

**Aus der Klinik für Rinderkrankheiten
(im Richard-Götze-Haus)
der Tierärztlichen Hochschule Hannover**

**Untersuchungen zum Einfluß von Sulfat auf
den Thiamin- und Thiaminderivatgehalt
im bovinen Pansensaft (in vitro)**

**INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
DOCTOR MEDICINAE VETERINARIAE
durch die Tierärztliche Hochschule Hannover**

**Vorgelegt von
Mirjam Jasper
aus Hannover**

Hannover 2000

Wissenschaftliche Betreuung: Univ.- Prof. Dr. H. Scholz

Gutachter: Univ.- Prof. Dr. H. Scholz

Gutachter: Univ.- Prof. Dr. W. Ternes

Tag der mündlichen Prüfung: 31.05.2000

Habe Ehrfurcht vor dem Leben,
selbst vor der kleinsten Kreatur.

(Albert Schweizer)

Meiner lieben Familie und meinem
Biologielehrer U. Both in
Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Seite

1.	Einleitung	1
2.	Schrifttum	2
2.1	<i>Einleitung</i>	2
2.2	<i>Lipide</i>	3
2.2.1	Einführung	3
2.2.2	Klassifikation der Lipide	3
2.3	<i>Lipidzusammensetzung in Futtermitteln</i>	6
2.3.1	Lipidmenge und Lipidart	6
2.3.2	Fettsäuremuster	7
2.4	<i>Lipide im Pansen</i>	13
2.4.1	Gesamtlipidgehalt im Panseninhalt, in Pansenbakterien und -protozoen	13
2.4.1.1	Die Lipidzusammensetzung der Pansenbakterien beeinflussende Faktoren	15
2.4.2	Lipidklassen des Panseninhalts	15
2.4.2.1	Lipidklassen der Pansenbakterien	16
2.4.2.2	Lipidklassen der Pansenprotozoen	19
2.4.2.3	Lipidklassen und Fettsäurezusammensetzung der Pansenpilze	21
2.4.3	Fettsäuren im Panseninhalt	22
2.4.3.1	Fettsäuren der Pansenbakterien	24
2.4.3.2	Fettsäuren der Pansenprotozoen	27
2.5	<i>Lipolyse (Hydrolyse)</i>	30
2.5.1	Lipolyse der Futterlipide	30
2.5.2	Fütterungseinflüsse und Lipolyserate	34
2.6	<i>Biohydrogenierung (Hydrierung)</i>	36
2.6.1	Biohydrogenierung im Pansen	36
2.6.1.1	Hydrierung der Linolsäure	37
2.6.1.1.1	Wasserstoffdonatoren	38
2.6.1.1.2	Hydrierung von Linolsäure-Isomeren	39
2.6.1.2	Hydrierung der α -Linolensäure	40
2.6.1.3	Hydrierung der γ -Linolensäure	42
2.6.1.4	Hydrierung von Octadecensäure-Isomeren	43
2.6.1.5	Spezifische Rolle der Futterpartikel	44
2.6.1.6	Beteiligung der Mikroorganismen an der Hydrierung	44
2.6.1.6.1	Bakterieller Einfluß auf die Hydrierung	45
2.6.1.6.2	Protozoaler Einfluß auf die Hydrierung	48
2.6.1.7	Fütterungseinflüsse auf die Hydrierung	49
2.7	<i>Weitere Lipidtransformationen</i>	50
2.8	<i>Synthese langkettiger Fettsäuren</i>	50
2.8.1	Synthese einfacher Lipide	51
2.8.2	Synthese komplexer Lipide	56
2.8.3	Fütterungseinflüsse und Biosyntheserate	58

