folgende statistische Methoden wurden eingesetzt:

- Berechnung von Mittelwerte (MW) bei der Zusammenfassung von Einzelwerten
- Bestimmung der Standardabweichung (SD) als Maß der Streuung
- Berechnung des Minimal- und Maximalwertes (MIN, MAX)
- Trapezoide Berechnung der Flächen unterhalb der Kurven der produzierten Gasmengen; Basislinie 0
- t-Test für gepaarte Stichproben zum Mittelwertvergleich bei paariger Zuordnung der Einzelwerte

Die Ergebnisse werden als Mittelwert (MW) \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Bei der Darstellung der Ergebnisse gilt eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ als signifikant. Signifikanzen werden in Tabellen in Form von unterschiedlichen Kleinbuchstaben oder Symbolen angegeben.

Die Ergebnisse werden tabellarisch und graphisch dargestellt. Aufgrund der Übersicht wurde auf eine Darstellung der Standardabweichung in den Abbildungen verzichtet; die entsprechenden Werte (MW \pm SD) sind den entsprechenden Tabellen zu entnehmen.

Alle Einzelwerte sind im Tabellenanhang dargestellt.

IV Ergebnisse

1. Abbaubarkeit der Trockenmasse

1.1 Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur

Die untersuchten Futtermittel unterscheiden sich vor Inkubation nicht im Trockenmassegehalt (Tab. 17). Bei allen vier Futtermitteln ist am Tag 1 nach Inkubation ein deutlicher Abbau der Trockenmasse nachweisbar. Während bei Grünmehl nach Inkubation im Mittel eine Abbaurate von $32,0 \pm 1,29$ % nachgewiesen wird, liegt die Rate für Trockenschnitzel bei $53,5 \pm 3,71$ %. Bei Hafer wird nach Inkubation im Mittel ein Trockenmassenabbau von $68,9 \pm 3,44$ % am Tag 1 ermittelt. Die höchste Abbaurate weist hier Topinambur mit $89,7 \pm 1,20$ % auf. Auch am Tag 10 lässt sich bei allen vier Futtermitteln ein deutlicher Trockenmasseabbau nachweisen, der sich bei keinem der Futtermittel von Tag 1 unterscheidet.

Im Vergleich der Futtermittel wird die höchste Abbaurate an beiden Versuchstagen bei Topinambur beobachtet, gefolgt von Hafer und Trockenschnitzeln. Der geringste Trockenmasseabbau findet beim Grünmehl statt ($p < 0,05$).

In Tab. 17 sind die mittleren Trockenmassegehalte vor und Abbauraten nach Inkubation für beide Versuchstage zusammengefasst.

ERGEBNISSE

Tab. 17: Mittlere Trockenmassegehalte [MW \pm SD, % uS] vor und Abbauraten nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10, n=6

Futtermittel	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
Grünmehl	92,7 ^a	32,0 \pm 1,29 ^{b#}	92,7 ^a	32,0 \pm 1,58 ^{b#}
Trockenschnitzel	91,8 ^a	53,5 \pm 3,71 ^{b\circ}	91,8 ^a	50,4 \pm 3,17 ^{b\circ}
Hafer	88,2 ^a	68,9 \pm 3,44 ^{b*}	88,2 ^a	70,9 \pm 3,42 ^{b*}
Topinambur	95,0 ^a	89,7 \pm 1,20 ^{b+}	95,0 ^a	89,1 \pm 0,82 ^{b+}

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile; unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte

1.2 Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Der Trockenmassegehalt von Heu beträgt vor Inkubation 93,2 %. Durch Zulage von Trockenschnitzeln bzw. Topinambur in den verschiedenen Mischungsverhältnissen 30:70, 50:50 und 70:30 ist keine Änderung des Trockenmassegehaltes vor Inkubation festzustellen. Nach Inkubation kann für alle überprüften Mischungsverhältnisse ein Abbau der Trockensubstanz nachgewiesen werden. Während bei Heu nach Inkubation eine Abbaurate von $27,3 \pm 0,81$ % zu ermitteln ist, liegt nach Inkubation von Heu und Trockenschnitzeln im Verhältnis 70:30 eine Abbaurate von $33,9 \pm 1,34$ % vor, wohingegen die Inkubation von Heu und Topinambur im Verhältnis 70:30 einen Abbau von $41,0 \pm 6,18$ % ergibt. Mit Erhöhung des Anteils an Trockenschnitzeln bzw. Topinambur steigt jeweils der Trockenmasseabbau, so dass beim Mischungsverhältnis von 30:70 Trockensubstanzgehalte von $42,9 \pm 1,01$ % für die Kombination mit Trockenschnitzeln und $69,8 \pm 0,81$ % für die Mischung mit Topinambur zu verzeichnen sind. In Tab. 18 sind die Trockenmassegehalte der verschiedenen Mischverhältnisse vor und die Abbauraten nach Inkubation dargestellt.

ERGEBNISSE

Tab. 18: Mittlere Trockenmassegehalte [MW \pm SD, % uS] vor und Abbauraten nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Verhältnissen

Futtermittel	n	vor Inkubation	nach Inkubation
100% Heu	4	93,2	27,3 \pm 0,81
30% Heu : 70% To	2	93,2	70,4 / 69,3
50% Heu : 50% To	2	93,4	58,5 / 56,6
70% Heu : 30% To	2	93,0	45,4 / 36,7
30% Heu : 70% Tr	2	93,3	43,6 / 42,2
50% Heu : 50% Tr	2	93,1	37,7 / 38,2
70% Heu : 30% Tr	2	93,0	33,0 / 34,9

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile; unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte

2. Bildung von Metaboliten des mikrobiellen Stoffwechsels

2.1 Konzentration der flüchtigen Fettsäuren im Inkubationsmedium

Neben Essig- und Propionsäure sind die Konzentrationen von N- und I-Buttersäure, N- und I-Valeriansäure in der Kotsuspension analysiert worden, die jedoch nur in sehr geringen Konzentrationen nachzuweisen sind. Dargestellt werden Essigsäure, Propionsäure und der Gesamtgehalt der FFS; die Ergebnisse für Buttersäure und Valeriansäure können im Tabellenanhang eingesehen werden.

2.1.1 Essigsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur

In Tab. 24 werden die vor und nach Inkubation am Tag 1 und 10 gemessenen Essigsäurekonzentrationen in der Kotsuspension gegenübergestellt.

Am Tag 1 liegt der geringste Essigsäuregehalt vor Inkubation mit $1,10 \pm 0,50$ mmol/l für Hafer vor. Die Werte für Grünmehl ($1,87 \pm 0,72$ mmol/l), Topinambur ($1,92 \pm 0,74$ mmol/l) und Trockenschnitzel ($1,97 \pm 1,36$ mmol/l) unterscheiden sich nicht signifikant vom Hafer.

Bei allen vier Futtermitteln ist nach Inkubation am Tag 1 ein deutlicher Anstieg der Essigsäure zu verzeichnen ($p < 0,05$). Der niedrigste Wert von $5,60 \pm 1,14$ mmol/l wird beim Grünmehl gemessen, der gleichzeitig den geringsten Essigsäureanstieg darstellt. Der höchste Wert von $8,18 \pm 3,32$ mmol/l und gleichzeitig höchste Anstieg nach Inkubation wird bei Topinambur beobachtet.

Vor Inkubation am Tag 10 können keine signifikanten Unterschiede zwischen den Futtermitteln festgestellt werden. Die geringste Konzentration von $1,53 \pm 0,87$ mmol/l wird bei Hafer, der höchste Essigsäuregehalt mit $2,87 \pm 1,28$ mmol/l bei Topinambur nachgewiesen. Nach Inkubation steigt der Essigsäuregehalt in der Kotsuspension bei allen vier Futtermitteln signifikant an. Grünmehl weist mit einem Gehalt von $6,29 \pm 2,08$ mmol/l den geringsten Anstieg der Essigsäurekonzentration auf. Der höchste Wert wird bei Topinambur ($10,2 \pm 2,34$ mmol/l) gemessen, während der höchste Anstieg von $1,53 \pm 0,87$ mmol/l auf $9,31 \pm 1,41$ mmol/l im Vergleich vor und nach Inkubation bei Hafer auftritt.

Während zwischen den Futtermitteln sowohl am Tag 1 als auch am Tag 10 vor Inkubation und für Tag 1 nach Inkubation keine signifikanten Unterschiede bestehen, unterscheiden sich die Futtermitteln mit Ausnahme von Trockenschnitzeln und Hafer ($p = 0,065$) am Tag 10 deutlich voneinander.

2.1.2 Propionsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur

Am Tag 1 liegen die Konzentrationen für Propionsäure vor Inkubation zwischen $0,39 \pm 0,19$ mmol/l (Hafer) und $0,58 \pm 0,24$ mmol/l (Topinambur). Während bei Hafer und Topinambur nach Inkubation ein deutlicher Anstieg der Propionsäure-Konzentration beobachtet werden kann ($p < 0,05$), weisen Trockenschnitzel und Grünmehl annähernd konstante Gehalte auf.

Am Tag 10 wird der niedrigste Wert vor Inkubation mit $0,40 \pm 0,32$ mmol/l bei Hafer und der höchste Wert mit $0,72 \pm 0,37$ mmol/l bei Topinambur gemessen, wobei dieser als einziger signifikant über dem von Tag 1 liegt. Nur bei Topinambur ist nach Inkubation ein signifikanter Anstieg der Propionsäure-Konzentration festzustellen.

Während bei Grünmehl, Trockenschnitzeln und Topinambur höhere Konzentrationen nach Inkubation am Tag 10 im Vergleich zu Tag 1 auffallen, liegt der Wert für Hafer am Tag 10 jedoch unterhalb des Wertes von Tag 1, allerdings lassen sich diese Veränderungen nicht mit $p < 0,05$ absichern.

ERGEBNISSE

Im Vergleich der Futtermittel miteinander unterscheiden sich lediglich Topinambur und Grünmehl sowie Topinambur und Hafer am Tag 10 nach Inkubation deutlich voneinander ($p < 0,05$). Die Konzentrationen der Propionsäure vor und nach Inkubation an beiden Versuchstagen sind in Tab. 24 zusammengefasst. Die Entwicklung der Gesamtkonzentration bei den FFS vor und nach Inkubation verläuft analog zu den Veränderungen der Essigsäure- bzw. Propions urekonzentrationen (Tab. 24 und Abb. 4).

Tab. 24: Mittlere Gehalte von Essig-, Propionsäure und Gesamtgehalte der FFS im Inokulum [$MW \pm SD$, mmol/l] vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10, $n=6$

	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
FFS gesamt				
Grünmehl	2,54 \pm 1,09 ^{a#}	6,44 \pm 1,67 ^{b#}	2,69 \pm 1,15 ^{a#}	7,50 \pm 2,91 ^{b#}
Trockenschnitzel	2,80 \pm 1,93 ^{a#}	8,96 \pm 3,92 ^{b#}	2,31 \pm 0,88 ^{a#}	8,91 \pm 3,22 ^{b�}
Hafer	1,56 \pm 0,84 ^{a#}	8,96 \pm 3,49 ^{b#}	2,22 \pm 1,48 ^{a#}	10,3 \pm 2,06 ^{b�}
Topinambur	2,71 \pm 1,57 ^{a#}	10,7 \pm 6,44 ^{b#}	3,93 \pm 1,95 ^{a#}	14,3 \pm 5,39 ^{b�}
Essigsäure				
Grünmehl	1,87 \pm 0,72 ^{a#}	5,60 \pm 1,14 ^{b#}	2,00 \pm 0,73 ^{a#}	6,29 \pm 2,08 ^{b#}
Trockenschnitzel	1,97 \pm 1,36 ^{a#}	7,62 \pm 3,01 ^{b#}	1,54 \pm 0,56 ^{a#}	7,33 \pm 1,77 ^{b�}
Hafer	1,10 \pm 0,50 ^{a#}	7,76 \pm 2,93 ^{b#}	1,53 \pm 0,87 ^{a#}	9,31 \pm 1,41 ^{b*}
Topinambur	1,92 \pm 0,74 ^{a#}	8,18 \pm 3,32 ^{b#}	2,87 \pm 1,28 ^{a#}	10,2 \pm 2,34 ^{b�}
Propionsäure				
Grünmehl	0,51 \pm 0,24 ^{a#}	0,57 \pm 0,33 ^{a#}	0,49 \pm 0,26 ^{a#}	0,78 \pm 0,48 ^{a+}
Trockenschnitzel	0,56 \pm 0,34 ^{a#}	0,82 \pm 0,33 ^{a#}	0,52 \pm 0,19 ^{a#}	1,32 \pm 1,34 ^{a+�}
Hafer	0,39 \pm 0,19 ^{a#}	0,74 \pm 0,39 ^{b#}	0,40 \pm 0,32 ^{a#}	0,66 \pm 0,36 ^{ab+}
Topinambur	0,58 \pm 0,24 ^{a#}	2,18 \pm 2,86 ^{b#}	0,72 \pm 0,37 ^{c#}	3,44 \pm 2,57 ^{d�}

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile; unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte

ERGEBNISSE

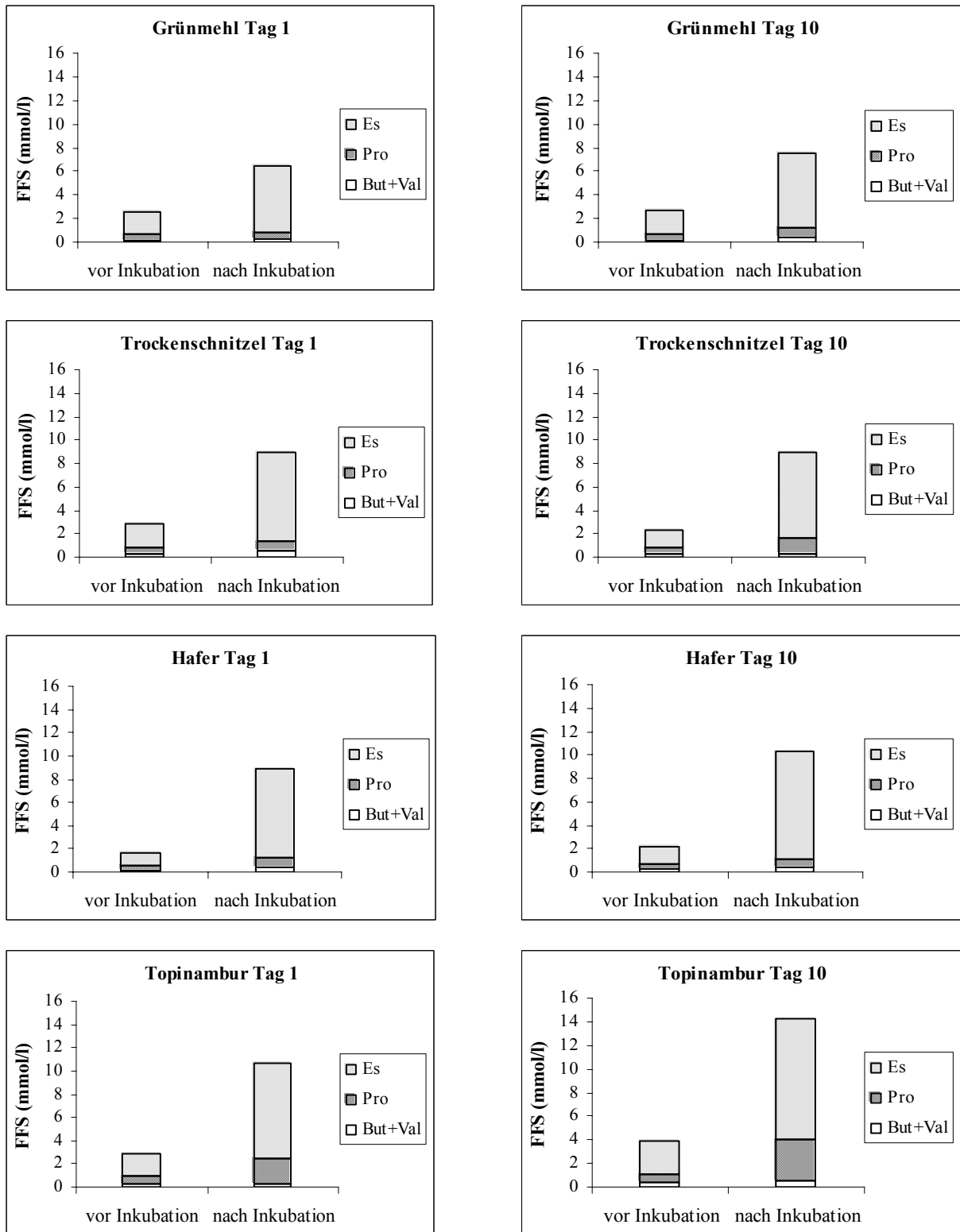


Abb. 4: Mittlere Konzentrationen der FFS Essigsäure, Propionsäure, Butter- und Valeriansäure vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur an Tag 1 und Tag 10

2.2.1 Essigsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Bei den verschiedenen Mischungsverhältnisse kommt es nach Inkubation zu einem Anstieg der Essigsäurekonzentration, wobei die höchsten Werte bei der Kombination Heu:Topinambur im Verhältnis 30:70 und 50:50 bestimmt werden kann.

Die geringste Essigsäurekonzentration ist bei der Kombination Heu:Trockenschnitzel im Verhältnis 30:70 nachzuweisen, wobei geringere Anteile an Trockenschnitzeln mit höheren Essigsäurekonzentrationen verbunden sind (Tab. 25).

2.2.2 Propionsäurekonzentration vor und nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Für die verschiedenen Mischungsverhältnisse kommt es, mit Ausnahme des Verhältnisses 30:70 bei beiden Kombinationen, zu einem Anstieg der Propionsäurekonzentration nach Inkubation. Der höchste Wert wird bei der Kombination mit Trockenschnitzeln gemessen, wobei mit geringeren Anteilen an Trockenschnitzeln die Konzentration der Propionsäure sinkt. Die geringste Konzentration ist bei der Kombination Heu:Topinambur im Verhältnis 30:70 nachweisbar. Der größte Anstieg der Konzentration im Vergleich vor und nach Inkubation ist bei beiden Kombinationen für das Verhältnis 50:50 zu beobachten (Tab. 25).

ERGEBNISSE

Tab. 25: Mittlere Gehalte von Essig-, Propionsäure und Gesamtgehalte der FFS im Inokulum [MW ± SD, mmol/l] vor und nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Futtermittel	n	vor Inkubation	n	nach Inkubation
FFS gesamt				
100% Heu	4	3,12 ± 2,39 ^a	4	6,97 ± 1,55 ^b
30%Heu : 70%To	2	2,73 / 3,83	2	8,92 / 7,89
50%Heu : 50%To	2	1,45 / 1,60	2	8,51 / 8,42
70%Heu : 30%To	2	3,03 / 2,61	2	7,24 / 7,33
30%Heu : 70%Tr	2	2,99 / 4,55	2	8,04 / 5,28
50%Heu : 50%Tr	2	1,14 / 1,61	2	6,82 / 8,39
70%Heu : 30%Tr	2	4,58 / 2,46	2	8,07 / 8,14
Essigsäure				
100% Heu	4	2,03 ± 1,46 ^a	4	4,96 ± 0,81 ^b
30%Heu : 70%To	2	1,86 / 2,66	2	7,79 / 7,01
50%Heu : 50%To	2	1,07 / 0,92	2	7,41 / 7,19
70%Heu : 30%To	2	2,54 / 1,86	2	6,29 / 6,34
30%Heu : 70%Tr	2	2,35 / 3,22	2	6,72 / 4,78
50%Heu : 50%Tr	2	0,95 / 1,32	2	6,07 / 7,34
70%Heu : 30%Tr	2	3,36 / 1,80	2	6,77 / 6,95
Propionsäure				
100% Heu	4	0,70 ± 0,52 ^a	4	0,75 ± 0,50 ^b
30%Heu : 70%To	2	0,72 / 0,80	2	0,85 / 0,81
50%Heu : 50%To	2	0,33 / 0,43	2	0,77 / 0,86
70%Heu : 30%To	2	0,34 / 0,65	2	0,73 / 0,61
30%Heu : 70%Tr	2	0,39 / 0,85	2	0,86 / 0,31
50%Heu : 50%Tr	2	0,15 / 0,21	2	0,58 / 0,84
70%Heu : 30%Tr	2	0,87 / 0,48	2	0,94 / 0,80

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile

2.3 Laktatkonzentration im Inkubationsmedium

2.3.1 Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur

Sowohl am Tag 1 als auch am Tag 10 liegen die vor Inkubation gemessenen Laktatkonzentrationen bei jedem Futtermittel unter 0,3 mmol/l. Die höchste Konzentration wird an beiden Tagen bei Trockenschnitzeln gemessen. Bei Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur ist nach Inkubation ein signifikanter Anstieg der Konzentration nachzuweisen. Dagegen ist der geringste Laktatwert von $0,24 \pm 0,51$ mmol/l bei Grünmehl nicht statistisch abzusichern. Er hebt sich deutlich von den höheren Werten der anderen Futtermittel ab ($p < 0,05$). Der höchste Laktatgehalt von $8,52 \pm 4,88$ mmol/l kann bei Topinambur nachgewiesen werden.