2.9	<i>Fettabsorption im Pansen</i>	60
2.10	<i>Effekte von Lipiden auf die Pansenfermentation</i>	61
2.10.1	Lipidbedingte Veränderungen des mikrobiellen Milieus	61
2.10.2	Einflüsse auf die FIFS-Gehalte	62
2.10.3	Einfluß längerkettiger Fettsäuren auf den Ammoniakgehalt	64
2.10.4	Einfluß auf Protozoenzahl und mikrobielle Proteinsynthese (MPS)	65
2.10.5	Einfluß auf pH-Wert, Pufferkapazität und Methanogenese	67
2.11	<i>Zusammenfassung</i>	67
3.	Eigene Untersuchungen	69
3.1	<i>Versuchsziel</i>	69
3.2	<i>Material und Methodik</i>	69
3.2.1	Das Langzeitinkubationssystem RUSITEC	69
3.2.1.1	Aufbau und Funktionsweise	69
3.2.1.2	Inbetriebnahme	69
3.2.1.3	Fermentationsbetrieb	71
3.2.2	Futterkomponenten	71
3.2.3	Inokulum-Spendertier	72
3.2.3.1	Haltung und Fütterung des Spendertieres	72
3.3	<i>Versuchsdurchführung</i>	73
3.3.1	Vorversuch	73
3.3.2	Hauptversuch	73
3.4	<i>Analytik</i>	75
3.4.1	Bestimmung des pH-Wertes	76
3.4.2	Bestimmung der Ammoniakkonzentration	76
3.4.3	Volumetrische Bestimmung der Gasproduktion	76
3.4.4	Chromatographische Analyse der Gaszusammensetzung	76
3.4.5	Bestimmung des Überstandsvolumens	77
3.4.6	Chromatographische Analyse der flüchtigen Fettsäuren	77
3.4.7	Photometrische Bestimmung des Proteingehaltes	77
3.4.8	Bestimmung des Natrium-, Kalium-, Chloridgehaltes	78
3.4.9	Enzymatische Bestimmung der Cellulaseaktivität	78
3.4.10	Bestimmung der Thiaminkonzentration	78
3.4.11	Messung längerkettiger Fettsäuren	79
3.4.11.1	Zielsetzung	79
3.4.11.1	Prinzip der Methode	80
3.4.11.2	Material	80
3.4.11.3	Probenaufbereitung	83
3.4.11.4	Überprüfung der Fettsäureerkennung	84
3.4.11.5	Überprüfung des Pansensaftes	88
3.4.11.6	Ergebnisse der Pansensaftuntersuchungen	88
3.4.11.7	Abschließende Wertung	91
3.5	<i>Statistische Berechnung</i>	92

4. Ergebnisse		94
4.1	pH-Wert	94
4.2	Ammoniakkonzentrationen	95
4.3	Gasproduktion	95
4.4	Methananteil an der Gasproduktion	96
4.5	Wasserstoffanteil an der Gasproduktion	97
4.6	Proteinkonzentrationen	98
4.7	Cellulaseaktivität	99
4.8	Essigsäurekonzentrationen	100
4.9	Propionsäurekonzentrationen	102
4.10	i-Buttersäurekonzentrationen	103
4.11	n-Buttersäurekonzentrationen	104
4.12	i-Valeriansäurekonzentrationen	106
4.13	n-Valeriansäurekonzentrationen	107
4.14	Hexansäurekonzentrationen	108
4.15	Summe der flüchtigen Fettsäuren	110
4.16	Thiamin und seine Derivate in der Fermenterflüssigkeit	111
4.16.1	Thiamin und seine Derivate in der Fermenterflüssigkeit (Gesamtfraktion)	112
4.17	Thiamin und seine Derivate in der Pflanzen- und Protozoenfraktion	115
4.18	Thiamin und seine Derivate im bakterienfreien Überstand	118
4.19	Thiamin und seine Derivate in der Bakterienfraktion	121
4.20	Thiamin und seine Derivate im Überstand	124
5. Diskussion		128
5.1	<i>Intention der Arbeit</i>	128
5.2	<i>Kritische Betrachtung der Versuchsanstellung</i>	128
5.2.1	Das RUSITEC-System	128
5.2.2	Beurteilung des inokulierten Panseninhaltes	128
5.3	<i>Parameter</i>	129
5.4	<i>Statistik</i>	129
5.5	<i>Auswirkungen der Natriumsulfat- bzw. der sich anschließenden kombinierten Natriumsulfat-/Thiamingabe auf die Fermentationsvorgänge</i>	129
5.5.1	Auswirkungen auf den pH-Wert	129
5.5.2	Auswirkungen auf den Stickstoffstoffwechsel	130
5.5.3	Auswirkungen auf den Kohlenhydratstoffwechsel	132
5.5.3.1	Auswirkungen auf die Cellulaseaktivität	132
5.5.3.1.1	Einfluß von Sulfat und Sulfat-/Thiamingaben auf Pansenbakterien	133
5.5.3.1.2	Einfluß von Sulfat und Sulfat-/Thiamingaben auf Pansenprotozoen	138
5.5.3.1.3	Einfluß von Sulfat und Sulfat-/Thiamingaben auf Pansenpilze	139
5.5.3.2	Auswirkungen auf die Gaszusammensetzung	140
5.5.3.3	Auswirkungen auf den Gehalt an flüchtigen Fettsäuren	143
5.5.4	Einfluß der Sulfatzulage auf den Thiaminstoffwechsel	145

5.6	<i>Zusammenfassende Wertung</i>	148
6.	Zusammenfassung	151
7.	Summary	154
8.	Schrifttumsverzeichnis	157
9.	Anhang	200
9.1	Eichkurve der Proteinbestimmung nach Bradford	200
9.2	Eichkurve der Cellulaseaktivität	201
9.3	Statistische Daten	202
9.4	Zusammensetzung des RUSITEC-Puffers	228

Verzeichnis der Abkürzungen

A.	Alicon ®
A. dest.	Aqua destillata
A. bidest.	Aqua bidestillata
Abb.	Abbildung
AS	Aminosäure (n)
B.	Bacteroides
bak.	Bakterien
BB ₁	bakterienhaltige Probe (Probenaufbereitung der Thiaminbestimmung)
BfB ₁	bakterienfreie Probe (Probenaufbereitung der Thiaminbestimmung)
Bv.	Butyrivibrio
bzw.	beziehungsweise
CCN	Cerebrocorticalnekrose
CH ₄	Methan
chromatogr.	chromatographisch
chron.	chronisch
CO ₂	Kohlendioxid
d	Tag
DB	Doppelbindung
DGDG	Digalaktosyldiglycerin
DPG	Diphosphatidylglycerin (Cardiolipin)
E	Einheit
E.	Escherichia
FID	Flammenionisationsdetektor
FIFS	flüchtige Fettsäure (n)
FS	Fettsäure
FSA	Sulfatzulagefermenter
g	Gramm
GDG	Galaktosyldiglycerin
ggr.	geringgradig
ges. FS	gesättigte Fettsäuren
h	Stunde
HCl	Salzsäure
hgr.	hochgradig
KF	Kontrollfermenter
LAB	flüssigkeitsgebundene Bakterien
LM	Lebendmasse
Lsg.	Lösung
M	Molar

M.	Megasphaera
MGDG	Monogalaktosyldiglycerin
mgr.	mittelgradig
MO	Mikroorganismen
Mol%	Molprozent
mmol	Millimol
MPS	mikrobielle Proteinsynthese
n	Anzahl der Meßwerte
NDS	Natriumdodecylsulfat
n. def.	nicht näher definiert
ns	nicht signifikant
OS	organische Substanz
P.	Prevotella
PAS	Pansensaft
PC	Phosphatidylcholin (Lecithin)
PE	Phosphatidylethanolamin
PEM	bovine Polyencephalomalazie
PG	Phosphatidylglycerin
p-KSA	Differenzsignifikanz zwischen KF und FSA
PI	Phosphatidylinosit
Prz.	Protozoenzahl
PPB ₁	Pflanzen- und Protozoenfraktion (Probenaufbereitung der Thiaminbestimmung)
ppr.	postprandial
PS	Phosphatidylserin
R.	Ruminococcus
Ra	Rohasche
Rb.	Ruminobacter
red.	reduziert
resp.	respektive
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
Rp	Rohprotein
RUSITEC	RUMen SIMulation TECHnique
S.	Selenomonas
s	Standardabweichung
SAB	oberflächengebundene Bakterien
SB	Sojavollbohnen
Sbö.	Sonnenblumenöl
Sc.	Streptococcus

SE.	Sojaextraktionsschrot
SÖ.	Sojaöl
sp. / spp.	Spezies
sre.	Säure
subsp.	Subspezies
T.	Tapiokamehl
Tab.	Tabelle
TCA	Trichloressigsäure
TDP	Thiamindiphosphat
Thiaminkonz.	Thiaminkonzentration
TMP	Thiaminmonophosphat
TQH	α -Tocopherolquinon
TQH ₂	α -Tocopherolquinol
TS	Trockensubstanz
u.a.	unter anderem
unges. FS	ungesättigte Fettsäuren
US	ursprüngliche Substanz
v.a.	vor allem
var.	Variatio
Vit.	Vitamin
VK	Variationskoeffizient (en)
Vol%	Volumenprozent
vzk.	verzweigtkettig
x	arithmetischer Mittelwert
xg	Erdbeschleunigung (9,81 m/s)
z. B.	zum Beispiel
↑	Zunahme
↑↑	starke Zunahme
↑↑↑	sehr starke Zunahme
↓	Abnahme
↓↓	starke Abnahme
↓↓↓	sehr starke Abnahme

1. Einleitung

Ätiologie und Pathogenese der Cerebrocorticalnecrose (CCN)/boviner Polioenzephalomalazie (PEM) sind bis heute nicht endgültig geklärt. Vermutlich wird sie durch einen Thiaminmangel beim Wiederkäuer verursacht.

Der Mangel kann durch verminderte Synthese (z. B. Störung innerhalb der Pansenflora), erhöhten Verbrauch (z. B. Laktazidose), gestörte Darmresorption (z. B. Enteritis), durch thiaminolytische Wirkungen (z. B. Thiaminasen bakteriellen- und/oder pflanzlichen Ursprungs, Synthese durch Pilze bzw. Schimmelpilze) oder durch Antagonisten wie Amprolium (PLITT 1995; WITTE 1998) hervorgerufen werden.

In der Vergangenheit wurden bei CCN- bzw. PEM-Erkrankungen des Rindes auch hohe Schwefel-, insbesondere Sulfataufnahmen [durch Tränkwasser: HARRIES (1987), GOONERATNE et al. (1989 a, b), OLKOWSKI et al. (1991); ROUSSEAU et al. (1991); McALLISTER et al. (1997); Melassefütterung: MELLA et al. (1976); Ammoniumsulfat: JEFFREY et al. (1994); Gips: RAISBECK (1982); Natriumsulfat: GOULD et al. (1991, 1997), CUMMINGS et al. (1995); GOETSCH u. OWENS (1987)] im Zusammenhang mit der Entstehung dieser Krankheit diskutiert.