Am Tag 10 kommt es bei allen Futtermitteln zu einem signifikanten Anstieg der Laktatkonzentration. Den niedrigsten Laktatwert weist Grünmehl auf, der sich mit $p < 0,05$ deutlich von den anderen Futtermitteln abhebt. Die Unterschiede zwischen den anderen Futtermitteln sind nicht statistisch abzusichern, wobei der Unterschied zwischen Hafer und Topinambur mit $p = 0,054$ beschrieben wird. Der höchste Laktatwert wird mit $8,52 \pm 4,88$ mmol/l bei Topinambur gemessen.

Unterschiede zwischen Tag 1 und Tag 10 nach Inkubation können für die verschiedenen Futtermittel nicht festgestellt werden.

Auffällig sind bei diesem Parameter die hohen Standardabweichungen bei Topinambur nach Inkubation am Tag 1 und 10.

Die mittleren Laktatgehalte vor und nach Inkubation an beiden Versuchstagen werden in Tab. 26 dargestellt.

ERGEBNISSE

Tab. 26: Mittlere Laktatgehalte [MW \pm SD, mmol/l] vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10, n=6

Futtermittel	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
Grünmehl	0,07 \pm 0,15 ^{a#}	0,24 \pm 0,51 ^{ab#}	0,10 \pm 0,24 ^{a#}	0,62 \pm 0,30 ^{b#}
Trockenschnitzel	0,23 \pm 0,25 ^{a#}	5,44 \pm 0,81 ^{bo}	0,27 \pm 0,30 ^{a#}	4,36 \pm 0,60 ^{bo}
Hafer	0,10 \pm 0,16 ^{a#}	4,31 \pm 1,19 ^{bo}	0,09 \pm 0,20 ^{a#}	3,70 \pm 0,66 ^{bo}
Topinambur	0,06 \pm 0,14 ^{a#}	7,53 \pm 7,10 ^{bo}	0,18 \pm 0,17 ^{a#}	8,52 \pm 4,88 ^{bo}

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile; unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte

2.3.2 Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Für die verschiedenen Mischungsverhältnisse kommt es nach Inkubation zu einem Anstieg der Laktatkonzentration, wobei mit steigendem Anteil an Heu geringere Laktatgehalte gemessen werden. Während der höchste Wert bei der Kombination von Heu und Topinambur im Verhältnis 30:70 vorliegt, wird die niedrigste Konzentration für die Kombination mit Trockenschnitzeln beobachtet (Tab. 27).

Tab. 27: Mittlere Laktatgehalte [MW \pm SD, mmol/l] vor und nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Futtermittel	n	vor Inkubation	nach Inkubation
100% Heu	4	0,04 \pm 0,07 ^a	0,91 \pm 0,49 ^b
30% Heu : 70% To	2	0,46 / 0,00	6,91 / 8,67
50% Heu : 50% To	2	0,00 / 0,71	6,75 / 5,96
70% Heu : 30% To	2	0,17 / 0,00	4,59 / 4,21
30% Heu : 70% Tr	2	0,06 / 0,00	3,10 / 6,05
50% Heu : 50% Tr	2	0,59 / 0,32	2,32 / 2,46
70% Heu : 30% Tr	2	0,24 / 0,12	2,95 / 2,27

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile

2.4 pH-Werte im Inkubationsmedium

2.4.1 Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur

Durch Einstellung des pH-Wertes mittels Pufferlösung liegen die pH-Werte an beiden Versuchstagen vor Inkubation im Mittel zwischen 7,43 und 7,51 (Tab. 28).

Während der pH-Wert bei Topinambur und Trockenschnitzel sowohl am Tag 1 als auch am Tag 10 nach Inkubation deutlich abfällt ($p < 0,05$), ist dieser Abfall bei Hafer nur am Tag 10 statistisch abzusichern. Am Tag 1 ist lediglich ein tendenzieller Abfall von $7,47 \pm 0,08$ auf $7,32 \pm 0,19$ zu beobachten ($p = 0,069$). Bei Grünmehl verändert sich der pH-Wert an keinem der beiden Tage signifikant. Topinambur weist sowohl am Tag 1 ($7,26 \pm 0,18$) als auch am Tag 10 ($7,17 \pm 0,04$) den jeweils niedrigsten pH-Werte nach Inkubation auf. Hierbei stellt die Differenz von 0,31 zwischen pH-Wert vor und nach Inkubation am Tag 10 den insgesamt größten gemessenen pH-Wert-Abfall dar. Bei keinem der Futtermittel ist ein Unterschied zwischen den Werten nach Inkubation an Tag 1 und Tag 10 festzustellen (Tab. 28).

Vergleicht man die Futtermittel am Tag 1, so ist der pH-Wert nach Inkubation von Topinambur deutlich niedriger als der pH-Wert von Grünmehl ($p < 0,05$), während sich der Unterschied des pH-Wertes nach Inkubation von Trockenschnitzeln gegenüber Grünmehl nicht statistisch abzusichern ist ($p = 0,079$). Am Tag 10 heben sich die pH-Werte von Topinambur, Hafer und Trockenschnitzeln signifikant vom Grünmehl ab. Auch die pH-Werte von Topinambur und Trockenschnitzeln unterscheiden sich nach Inkubation deutlich ($p < 0,05$).

Tab. 28: Mittlere pH-Werte des Inokulums [MW \pm SD] vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10, n=6

Futtermittel	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
Grünmehl	$7,51 \pm 0,07^{a\#}$	$7,49 \pm 0,14^{a\#}$	$7,47 \pm 0,06^{a\#}$	$7,52 \pm 0,08^{a\#}$
Trockenschnitzel	$7,43 \pm 0,05^{a\#}$	$7,34 \pm 0,07^{b\#}$	$7,49 \pm 0,10^{a\#}$	$7,37 \pm 0,09^{b*}$
Hafer	$7,47 \pm 0,08^{a\#}$	$7,32 \pm 0,19^{ab\#\circ}$	$7,45 \pm 0,05^{a\#}$	$7,26 \pm 0,08^{b\circ*}$
Topinambur	$7,50 \pm 0,09^{a\#}$	$7,26 \pm 0,18^{b\circ}$	$7,48 \pm 0,05^{a\#}$	$7,17 \pm 0,04^{b\circ}$

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile; unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte

2.4.2 Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Durch Einstellung des pH-Wertes mittels Pufferlösung liegen die Werte vor Inkubation bei Heu und den verschiedenen Mischungsverhältnissen mit Trockenschnitzeln und Topinambur alle zwischen 7,39 und 7,45.

Während der Inkubation von Heu steigt der pH-Wert auf $7,54 \pm 0,08$ an ($p < 0,05$). Auch nach Inkubation der Kombinationen Heu:Trockenschnitzel kommt es zum Anstieg des pH-Wertes. Im Gegensatz dazu kommt es nach der Inkubation von Heu und Topinambur zum Absinken des pH-Wertes, wobei der niedrigste pH-Wert von $7,34 \pm 0,09$ bei einem Topinamburanteil von 70 % vorliegt (Tab 29).

Tab. 29: Mittlere pH-Werte des Inokulums [MW \pm SD] vor und nach Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Futtermittel	n	vor Inkubation	nach Inkubation
100% Heu	4	$7,45 \pm 0,04^a$	$7,54 \pm 0,08^b$
30% Heu : 70% To	2	7,43 / 7,43	7,40 / 7,27
50% Heu : 50% To	2	7,48 / 7,40	7,25 / 7,49
70% Heu : 30% To	2	7,42 / 7,35	7,42 / 7,38
30% Heu : 70% Tr	2	7,36 / 7,42	7,53 / 7,42
50% Heu : 50% Tr	2	7,46 / 7,40	7,37 / 7,58
70% Heu : 30% Tr	2	7,42 / 7,38	7,40 / 7,48

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile

3. Gasproduktion während der Inkubation der verschiedenen Futtermittel

3.1 Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur

Die höchste Gasproduktion wird sowohl an Tag 1 als auch an Tag 10 der Fütterungsperiode bei Topinambur beobachtet, wobei eine mittlere Gasmenge von 106,6 ml am Tag 1 und 106,5 ml am Tag 10 zu verzeichnen ist.

Die Gasmengen, die innerhalb der ersten 10 h während der Inkubation von Grünmehl und Hafer produziert werden, sind vergleichbar groß, wohingegen Trockenschnitzel, und noch deutlicher Topinambur, eine höhere Gasbildung aufweisen. In dem Inkubationszeitraum 12 bis 24 h nach Inkubation kann für Hafer die höchste Gasbildung konstatiert werden ($p < 0,05$).

Während am Tag 1 die gemessene Gesamtgasmenge für Trockenschnitzel bei 45,0 ml und für Hafer bei 39,5 ml liegt, können am Tag 10 für Trockenschnitzel 43,2 ml und für Hafer 48,8 ml gemessen werden. Die geringste Gasproduktion findet sowohl an Tag 1 (22,0 ml) als auch an Tag 10 (23,0 ml) während der Inkubation von Grünmehl statt (Tab. 30 und 31).

Im Vergleich des zeitlichen Verlaufs sinkt bei Grünmehl die Gasproduktion nach der ersten Messung 2 h post incubationem ab und beginnt erst 12 h post incubationem langsam wieder anzusteigen. Die Gasproduktion bei Hafer verläuft ähnlich. Bei Trockenschnitzel und Topinambur dagegen kommt es zu einem stetigen Anstieg der produzierten Gasmenge pro Zeiteinheit bis 6 bzw. 8 h post incubationem. Danach sinkt die Gasproduktion bis 12 h post incubationem ab, um danach erneut anzusteigen.

Unterschiede zwischen Tag 1 und Tag 10 können bei keinem der Futtermittel festgestellt werden.

ERGEBNISSE

Tab. 30: Gasproduktion [MW \pm SD, ml in 2 bzw. 12 h] während der Inkubation der verschiedenen Futtermittel am Tag 1, n=6

FM	Inkubationszeit							Summe
	2 h ^{a)}	4 h ^{a)}	6 h ^{a)}	8 h ^{a)}	10 h ^{a)}	12 h ^{a)}	24 h ^{b)}	
Gm	6,13 \pm 0,73 [#]	3,24 \pm 1,03 [#]	2,51 \pm 0,73 [#]	2,62 \pm 0,63 [#]	2,19 \pm 0,44 [#]	1,91 \pm 0,19 [#]	3,37 \pm 0,65 [#]	22,0 \pm 2,37 [#]
Tr	5,69 \pm 0,95 [#]	5,91 \pm 3,62 ^{#+}	8,3 \pm 2,92 [°]	6,28 \pm 2,15 [°]	4,14 \pm 0,85 [°]	2,93 \pm 0,85 [#]	11,8 \pm 4,24 [°]	45,0 \pm 4,22 [°]
Ha	5,54 \pm 0,76 [#]	2,01 \pm 0,46 [*]	1,85 \pm 0,77 [#]	2,32 \pm 1,31 [#]	2,82 \pm 1,21 [#]	4,21 \pm 1,65 [*]	20,8 \pm 3,81 [*]	39,5 \pm 7,57 [°]
To	5,73 \pm 0,66 [#]	7,34 \pm 4,82 ⁺	20,7 \pm 4,21 ⁺	27,3 \pm 2,61 ⁺	20,4 \pm 2,61 ⁺	12,1 \pm 2,90 ⁺	13,2 \pm 7,09 [°]	106,6 \pm 15,1 ⁺

Unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte; a) in 2 h gebildete Gasmenge; b) in 12 h gebildete Gasmenge

Tab. 31: Gasproduktion [MW \pm SD, ml] während der Inkubation der verschiedenen Futtermittel am Tag 10, n=6

FM	Inkubationszeit							Summe
	2 h ^{a)}	4 h ^{a)}	6 h ^{a)}	8 h ^{a)}	10 h ^{a)}	12 h ^{a)}	24 h ^{b)}	
Gm	6,64 \pm 0,63 [#]	3,53 \pm 0,63 [#]	2,79 \pm 0,70 [#]	2,72 \pm 0,56 [#]	2,04 \pm 0,70 [#]	1,89 \pm 0,53 [#]	3,39 \pm 0,41 [#]	23,0 \pm 3,17 [#]
Tr	5,68 \pm 0,52 [#]	6,19 \pm 1,95 [°]	9,76 \pm 0,97 [°]	5,47 \pm 0,45 [°]	3,58 \pm 0,24 [°]	2,53 \pm 0,09 [#]	9,97 \pm 2,86 [°]	43,2 \pm 3,26 [°]
Ha	5,18 \pm 0,45 [#]	2,18 \pm 0,41 [*]	2,12 \pm 0,94 [#]	3,19 \pm 1,42 [#]	4,42 \pm 1,94 [°]	6,41 \pm 3,10 [*]	25,3 \pm 11,5 [*]	48,8 \pm 14,7 [°]
To	6,16 \pm 0,98 [#]	10,2 \pm 5,73 ⁺	20,1 \pm 2,83 ⁺	22,0 \pm 5,36 ⁺	17,3 \pm 2,77 ⁺	14,7 \pm 3,19 ⁺	16,0 \pm 5,80 ⁺	106,5 \pm 16,0 ⁺

Unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte; a) in 2 h gebildete Gasmenge; b) in 12 h gebildete Gasmenge

ERGEBNISSE

Ähnliche Unterschiede zeichnen sich beim Vergleich der Flächen (AUC) unterhalb der Kurven des additiven Gasvolumens der einzelnen Futtermittel ab (Abb. 5).

Am Tag 1 weist Grünmehl mit einer Fläche von $373,0 \pm 42,3$ das geringste additive Gasvolumen auf, gefolgt von Hafer mit einer Fläche von $460,3 \pm 99,5$. Der Unterschied zwischen den beiden Flächen ist nicht statistisch abzusichern. Das additive Gasvolumen bei Trockenschnitzeln mit einer Fläche von $684,6 \pm 60,5$ ist dagegen signifikant größer als die Flächen von Grünmehl und Hafer. Die Fläche von Topinambur mit einem Wert von $1681,1 \pm 193,0$ unterscheidet sich deutlich von den anderen Futtermitteln ($p < 0,05$).

Am Tag 10 beträgt die Fläche des additiven Gasvolumens bei Grünmehl $391,5 \pm 55,0$ und bildet damit wie an Tag 1 die kleinste Fläche, gefolgt von Hafer mit einer signifikant größeren Fläche von $556,0 \pm 145,1$. Die Fläche des additiven Gasvolumens von Trockenschnitzeln hebt sich mit $680,0 \pm 38,4$ signifikant von Grünmehl ab, während der Unterschied zu Hafer nicht statistisch abgesichert werden kann. Topinambur hebt sich mit einer Fläche von $1637,2 \pm 254,1$ wie schon am Tag 1 deutlich von den übrigen Futtermitteln ab ($p < 0,05$).

Bei keinem der Futtermittel unterscheiden sich die Flächen unterhalb der Kurven des additiven Gasvolumens am Tag 1 und Tag 10 voneinander.

In Tab. 32 sind die Flächen der einzelnen Futtermittel am Tag 1 und Tag 10 gegenübergestellt.

Tab. 32: Mittlere Flächen [MW \pm SD] der additiven Gasproduktion für Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10

Futtermittel	n	Tag 1	Tag 10
Grünmehl	6	$373,0 \pm 42,3^{a\#}$	$391,5 \pm 55,0^{a\#}$
Trockenschnitzel	6	$684,6 \pm 60,5^{a^o}$	$680,0 \pm 38,4^{a^+}$
Hafer	6	$460,3 \pm 99,5^{a\#}$	$556,0 \pm 145,1^{a^+}$
Topinambur	6	$1681,1 \pm 193,0^{a^+}$	$1637,2 \pm 254,1^{a^o}$

Unterschiedliche Kleinbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile; unterschiedliche Symbole kennzeichnen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte

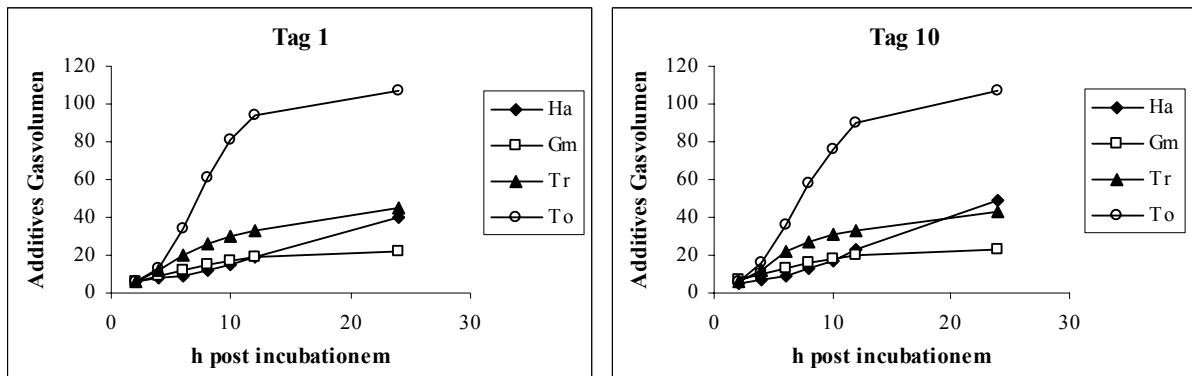


Abb. 5: Additives Gasvolumen (MW, ml) für Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10

3.2 Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

Die höchste Gasbildung wird bei Topinambur beobachtet, wobei steigende Anteile Heu zu einer Reduzierung der Gasbildung führen. Die Gasbildung bei Trockenschnitzeln ist deutlich moderater, des Weiteren haben steigende Anteile Heu kaum Einfluß auf die Gasentwicklung in Kombination mit Trockenschnitzeln (Tab. 33).

ERGEBNISSE

Tab. 33: Gasproduktion [MW \pm SD, ml in 2 bzw. 12 h] während der Inkubation von Heu, Trockenschnitzeln und Topinambur in verschiedenen Mischungsverhältnissen (30:70, 50:50, 70:30)

		Inkubationszeit							
FM	n	2 h ^{a)}	4 h ^{a)}	6 h ^{a)}	8 h ^{a)}	10 h ^{a)}	12 h ^{a)}	24 h ^{b)}	Summe
100% Heu	4	5,39 \pm 0,41	3,52 \pm 0,54	4,42 \pm 0,29	2,68 \pm 0,20	1,68 \pm 0,23	1,17 \pm 0,12	1,90 \pm 0,17	20,75
30%:70%									
Heu : To	2	5,37	6,97	19,2	19,0	18,8	10,3	10,7	73,9
		4,50	3,17	11,3	9,67	8,83	9,17	10,8	
Heu : Tr	2	5,90	1,07	4,37	8,83	5,47	3,53	9,83	33,6
		4,73	6,33	6,37	3,73	1,97	1,33	3,67	
50%:50%									
Heu : To	2	6,10	8,23	11,8	12,7	10,3	7,80	9,16	53,7
		5,20	1,40	8,03	6,83	7,17	7,33	5,33	
Heu : Tr	2	5,87	3,00	9,83	5,43	3,30	2,17	7,03	33,1
		6,53	5,40	5,97	4,50	2,63	1,17	3,33	
70%:30%									
Heu : To	2	5,90	8,60	10,3	6,00	4,57	3,83	5,20	39,3
		6,20	2,50	8,17	8,33	4,00	2,73	2,25	
Heu : Tr	2	4,67	5,63	5,83	3,30	2,00	1,50	3,40	28,2
		6,47	6,63	5,73	4,00	2,33	1,50	3,30	

a) in 2 h gebildete Gasmenge; b) in 12 h gebildete Gasmenge

4. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse

Bei allen vier im Versuch eingesetzten Futtermitteln ist sowohl am Tag 1 als auch am Tag 10 der Fütterungsperiode ein **Trockensubstanz-Abbau** in der Reihenfolge **Topinambur > Hafer > Trockenschnitzel > Grünmehl** nachzuweisen.

Die Konzentration der **Essigsäure** und gleichzeitig die Gesamtkonzentration der **FFS** steigen an beiden Versuchstagen nach Inkubation signifikant an. Im Gegensatz dazu kann dieser Effekt in Bezug auf **Propionsäure** nur bei Hafer an Tag 1 und bei Topinambur an Tag 10 beobachtet werden.