Bei in-vitro-Versuchen konnten nach hohen Sulfatgaben sowohl verringerte Thiaminnettosynthesen, als auch thiaminolytische Vorgänge beobachtet werden (OLKOWSKI et al. 1993, JEAN-BLAIN et al. 1995; DE OLIVEIRA 1997;).

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, mit Hilfe des Langzeitinkubationssystems RUSITEC die Auswirkungen von Natriumsulfatzulagen auf die Pansenfermentation zu untersuchen. Insbesondere sollte die Frage geklärt werden, ob Natriumsulfat nachhaltige und klinisch bedeutsame Wirkungen auf den intraruminalen Thiaminhaushalt ausüben kann.

2. Schrifttum

2.1 Einleitung

Im Pansenlabor der Rinderklinik der Tierärztlichen Hochschule Hannover wurden in den letzten Jahren mehrere Dissertationen mit Hilfe des RUSITEC-Systems angefertigt (SCHIRMER 1990; HÖLTERSHINKEN 1990; KRAWOW 1992; BECKER 1994; MAIWORM 1994; PLITT 1995; BRÖCKER 1996; MAURUSCHAT 1996; ELIAS 1999; MITTROWANN 1999; RATHJENS 1999; HÖHLING 2000; HÜBNER 2000; TIADEN 2000 und WENDELKEN 2000).

In der Aufarbeitung des Schrifttums zu diesen Arbeiten griffen die Autoren jeweils spezielle Aspekte des ruminalen Stoffwechsels auf (s. Tab. 2.1), um am Ende der Versuchsreihe die Kenntnisse über metabolische Abläufe im Pansen so vollständig wie möglich auf den neuesten Stand zu bringen.

Tab. 2.1: Literaturthematika der in den letzten Jahren erstellten Dissertationen des Pansenlabors der Rinderklinik

Literaturthema	Autor / Jahr
Kohlenhydratstoffwechsel	ZIPORI 1989;
Kohlenhydratstoffwechsel	DIRKSEN 1990 a;
Celluloseabbau	KRAKOW 1992;
Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels	ODENKIRCHEN 1992
Stickstoffstoffwechsel	HÖLTERSHINKEN 1990
Der Pansen als Ökosystem	SCHIRMER 1990
Purinstoffwechsel	FELDMANN 1992
Antibiotikawirkungen auf Pansenfermentationsvorgänge	KRAMER 1993
Fremdbakterien im Pansen Bedeutung der Pansenbakterien Interaktionen zwischen Pansenbakterien	RAAZ 1993; MAURUSCHAT 1996; FRANK 1998
Wirkungen von Pansenstimulantien auf die Pansenfermentation	BECKER 1994
Mykotoxinwirkungen auf die Pansenfermentation	MAIWORM 1994
Einfluß von <i>Saccharomyces cerevisiae</i> auf die Pansenfermentation	DE FIGUEIREDO 1994
Thiaminstoffwechsel	PLITT 1995; WITTE 1998
Aminosäurenstoffwechsel	BRÖCKER 1996
Kompartimentsysteme des Pansens	ELIAS 1999

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.1: Fortsetzung

Literaturthema	Autor / Jahr
Einfluß von Schwefel auf die Fermentationsvorgänge des Pansens	MITTROWANN 1999
Chronische Pansenazidose, Amylase	RATHJENS 1999
Bedeutung der Pansenprotozoen	HÖHLING 2000
Vergleich aller weltweit durchgeführten RUSITEC-Versuche	HÜBNER 2000
Der ruminale intermediäre Wasserstoff	TIADEN 2000
Vitaminstoffwechsel im Pansen	WENDELKEN 2000

In dieser Arbeit soll der Lipidstoffwechsel der einfachen- [vorwiegend mittel- und langkettige Fettsäuren (C6 – C24)] und komplexen Lipide dargestellt werden.

2.2 Lipide

2.2.1 Einführung

Bei Wiederkäuern beginnen Verdauung und Absorption von Futterlipiden im Pansen. Verantwortlich für die komplexen Verdauungsvorgänge sind Mikroorganismen (Bakterien, Protozoen), die mit Hilfe ihrer Enzymsysteme (u.a. Lipasen) die aufgenommenen Futterlipide hydrolysieren. Die freigesetzten freien Fettsäuren unterliegen der bakteriellen Biohydrogenierung und werden überwiegend zu Stearinsäure (C 18:0) umgebaut (HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997).

Im Pansen findet aber nicht nur der Lipidabbau, sondern auch eine mikrobielle de-novo-Synthese statt. Gesättigte und ungesättigte Fettsäuren (FS) werden während der Zellsynthese in die Zell- und Membranbestandteile von Bakterien und Protozoen eingebaut.