Am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode ist bei allen Futtermitteln ein signifikanter Anstieg der **Laktat**-Konzentration nach Inkubation in der Rangierung Grünmehl < Hafer < Trockenschnitzel < Topinambur darstellbar.

Während bei Trockenschnitzeln und Topinambur der **pH-Wert** an beiden Versuchstagen signifikant sinkt, ist bei Hafer und Grünmehl keine Veränderung nach Inkubation zu verzeichnen.

Die durch die vier im Versuch eingesetzten Futtermittel produzierten **Gas**-Mengen ergeben folgende Rangierung:

Topinambur > Trockenschnitzel > Hafer > Grünmehl.

Während die Gasbildung pro Zeiteinheit bei Grünmehl und Hafer zunächst sinkt, um nach 12 h post incubationem langsam anzusteigen, kommt es bei Trockenschnitzeln und Topinambur zu einer stetigen Zunahme der Gasproduktion pro Zeiteinheit bis 6 bzw. 8 h post incubationem.

V. Diskussion

1. Kritik der Methoden

1.1 Alter der Versuchstiere

Das Alter der für die Versuchsdurchführung ausgewählten sechs Traberwallache liegt zwischen 3 und 22 Jahren und ist damit sehr heterogen. Um standardisierte Fütterungsbedingungen zu schaffen, sind die Pferde vor jedem Versuchsdurchgang über einen Zeitraum von mindestens 10 Tagen mit Heu gefüttert worden.

Angaben zur Zusammensetzung der Mikroflora sind in der Untersuchung nicht durchgeführt worden, so dass bezüglich der altersbedingten Variationen anhand dieses Parameters keine Aussage getroffen werden kann. Metaboliten aus dem bakteriellen Stoffwechsel wie zum Beispiel Laktat zeigen allerdings erhebliche Unterschiede zwischen den Pferden. Bei drei Pferden konnten zu Beginn des Versuches keine Laktatgehalte (bzw. Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze) im Inokulum nachgewiesen werden, wohingegen bei drei Pferden Laktatkonzentrationen von rund 3,4 - 3,5 mmol/l beobachtet wurden. Die dargestellten Variationen zwischen den Pferden scheinen aber altersunabhängig zu sein.

Untersuchungen von HAYES et al. (2003) zeigen, dass die mikrobielle Zusammensetzung der Faeces beim Fohlen bereits im Alter von 1 Monat der Zusammensetzung der mikrobiellen Flora der Mutterstute entspricht. Eine viel entscheidendere Rolle bei der Entwicklung des mikrobiellen Ökosystems im Magen-Darm-Trakt spielen die Einflüsse des Wirtes und seiner Umgebung. Zu diesen allogenen Faktoren zählen unter anderem Nährstoffangebot und Immunität (SAVAGE, 1982). Da die Versuchstiere unter verschiedenen Bedingungen aufgewachsen sind, ist davon auszugehen, dass die Mikroflora des Magen-Darmtraktes individuelle Zusammensetzungen aufweist.

Um zukünftig individuelle Unterschiede in der Keimflorazusammensetzung zu minimieren, besteht die Möglichkeit, anhand eines Parameters des mikrobiellen Stoffwechsels wie beispielsweise Laktat eine Vorselektion der Probanden durchzuführen. Auch mikrobielle Untersuchungen der Keimflora ermöglicht die Zusammenstellung einer Probandengruppe mit annähernd gleichen Voraussetzungen bezüglich der Darmflora.

1.2 Bewertung der angewendeten Systeme

Sowohl bei der Inkubation als auch bei der Gasmessung wird das System Mikroflora genutzt. Im Vordergrund steht hierbei die Bewertung der Fermentation, anhand derer Rückschlüsse auf die unterschiedliche Nutzung der Futtermittel bzw. Substrate durch Mikroorganismen gezogen werden sollen. Genauere Informationen über die vorhandenen Keime und eventuelle Veränderungen in der Zusammensetzung der Keimflora bieten diese Methoden allerdings nicht. Der Vorteil eines in-vitro-Systems liegt darin, dass Tierversuche durch nicht-invasive Methoden ersetzt werden können, wobei speziell die Nutzung von Faeces anstelle von Caecum- bzw. Coloninhalt einen Verzicht auf fistulierte Tiere ermöglicht.

In beiden Systemen sind Faeces anstelle von Darminhalt als Inokulum zum Einsatz gekommen, wobei davon ausgegangen wird, dass sich die Zusammensetzung der Caecal- und Colonflora in der Fäkalflora widerspiegelt (LOWMAN et al., 1996). Unterschiede zwischen den verschiedenen Darmabschnitten bzw. im Kot sind allerdings nicht auszuschließen. Da die Faecalflora jedoch Veränderungen der Keimflora bei unterschiedlicher Rationsgestaltung reflektiert (Tab.33), ist sie für Untersuchungen fütterungsbedingter Veränderungen der Dickdarmflora nutzbar.

Tab. 33: Keimzahlen [log/ml Ingesta] in verschiedenen Abschnitten des Gastrointestinaltraktes des Pferdes in Abhängigkeit der Fütterung (DE FOMBELLE et al., 2003b)

	Cellulyten		Laktobazillen		Streptokokken		Laktatverwertende Keime	
	R	G	R	G	R	G	R	G
Caecum	6,0	5,0	6,2	6,1	6,2	6,3	6,1	5,6
RV Colon	6,0	5,5	6,5	7,0	7,1	7,6	5,8	6,0
LD Colon	5,6	4,7	7,4	7,0	7,4	6,9	6,5	5,9
Rektum	5,2	5,0	7,5	7,4	7,4	7,8	6,3	6,2

R: raufutterbetonte Ration; G: getreidebetonte Ration

RV: Rechts Ventral; LD: Links Dorsal

1.2.1 Inkubationsversuch

Im Inkubator des ANKOM *Technology*[®]-Systems wird das entsprechende Futtermittel, gemahlen in kleine Beutel eingeschweißt, für einen definierten Zeitraum in Faeces als Inokulum inkubiert.

Nicht bekannt ist, in welchem Maße es zur Diffusion von Partikeln aus dem Inkubationsbeutel in das Inokulum kommt und damit zur Verfälschung des tatsächlichen Abbaus des Futtermittels führt. Die Studie von DEWHURST et al. (1995) zeigt jedoch, dass der Verlust von kleineren Partikeln durch die Poren der Beutel bei der in-vitro-Methode geringer ist, als es bei vergleichbaren Untersuchungen mittels Nylonbag-Technik in-situ der Fall ist. Solche Verluste scheinen aber grundsätzlich aufzutreten, so dass man bei den Ergebnissen präziser von einem Verschwinden der Nährstoffe aus den Filterbeuteln spricht.

Da es sich bei dem ANKOM *Technology*[®]-System um ein geschlossenes System handelt, kann es durch den fehlenden Abtransport der entstehenden Stoffwechselmetaboliten zu deren Akkumulation kommen. Resorptions- und Absorbtionsvorgänge, die im Magen-Darm-Trakt des Tieres stattfinden, werden nicht berücksichtigt (JOHNSON, 1966).

1.2.2 Gasmessung

Mittels des Systems nach THEODOROU et al. (1994) sind über einen Zeitraum von 24 Stunden die vom jeweiligen Futtermittel produzierten Gasmengen gemessen worden. Während in den ersten 12 Stunden die Messungen in 2-stündigen Intervallen stattgefunden haben, ist in den darauf folgenden 12 Stunden lediglich eine Messung zum Zeitpunkt 24 h post incubationem erfolgt. Dieses Beprobungsraster ist insofern anwendbar, als daß in dieser Studie ein besonderes Augenmerk auf der schnellen Abbaukinetik der Fruktane liegt, die zu den rasch fermentierbaren Kohlenhydraten gezählt werden (HOFFMANN et al., 2001). In Studien, die einen größeren Zeitraum abdecken und genauere Informationen erbringen sollen, ist der Einsatz von automatisierten Mess-Systemen wie die nach CONE et al. (1996) empfehlenswert, bei denen die Entnahme der Gasproben bzw. die Messungen computergesteuert vollzogen werden.

1.3 Auswahl der Untersuchungsparameter

In dieser Studie sind Parameter ausgewählt worden, die sowohl zur Beurteilung des Futtermittelabbaus (Trockenmasse, Gas) als auch zur Bewertung der mikrobiellen Fermentation (Laktat, pH-Wert, FFS) herangezogen werden können.

Bei der Trockenmasse handelt es sich um einen klassischen Parameter, dessen Abbau zunächst einen Überblick über das Verschwinden der Nährstoffe insgesamt gibt.

Da Kohlenhydrate den Mikroorganismen des Dickdarms hauptsächlich als Substrat dienen, ist auch der Rohfaserabbau untersucht worden. In dem genannten System ist jedoch kein Rohfaserabbau nachweisbar. Eine mögliche Ursache hierfür könnte die Trocknung der Filterbeutel vor Befüllung mit den Futtermitteln darstellen, durch die es eventuell zu Verklebungen der Poren gekommen sein kann, so dass noch Diffusion von gelösten Kleinsteilchen stattfinden konnte, während die faserabbauenden Mikroorganismen nicht in die Beutel diffundieren konnten. Jegliche Erklärungsversuche bleiben jedoch spekulativ, die Ursache kann nicht weiter geklärt werden.

Neben dem Trockenmassenabbau ist auch der Parameter Gasentwicklung herangezogen worden. Die Kombination dieser beiden Parameter gibt Aufschluss über die in-vitro-Abbaubarkeit, anhand derer eine Schätzung der Verdaulichkeit in-vivo ermöglicht werden soll.

Durch die Bestimmung der Metaboliten des mikrobiellen Stoffwechsels wie Laktat, pH-Wert und FFS dagegen sollen Informationen über eventuelle Veränderungen der Darmflora gewonnen werden. Da die klassische mikrobielle Bestimmung der Keimflora hierdurch jedoch nicht ersetzt werden kann, sollte in zukünftigen Untersuchungen zur Untermauerung der indirekten Parameter eine direkte Bestimmung parallel durchgeführt werden.

1.4 Versuchsdesign

Im Gegensatz zu anderen Untersuchungsmethoden wie beispielsweise dem Hohenheimer Gastest, bei dem durch Einsatz lediglich eines Versuchstieres eine optimale Standardisierung ermöglicht wird, sind in der vorliegenden Studie sechs Probanden zum Einsatz gekommen. Vorteil dieses Designs ist die Darstellung von individuell unterschiedlichen Reaktionen der Mikroflora auf ein Futtermittel.

Auch das Beprobungsmuster ist modifiziert worden. Während bei reinen futtermittelkundlichen Untersuchungen die Beprobung eines an Heu adaptierten Tieres ausreicht, spielt in dieser Studie die Frage nach Adaptation an die verschiedenen Futtermittel eine wichtige Rolle. Um im Verlauf des Versuchs eine eventuelle Adaptation abklären zu können, haben die Tiere vor jeder Versuchsphase eine Wash-out-Periode von mindestens zehn Tagen durchlaufen, während der die Tiere ausschließlich mit Heu gefüttert worden sind. In jeder sich anschließenden Versuchsphase erhielten die Pferde neben dem Heu das zu untersuchende Futtermittel in entsprechender Dosierung (siehe Kapitel III).

Der am Tag 1 der Fütterungsperiode gewonnene Kot ermöglicht es, die Einflüsse des jeweiligen Futtermittels auf eine Heu-adaptierte Mikroflora zu prüfen. Die Verwendung des Kotes von Tieren, die an das jeweilige Futtermittel adaptiert sind, am Tag 10 dagegen soll Aufschluss über eventuelle Adaptationsvorgänge bringen.

Die Dauer sowohl der Wash-out-Phasen als auch der Versuchsphasen ist mit zehn Tagen relativ kurz bemessen. Abzuklären bleibt, ob eine Verlängerung beider Intervalle eine Modifikation der Ergebnisse bewirken würde.

Durch die vergleichenden Untersuchungen der verschiedenen Futtermittel mit den jeweils gleichen Tieren unter standardisierten Bedingungen ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegeben.

2. Erörterung der eigenen Ergebnisse

Der Abbau an **Trockenmasse** im in-vitro-System lässt den Vergleich der Futtermittel hinsichtlich des Umfangs der Fermentierbarkeit als auch des zeitlichen Ablaufs mikrobieller Aktivität zu. Letzteres gibt zusammen mit den Ergebnissen zu den Fermentationsprodukten und dem pH-Wert im Inkubationsmedium Anhaltspunkte über Veränderungen der Mikroflora. Dies kann mit gewissen Vorbehalten auf die Bedingungen in vivo übertragen werden. Im Verlauf einer 48-stündigen Inkubation werden die Futtermittel hinsichtlich der Abbaubarkeit der Trockenmasse – und dies darf für die organische Substanz in gleicher Weise angenommen werden - folgendermaßen rangiert: Topinambur > Hafer > Trockenschnitzel > Grünfuttermehl. Diese Reihenfolge spiegelt die scheinbare Verdaulichkeit der Futtermittel in vivo wider. Differenzen bestehen allerdings in der absoluten Höhe der in-vitro Abbaubarkeit und der in vivo Verdaulichkeit. Der Trockenmassenabbau für Grünfuttermehl von 32 % ist mit der in-vivo gemessenen Verdaulichkeit von BARSNICK (2003) vergleichbar, die für Heu mit 35-40 % angegeben werden. Im Gegensatz dazu können die von derselben Autorin ermittelten Werte für Trockenschnitzel von 85-90 % in der vorliegenden in-vitro Studie nicht reproduziert werden, sondern liegen mit rund 53 % weit darunter. Trotzdem kann der von MOORE-COLYER et al. (2001) beschriebene signifikant größere Trockenmasseverlust bei Trockenschnitzeln im Vergleich zu Heu anhand der eigenen Ergebnisse bestätigt werden. Der Trockenmassenabbau bei Hafer liegt im Mittel an beiden Versuchstagen zwischen 68,9 und 70,9 %. MURRAY et al. (2003) konnten bei der gemeinsamen Inkubation von 50 % eines stärkehaltigen Konzentrates (keine genauen Angaben zu Konzentration und Herkunft der Stärke) und 50 % Heu einen Trockensubstanzverlust von 60 % verzeichnen. Für den bei Topinambur gemessenen Abbau von rund 90 % liegen in der Literatur keine Vergleichsmöglichkeiten vor. Dass Topinambur im Vergleich zu den anderen Futtermitteln rascher fermentiert wird, hat MÖBELER (2004) mittels Wasserstoff- und Methanexhalation bereits indirekt nachgewiesen. Bei diesem hohen Wert bleibt jedoch abzuklären, ob und in welchem Umfang Diffusionsvorgänge des leicht löslichen Inulins aus den Beuteln berücksichtigt werden müssen. Die Vermahlung von Topinambur in einer Labormühle (Zentrifugalmühle) durch ein Sieb mit 0,75 mm Maschenweite kann dazu geführt haben, dass ein Teil des Inulins im wässrigen Milieu gelöst wird. Die Fermentationsdaten allerdings belegen eine hohe mikrobielle Abbaubarkeit dieses Futtermittels. Der „Auswascheffekt“ ist daher eher zu vernachlässigen.

Hinsichtlich der Fütterungspraxis und der sicheren Verwendung der Futtermittel ist von Bedeutung, in welcher Weise sie die mikrobielle Aktivität im Darmtrakt modifizieren. Bei kraftfutterreicher Ration werden höhere Laktatkonzentrationen im Dickdarminhalt ermittelt als bei faserreicher Fütterung (u.a. ALEXANDER und DAVIES, 1963; WILLARD et al., 1977; MOORE-COLYER et al., 2000; DE FOMBELLE et al., 2001; JULLIAND et al., 2001; MEDINA et al., 2002). Hierzu sind keine extremen Fütterungsbedingungen nötig. Bereits eine Ration, die zu gleichen Teilen aus Rauhfutter und Gerste besteht, führt zu Veränderungen der Mikroflora im Dickdarm (DE FOMBELLE et al., 2001).

Zwischen dem **Gesamtlaktatgehalt** im Inkubationsmedium und der Art des inkubierten Futtermittels besteht eine Beziehung. Im Vergleich der in dieser Studie eingesetzten Futtermittel weist Topinambur die höchste und Grünmehl die niedrigste Laktatproduktion im Inkubationsmedium auf. Ähnliche Ergebnisse erzielten LONGLAND und MURRAY (2003a) bei der Inkubation von Cellulose, Stärke und Inulin in einer equinen Caecumsuspension. Hier war die Laktatakkumulation bei Einsatz von Inulin 4,5 bzw. 10,5 mal größer als bei den Varianten Stärke und Cellulose. Diese Rangierung spiegelt die unterschiedlichen Abbaukinetiken der Futtermittel wider. Haferstärke besitzt in Dosierungen bis 0,35-0,4 % der KM pro Mahlzeit eine hohe praecaecale Verdaulichkeit. In Abhängigkeit von der aufgenommenen Stärkemenge, Stärkebehandlung und der botanischen Herkunft der Stärke können dennoch relevante Mengen dennoch den Dickdarm erreichen und hier rasch mikrobiell zerlegt werden (POTTER et al., 1992; HOFFMANN et al., 2001). Auch die Pektine der Trockenschnitzel sowie das Inulin des Topinamburs zählen zu den rasch fermentierbaren Kohlenhydraten (HOFFMANN et al., 2001), deren Spaltung durch körpereigene Enzyme eine unbedeutende Rolle spielt. Die Cellulose des Grünmeihls, die ebenfalls nicht durch körpereigene Enzyme abgebaut werden kann, wird im Gegensatz zu den anderen drei Futtermitteln jedoch langsam fermentiert (HOFFMANN et al., 2001). Diese Systematik findet sich auch in den Ergebnissen der vorliegenden in vitro Untersuchung.

Unterschiedliche Abbaubarkeit der Futtermittel im mikrobiellen System läßt eine Adaptation der beteiligten Mikroflora erwarten.

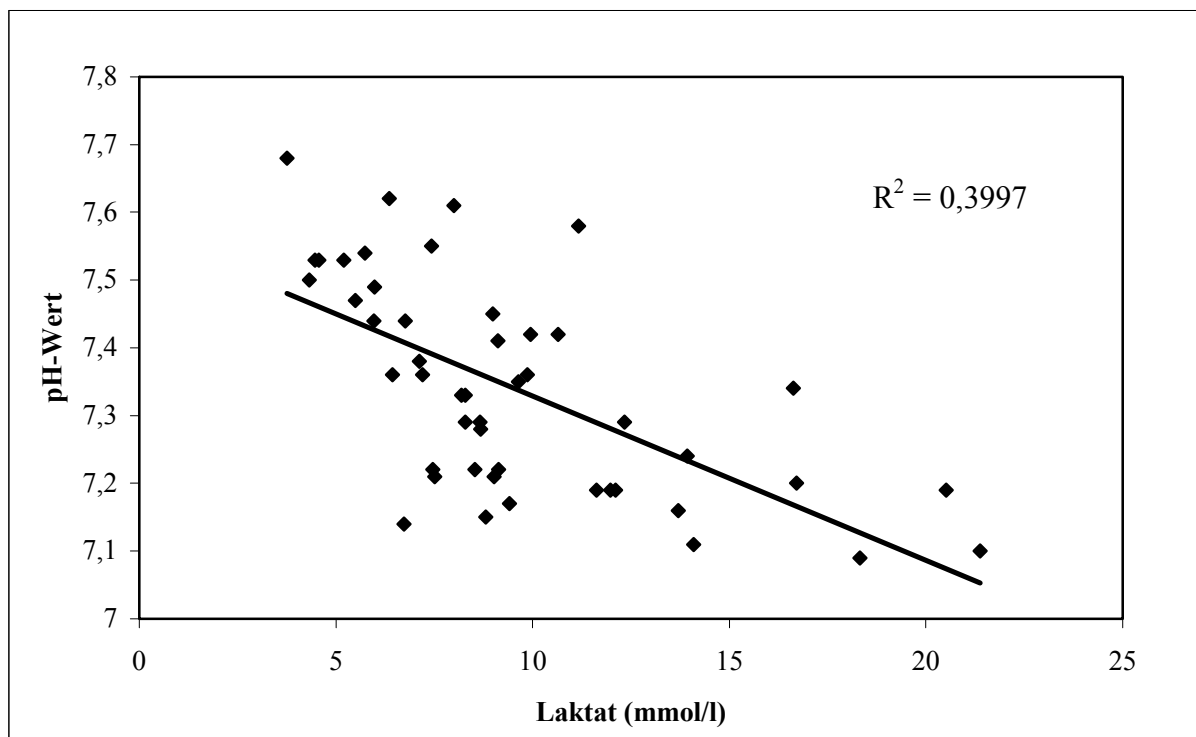
Es kommt zur Zunahme jener Keime, die das zugeführte Substrat bevorzugt verstoffwechseln können. Die ermittelten Laktatwerte geben einen Hinweis auf bereits bei anderen Autoren erwähnte Veränderungen in der Zusammensetzung der Mikroflora. Während es bei der Fermentation von Cellulose zu keiner Steigerung der Laktatkonzentration kommt (LONGLAND und MURRAY, 2003a), wird bei erhöhtem Angebot an löslichen

Kohlenhydraten eine Vermehrung von säuretoleranten Laktatbildnern wie Laktobazillen und Streptokokken beobachtet (GARNER et al., 1978; ROWE et al., 1994; MUNGALL et al., 2001), die durch gesteigerte Laktatproduktion gekennzeichnet ist. Insbesondere die Inkubation von Topinambur deutet auf eine Verschiebung der Mikroflora zugunsten der Laktatbildner hin.