Ergebnis der bakteriellen Umbauvorgänge der Lipide ist einerseits der Einbau der Fettsäuren in die Pansenlipide und andererseits die Veränderung ihrer Zusammensetzung. Dadurch unterscheiden sich die Pansenlipide in ihrer Zusammensetzung deutlich von den Futterlipiden. Im folgenden werden Futter- und Pansenlipide, die Vorgänge von Hydrolyse und Biohydrogenierung sowie Fettsäuresynthese und Lipideinflüsse auf die Pansenfermentation beschrieben.

2.2.2 Klassifikation

Unter Lipiden werden alle Fette und fettähnlichen Verbindungen verstanden (Lipoide; JAKUBKE 1981). Sie sind in Wasser nahezu unlöslich und in organischen Lösungsmitteln wie Benzol, Ether, Chloroform oder Chloroform-Methanol-Gemischen löslich.

Lipide gehören ihrer chemischen Natur nach zu den Estern. Als Säureanteil enthalten sie unverzweigte Monocarbonsäuren, die sogenannten Fettsäuren. Die Alkohol-Komponente stellt Glycerin mit drei Hydroxygruppen dar (s. Abb. 2.1). Unterschieden wird je nach Zahl

der eingebauten Fettsäuren zwischen Monoacyl-, Diacyl- und Triacylglycerinen. Durch chemische und enzymatische Hydrolyse werden die einzelnen Bausteine freigesetzt (s. Abb. 2.1 u. Kap. 2.5).

Die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Lipide richten sich nach Kettenlänge der eingebauten Fettsäuren (FS) und dem Grad ihrer Hydrierung.

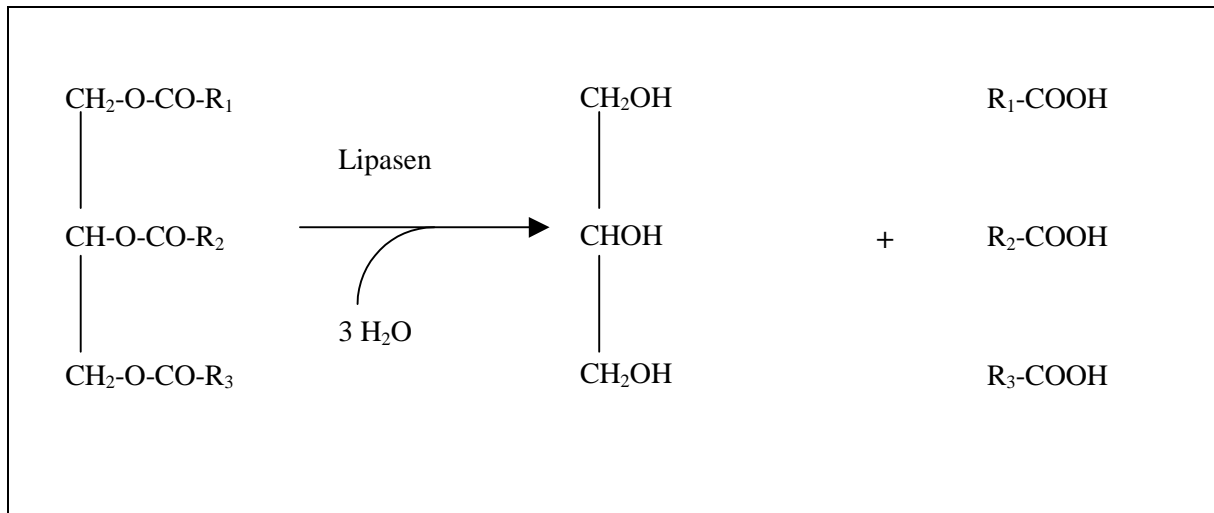


Abb. 2.1: Abbau der Triacylglycerine

Es hat sich bewährt, Lipide in verschiedene Klassen einzuteilen (s. Abb. 2.2). In der Regel unterteilt man Lipide in einfache (unverseifbare) und komplexe (zusammengesetzte, verseifbare) Fette. Die nachfolgende Gliederung richtet sich danach, ob Glycerin im Molekül vorhanden ist oder substituiert wird (z. B. Sphingolipide: Glycerin durch Sphingosin substituiert). Die glycerinhaltigen Lipide unterteilt man weiterhin nach Substituenten der Fettsäuren (z. B. Phospholipide: Fettsäure durch Phosphorsäurerest substituiert). Durch weitere esterartige Bindungen an den Substituenten werden die Moleküle entscheidend verlängert (z. B. Phospholipide: an Phosphorsäurerest wird z. B. Cholin, Ethanolamin, Serin, Inosit, Glycerin, Phosphatidylglycerin gebunden).

Die chemische Heterogenität der Lipide spiegelt sich auch in ihrer funktionellen Vielfalt wider: Neutralfette sind Energiespeicherstoffe und Bestandteile des Organfettes (Unterhaut, Nierenkapsel); Glyco- und Phospholipide bilden in wässriger Lösung Lipiddoppelschichten (amphiphiles Verhalten); diese essentielle Eigenschaft ist Basis für die Bildung von Zellmembranen. Sphingolipide stellen ebenfalls Membranbestandteile dar, wobei Cerebroside und Ganglioside als spezielle Sphingolipide besonders im Gehirn konzentriert sind.

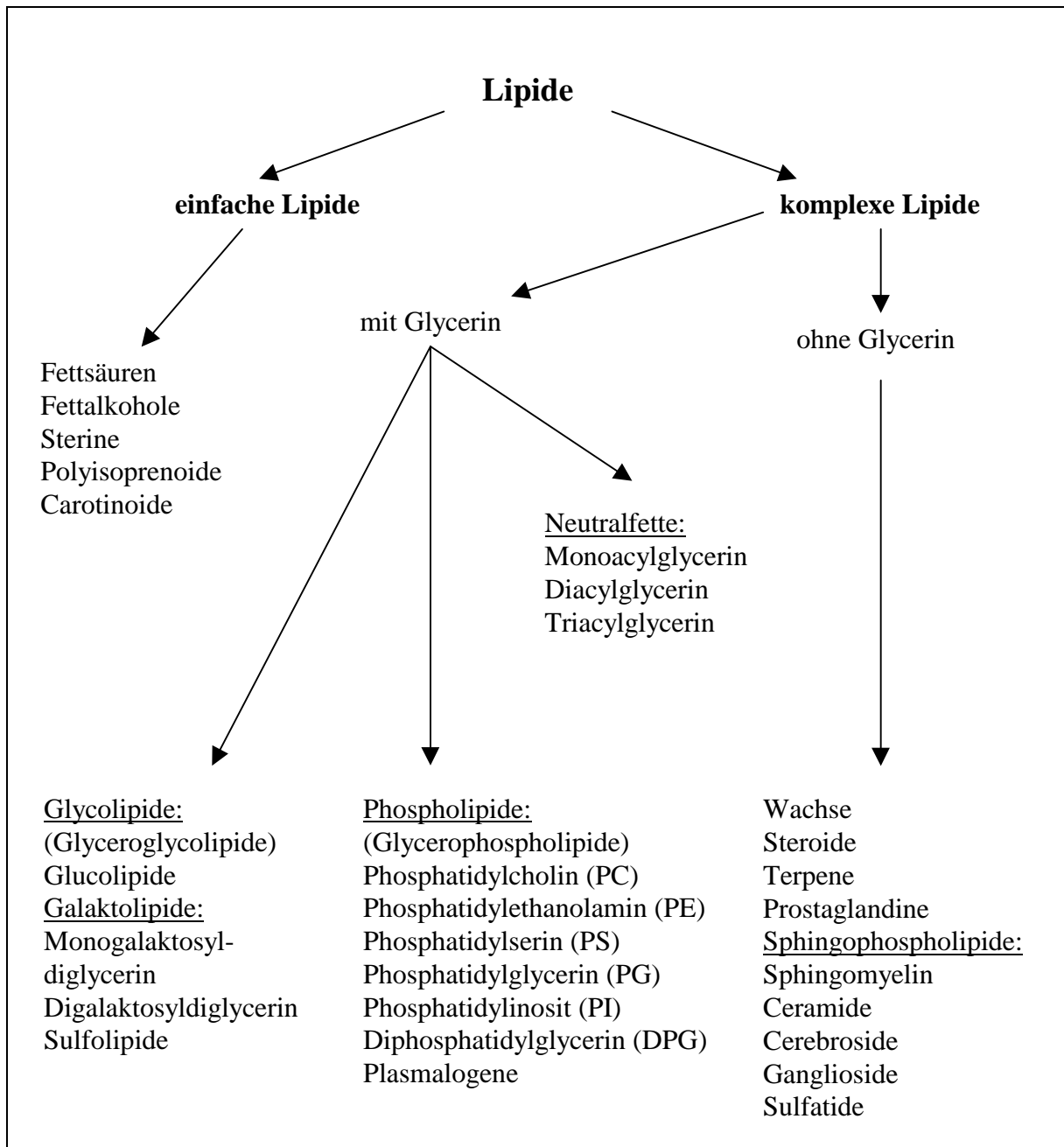


Abb. 2.2: Einteilung der Lipidklassen (nach STRYER 1996; LEHNINGER et al. 1998)

2.3 Lipidzusammensetzung in Futtermitteln

2.3.1 Lipidmenge und Lipidart

Im Wiederkäuerfutter sind Lipide in Grünfutterpflanzen, Rauhfutter, Kraftfutter (Getreide) oder in Ergänzungsfuttern (Konzentraten) in Form von gemahlene Getreidekörnern bzw. zermahlene Ölsamen und deren Extrakten enthalten. Kraft- und Rauhfutter unterscheiden sich in ihrer Fettsäurezusammensetzung wesentlich, für die Gesamtzusammensetzung der Futterlipide im Wiederkäuerfutter ist das Verhältnis der beiden Futterarten von großer Bedeutung. Rauhfutter (aus Gräsern, Leguminosen) weist einen niedrigen Gesamtfettgehalt von 0,5 – 1,0 % US (bzw. 5 - 10 % bezogen auf die Trockenmasse, DEMEYER 1973) auf.