In der Literatur wird in Verbindung mit der Zunahme der Laktatbildner nach Fütterung von leicht verdaulichen Kohlenhydraten und der daraus resultierenden Zunahme der sauren Metaboliten des mikrobiellen Stoffwechsels ein mehr oder weniger starker Abfall des pH-Wertes angesprochen (GARNER et al., 1978; JULLIAND et al., 2001; BAILEY et al., 2002; POLLITT und VAN EPS, 2002), der wiederum die Verdrängung weniger säuretoleranter Mikroorganismen (z.B. der Laktatverwerter) zur Folge hat. Es fällt allerdings schwer, eine allgemein brauchbare Laktatschwelle zu nennen, ab der ein pH-Wert-Abfall massive Verschiebungen innerhalb der Keimflora anzeigt. DE FOMBELLE et al. (2001) beobachteten in ihren Untersuchungen zwar einen fütterungsbedingten Anstieg der Laktatkonzentration, der pH-Wert blieb allerdings gleich.

Mit Ausnahme von Grünmehl kommt es in der vorliegenden Studie nach Inkubation der Futtermittel zu einem Absinken des pH-Wertes. Es hat zunächst den Anschein, als bestünde zwischen den Parametern Laktat und pH eine negative Beziehung. Betrachtet man allerdings die Einzelwerte der Pferde, so lässt sich keine regressionsanalytische Beziehung für Laktat nachweisen (Abb. 6). Damit werden die Ergebnisse von LANDES (1992) bestätigt, die im Caecum des Pferdes nach stärkereicher Ration keine Beziehung zwischen gebildetem Laktat und gemessenem pH-Wert nachweisen konnte. Obwohl grundsätzlich eine Beziehung zwischen mikrobiell gebildetem Laktat und dem pH-Wert nicht von der Hand zu weisen ist, handelt es sich hierbei nicht um die einzige Größe, die in die Milieugestaltung einfließt.

Abb. 6: Beziehung zwischen Laktat und pH-Wert nach Inkubation der Futtermittel am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode



Für die in vitro Untersuchung ist in diesem Zusammenhang hervorzuheben, dass die Inkubation in einem gepufferten System erfolgt, so dass die ermittelten Konzentrationen an organischen Säuren nicht direkt mit Werten aus in-vivo Untersuchungen verglichen werden können.

Vergleicht man die Standardabweichungen nach Inkubation als Maß der individuellen Schwankungen zwischen den einzelnen Versuchstieren, so fällt bei Grünmehl, Trockenschnitzeln und Hafer auf, dass nur geringe Streuungen auftreten (Tab. 26). Bei Topinambur dagegen bestehen am Tag 1 mit sehr inhomogenen Einzelwerten von 0-18,15 mmol/l große Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren. Auch am Tag 10 treten bei Topinambur erneut große Schwankungen zwischen den Tieren auf. Die Konzentrationen liegen zwischen 1,09 mmol/l bei Pferd V und 12,52 mmol/l bei Pferd VI. Die allgemein inhomogenen Laktatkonzentrationen bei Topinambur deuten darauf hin, dass der Einfluss der Fruktane auf die Mikroflora individuell unterschiedlich ist. Bei der parallel durchgeführten Studie zur Wasserstoff- und Methanexhalation konnten bei drei von sechs Pferden ebenfalls unterschiedliche Reaktionen auf die mehrtägige Aufnahme einer inulinhaltigen Ration beobachtet werden, die bei den verschiedenen Pferden nicht gleichgerichtet waren (MÖBELER, 2004). Im Vergleich dieser Ergebnisse mit der vorliegenden Studie,

korrespondieren die auftretenden Veränderungen bei einem Pferd deutlich, das mit ansteigender Wasserstoffkonzentration im Exhalat steigende Laktatwerte aufweist.

Schließt man sich der in der Literatur beschriebenen These an, dass die Vermehrung der Laktatbildner nach Aufnahme rasch fermentierbaren Kohlenhydraten initial für die Entstehung einer Hufrehe verantwortlich sind, dann liegt die Vermutung nahe, dass es sich bei diesem Tier um ein Rehe-gefährdetes Pferd handelt. Bei den übrigen in dieser Studie untersuchten Parametern zeigt sich das Pferd unauffällig. Während in der Studie von POLLITT und VAN EPS (2002) durch Gabe von Inulin in einer Dosierung von 7,5 g/kg KM experimentell bei allen Tieren eine Hufrehe induziert werden konnte, erkrankte der vorliegenden Studie bei Aufnahme und mikrobieller Fermentation von 1,5 g Inulin/kg KM kein Pferd an Hufrehe, wobei jedoch individuelle Veränderungen der Keimflora zu beobachten sind. Es bleibt Spekulation, inwieweit die beobachteten individuellen Reaktionen bei der Laktatbildung und der Wasserstoffexhalation charakteristisch für Pferde sind, die an Hufrehe erkranken und ob diese Konstellation der Parameter ein erhöhtes Risiko für Störungen des GIT birgt. Die hier bearbeiteten Parameter sind vermutlich noch unzureichend, um gefährdete Tiere zu identifizieren, sie zeigen jedoch die Notwendigkeit auf, in weiteren Arbeiten dieses Phänomen weiter zu verfolgen.

Auffällig ist die im Vergleich zu Hafer als Substrat sogar größere Laktatkonzentrationen bei der Inkubation von Trockenschnitzeln. Während in verschiedenen Untersuchungen von Induktion einer Hufrehe nach Gabe von Stärke und Inulin berichtet worden ist, werden Trockenschnitzel bislang diätetisch bei Pferden mit gastrointestinalen Störungen eingesetzt, da sie eine Stabilisierung der Darmflora bewirken sollen. Aufgrund der vorliegenden Studie bleibt weiter abzuklären, inwiefern Trockenschnitzel bei Rehe-gefährdeten Pferden einen Grund zur Vorsicht geben, da die Fermentationsprodukte auf eine rasche und eventuell kritisch intensive Fermentation hindeuten.

Die wichtigsten Endprodukte bei der mikrobiellen Fermentation sind die **flüchtigen Fettsäuren** (ELSDEN et al., 1946), die schätzungsweise 25% des Energiebedarfs des Pferdes decken (ARGENZIO et al., 1974). Es handelt sich hauptsächlich um Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure (ARGENZIO et al., 1975). MACKIE und WILKINS (1988) wiesen bei mit Gras gefütterten Pferden neben diesen drei Hauptvertretern auch Iso-Buttersäure, Isovalerat und Valerat in geringen Mengen nach.

Die Veränderungen in der mittleren Gesamtkonzentration der FFS im Inkubationsmedium entsprechen den Gehalten an leicht fermentierbaren Kohlenhydraten in den Futtermitteln. Damit ist zunächst die Sensibilität des in-vitro-Systems gegenüber der Qualität der Kohlenhydrate dokumentiert. Die beschriebenen Veränderungen entsprechen jedoch darüber hinaus qualitativ auch den Bedingungen in vivo.

Betrachtet man zunächst die mittlere Gesamtkonzentration der FFS, steigt diese in der Rangierung Grünmehl < Trockenschnitzel < Hafer < Topinambur an. Demzufolge ist davon auszugehen ist, dass es mit steigendem Anteil leicht verdaulicher Kohlenhydrate in der Ration zu einem Anstieg der Gesamtkonzentration der FFS kommt. Ähnliche Ergebnisse sind sowohl für den Dickdarm (u.a. KERN et al., 1971; KERN et al., 1973; RADICKE, 1990; LANDES, 1992; DE FOMBELLE et al., 2003) als auch für Kotwasser equiner Faeces (ZEYNER et al., 1992) bekannt.

Auffallend ist zudem die parallele Rangierung der Futtermittel im Vergleich zur mittleren Laktatproduktion, die für eine Parallelität in den Konzentrationsveränderungen beider Parameter steht. Neben der Verfügbarkeit des Substrates als mögliche Erklärung, kann auch der Abbau des mikrobiell gebildeten Laktats, das durch Laktatvergärer wie beispielsweise *E. coli* (ELSDEN et al., 1956) und *Veillonella alcalescens* (ALEXANDER und DAVIES, 1963) weiter zu FFS abgebaut wird, zu einer Steigerung der Gesamtkonzentration geführt haben. Die zunächst vermutete straffe Korrelation zwischen Laktatkonzentration und der Gesamtkonzentration der FFS kann mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,0134$ jedoch nicht nachgewiesen werden.

Charakteristischer als der Anstieg der Gesamtkonzentration ist jedoch das molare Verhältnis der drei Hauptvertreter Essig-, Propion- und Buttersäure zueinander, das durch Futterart und –menge beeinflusst wird (STEVENS et al., 1979). Da Buttersäure in nur sehr geringen Konzentrationen nachgewiesen werden kann, beschränkt sich diese Studie auf das Verhältnis von Essigsäure zu Propionsäure.

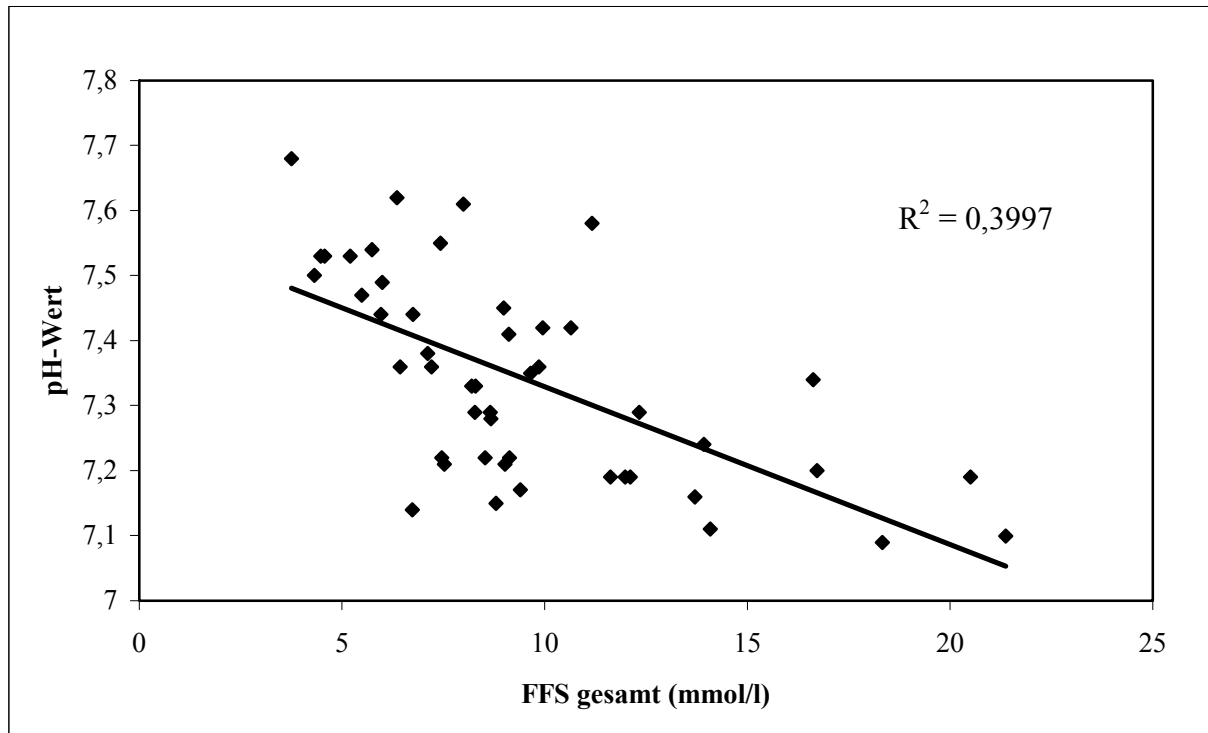
Als Indikator für eine faserreiche Ration geben MACKIE und WILKINS (1988) ein molares Essigsäure-Propionsäure-Verhältnis von 80:10 an. Für Grünmehl als dem faserreichen Vertreter lässt sich am Tag 1 der Fütterungsperiode mit einem Verhältnis dieser beiden FFS von 87:9 ein ähnliches Ergebnis nachweisen. Für keines der in der vorliegenden Studie untersuchten Futtermittel kann ein statistisch abzusichernder Unterschied zwischen Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode beobachtet werden.

In zahlreichen Untersuchungen ist bei steigendem Anteil der leichtverdaulichen Kohlenhydraten eine Verschiebung im Essigsäure-Propionsäure-Verhältnis zugunsten der Propionsäure im Caecum, nicht aber im Colon beschrieben worden (u.a. HINTZ et al., 1971; KERN et al., 1973; WILLARD et al., 1977; MEYER et al., 1982; DE FOMBELLE et al., 2001; JULLIAND et al., 2001; MEYER und COENEN, 2002). Im Gegensatz dazu kann in dieser Studie lediglich für Topinambur eine Verschiebung im Essigsäure-Propionsäure-Verhältnis zugunsten des Propionats (76:20) beobachtet werden. Die molaren Verhältnisse der beiden FFS sind bei Trockenschnitzeln (85:9) und Hafer (87:8) vergleichbar mit Grünmehl. Die bei MOORE-COYER et al. (2000) beschriebenen signifikant höheren Propionsäure-Gehalte von Hafer im Vergleich zu Trockenschnitzeln kann nicht bestätigt werden. Aufgrund dieser Ergebnisse ist zu vermuten, dass bei Nutzung von Faeces als Inokulum eher mikrobielle Verhältnisse ähnlich denen des Colons als denen des Caecums vorherrschen.

Nachdem zwischen Laktatkonzentration und pH-Wert keine straffe Beziehung festgestellt werden kann, sieht es bei Betrachtung der mittleren Gesamtkonzentration der FFS im Vergleich mit den mittleren pH-Werten danach aus, als könnte die von LANDES (1992) beschriebene negative Beziehung zwischen diesen beiden Parametern bestätigt werden. So korreliert die im Mittel für Topinambur gemessene höchste Gesamtkonzentration der FFS mit dem niedrigsten pH-Wert, während es sich bei Grünmehl anders herum verhält. Wie aus Abb. 7 hervor geht, lässt sich im Vergleich der Einzelwerte jedoch auch für diese Parameter keine enge Korrelation nachweisen.

DISKUSSION

Abb. 7: Beziehung zwischen Gesamtgehalten der FFS und pH-Wert nach Inkubation der Futtermittel am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode



Auch bei der Produktion der FFS können große individuelle Schwankungen zwischen den Versuchstieren beobachtet werden. Im Gegensatz zu den ermittelten Laktatwerten weisen bei der Gesamtkonzentration der FFS alle vier Futtermittel relativ große Variationen auf, wobei bei Topinambur mit 6,44 und 5,39 mmol/l erneut die größte individuelle Streuung zu beobachten ist. Die Einzelwerte für Topinambur schwanken zwischen 4,47 und 21,37 mmol/l am Tag 1 und zwischen 8,80 und 16,72 mmol/l am Tag 10.

Für die Produktion von Essig- und Propionsäure verhält es sich ähnlich, auch hier weist Topinambur die höchsten Differenzen auf. Für Propionsäure ist es mit Werten von 2,86 und 2,57 allerdings das einzige Futtermittel mit hohen individuellen Schwankungen, während sich für Grünmehl, Trockenschnitzel und Hafer relativ geringe Streuungen von 0,33 bis 1,33 ermitteln lassen. Auch dieser Parameter deutet, wie schon die Produktion von Laktat, auf eine individuelle Zusammensetzung der Mikroflora bzw. Fermentationsleistung bei den verschiedenen Pferden hin. Es handelt sich hierbei allerdings sowohl für Laktat als auch für FFS um eine unspezifische Streuung, da bei keinem Pferd beim Vergleich der verschiedenen Parameter eine gleichgerichtete Entwicklung beobachtet werden konnte.

Ähnlich wie bei den übrigen Parametern dieser Studie kann auch bei der **Gasbildung** eine Sonderstellung des Topinamburs beobachtet werden.

Grundsätzlich werden bei der Inkubation von Futtermitteln Gase wie CO₂ und CH₄ gebildet, die einerseits beim mikrobiellen Abbau der Kohlenhydrate zu FFS, zum anderen bei der Reaktion des Puffermediums mit den FFS entstehen (BLÜMMEL und ØRSKOV, 1993; SCHOFIELD et al., 1994).

Betrachtet man die mittleren Summen der Gasproduktion der untersuchten Futtermittel, so ergibt sich die Rangierung Topinambur > Trockenschnitzel > Hafer > Grünmehl. Sie entspricht dem Bild, das bereits beim Abbau der Trockenmasse vorgestellt worden ist. Allerdings sind die Positionen von Hafer und Trockenschnitzel nicht konstant. Das Inokulum von Tag 1 bzw. Tag 10 der Fütterungsperiode führt zu unterschiedlichen Resultaten.

Wie in der Literatur beschrieben weisen die einzelnen Futtermittel in Abhängigkeit von der Art der Kohlenhydratfraktion unterschiedliche Gasbildungsmuster auf. Während sich der langsame Abbau der Cellulose in der geringen Gasproduktion bei Grünmehl über den gesamten Messzeitraum widerspiegelt, kommt es bei Trockenschnitzeln und Topinambur als den Vertretern der rasch fermentierbaren Futtermittel zunächst zu einem Anstieg der produzierten Gasmenge, der sein Maximum für Trockenschnitzel 6 h post incubationem und für Topinambur 8 h post incubationem aufweist. Ähnliche Resultate werden auch von LONGLAND und MURRAY (2003) erzielt, die die größte produzierte Gasmenge bei Inkubation von Fruktanen ebenfalls 8-10 Stunden post incubationem feststellten. Im Vergleich zu den Trockenschnitzeln werden bei Topinambur signifikant größere Mengen Gas gebildet, was zum einen ein Indiz für einen stärkeren Abbau des Fruktans, zum anderen für eine vermehrte Bildung FFS sein kann. Beim Hafer kommt es erst nach 8 h post incubationem zu einem Anstieg der gebildeten Gasmenge, die ihr Maximum am letzten Messzeitpunkt 24 h post incubationem aufweist. Dies widerspricht der Zuordnung der Stärke zu den rasch von Mikroorganismen fermentierbaren Kohlenhydraten (HOFMANN et al., 2001). Zudem gilt Stärkeüberladung seit der Beschreibung von GARNER et al. (1975) als Modell zur Induktion der Hufrehe, bei der insbesondere die rasche Fermentation der im Dickdarm anflutenden Stärke diskutiert wird.

Die geringe Gasproduktion von Hafer, die in den ersten beiden Stunden post incubationem eher der von Grünmehl ähnelt, kann nicht abschließend geklärt werden, da andere Parameter

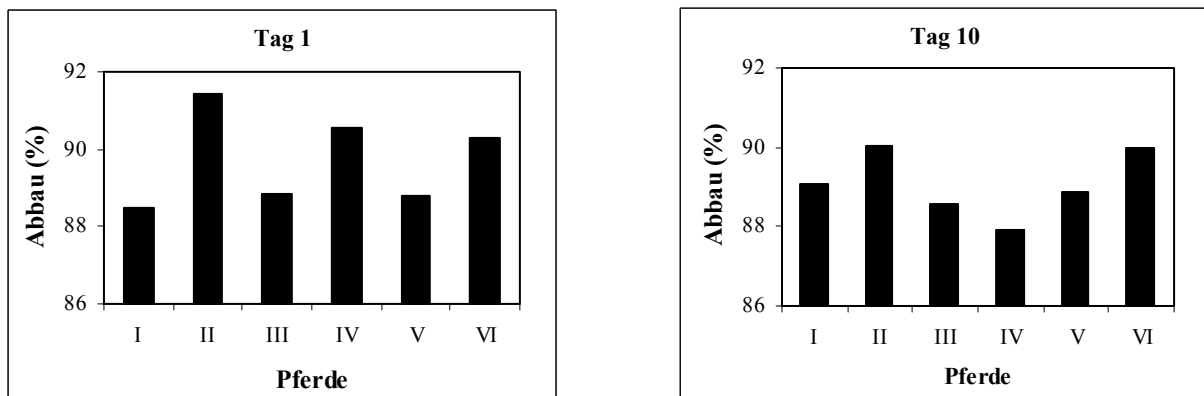
DISKUSSION

wie beispielsweise die Laktatbildung auf eine rasche und intensive Fermentation von Hafer schließen lassen.

Die Inkubationen wurden mit Faeces von Pferden durchgeführt, die das Testfutter noch nicht erhalten hatten (Tag 1) oder über 10 Tage an eine Ration adaptiert worden waren (Tag 10). Hierbei interessierte, ob Adaptationsvorgänge durch die entsprechenden Futtermittel induziert werden können. Derartige Anpassungen können zum einen grundsätzlich bei allen Futtermitteln auftreten oder selektiv bei bestimmten Futtermittelqualitäten.

Beim Trockenmasseabbau lässt sich für keines der Futtermittel ein signifikanter Unterschied zwischen Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode nachweisen. Auch MURRAY et al. (2003) konnten keine Unterschiede der Trockensubstanzverluste zwischen einer an das jeweilige Futtermittel adaptierten und einer nicht adaptierten Mikroflora feststellen. Auffällig sind die bei Grünmehl, Trockenschnitzeln und Hafer sowohl am Tag 1 als auch am Tag 10 der Fütterungsperiode zu beobachtenden Standardabweichungen, die zwischen 1,29 und 3,71 liegen und auf relativ große individuelle Unterschiede bei den einzelnen Pferden hindeuten. Auffällig ist allerdings, dass es bei Topinambur insgesamt zu einer Abnahme der Streuung kommt, die vermuten lässt, dass bei allen Probanden gleichgerichtete Veränderungen der Mikroflora durch Topinambur ausgelöst werden. Eine Adaptation kann dennoch nicht beobachtet werden.

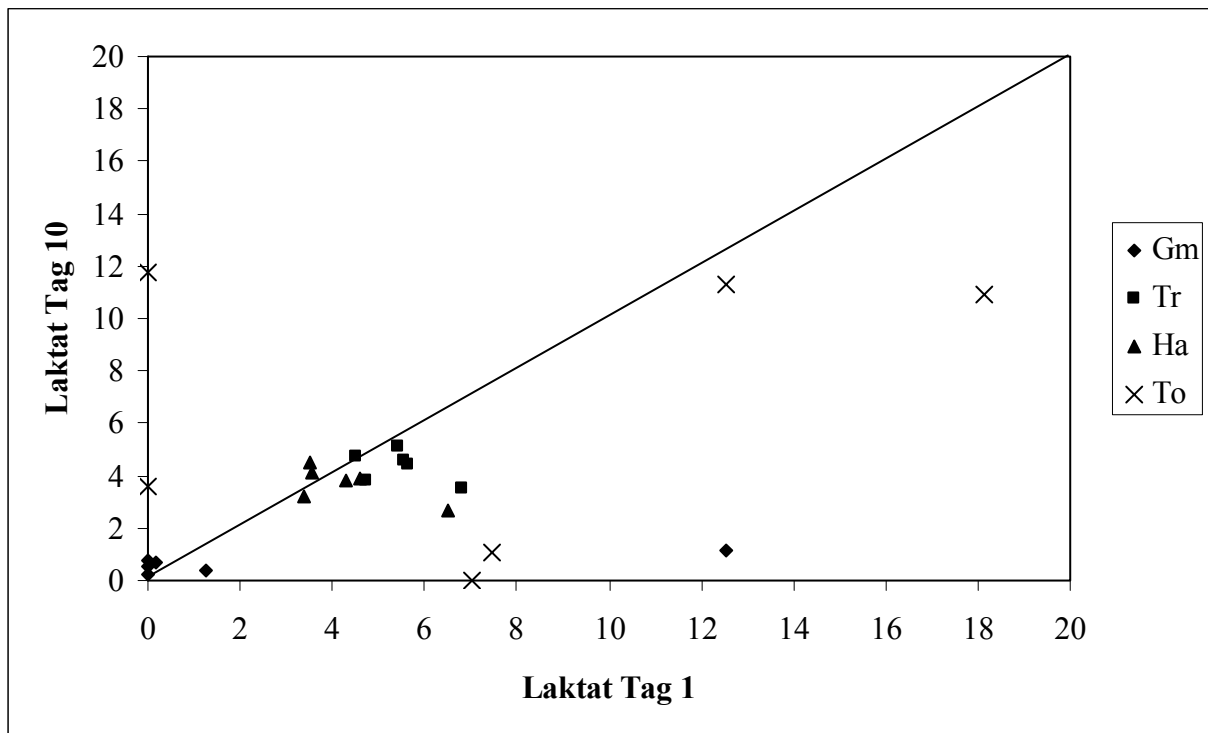
Abb. 8: Abbau der Trockenmasse bei Topinambur bei den verschiedenen Versuchspferden am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode



DISKUSSION

Vergleicht man jedoch bei der Laktatproduktion die Einzelwerte für Topinambur der beiden Versuchstage miteinander, kann am Tag 1 bei zwei von sechs Pferden nach Inkubation kein Laktat (bzw. unterhalb der Nachweisgrenze) bestimmt werden, während es bei vier von sechs Pferden zu einer Erhöhung der Laktatkonzentration auf Werte zwischen 7,01 mmol/l und 18,15 mmol/l kommt. Obwohl am Tag 10 vier Tiere Laktatkonzentrationen zwischen 10,90 mmol/l und 12,52 mmol/l aufweisen, sind die gemessenen Konzentrationen bei drei von sechs Pferden niedriger als am Tag 1. Bei allen Tieren ist Laktat am Tag 10 nach Inkubation nachweisbar (Abb. 9).

Abb. 9: Beziehung zwischen Laktat am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode nach Inkubation der Futtermittel

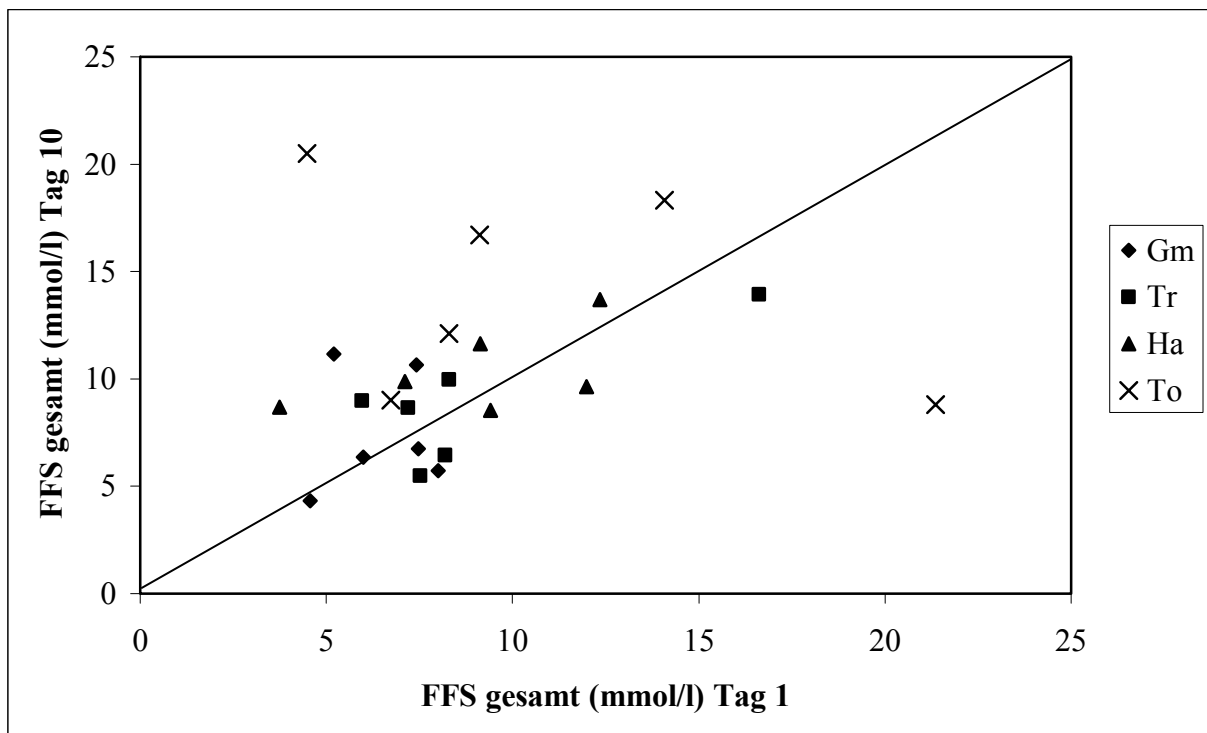


Werte auf der Winkelhalbierenden: Tag 1 = Tag 10; Werte oberhalb der Winkelhalbierenden: Tag 1 < Tag 10; Werte unterhalb der Winkelhalbierenden: Tag 1 > Tag 10

DISKUSSION

Auch bei den mittleren Gesamtkonzentrationen der FFS ist die statistische Absicherung einer Adaptation nicht möglich. Vergleicht man allerdings auch hier die Einzelwerte, so deutet sich bei allen vier Futtermitteln, besonders aber bei Topinambur, die Tendenz zu adaptiven Veränderungen an (Abb. 10).

Abb. 10: Beziehung zwischen den Gesamtkonzentrationen der FFS am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode nach Inkubation der Futtermittel



Werte auf der Winkelhalbierenden: Tag 1 = Tag 10; Werte oberhalb der Winkelhalbierenden: Tag 1 < Tag 10; Werte unterhalb der Winkelhalbierenden: Tag 1 > Tag 10

Eine Fütterungsperiode und der damit mögliche Adaptationszeitraum hat in dieser Studie zehn Tage gedauert. Die Frage der Adaptation ist nicht sicher zu beantworten. Falls die Hypothese zutrifft, dass Pferde, die für Entgleisungen der mikrobiellen Verdauung disponiert sind, besondere Charakteristika der Mikroflora aufweisen, dürfte der Anpassung der Mikroflora an ein Futter große Bedeutung zukommen. Entsprechende Abweichungen von gesunden Tieren müßten dann auch im in-vitro System nachvollziehbar sein.

Bei Fütterung von stärkereichen Rationen sind die Veränderungen des Keimspektrums in den verschiedenen Regionen des Gastrointestinaltraktes allerdings bereits nach wenigen Stunden zu beobachten (KOLLARCZIK et al., 1992; DE FOMBELLE et al., 2001; DROGOUL et al., 2001).

Aus den zusätzlich durchgeführten Inkubationen von **Trockenschnitzeln** und **Topinambur** in unterschiedlichen Verhältnisse mit **Heu** geht hervor, dass es bei beiden Futtermitteln durch Zulage von Rohfaser zu einer Abnahme des Trockenmasseabbaus kommt. Das bestätigt noch einmal den geringen Trockenmassenabbau des Grünmehls, welcher mit Heu zu vergleichen ist.

Bei der Laktatproduktion ist zu beobachten, dass diese bei beiden Kombinationen mit zunehmender Rohfaserzulage sinkt. Ähnliche Ergebnisse für die Kombination Heu:Trockenschnitzel weist die Arbeit von MOORE-COLYER et al. (2000) auf. Eine Beziehung zum pH-Wert kann, wie schon bei der Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzel, Hafer und Topinambur, nicht beobachtet werden.

Zusätzlich ist zu beobachten, dass mit steigender Rohfaserzulage zu Topinambur sowohl die Gesamtkonzentration als auch die Bildung von Essig- und Propionsäure abnimmt.

Bei Zulage von Rohfaser zu Trockenschnitzeln kann kein Effekt auf die FFS beobachtet werden, was eine gleich bleibende Fermentation vermuten ließe, wenn dem nicht das Absinken der Laktatproduktion bei gleicher Rohfaserzulage widersprechen würde. Dieses Phänomen kann nicht weiter erklärt werden.

Zusammenfassend kann für diesen Teil der Untersuchungen festgestellt werden, dass durch entsprechende Zufütterung von Heu oder Stroh als rohfaserreicher Fraktion einer gefürchteten Vermehrung der Laktatbildner entgegen gewirkt werden kann. Durch Erhöhung des Substratangebotes für die cellulytischen Bakterien wird der Selektionsvorteil für die Laktatbildner, die leicht verdauliche Kohlenhydrate fermentieren, gemindert und die Laktatproduktion sinkt. Die damit verbundene Reduktion der Laktatvergärer, die Laktat in FFS umwandeln, bedingt gleichzeitig auch eine Abnahme der Gesamtkonzentration der FFS.

Für die Fütterungspraxis bedeutet dies, dass die Fermentation von leicht verdaulichen Kohlenhydraten, deren Fermentationsprodukte zu eventuellen Störungen des Gastrointestinaltrakts führen können, durch Zulage durch einen Heuanteil von 70 % kontrolliert werden können.

3. Abschließende Betrachtung

Unter Berücksichtigung der ermittelten Ergebnisse stellt sich Topinambur im Vergleich zu den anderen Futtermitteln als rasch und intensiv fermentierbares Futtermittel dar. Aufgrund der Fermentationskinetik und den anfallenden Fermentationsprodukten kann die Stellung der Fruktane in der Diskussion um die Auslösung der Hufrehe bestätigt werden. Zu berücksichtigen ist hierbei allerdings, dass es sich bei dem Inkubationsmedium um ein gepuffertes System handelt, das nicht die originären Dickdarmbedingungen widerspiegelt. Die ermittelten Parameter geben Hinweise auf Veränderungen der Keimzusammensetzung bzw. der Fermentationsleistung insbesondere nach Gabe von Inulin. Diese Veränderungen sind jedoch nicht bei allen Pferden in gleichem Umfang festzustellen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass bei gleicher Fütterung die individuellen Unterschiede den Ausschlag geben, ob sich eine Hufrehe manifestiert. Inwieweit die Konstellation der verschiedenen Parameter bei einem Pferd ein erhöhtes Risiko zur Auslösung einer Hufrehe darstellt, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten, in denen ein Vergleich zwischen erkrankten und gesunden Tieren durchgeführt werden sollte. Für Trockenschnitzel sei erwähnt, dass aufgrund der Entwicklung von Laktatproduktion und Gasbildung ein bisher propagierter diätetischer Einsatz der Trockenschnitzel bei Pferden mit Störungen des GIT als vorsichtig zu beurteilen ist.

Aus den Ergebnissen der zusätzlichen Inkubationen von Topinambur und Trockenschnitzeln in verschiedenen Kombinationen mit Heu geht hervor, dass bei Pferden, die mit inulin- oder pektinreicher Ration versorgt werden, ein Rauhfutteranteil von etwa 70 % die Risiken für mikrobielle Entgleisungen deutlich reduziert.

VI ZUSAMMENFASSUNG

Bildung (Menge und Dynamik) von Fermentationsprodukten von Futtermitteln mit unterschiedlichen Gehalten an fermentierbaren Kohlenhydraten in einem in-vitro System mit Faeces von Pferden

Marie-Sophie Plumhoff

Inulin besitzt eine bedeutende Rolle bei der Ätiologie der Hufrehe beim Pferd. Der Vergleich der Fermentation von Topinambur, einem inulinhaltigen Futtermittel, mit anderen fermentierbaren Kohlenhydraten (Cellulose, Stärke, Pektin) in einem in-vitro System mit equiner Faeces als Inkubationsmedium war Gegenstand dieser Untersuchung. Die Fermentationsprodukte wurden als indirekte Parameter für die equine intestinale mikrobielle Aktivität genutzt.

In randomisierter Reihenfolge wurden sechs Traberwallache abwechselnd mit Grünmehl (Cellulose), Hafer (Stärke), Trockenschnitzeln (Pektin) und Topinambur (Inulin) gefüttert. Alle Rationen waren so bemessen, dass sie 1,5 g hydrolysierbare Kohlenhydrate/kg KM zusätzlich zum Heu aufwiesen. Zwischen den verschiedenen Fütterungsperioden fand jeweils eine Wash-out-Phase mit ausschließlicher Heufütterung statt.

Die Faeces der sechs Pferde wurden ohne Adaption (Tag 1) und nach zehntägiger Adaption (Tag 10) an das jeweilige Futtermittel entnommen. Die Faeces und das entsprechende Futtermittel wurden für 48 Stunden in einem Inkubationssystem (ANKOM *Technology* - *DAISY*^{II}- Incubator) inkubiert.

Zusätzlich wurde der Einfluss verschiedener Mengen Heu in Kombination mit Trockenschnitzeln und Topinambur auf die Fermentationsparameter in-vitro überprüft; genutzt wurden dabei Faeces von vier mit Heu gefütterten Pferden.

Trockenmasse, Laktat, flüchtige Fettsäuren (FFS) und der pH-Wert wurden im Inkubationsmedium vor und nach Inkubation an Tag 1 und Tag 10 analysiert. Weiterhin wurde die Gasproduktion der unterschiedlichen Futtermittel nach der Methode von Theodorou et al. (1994) gemessen.

Der Trockenmasseabbau variiert zwischen $32,0 \pm 1,29$ % (Grünmehl) und $89,7 \pm 1,2$ % (Topinambur). Die verschiedenen Futtermittel rangierten wie folgt: Topinambur > Hafer > Trockenschnitzel > Grünmehl.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Konzentrationen von FFS und Laktat stiegen nach Inkubation an (FFS und Laktat: Grünmehl < Trockenschnitzel = Hafer = Topinambur). Ein Absinken des pH-Wertes konnte nach Inkubation von Topinambur und Trockenschnitzeln beobachtet werden, während die pH-Werte von Hafer und Grünmehl im Laufe der Inkubation konstant blieben. Es traten bei allen Fermentationsprodukten starke Variationen zwischen den Pferden auf.

Mit steigendem Heuanteil in Kombinationen mit Topinambur nahmen die Konzentrationen der FFS und des Laktats ab, bei gleichzeitigem Anstieg des pH-Wertes im Inkubationsmedium, während bei unterschiedlichen Heuanteilen in Kombinationen mit Trockenschnitzeln keine Unterschiede bei den Fermentationsprodukten nach Inkubation nachzuweisen waren.

Die stärkste Gasproduktion wurde bei Topinambur (Tag 1: $106 \pm 15,1$ ml, Tag 10: $106,5 \pm 16,0$ ml) gefolgt von Trockenschnitzeln (Tag 1: $45,0 \pm 4,22$ ml, Tag 10: $43,2 \pm 3,26$ ml) beobachtet. Hafer entwickelte eine ähnliche moderate Gasproduktion wie Grünmehl in den ersten 12 Stunden nach Inkubation, gefolgt allerdings mit einem deutlichen Anstieg der Gasproduktion in dem Zeitraum 12 - 24 Stunden nach Inkubation (Tag 1 12 - 24 h post incub.: $20,8 \pm 3,81$ ml, Tag 10 12 - 24 h post incub.: $25,3 \pm 11,5$ ml). Es waren keine Unterschiede bei den Fermentationsprodukten zwischen Tag 1 und Tag 10 der Fütterungsperiode nachweisbar.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung weisen darauf hin, dass Inulin intensiv und rasch fermentiert wurde, was beim Pferd zu intestinalen Störungen führen kann. Die individuellen Schwankungen scheinen von Bedeutung zu sein, da ein spezifisches Fermentationsmuster die Prädisposition zur Entwicklung der Hufrehe widerspiegeln könnte.

VII SUMMARY

Fermentation products (concentrations and kinetics) of different fermentable carbohydrates when incubated in vitro with an equine faecal inoculum

Marie-Sophie Plumhoff

As inulin plays an important role in the aetiology of laminitis in horses, the fermentation products of topinmabur, an inulin containing feedstuff, were compared to other fermentable carbohydrates (cellulose, starch, pectin, and inulin) in vitro when incubated with an equine faecal inoculum. The fermentation products were used as indirect parameters of the equine intestinal microbial activity

In a randomised order six Standardbred horses were fed either with grass meal (cellulose), oats (starch), sugar beet pulp (pectin), and topinambur (inulin). All diets were formulated to provide 1.5 g hydrolysable carbohydrates/kg BW in addition to hay. A wash-out period was performed in between the different feeding regimes by feeding exclusively hay. The faeces of the six horses were collected without adaptation (day 1), and after 10 days of adaptation to the respective feedstuff (day 10). Faeces and the respective feedstuffs were incubated for 48 h in an incubator system (ANKOM *Technology* – DAISY^{II}-Incubator). Additionally, the influence of different amounts of hay combined with sugar beet pulp, and topinambur on fermentation parameters were tested in vitro with the faeces of four horses which were fed with hay.