Grünfutterpflanzen (z. B. Gräser, Leguminosen, Kräuter) beinhalten ebenfalls geringe Fettgehalte. Nach MENKE u. HUSS (1980) enthält junges Weidegras nur etwa 3 - 5 % Fett in der TS. Dagegen können Blattfuttermittel (z. B. Rübenblätter) bis zu 10 % Fett in der TS aufweisen (GÜRTLER 1980; NOBLE 1981; BENITEZ 1988).

Die Lipide der Grünfutter (z. B. Klee) setzen sich zu über 50 % aus Galaktosyldiglyceriden (MGDG: 30 %, DGDG: 24 %; DEMEYER 1973) zusammen. Der Hauptanteil der Lipide befindet sich in den Chloroplasten der Blätter, wobei die Lipidzusammensetzung dort sehr charakteristisch ist (40 % der Gesamtlipide sind Galaktolipide, 10 % Phospholipide und 4 % Sulfolipide). Dagegen kommen Phospholipide [PC, PE, PI und PG (in Spuren)] vorwiegend in Plasmamembranen, Mitochondrien und endoplasmatischen Retikula der pflanzlichen Zelle vor (HAWKE 1971; GURR 1984). Ihr Anteil kann nach DEMEYER (1973) bis zu 20 % der Gesamtlipide betragen. Nach ROUGHAN u. BATT (1969; s. Tab. 2.2) nehmen die großen Lipidklassen (Galakto- und Phospholipide) 95 % aller Lipide in den Grünfuttern ein.

Tab. 2.2: Galakto- und Phospholipidgehalte verschiedener Grün- bzw. Futterpflanzen (% der Gesamtfettsäuren; nach ROUGHAN u. BATT 1969)

Pflanzenart	Galaktolipide		Phospholipide				
	MGDG	DGDG	PC	PG	PE	PI	DPG
Weißklee	46,7	31,2	4,5	4,1	5,2	2,0	1,5
Luzerne	53,5	32,3	4,6	4,2	5,4	1,5	3,4
Weidelgras	42,1	32,6	8,0	11,1	6,2	4,3	1,6
Teppichgras	54,2	32,5	5,6	3,4	4,3	—	—
Mais	48,1	35,7	5,1	7,4	3,8	1,7	3,5

MGDG, DGDG, PC, PG, PE, PI u. DPG s. Abb. 2.2

— keine Angaben

In Pflanzen vorkommende Lipide enthalten daneben hohe Anteile an fettähnlichen Stoffen wie Wachse, Chlorophyll und Steroide (BENITEZ 1988). Rauhfutterlipide enthalten nur sehr geringe Mengen an Triacylglyceriden und freien Fettsäuren (HARFOOT 1981), Verringerungen des Lipidgehalts (v. a. Galaktosyldiglyceride und ungesättigte Fettsäuren) bei Gräsern und Klee können durch Lagern und Trocknen verursacht werden (DEMEYER 1973).

Kraftfutter aus Getreide und ölhaltigen Samen weisen höhere Fettgehalte auf. Getreide enthält 1 - 5 % Fett, Schrot von ölhaltigen Samen 6 - 12 %, Extraktionsschrote < 2 % (n. def., DEMEYER 1973). Die Zusammensetzung zeigt eine Verschiebung von Galaktosyldiglyceriden zu Triacylglycerinen und freien Fettsäuren, welche hier vorwiegend auftreten (DEMEYER 1973; HARFOOT 1981).

2.3.2 Fettsäuremuster

Rauhfutter zeigt in seinem Fettsäurespektrum (s. Tab. 2.4 - 2.8) einen charakteristisch hohen Anteil ungesättigter Fettsäuren. Der größte Teil entfällt auf die α -Linolensäure, die überwiegend in den Galaktosyldiglyceriden vorkommt. Linol- und Palmitinsäure sind vorwiegend in den Phospholipiden enthalten (Linol- und Linolensäure machen etwa 30 % aus). Ölsäure kommt nur in geringem Maße vor (DEMEYER 1973; HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997). In kleinen Mengen treten auch verzweigt-kettige Fettsäuren im Heu [C-14 u. C-16: Spuren bis 2,0 %; C-15 u. C-17: 0,2 % - 5,0 % (Anteil an Gesamtfettsäuren)] auf (SHORLAND 1961; CZERKAWSKI et al. 1966 a, b, c; HANSEN 1966 a, b; BATH u. HILL 1967). Zunahmen der verzweigten Fettsäuren konnten bei Lagerzeitverlängerungen des Heus beobachtet und auf bakteriellen Ursprung zurückgeführt werden (CZERKAWSKI et al. 1966 a, b, c).