Dry matter, lactate, short chain fatty acids (SCFA), and pH were analysed in the inoculum before and after incubation at day 1 and day 10. Furthermore, the gas production of the inoculum for the different feedstuffs was measured according to the method of Theodorou et al. (1994).

Dry matter degradation varied between 32.0 ± 1.29 % (grass meal) and 89.7 ± 1.2 % (topinambur). The different feedstuffs were valued as follows: topinmabur > oats > sugar beet pulp > grass meal. SCFA and lactate concentrations increased after incubation (SCFA and lactate: grass meal < sugar beet pulp = oats = topinambur). A decrease in pH post-inoculation was noticed for topinambur and sugar beet pulp, while the pH for oats and grass meal remained constant during incubation. There was a high variation between the horses for all fermentation products.

SUMMARY

Increasing amounts of hay in combination with topinambur decreased SCFA and lactate concentrations and rised pH in the inoculum post-incubation, but different amounts of hay in combination with sugar beet pulp did not reveal any drop in fermentation products post-inoculation.

The highest gas production was monitored for topinambur (day 1: 106 ± 15.1 mL, day 10: 106.5 ± 16.0 mL) followed by sugar beet pulp (day 1: 45.0 ± 4.22 mL, day 10: 43.2 ± 3.26 mL). Oats developed a similar gas production (kk) like grass meal in the first 12 h post-inoculation, with an increasing gas production between 12 and 24 h after incubation (day 1 12 – 24 post incub.: 20.8 ± 3.81 mL, day 10 12 – 24 post incub.: 25.3 ± 11.5 mL).

There were no differences in fermentation products between day 1 and day 10 of the feeding period.

The results of the study suggest that inulin was intensively and quickly fermented which might result in disturbances in the equine intestinal microbial system. The individual variation seemed to be of importance as a specific fermentation pattern might reflect the risk for developing laminitis.

VIII Literaturverzeichnis

AHRENS, F. (1986):

Aus der Arbeit der IS-Forschungsgesellschaft.

In: Hülsenberger Gespräche, 137-150

zit. nach ZEYNER et al. (1992)

ALEXANDER, F. u. M. E. DAVIES (1963):

Production and fermentation of lactate by bacteria in the alimentary canal of the horse and pig.

J. Comp. Path., 73, 1

ANDERSEN, R. u. A. SØRENSEN (1999):

An enzymatic method for the determination of fructans in food and food products.

Eur. Food Res. Technol., 210, 148-152

zit. nach DAHLHOFF (2003)

APPELGATE, C. S. u. T. V. HERSHBERGER (1969):

Evaluation of in vitro and in vivo cecal fermentation techniques for estimating the nutritive value of forages for equine.

J. Anim. Sci., 28, 18-22

ARGENZIO, R. A., M. SOUTHWORTH u. C. E. STEVENS (1974):

Sites of organic production and absorption in the equine gastrointestinal tract.

Am. J. Physiol., 226, 1043-1050

ARNOLD, F. F., G. D. POTTER, J. L. KREIDER, G. T. SCHELLING u. W. L. JENKINS (1981):

Carbohydrate digestion in the small and large intestine of the equines.

Proc. 7th Equine Nutr. Physiol. Symp., 19-22

BACH KNUDSEN, K. E. (1997):

Carbohydrate und lignin contents of plant materials used in animal feeding.

Anim. Feed Sci. Technol., 67, 319-338

BAILEY, S. R., A. RYCROFT u. J. ELLIOTT (2002):

Production of amines in equine caecal content in an in vitro model of carbohydrate overload.

J. Anim. Sci., 80, 2656-2662

BARSNICK, R. (2003):

Untersuchungen zur Akzeptanz und Verdaulichkeit von Trockenschnitzeln unterschiedlicher Konfektionierung beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

BARUC, J. C., K. A. DAWSON u. J. P. BAKER (1983):

The characterization and nitrogen metabolism of equine caecal bacteria.

Proc. 8th Equine Nutr. Physiol. Symp., 151-156

BECKER, C. R. (1964):

A study of the intestinal microflora in the equine.

Michigan State University Veterinarian, 24, 123-126

zit. nach FEY und SASSE (1996)

BEUVINK, J. M. W., S. F. SPOELSTRA u. S. F. HOGENDORP (1992):

An automated method for measuring time-course of gas production of feedstuff incubated with buffered rumen fluid.

Neth. J. Agric. Sci., 40, 401-407

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

BLÜMMEL, M. u. E. R. ØRSKOV (1993):

Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle.

Anim. Feed Sci. Technol., 40, 109-119

BLÜMMEL, M., H. STEINGASS u. K. BECKER (1997):

The relationship between gas production, microbial biomass yield and ¹⁵N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages.

Br. J. Nutr., 77, 911-921

DE BOEVER, J. L., B. G. BUYSSE, F. W. WAINMAN u. J. M. VANACKER (1986) :

The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolisable and net energy of compound feedstuffs for ruminants.

Anim. Feed Sci. Technol., 14, 203-214

BONHOMME-FLORENTIN, A. (1969):

Essais de culture in vitro des cyclosposthiidae, ciliés endocommensaux de l'intestin du cheval. Rôle des ciliés dans la dégradation de la cellulose.

Protistologica, V (4), 519-522

zit. nach JULLIAND (1992)

BONHOMME-FLORENTIN, A. (1988):

Degradation of hemicellulose and pectin by horse caecum contents.

Br. J. Nutr., 60, 185-193

BOTHE, C. (2001):

Effekte unterschiedlicher Stärketräger und deren Bearbeitung auf die postprandiale Glucose- und Insulinreaktion beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

BREVES, G. u. M. DIENER (2000):

Funktionen des Dickdarmes.

In: VON ENGELHARDT u. BREVES (Hrsg.): Physiologie der Haustiere.

Enke im Hippokrates Verlag, Stuttgart, S. 394-396

CHENOST, M., E. GRENET, C. DEMARQUILLY u. R. JARRIGE (1970):

The use of the nylon bag technique for the study of forage digestion in the rumen and for predicting feed value.

Proc. 11th International Grassland Congress, 13-23 April 1970, Surfers Paradise, Qld.,

University of Queensland Press, ST. Lucia, Qld., 697-701

zit. nach THEODOROU et al. (1994)

COENEN, MANFRED (1992):

Beobachtungen zum Vorkommen von Magengeschwüren beim Pferd

Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes,

188-191

COENEN, M. u. I. VERVUERT (2002):

Risiko Grass – Realität oder übertriebene Befürchtung?

Pferdeheilkunde, 18 (6), 544-546

CONE, J. W., A. H. VAN GELDER u. H. BACHMANN (2002):

Influence of inoculum source on gas production profiles.

Anim. Feed Sci. Technol., 99, 221-231

CONE, J. W., A. H. VAN GELDER, G. J. W. VISSCHER u. L. OUDSHOORN (1996):

Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus.

Anim. Feed Sci. Technol., 61, 113-128

CZERKAWSKI, J. W. u. G. BECKENRIDGE (1969):

The fermentation of sugar-beet pulp and sucrose in an artificial rumen, and the effect of linseed oil fatty acids on the fermentation.

Br. J. Nutr., 23, 51-66

CZERKAWSKI, J. W. u. G. BECKENRIDGE (1970):

Small scale apparatus for studying rumen fermentation.

Lab. Practice, 19, 717-728

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

DAHLHOFF, S. (2003):

Fruktangehalte im Gras von Pferdeweiden während der Weidesaison 2002.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

DAVIES, M. E. (1964):

Cellulytic bacteria isolated from the large intestine of the horse.

J. Appl. Bact., 29, 373

DELZENNE, N. M. u. M. R. ROBERFROID (1994):

Physiological effects of non-digestible oligosaccharides.

Lebensm-Wiss. u. -Technol., 27, 1-6

DEWHURST, R. J., D. HEPPER u. A. J. F. WEBSTER (1995):

Comparison of in sacco and in vitro techniques for estimating the rate and extent of rumen fermentation of a range of dietary ingredients.

Anim. Feed Sci. Technol., 51, 211-229

DOWMAN, M. G. u. F. G. COLLINS (1982):

The use of enzymes to predict the digestibility of animal feed.

J. Sci. Food Agric., 33, 689-696

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

DLG-FUTTERWERTTABELLEN für Pferde.

3. Aufl., 1995

DLG-Verlag, Frankfurt/Main

DROCHNER, W. u. H. MEYER (1991):

Verdauung organischer Substanzen im Dickdarm verschiedener Haustierarten.

In: Fortschritte in der Tierphysiologie und Tierernährung. Beiheft 22 zur Z. Tierphys., Tierernährung, Futtermittelkunde, 18-40

DROGOUL, C., A. DE FOMBELLE u. V. JULLIAND (2001) :

Feeding and microbial disorders in horses: Effect of three hay:grain ratios on digesta passage rate and digestibility in ponies.

J. Equine Vet. Sci., 21 (10), 487-491

ECKERT, E. (1993):

Tierphysiologie, 2. Aufl.

Verlag Thieme, Stuttgart, New York

ELLENBERGER, W. u. V. HOFMEISTER (1886):

Über die Verdauungssäfte und die Verdauung des Pferdes.

Arch. Tierheilk., 12, 332-364

zit. nach KROPP (1991)

EL SHAER, H. M., H. M. OMED, A. G. CHAMBERLAIN u. R. F. E. AXFORD (1987):

Use of faecal organisms from sheep for the in vitro determination of digestibility.

J. agric. Sci. Camb., 109, 257-259

EL-SHAZLY, K. u. R. E. HUNGATE (1965):

Fermentation capacity as a measure of net growth of rumen microorganisms.

Appl. Microbiol., 13, 62-69

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

FEY, K. (1994):

Auswirkungen der peroralen Gabe von Sulfadimethoxin/Trimethoprim (Trafigal[®] 30% ad us. vet.) beim Pferd.

Vet. med. Diss., Giessen

zit. nach FEY und SASSE (1996)

FEY, K. und H. H. L. SASSE (1996):

Zur Darmflora des Pferdes – Eine Literaturstudie.

Pferdeheilkunde, 12, 855-863

FLICKINGER, E. A. u. G. C. FAHEY (2002):

Pet food and feed applications of inulin, oligofructose and other oligosaccharides.

Br. J. Nutr., 87, 297-300

DE FOMBELLE, A., E. JACOTOT, C. DROGOUL, T. BONNEFOY u. V. JULLIAND (1999a):

Effect of the hay : grain ratio on digestive physiology and microbial ecosystem in ponies.

Proc. 16th Equine Nutr. Physiol. Symp., 151-152

DE FOMBELLE, A., E. JACOTOT, C. DROGOUL, T. BONNEFOY u. V. JULLIAND (1999b):

Effect of the hay : grain ratio on microbial and physico-chemical characteristics of cecal and colonic contents in ponies.

Proc. 16th Equine Nutr. Physiol. Symp., 153-154

DE FOMBELLE, A., V. JULLIAND, C. DROGOUL u. E. JACOTOT (2001):

Feeding and microbial disorders in horses: Effects of an abrupt incorporation of two levels of barley in a hay diet on microbial profile and activities.

J. Equine Vet. Sci., 21 (9), 439-445

DE FOMBELLE, A., A. G. GOACHER, M. VARLOUD, P. BOISOT u. V. JULLIAND (2003a):

Effect of the diet on prececal digestion of different starches in the horse measured with the mobile bag technique.

Proc. 18th Equine Nutr. Physiol. Symp., 115-116

DE FOMBELLE, A., M. VARLOUD, A.-G. GOACHET, E. JACOTOT, C. PHILIPPEAU, C. DROGOUL u. V. JULLIAND (2003b):

Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets.

Anim. Sci., 77, 293-304

FONTY, G. u. P. GOUET (1989):

Fibre degrading microorganisms in the monogastric digestive tract.

Anim. Feed Sci. Technol., 23, 91-107

FRAPE, D. (1998):

Equine nutrition and feeding.

2. Aufl., Verlag Blackwell Science, Oxford

FULKERSON W. J. u. D. J. DONAGHY (2001):

Plant-soluble carbohydrate reserves and senescence – key criteria for developing an effective grazing management system for ryegrass-based pasture: a review.

Austr. J. Agric., 41, 261-275

zit. nach DAHLHOFF (2003)

GARNER, E. H., J. R. COFFMAN, W. HAHN, D. P. HUTCHESON u. E. TUMBLESON (1975):

Equine laminitis of alimentary origin: an experimental model.

Am. J. Vet. Res., 36, 4

GARNER, H. E., J. N. MOORE, J. H. JOHNSON, L. CLARK, F. AMEND, L. G. TRITSCHLER u. J. R. COFFMAN (1978):

Changes in the caecal flora associated with the onset of laminitis.

Equine Vet. J., 10, 249-252

GETACHEW, G., M. BLÜMMEL, H. P. S. MAKKAR u. K. BECKER (1998):

In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feeds: a review.

Anim. Feed Sci. Technol., 72, 261-281

GEYER, H. u. K. DREPPER (1973):

Mikrobielle Einwirkungen auf die Verdauung beim Pferd.

In: GIESECKE, D. u. H. K. HENDERICKX (Hrsg.) (1973):

Biologie und Biochemie der Verdauung.

BLV Verlagsgesellschaft, München, Bern,

GIBSON, G. R. u. M. B. ROBERFROID (1995):

Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics.

J. Nutr., 125, 1401-1412

GLINSKY M. J., R. M. SMITH, H. R. SPIRES u. C. L. DAVIS (1976):

Measurement of volatile fatty acid production rates in the cecum of the pony.

J. Anim. Sci., 42 (6), 1465-1470

GOERING, H. K. u. P. J. VAN SOEST (1970):

Forage fibre analyses (Apparatus, Reagents, Procedures, and Some Applications).

Agrioc. Handbook No. 379, ARS-USDA, Washington, DC.

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

GOODSON, J., W. J. TYZNIK, H. CLINE u. B. A. DEHORITY (1988):

Effects of an abrupt change from hay to concentrate on microbial numbers and physical environment in the cecum of the pony.

Appl. Envir. Microbiol., 544, 1946-1950

GREISS, C. (1995):

Bakteriologische Untersuchungen zur quantitativen Zusammensetzung der aeroben und anaeroben Dickdarmflora von Pferden mit Typhlocolitis und Koliksymptomatik.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

GROOT, J. C. J., J. W. CONE, B. A. WILLIAMS u. F. M. A. LANTINGA (1996):

Multiphasic analysis of gas production kinetics for in vitro fermentation of ruminant feeds.

Anim. Feed Sci. Technol., 64, 77-89

GÜNTHER, C. (1984):

Untersuchungen über die Verdaulichkeit und Verträglichkeit von Hafer, Quetschhafer, Gerste und Mais beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

HAYES, S., H. WERNER u. L. LAWRENCE (2003):

In vitro assessment of fiber digestion capacity in foals.

Proc. 18th Equine Nutr. Physiol. Symp., 273-274

HARRIS, D. M., A. BARLET u. A. T. CHAMBERLAIN (1995):

The use of dairy cow faeces rather than rumen liquor in the gas pressure transducer technique for assessing digestion kinetics in vitro.

Anim. Sci., 60, 541 (abstract)

zit. nach LOWMAN (1998)

HEINTZSCH, A. (1995):

Effekte einer Enzymmischung (α -Amylase, Xylanase, β -Glucanase, Pectinase) als Futteradditiv auf die Verdaulichkeit stärkereicher Rationen beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

HENDRY, G. (1987):

The ecological significance of fructan in a contemporary flora.

New Phytol., 106, Suppl., 201-216

zit. nach DAHLHOFF (2003)

HINKLE, D. K., G. D. POTTER u. J. L. KREIDER (1983):

Starch digestion in different segments of the digestive tract of ponies fed varying levels of corn.

Proc. 8th Equine Nutr. Physiol. Symp., 227

HINTZ, H. F., H. F. SCHRYVER u. C. E. STEVENS (1971):

Digestion coefficient, blood glucose levels and molar percentage of volatile acids in intestinal fluid of ponies fed varying forage-grain rations.

J. Anim. Sci., 33, 992-995

HOEBREGS, H. (1997):

Fructans in food and food products, ion-exchange chromatographic method: collaborative study.

J. AOAC Int., 80 (5), 1029-1037

zit. nach DAHLHOFF (2003)

HOFFMAN, R. M. (2003):

Carbohydrate metabolism in horses.

In: Recent advances in equine nutrition, Ralston S. L. u. H. F. Hintz (Eds.), International Veterinary Information Service, Ithaca NY

HOFFMAN, R. M., J. A. WILSON, D. S. KRONFELD, W. L. COOPER, L. A.

LAWRENCE, D. SKLAN u. P. A. HARRIS (2001):

Hydrolyzable carbohydrates in pasture, hay, and horse feeds: Direct assay and seasonal variation.

J. Anim. Sci., 79, 500-506

HOLTER, P. (1991):

Concentration of oxygen, carbon-dioxide and methane in the air within dung pats.

Pedobiologia, 35, 381-386

zit. nach LOWMAN (1998)

HOPFFE, A. (1913):

Beitrag zur Kenntnis der normalen Magen-Darm-Flora des Pferdes, unter besonderer Berücksichtigung der anaeroben Proteolyten.

Z. Infektionskr., 14, 307-315, 383-404

zit. nach KROPP (1991)

HOUSEHOLDER, D. D. (1978):

Praeecal, postileal and total tract digestion and growth performance in horses fed concentrate rations containing oats or sorghum grain processed by crimping or micronizing.

Texas, A & M University, Diss

zit. nach POTTER et al. (1992)

HOUSEHOLDER, D. D., G. D. POTTER u. E. LICHTENWALNER (1977):

Nutrient utilization in different segments of the equine digestive tract.

Proc. 5th Equine Nutr. Physiol. Symp., 44-45

HUNTINGTON, P. u. C. C. POLLITT (2002):

Nutrition and the equine foot.

Proc. 2002 Equine Nutrition Conf. Kentucky Equine Research, Lexington, 149-162

zit. nach DAHLHOFF (2003)

IKE, K., R. NURUKI, S. IMAI u. T. ISHII (1983):

Composition of intestinal ciliates and bacteria excreted in feces of the race-horse.

Jap. J. vet. Sci., 45, 157-163

zit. nach KROPP (1991)

ILLENSEER, M. (1994):

Praeileale Verdaulichkeit von Hafer-, Kartoffel- und Maniokrationen beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

JEROCH, H., F. FLACHOWSKI u. F. WEISSBACH (1993):

Futtermittelkunde.

Verlag Gustav Fischer, Jena, Stuttgart, 26-28

JOHNS, R. J. u. P. BARNS (1996):

In vitro digestibility assessment of tropical shrub legumes using rumen fluid or faecal fluid as the inoculum source.

Trop. Grasslands, 30, 374-377

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

JOHNS, D. I. H., u. M. V. HAYWARD (1975):

The effect of pepsin pretreatment of herbage on the prediction of dry matter digestibility from solubility in fungal cellulase solution.

J. Sci. Food Agric., 26, 711-718

zit. nach THEODOROU et al. (1994)

JULLIAND, V. (1992):

Microbiology of the Equine Hindgut.

Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes,
42-47

JULLIAND, V., H. PREVOST u. J. L. TISSERAND (1993):

Preliminary study of the cecal bacterial flora in the pony: quantification and diet effect.

Ann. Zootech., 42, 183

JULLIAND, V., A. DE VAUX, L. MILLET u. G. FONTY (1999) :

Identification of Ruminococcus flavefaciens as the Predominant Cellulytic Bacterial Species
of the Equine Cecum.

Appl. Environ. Microbiol., 65, 8, 3730-2741

JULLIAND, V., A. DE FOMBELLE, C. DROGOUL u. E. JACOTOT (2001):

Feeding and microbial disorders in horses: Part 3 – Effects of three hay:grain ratios on
microbial profiles and activities.

J. Equine Vet. Sci., 21 (11), 543-546

KAMPHUES, J. (1986):

Untersuchungen zu Verdauungsvorgängen bei Absatzferkeln in Abhängigkeit von
Futtermenge und –zubereitung sowie von Futterzusatzstoffen.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Habilitationsschrift

KAMPHUES, J., S. DENELL u. S. RADICKE (1992):

Lipopolysaccharidkonzentrationen im Magen-Darm-Trakt von Ponys nach Aufnahme von
Heu bzw. einer kraftfutterreichen Ration.

Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes,
59-63

KARLSON, P., D. DOENECKE u. J. KOOLMAN (1994):

Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler.

14. Aufl., Thieme Verlag Stuttgart, New York

KERN, D. L., L. L. SLYTER, J. M. WEAVER, E. C. LEFFEL u. G. SAMUELSON (1973):
Pony cecum vs. steer rumen: the effects of oats and hay on the microbial ecosystem.
J. Anim. Sci., 37, 463

KERN, D. L., L. L. SLYTER, E. C. LEFFEL, J. M. WEAVER, u. R. R. OLTJEN (1974):
Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of intestinal ingesta.
J. Anim. Sci., 38, 559-564

KIENZLE, E. (1987):
Aktivität verschiedener Verdauungsenzyme in den Faeces der Katze in Abhängigkeit von der
Fütterung.
17. Kongr. DVG, Fachgruppe Kleintiere, Berlin, 417-423
zit. nach BOTHE (2001)

KIENZLE, E. (1988):
Eine in-vitro Methode zum Vergleich der Abbaubarkeit verschiedener Stärkevarianten durch
Pankreasamylase.
Z. Tierphysiol. Tierernährg. Futtermittelkd., 60, 12-13

KIENZLE, E., S. RADICKE, S. WILKE, E. LANDES u. H. MEYER (1992):
Praeileale Stärkeverdauung in Abhängigkeit von Stärkeart und Zubereitung.
Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes,
103-106

KIENZLE, E., S. RADICKE, E. LANDES, D. KLEFFKEN, M. ILLENSEER u. H. MEYER
(1994):
Activity of amylase in the gastrointestinal tract of the horse.
J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 72, 234-241

KIENZLE, E., J. POHLENZ u. S. RADICKE (1997):
Morphology of starch digestion in the horse.
J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 80, 213-216

KLEFFKEN, D. (1993):

Praeileale Verdauung von Getreidestärke (Gerste/Mais) in Abhängigkeit von Zubereitung, Rauhfutterangebot und Amylasezusatz beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss

KOLLARCZIK, B., C. ENDERS, M. FRIEDRICH u. B. GEDECK (1992):

Auswirkungen der Rationszusammensetzung auf das Keimspektrum im Jejunum von Pferden. Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, 49-54

KROPP, S. (1991):

Bakteriologische Untersuchungen zur Zusammensetzung der Darmflora des Pferdes und deren Beeinflussung durch Chemotherapeutika.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

LANDES, E. (1992):

Amylaseaktivität und Konzentration organischer Säuren im Jejunum- und Caecumchymus des Pferdes nach Hafer- und Maisfütterung.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

LEWIS, L. D. (1996):

Feeding and care of the horse.

2. Aufl., Verlag Lippincott Williams & Wilkins

LINERODE, P. A. u. R. L. GOODE (1970):

The effect of colic on the microbial activity of the equine large intestine.

Proc. Am. Ass. Equine Pract., 14, 321-341

zit. nach FEY und SASSE (1996)

LONGLAND, A. C. u. A. J. CAIRNS (2000):

Fructans and their Implications in the Development of Laminitis in Horses at Grass.

Dodson & Horrell Ltd 3rd International Conference on Feeding Horses, 3-5

LONGLAND, A. C., A. J. CAIRNS u. M. O. HUMPHREYS (1999):

Seasonal and diurnal changes in fructan concentration in *Lolium perenne*: Implications for the grazing management of equines pre-disposed to laminitis.

Proc. 16th Equine Nutr. Physiol. Symp., 258-259

LONGLAND, A. C. u. J. M. MURRAY (2003):

Effect of two varieties of Perennial Ryegrass (*Lolium perenne*) differing in fructan content on fermentation parameters in vitro when incubated in vitro with a pony faecal inoculum.

Proc. 18th Equine Nutr. Physiol. Symp., 144-145

LOWMAN, R. S. (1998):

Investigations into the factors which influence measurements during in vitro gas production studies.

University of Edinburgh, Ph.D.

LOWMAN, R. S., M. K. THEODOROU, J. J. HYSLOP, M. S. DHANOA u. D.

CUDDEFORD (1999):

Evaluation of an in vitro batch culture technique for estimating the in vivo digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as the source of microbial inoculum.

Anim. Feed Sci. Technol., 80, 11-27

LOWMAN, R. S., M. K. THEODOROU, A. C. LONGLAND u. D. CUDDEFORD (1996):

A comparison of equine faeces or cecal digesta as source of inoculum for in vitro fermentation studies using the pressure transducer technique.

J. Anim. Sci., 62, 683-684

MABJEESH, S. J., M. COHEN u. A. ARIELI (1999):

In vitro methods for measuring the dry matter digestibility of ruminant feedstuff: Comparison of methods and inoculum source.

J. Dairy Sci., 83, 2289-2294

MACHEBOEUF, G. u. M. JESTIN (1997):

Utilization of the gas test method using horse faeces as a source of inoculum.

In: In vitro techniques for measuring nutrient supply to ruminants, Proceedings of Occasional Meeting of British Society of Animal Science, 8-10 July 1997, University of Reading, UK
zit. nach GETACHEW et al. (1998)

MACHEBOEUF, G., M. JESTIN u. W. MARTIN-ROSSET (1998):

Utilization of the gas test method and horse faeces as a source of inoculum.

Brit. Soc. Anim. Sci., 22, 187-189

MACKIE, R. I. u. C. A. WILKINS (1988):

Enumeration of anaerobic bacterial microflora of equine gastrointestinal tract.

Appl. Envir. Microbiol., 54, 2155-2160

MACZULAK, A. E., K. A. DAWSON u. J. P. BAKER (1985):

Nitrogen utilization in bacterial isolates from the equine cecum.

Appl. Environ. Microbiol., 50, 1439-1443

MAKKAR, H. P. S., M. BLÜMMEL u. K. BECKER (1995):

In vitro effects of and interactions between tannins and saponins and fate of tannins in the rumen.

J. Sci. Food Agric., 69, 481-493

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

MAURICIO, R. M., E. OWEN, F. L. MOULD, I. GIVENS, M. K. THEODOROU, J.

FRANCE, D. R. DAVIES u. M. S. DHANOA (2001):

Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an in vitro gas production technique for evaluating forages.

Anim. Feed Sci. Technol., 89, 33-48

MC BEE, R. H. (1953):

Manometric method for the evaluation of microbial activity of rumen with application to utilisation of cellulose and hemicelluloses.

Appl. Microbiol., 1, 106-110

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

MC CREERY, S. R., R. S. FULGHUM u. J. P. BAKER (1971):

Microflora of the equine cecum.

J. Anim. Sci., 33, 234

MC DOUGHALL, E. I. (1949):

Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva.

Biochem. J., 43, 99-109

zit. nach LOWMAN (1998)

MEDINA, B., E. JACOTOT u. V. JULLIAND (2001):

Effect of a live yeast culture on the microbial enzymatic activities in the equine hindgut fed high fibre or high starch diets.

Proc. 17th Equine Nutr. Physiol. Symp., 474-476

MEDINA, B., I. D. GIRARD, E. JACOTOT u. V. JULLIAND (2002):

Effect of a preparation of *Saccharomyces cerevisiae* on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fibre starch diet.

J. Anim. Sci., 80, 2600-2609

MENKE, K. H., L. RAAB, A. SALEWSKI, H. STEINGASS, D. FRITZ u. W. SCHNEIDER (1979):

The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuff from the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro.

J. agric. Sci., 93, 217-222

MENKE, K. H. u. H. STEINGASS (1988):

Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid.

Anim. Res. Dev., 28, 7-55

MEYER, H. (1980):

Neuere Erkenntnisse zur Dickdarmverdauung des Pferdes.

Übers. Tierernährg., 8, 123-150

MEYER, H., G. LINDEMANN u. M. SCHMIDT (1982):

Einfluß unterschiedlicher Mischfuttermgaben pro Mahlzeit auf praecaecale und postileale Verdauungsvorgänge beim Pferd.

In: Z. Tierphysiol., Tierernährg., Futtermittelkd., Beiheft 13, 32-39

MEYER, H., S. RADICKE, E. KIENZLE, S. WILKE u. D. KLEFFKEN (1993):

Investigations on preileal digestion of oats, corn and barley starch in relation to grain processing.

Proc. 13th Equine Nutr. Physiol. Symp., 42-45

MEYER, H., S. RADICKE, E. KIENZLE, S. WILKE, D. KLEFFKEN u. M. ILLENSEER (1995):

Investigation of preileal digestion of starch from grain, potato and maniok in horse.

J. Vet. Med., A 42, 371-381

MEYER, H. u. M. COENEN (2002):

Pferdefütterung.

4. erw. und aktualisierte Aufl.

Parey Buchverlag, Berlin

MÖBELER, A. (2004):

Effekte verschiedener Kohlenhydrate (Cellulose, Pektin, Stärke und Inulin) auf die Wasserstoff- und Methanexhalation beim gesunden Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

MOORE, B. E. u. B. A. DEHORITY (1993):

Effects of Diet and Hindgut Defaunation on Diet Digestibility and Microbial Concentrations in the Cecum and Colon of the Horse.

J. Anim. Sci., 71, 3350-3358

MOORE, J. N., H. E. GARNER, J. N. BERG u. R. F. SPROUSE (1979):

Intracecal endotoxin and lactat during the onset of equine laminitis. A preliminary report.

Am. J. Vet. Res., 40, 5, 722-723

MOORE-COLYER, M. J. S., J. J. HYSLOP, A. C. LONGLAND u. D. CUDDEFORD (2000):

Intra-cecal fermentation parameters in ponies fed botanically diverse fibre-based diets.

Anim. Feed Sci. Technol., 84, 183-197

MOORE-COLYER, M. J. S., A. C. LONGLAND u. J. MURRAY (2001):

Microbial activity and degradation capacity in nine regions of the equid gut using the gas production technique.

Proc. 17th Equine Nutr. Physiol. Symp., 119-120

MOORE-COLYER, M. J. S., J. J. HYSLOP, A. C. LONGLAND u. D. CUDDEFORD (2002):

The mobile bag technique as a method for determining the degradation of four botanically diverse fibrous feedstuffs in the small intestine and total digestive tract of ponies.

Brit. J. Nutr., 88, 729-740

MUNGALL, B. A., M. KYAT-TANNER u. C. C. POLLITT (2001):

In vitro evidence for a bacterial pathogenesis of equine laminitis.

Vet. Microbiol., 79, 209-223

MURRAY, J. M. D., A. C. LONGLAND, M. J. S. MOORE-COLYER u. C. DUNNETT (2003):

The effect of diet and donor animal on the fermentative capacity of equine faecal inocula for use in in vitro digestibility determinations.

Proc. 18th Equine Nutr. Physiol. Symp., 121-122

NAUMANN, C. u. R. BASSLER (1997):

Die chemische Untersuchung von Futtermitteln.

Methodenbuch Band III

Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten

VDLUFA Verlag, Darmstadt

NINESS, K. R. (1999):

Inulin and oligofructose: What are they?

J. Nutr., 129, 1402-1406

NURMIO, P., L. KOIRANEN u. A. TUPAMAKI (1973):

Hevosen fekaalinen mikrobifloora. (The faecal microflora of horses).

Suomen Eläinlääkäilehti, 79, 668-681

zit. nach GREISS (1995)

ØRSKOV, E. R. u. I. MC DONALD (1979):

The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage.

J. agric. Sci., 92, 499-503

ORPIN, C. G. (1981):

Isolation of cellulytic phycomycete fungi from the cecum of the horse.

J. Gen. Microbiol., 123, 287-296

zit. nach JULLIAND (1992)

PELL, A. N. u. P. SCHOFIELD (1993):

Computerized monitoring of gas production to measure forage digestion in vitro.

J. Dairy Sci., 76, 1063-1073

PILLINER, S. (1999):

Horse nutrition and feeding.

2. Aufl., Verlag Blackwell Science, Oxford

POLLITT, C. C. u. A. W. VAN EPS (2002):

Equine laminitis: a new induction model based on alimentary overload with fructan.

Proc. Austr. Equine Vet. Assoc., Bain-Fallon Memorial Lectures

POLLOCK, C. J. (1986):

Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants.

New Phytol., 104, 1-24

zit. nach DAHLHOFF (2003)

POTTER, G. D., F. F. ARNOLD, D. D. HOUSEHOLDER, D. H. HANSEN u. K. M.

BROWN (1992):

Digestion of Starch in the Small or Large Intestine of the Equine.

Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes,
107-111

QUIN, J. I. (1943):

Studies on the alimentary tract of merino sheep in south Africa: 7. Fermentation in the forestomach of sheep.

Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Industry, 2, 91-117

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

QUIN, J. I., J. G. VAN DER WATH u. S. MYBURGH (1938):

Studies on the alimentary tract of merino sheep in south Africa: 4. Description of experimental technique.

Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Industry, 11, 341-360

zit. nach LOWMAN (1998)

RADICKE, S. (1990):

Untersuchungen zur Verdauung von Mais- und Haferstärke beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

REITNOUR, C. M. u. G. E. MITCHELL, Jr. (1979):

Anaerobic proteolytic bacteria in cecal contents of ponies.

J. agric. Sci., 92, 507-509

RADICKE, S., E. LANDES, E. KIENZLE u. H. MEYER (1992):

Aktivität der Amylase im Darmkanal des Pferdes in Abhängigkeit der Futterart.
Pferdeheilkd., 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes,
99-102

ROBERFROID, M. B. u. N. M. DELZENNE (1998) :

Dietary fructans.

Annu. Rev. Nutr., 18, 117-143

ROBERFROID, M. B., J. A. E. VAN LOO u. G. R. GIBSON (1998):

The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products.

J. Nutr., 128 (11), 11-19

ROBERTS, M. C. (1974) :

Amylase activity in the small intestine of the horse.

Res. Vet. Sci., 17, 400-401

ROBERTS, M. C. (1975) :

Carbohydrate digestion and absorption in the horse.

Res. Vet. Sci., 18, 64-69

ROBINSON, P. H., M. CAMPBELL MATHEWS u. J. G. FADEL (1999):

Influence of storage time and temperature on in vitro digestion of neutral detergent fibre at 48 h, and comparison to 48 h in sacco neutral detergent fibre digestion.

Anim. Feed Sci. Technol., 80, 257-266

ROONEY, L. W. u. R. L. PFLUGFELDER (1986):

Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn.

J. Anim. Sci., 63, 1607-1623

ROWE, J. B., M. J. LEES, D. W. PETHICK, C. M. POLLITT u. K. JACOBS (1994):

Prevention of laminitis resulting from carbohydrate overload in horses.

J. Nutr., 124, Suppl., 2742S-2744S

SAVAGE, D. C. (1982):

The effect of stress, diet and environment and the stability of the gastrointestinal microflora.

Fortschr. Veterinärmed., 33, 23-31

SCHUBIGER, F. X., H.-R. BOSSHARD u. J. LEHMANN (1998):

Nicht-strukturbildende Kohlenhydrate im Wiesenheu.

Agrarforschung, 5 (2), 65-68

SINHA, M. N. (1972):

Vorkommen und Eigenschaften von *Cl. Perfringens*, isoliert aus der Darmflora von Pferden, Rindern, Schweinen, Hunden, Katzen und Hühnern.

Wien. Tierärztl. Monatsschr., 59, 191-193

zit. nach KROPP (1991)

SMITH, H. W. u. W. E. CRABB (1961):

The faecal bacterial flora of animals and man.

J. Path. Bact., 82, 53-66

zit. nach FEY und SASSE (1996)

SMITH, H. W. (1965):

Observation of the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition.

J. Pathol. Bacteriol., 89, 95-122

SPROUSE, R. F. u. H. E. GARNER (1982):

Normal and perturbed microflora of the equine cecum.

Proc. 1st Equine Nutr. Physiol. Symp., 53-61

SÜDEKUM, K.-H. (1994):

Monosaccharide composition of cell-wall carbohydrates. Digestion and absorption.

Livestock Prod. Sci., 39, 71-79

THEODOROU, M. K., D. R. DAVIES, M. G. C. JORDAN, A. P. J. TRINCI u. C. G. ORPIN (1993):

Comparison of anaerobic fungi in faeces and rumen digesta of newly born and adult ruminants.

Mycol. Res., 97, 1245-1252

zit. nach LOWMAN (1998)

THEODOROU, M. K., B. A. WILLIAMS, M. S. DHANOA, A. B. MC ALLEN u. J. FRANCE (1994):

A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds.

Anim. Feed Sci. Technol., 48, 185-197

TILLEY, J. M. A. u. R. A. TERRY (1963):

A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops.

J. Br. Grassl. Soc., 18, 104-111

TISSERAND, J. L. (1992):

Fermentation in the Hindgut of the Horse – Possibilities of Disorders.

Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, 197-200

TREVOR-JONES, P. J., N. SRISKANDARAJAH u. R. A. WOOG (1991):

Development of an in vitro technique for the evaluation of feeds for horses.

Proceedings of the Nutrition Society Australia, 16, 54

zit. nach LOWMAN (1998)

VAN LOO, J., J. CUNNINGS, N. DELZENNE, H. ENGLYST, A. FRANCK, M. HOPKINS, N. KOK, G. MACFARLANE, D. NEWTON, M. QUIGLEY, M. ROBERFROID, T. VAN VLIET u. E. VAN DEN HEUVEL (1999):

Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII AIRII-CT94-1095)

Brit. J. Nutr., 81, 121-132

VAN SOEST, P. J. (1982):

Nutritional Ecology of the Ruminant.

Oregon, O & B Books

zit. nach LOWMAN (1998)

VAN SOEST, P. J., J. B. ROBERTSON u. B. A. LEWIS (1991):

Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition.

J. Dairy Sci., 74, 3583-3597

WAGHORN, G. C. u. K. J. STAFFORD (1993):

Gas production and nitrogen digestion by rumen microbes from deer and sheep.

New Zealand J. Agric. Res., 36, 493-497

zit. nach GETACHEW et al. (1998)

WIERUP, M. u. J. A. DI PIETRO (1981):

Bacteriologic examination of equine fecal flora as a diagnostic tool for equine intestinal clostridiosis.

Am. J. Vet. Res., 42, 2167-2169

WILKE, S. (1992):

Zur praeilealen Verdaulichkeit von Hafer und mais verschiedener Zubereitungen beim Pferd.

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Diss.

WILKINS, J. R. (1974):

Pressure transducer method for measuring gas production by microorganisms.

Appl. Microbiol., 27, 135-140

WILLARD, J. G., J. C. WILLARD, S. A. WOLFRAM u. J. P. BAKER (1977):

Effect of diet on cecal pH and feeding behavior of horses.

J. Anim. Sci., 45 (1), 87-93

LITERATURVERZEICHNIS

WILMAN, D., DR. u. A. ADESOGAN (2000):

A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the in vitro digestibility of forages.

Anim. Feed Sci. Technol., 84, 33-47

ZEYNER, A., C. GEIBLER, H. KASKE u. R. FUCHS (1992):

Untersuchungen zur Beurteilung der Futterration mittels Kotwasseranalysen (Wasser, pH, org. Säuren).

Pferdeheilkd., Sonderausgabe, 1. Europäische Konferenz über die Ernährung des Pferdes, 88-91

TABELLENANHANG

Tab. I: Trockensubstanzgehalte vor (% TS) und Trockensubstanzabbau (%) nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	Abbau	vor Inkubation	Abbau
I	92,69	32,14	92,69	33,11
II	92,69	32,16	92,69	29,85
III	92,69	31,66	92,69	32,42
IV	92,69	30,56	92,69	30,19
V	92,69	34,35	92,69	32,63
VI	92,69	31,26	92,69	33,66
MW	92,69	32,02	92,69	31,98
SD		1,29		1,58
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	Abbau	vor Inkubation	Abbau
I	91,79	53,80	91,79	51,12
II	91,79	53,69	91,79	46,86
III	91,79	49,21	91,79	52,54
IV	91,79	60,18	91,79	53,20
V	91,79	52,80	91,79	46,03
VI	91,79	51,22	91,79	52,75
MW	91,79	53,48	91,79	50,42
SD		3,71		3,17
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	Abbau	vor Inkubation	Abbau
I	88,19	66,17	88,19	64,96
II	88,19	72,50	88,19	72,96
III	88,19	70,32	88,19	73,98
IV	88,19	71,82	88,19	71,93
V	88,19	68,92	88,19	72,89
VI	88,19	63,58	88,19	68,76
MW	88,19	68,89	88,19	70,91
SD		3,44		3,42
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	Abbau	vor Inkubation	Abbau
I	95,0	88,47	95,0	89,07
II	95,0	91,45	95,0	90,04
III	95,0	88,85	95,0	88,56
IV	95,0	90,55	95,0	87,94
V	95,0	88,77	95,0	88,86
VI	95,0	90,28	95,0	90,00
MW	95,0	89,73	95,0	89,08
SD		1,20		0,82

TABELLENANHANG

Tab. IIa: Essigsäurekonzentrationen (mmol/l) im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,8449	6,7848	2,8332	5,064
II	1,4159	3,7778	1,4094	4,025
III	2,5094	6,5018	2,8616	8,3001
IV	2,3601	4,8104	1,698	9,3949
V	2,6068	5,5681	1,1022	5,3606
VI	1,4609	6,1324	2,0661	5,6198
MW	1,87	5,60	2,00	6,29
SD	0,72	1,14	0,73	2,08
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	1,1153	6,7097	0,8045	5,6996
II	0,4371	6,6598	1,8345	4,9851
III	3,1009	6,8902	2,2664	8,6394
IV	3,8238	13,6709	1,8205	9,726
V	2,4876	5,3948	1,5538	7,3446
VI	0,8686	6,364	0,9422	7,5802
MW	1,97	7,61	1,54	7,33
SD	1,36	3,01	0,56	1,77
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	1,0781	10,3428	2,9832	8,8292
II	0,786	8,541	0,3863	7,8552
III	1,8537	10,8198	1,7795	11,7554
IV	0,5996	2,9864	1,2921	8,2799
V	0,7642	7,9849	1,0523	10,0617
VI	1,5385	5,9109	1,6768	9,0888
MW	1,10	7,76	1,53	9,31
SD	0,49	2,93	0,87	1,41
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	2,6468	5,5151	1,7689	7,9391
II	1,1546	7,2381	2,7391	9,7712
III	2,3284	8,7796	2,8839	10,6133
IV	1,3097	13,4997	2,5121	7,482
V	2,754	4,2274	1,9999	13,7241
VI	1,3038	9,8447	5,3232	11,6668
MW	1,92	8,18	2,87	10,20
SD	0,74	3,32	1,28	2,34

TABELLENANHANG

Tab. IIb: Propionsäurekonzentrationen (mmol/l) im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,2385	0,7986	0,6217	0,4404
II	0,288	0,5393	0,3121	0,2146
III	0,6552	0,3819	0,7687	1,5675
IV	0,7167	0,2771	0,7135	0,9862
V	0,7902	0,2988	0,1137	0,579
VI	0,3974	1,1197	0,4156	0,8768
MW	0,51	0,57	0,49	0,78
SD	0,24	0,33	0,25	0,48
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,3111	1,0353	0,682	0,527
II	0,3367	0,6402	0,4795	0,3205
III	0,7502	0,908	0,5582	0,9758
IV	0,8448	1,3137	0,2928	3,9623
V	0,983	0,4233	0,7716	1,2018
VI	0,1459	0,5978	0,3499	0,9164
MW	0,56	0,82	0,52	1,32
SD	0,34	0,33	0,19	1,33
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,4541	1,1805	0,9076	0,5294
II	0,1413	0,5817	0,139	0,5199
III	0,5123	1,1686	0,283	1,2573
IV	0,00	0,1513	0,2651	0,2076
V	0,225	0,6887	0,6635	0,8699
VI	0,5939	0,6955	0,1344	0,5554
MW	0,32	0,74	0,40	0,66
SD	0,23	0,39	0,32	0,36
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,45	0,7884	0,4243	0,8439
II	0,2611	0,6643	0,4705	1,5972
III	0,00	0,2574	0,6893	5,3404
IV	0,5548	7,3156	0,9062	0,9961
V	0,7327	0,1938	0,4511	6,5346
VI	0,8812	3,8317	1,3809	5,3442
MW	0,48	2,18	0,72	3,44
SD	0,32	2,86	0,37	2,57

0,00 = unterhalb der Nachweisgrenze

TABELLENANHANG

Tab. IIc: I-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,0635	0,027	0,0254
II	0,0511	0,0633	0,0284	0,0169
III	0,0593	0,0481	0,0604	0,1534
IV	0,0358	0,022	0,0301	0,0762
V	0,00	0,0237	0,00	0,0427
VI	0,0341	0,0527	0,0444	0,0612
MW	0,0301	0,0456	0,0317	0,0626
SD	0,0251	0,0186	0,0201	0,0496
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,0867	0,0368	0,0255
II	0,0316	0,0258	0,0257	0,0261
III	0,1174	0,0581	0,0176	0,037
IV	0,0847	0,2151	0,0244	0,00
V	0,0755	0,0216	0,0348	0,0462
VI	0,00	0,058	0,00	0,0367
MW	0,0515	0,0776	0,0232	0,0286
SD	0,0484	0,0715	0,0134	0,0160
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,0405	0,059	0,00
II	0,00	0,05	0,00	0,00
III	0,0476	0,0394	0,00	0,119
IV	0,00	0,0367	0,00	0,0477
V	0,0266	0,0323	0,052	0,0618
VI	0,0191	0,0843	0,0272	0,0193
MW	0,0156	0,0472	0,0230	0,0413
SD	0,0194	0,0191	0,0274	0,0456
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,0333	0,00	0,0385
II	0,00	0,0728	0,07	0,0906
III	0,00	0,0303	0,00	0,00
IV	0,0424	0,00	0,0923	0,068
V	0,902	0,0533	0,00	0,00
VI	0,0624	0,0182	0,1359	0,00
MW	0,1678	0,0347	0,0497	0,0329
SD	0,3607	0,0257	0,0584	0,0396

0,00 = unterhalb der Nachweisgrenze

TABELLENANHANG

Tab. IId: N-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,0411	0,2995	0,2388	0,158
II	0,0678	0,1115	0,0821	0,0418
III	0,2314	0,3307	0,2814	0,3988
IV	0,1608	0,0414	0,0996	0,3535
V	0,0502	0,0722	0,0454	0,2198
VI	0,0738	0,0807	0,0545	0,138
MW	0,1042	0,1560	0,1336	0,2183
SD	0,0755	0,1256	0,1008	0,1357
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,0876	0,2703	0,273	0,1242
II	0,0589	0,1651	0,1329	0,1303
III	0,3287	0,4062	0,1907	0,2484
IV	0,1949	0,9552	0,137	0,1998
V	0,2708	0,0751	0,2691	0,2829
VI	0,00	0,1309	0,1162	0,124
MW	0,1568	0,3338	0,1865	0,1849
SD	0,1288	0,3262	0,0701	0,0696
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,1629	0,349	0,3117	0,2209
II	0,0297	0,2343	0,0833	0,0713
III	0,039	0,2125	0,1362	0,4132
IV	0,1145	0,4688	0,0749	0,054
V	0,0775	0,3368	0,2189	0,5172
VI	0,1036	0,3767	0,0414	0,1435
MW	0,0879	0,3297	0,1444	0,2367
SD	0,0499	0,0947	0,1027	0,1895
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,1148	0,3634	0,1237	0,1635
II	0,0408	0,281	0,1109	0,4829
III	0,00	0,0493	0,1395	0,6379
IV	0,0479	0,4712	0,2429	0,227
V	0,2898	0,00	0,1238	0,177
VI	0,1699	0,3278	0,5427	0,991
MW	0,1105	0,2488	0,2139	0,4466
SD	0,1065	0,1852	0,1681	0,3272

0,00 = unterhalb der Nachweisgrenze

TABELLENANHANG

Tab. IIe: I-Valeriansäure (mmol/l) im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,0512	0,0313	0,0134
II	0,0246	0,048	0,0358	0,0196
III	0,0482	0,1333	0,0651	0,1869
IV	0,00	0,0252	0,00	0,352
V	0,00	0,0251	0,00	0,0639
VI	0,0331	0,0527	0,0341	0,0586
MW	0,0177	0,0559	0,0277	0,1157
SD	0,0208	0,0399	0,0247	0,1316
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,038	0,0749	0,0299
II	0,00	0,0258	0,0323	0,0266
III	0,0407	0,0317	0,0242	0,0297
IV	0,0864	0,3933	0,0415	0,0463
V	0,0527	0,0193	0,0252	0,0629
VI	0,0301	0,0497	0,00	0,00
MW	0,0350	0,0930	0,0330	0,0326
SD	0,0331	0,1475	0,0247	0,0211
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,032	0,0395	0,0269
II	0,0231	0,00	0,0281	0,0654
III	0,0473	0,0649	0,0506	0,1006
IV	0,0754	0,1077	0,0661	0,0855
V	0,00	0,0403	0,364	0,0814
VI	0,0242	0,0448	0,0325	0,0584
MW	0,0283	0,0483	0,0968	0,0697
SD	0,0291	0,0360	0,1316	0,0258
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,0405	0,00	0,0228	0,0314
II	0,00	0,0304	0,0827	0,1357
III	0,00	0,00	0,00	0,0576
IV	0,00	0,0815	0,0291	0,0293
V	0,0238	0,00	0,00	0,0498
VI	0,0464	0,0494	0,1282	0,2394
MW	0,0185	0,0269	0,0438	0,0905
SD	0,0215	0,0337	0,0512	0,0827

0,00 = unterhalb der Nachweisgrenze

TABELLENANHANG

Tab. IIf: N-Valeriansäure (mmol/l) im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,00	0,0404	0,0341
II	0,00	0,0355	0,00	0,00
III	0,00	0,0274	0,00	0,0443
IV	0,03	0,0263	0,00	0,00
V	0,00	0,00	0,00	0,0827
VI	0,00	0,0235	0,029	0,00
MW	0,0050	0,0188	0,0116	0,0269
SD	0,0122	0,0151	0,0183	0,0336
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,022	0,0585	0,0404	0,0324
II	0,0331	0,00	0,00	0,00
III	0,00	0,00	0,0203	0,0191
IV	0,0446	0,0729	0,00	0,00
V	0,0483	0,0237	0,00	0,0464
VI	0,00	0,00	0,00	0,00
MW	0,0247	0,0259	0,0101	0,0163
SD	0,0212	0,0325	0,0169	0,0199
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,0308	0,0406	0,0794	0,039
II	0,00	0,00	0,00	0,0275
III	0,00	0,0362	0,0423	0,0613
IV	0,00	0,00	0,00	0,00
V	0,00	0,0562	0,0416	0,0341
VI	0,00	0,00	0,00	0,00
MW	0,0051	0,0222	0,0272	0,0270
SD	0,0126	0,0252	0,0328	0,0238
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,0345	0,00	0,00
II	0,00	0,00	0,0743	0,0318
III	0,00	0,00	0,0288	0,0672
IV	0,00	0,00	0,041	0
V	0,0431	0,00	0,0248	0,0244
VI	0,037	0,0157	0,0458	0,084
MW	0,0134	0,0084	0,0358	0,0346
SD	0,0208	0,0143	0,0247	0,0347

0,00 = unterhalb der Nachweisgrenze

TABELLENANHANG

Tab. III: Laktatgehalte (mmol/l) im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	0,00	0,00	0,25
II	0,00	1,27	0,00	0,42
III	0,00	0,00	0,00	0,73
IV	0,00	0,00	0,00	0,52
V	0,00	0,17	0,58	0,71
VI	0,38	0,00	0,00	1,12
MW	0,07	0,24	0,10	0,62
SD	0,15	0,51	0,24	0,30
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,60	5,44	0,00	5,10
II	0,04	5,55	0,73	4,58
III	0,00	6,79	0,00	3,49
IV	0,27	4,72	0,28	3,84
V	0,04	4,51	0,09	4,75
VI	0,42	5,63	0,54	4,42
MW	0,23	5,44	0,27	4,36
SD	0,25	0,81	0,30	0,60
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	3,39	0,03	3,22
II	0,34	4,60	0,00	3,87
III	0,25	3,50	0,00	4,48
IV	0,00	3,56	0,49	4,15
V	0,00	6,53	0,00	2,66
VI	0,00	4,28	0,00	3,80
MW	0,10	4,31	0,09	3,70
SD	0,16	1,19	0,20	0,66
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	0,00	12,55	0,00	11,27
II	0,00	18,15	0,38	10,90
III	0,00	0,00	0,38	3,59
IV	0,00	0,00	0,00	11,75
V	0,35	7,48	0,13	1,09
VI	0,00	7,01	0,20	12,52
MW	0,06	7,53	0,18	8,52
SD	0,14	7,10	0,17	4,88

0,00 = unterhalb der Nachweisgrenze

TABELLENANHANG

Tab. IV: pH Werte im Inokulum vor und nach Inkubation von Grünmehl, Trockenschnitzeln, Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	7,63	7,61	7,52	7,54
II	7,43	7,53	7,38	7,5
III	7,5	7,55	7,45	7,42
IV	7,53	7,53	7,43	7,58
V	7,52	7,49	7,56	7,62
VI	7,46	7,22	7,49	7,44
MW	7,51	7,49	7,47	7,52
SD	0,07	0,14	0,06	0,08
Trockenschnitzel				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	7,44	7,33	7,41	7,36
II	7,33	7,21	7,5	7,47
III	7,45	7,33	7,63	7,42
IV	7,45	7,34	7,45	7,24
V	7,47	7,44	7,57	7,45
VI	7,45	7,36	7,35	7,29
MW	7,43	7,34	7,49	7,37
SD	0,05	0,07	0,10	0,09
Hafer				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	7,34	7,19	7,45	7,35
II	7,47	7,17	7,41	7,22
III	7,42	7,29	7,5	7,16
IV	7,54	7,68	7,51	7,28
V	7,46	7,22	7,37	7,19
VI	7,56	7,38	7,48	7,36
MW	7,47	7,32	7,45	7,26
SD	0,08	0,19	0,05	0,08
Topinambur				
Pferd	Tag 1		Tag 10	
	vor Inkubation	nach Inkubation	vor Inkubation	nach Inkubation
I	7,4	7,14	7,4	7,21
II	7,63	7,29	7,52	7,19
III	7,57	7,41	7,52	7,2
IV	7,43	7,1	7,43	7,15
V	7,49	7,53	7,49	7,19
VI	7,47	7,11	7,51	7,09
MW	7,50	7,26	7,48	7,17
SD	0,09	0,18	0,05	0,04

TABELLENANHANG

Tab. Va: Gasproduktion (ml) während der Inkubation (2 - 24 h post incub) von Grünmehl und Trockenschnitzeln am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Grünmehl								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	6,43	2,57	2,43	2,13	1,73	1,80	2,93	1
II	6,53	1,87	1,67	2,07	1,93	1,63	4,10	1
III	6,97	4,37	2,73	2,47	2,43	2,17	4,20	1
IV	5,00	3,00	3,00	3,50	2,83	2,00	2,57	1
V	6,33	3,17	1,70	2,23	1,77	2,00	3,17	1
VI	5,50	4,50	3,50	3,33	2,43	1,83	3,27	1
MW	6,13	3,24	2,51	2,62	2,19	1,91	3,37	
SD	0,73	1,03	0,73	0,63	0,44	0,19	0,65	
Grünmehl								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	6,50	2,40	1,80	2,00	1,00	1,93	3,30	10
II	6,97	3,57	2,50	2,77	2,50	2,63		10
III	6,83	4,03	3,73	3,10	2,13	1,57	3,10	10
IV	7,00	3,70	3,17	2,80	2,00	1,50	2,97	10
V	5,43	3,33	2,33	2,17	1,60	1,33	3,57	10
VI	7,10	4,13	3,20	3,50	3,00	2,40	4,00	10
MW	6,64	3,53	2,79	2,72	2,04	1,89	3,39	
SD	0,63	0,63	0,70	0,56	0,70	0,53	0,41	
Trockenschnitzel								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	5,00	2,73	11,00	6,07	3,93	2,57	15,33	1
II	7,43	5,67	12,00	7,03	4,50	3,30	8,27	1
III	6,07	9,93	6,33	4,27	3,03	1,93	6,47	1
IV	5,10	9,33	5,67	4,67	4,40	3,87	16,67	1
V	5,00	0,80	5,27	10,17	5,47	3,83	14,50	1
VI	5,53	7,00	9,53	5,47	3,50	2,10	9,50	1
MW	5,69	5,91	8,30	6,28	4,14	2,93	11,79	
SD	0,95	3,62	2,92	2,15	0,85	0,85	4,24	
Trockenschnitzel								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	5,10	3,67	10,33	6,00	4,00	2,53	9,67	10
II	6,13	9,17	9,00	5,30	3,43	2,50	11,33	10
III	5,50	7,10	8,67	5,20	3,33	2,50	12,17	10
IV	6,37	6,83	9,40	4,87	3,70	2,50	12,00	10
V	5,17	4,67	11,33	6,00	3,50	2,70	4,50	10
VI	5,83	5,73	9,83	5,47	3,50	2,43	10,17	10
MW	5,68	6,19	9,76	5,47	3,58	2,53	9,97	
SD	0,52	1,95	0,97	0,45	0,24	0,09	2,86	

TABELLENANHANG

Tab. Vb: Gasproduktion (ml) während der Inkubation (2 - 24 h post incub) von Hafer und Topinambur am Tag 1 und Tag 10 der Fütterungszulage

Hafer								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	6,93	2,07	3,23	4,50	3,67	6,47	22,50	1
II	5,07	2,27	2,00	3,20	4,67	5,83	22,33	1
III	5,17	2,00	1,40	1,37	1,73	2,87	18,67	1
IV	5,63	2,33	1,97	2,10	2,77	3,40	14,67	1
V	4,80	1,10	1,00	1,00	1,43	2,37	20,67	1
VI	5,67	2,27	1,50	1,73	2,63	4,33	25,83	1
MW	5,54	2,01	1,85	2,32	2,82	4,21	20,78	
SD	0,76	0,46	0,77	1,31	1,21	1,65	3,81	
Hafer								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	5,90	2,63	2,17	3,87	5,77	8,97	22,83	10
II	4,57	2,00	1,50	1,77	1,67	1,77	7,57	10
III	5,30	2,63	3,77	5,33	7,13	9,50	25,00	10
IV	5,33	2,30	1,93	3,73	4,80	8,67	28,00	10
V	5,13	1,63	2,33	2,87	4,07	4,73	25,00	10
VI	4,87	1,87	1,00	1,57	3,10	4,83	43,67	10
MW	5,18	2,18	2,12	3,19	4,42	6,41	25,34	
SD	0,45	0,41	0,94	1,42	1,94	3,10	11,54	
Topinambur								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	6,60	6,00	20,83	30,00	23,67	17,17	17,67	1
II	6,17	5,27	14,00	30,50	18,83	12,33	9,53	1
III	5,80	9,00	19,00	25,67	18,83	9,00	6,93	1
IV	5,47	3,60	20,00	26,50	22,00	13,33	11,67	1
V	4,67	3,83	25,67	23,67	20,00	10,17	8,17	1
VI	5,67	16,33	24,67	27,67	19,00	10,83	25,50	1
MW	5,73	7,34	20,69	27,33	20,39	12,14	13,24	
SD	0,66	4,82	4,21	2,61	2,01	2,90	7,09	
Topinambur								
Pferd	2 h	4 h	6 h	8 h	10 h	12 h	24 h	Tag
I	7,00	11,50	19,00	28,33	12,33	19,67		10
II	7,67	17,33	19,00	23,33	20,33	14,33	13,00	10
III	5,23	7,17	17,17	19,33	17,17	15,17	17,67	10
IV	6,07	4,67	18,33	14,83	16,67	11,83	11,50	10
V	5,33	4,37	22,33	18,67	18,33	16,33	12,50	10
VI	5,67	16,33	24,67	27,67	19,00	10,83	25,50	10
MW	6,16	10,23	20,08	22,03	17,31	14,69	16,03	
SD	0,98	5,73	2,83	5,36	2,77	3,19	5,80	

Mein besonderer Dank gilt...

...Herrn Prof. Dr. M. Coenen für die Überlassung des interessanten Themas, die freundliche Aufnahme als Doktorandin und seine Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

... Frau Dr. Ingrid Vervuert für die intensive Betreuung über den gesamten Zeitraum der Anfertigung der Arbeit, in dem sie sowohl bei der Versuchsdurchführung als auch bei der Durchsicht des Manuskriptes immer wieder ein besonderes Maß an Geduld bewies.

...meiner Mitstreiterin Anne Mößeler, die durch gute Laune, Enthusiasmus und die Auffüllung des Vorratsschranks den praktischen Teil fast wie im Flug vergehen ließ.

...den Mitarbeitern des Instituts für Tierernährung, speziell den Tierpflegern/innen für die tatkräftige Unterstützung, den Laboranten/innen für die stets entgegengebrachte Hilfe und die gute Stimmung im Labor.

...Herrn Peter Rust, der unermüdlich Berge von Papier und Disketten für mich mit nach Hannover genommen hat.

...meiner Mutter und Schwester für die nächtelange Suche nach grammatikalischen Ungereimtheiten und Rechtschreibfehlern und für so manches aufmunterndes Telefonat.

...meinem Freund Sandro, der bei Sonne und Regen zu mir gehalten hat, indem er mich motiviert, aufgebaut, abgelenkt und -wenn nötig- getröstet hat.

...nicht zuletzt allen Freunden und Bekannten, die mich in diesem Zeitraum unterstützt haben.