Im Grünfutter treten neben den cis-Fettsäuren auch trans-Fettsäuren auf: z. B. trans- Δ^3 -Hexadecensäure, die in einer Konzentration bis 1,4 % (der Gesamtfettsäuren) in Raygras und Leguminosen innerhalb der PG-Fraktion vorkommt (WEENINK u. SHORLAND 1964).

Das Fettsäuremuster des Kraftfutters verändert sich im Vergleich zum Rauhfutter erheblich, die Anteile der Linolensäure nehmen zu Gunsten der Linol- und Ölsäure ab (PATTON u. KESLER 1967; HARFOOT 1981; MOORE u. CHRISTIE 1984). Die Linolensäure kann dabei je nach Art des Fettes bis zu 60 % des gesamten Fettsäurespektrums ausmachen.

Futteröle zeigen spezifische Zusammensetzungen innerhalb bestimmter Fettsäurefraktionen [z. B. Leinöl: ≥ 55 % Linolensäure (PALMQUIST u. JENKINS 1980); Kokosöl: 40 - 50 % Laurinsäure].

Fischöle sind charakterisiert durch einen sehr hohen Gehalt an Palmitinsäure und ungesättigten FS, die bis zu 22 C-Atome besitzen können (MENKE u. HUSS 1980).

Einen Überblick über alle in Futtermitteln und tierischen Geweben vorkommenden länger-kettigen Fettsäuren gibt Tab. 2.3:

Tab. 2.3: Vorkommen von Fettsäuren in Futtermitteln, tierischen Geweben und Produkten
(nach MENKE u. HUSS 1980, TÄUFEL et al. 1998)

	Trivialname	Syst. Bezeichnung	Kurzbezeichnung	Schmelzpunkt (C°)	Vorkommen
gesättigte FS	Capronsäure	n-Hexansäure	C-6:0	- 2	Milchfett; Kokosfett
	Caprylsäure	n-Octansäure	C-8:0	16	Kokosfett; Palmfett; Milchfett
	Caprinsäure	n-Decansäure	C-10:0	31	Kokosfett; Palmfett; Milchfett
	Laurinsäure	n-Dodecansäure	C-12:0	44	Schweinefett; Milchfett; Kokosfett
	Myristinsäure	n-Tetradecansäure	C-14:0	54	Schweinefett; Milchfett; Pflanzenfette
	Palmitinsäure	n-Hexadecansäure	C-16:0	63	Tier- und Pflanzenfette
	Stearinsäure	n-Octadecansäure	C-18:0	70	Tier- und Pflanzenfette
	Arachinsäure	n-Eicosansäure	C-20:0	76	Erdnußöl; Milchfett
	Behensäure	n-Docosansäure	C-22:0	80	Erdnüsse
	Lignocerinsäure	n-Tetracosansäure	C-24:0	84	Cerebroside; Phosphatide; Sphingomyelin
	Cerotinsäure	n-Hexacosansäure	C-26:0	—	Bienenwachs; Wollfett
ungesättigte FS	Palmitoleinsäure	Δ^9 cis-Hexadecensäure	C-16:1	1	Fischöle; Tierfette
	Ölsäure	Δ^9 cis-Octadecensäure	C-18:1	13	Fette und Öle
	Linolsäure*	$\Delta^{9,12}$ Octadecadiensäure	C-18:2	- 6	Sojaöl; Phosphatide
	Linolensäure*	$\Delta^{9,12,15}$ Octadecatriensäure	C-18:3	- 11	Leinöl; Sojaöl; Phosphatide
	Arachidonsäure*	$\Delta^{5,8,11,14}$ Eicosatetraensäure	C-20:4	- 50	Leinöl; Sojaöl; Phosphatide
	Timnodonsäure*	$\Delta^{5,8,11,14,17}$ Eicosapentaensäure	C-20:5	—	Fischöle, tierische Phospholipide
	—	$\Delta^{4,7,10,13,16,19}$ Docosahexaensäure	C-22:6	- 78	Fischöle

* essentielle FS, — keine Angabe

Tab. 2.4: Fettsäurezusammensetzung in Fetten von Luzerne- und Grasheu im Vergleich zu pflanzlichen Fetten (Angabe in Gewichtsprozent)

Fettsäuren									
Fette / Autoren	10:0	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
Luzerneheu ¹	—	—	0,9	33,9	1,2	3,8	3,0	24,0	31,0
Grasheu ²	—	—	1,1	15,9	2,5	2,0	3,4	13,2	61,3
Sojaöl ³	—	—	—	9,5	—	3,9	21,7	55,4	9,5
Maisöl ⁴	—	—	—	14,3	0,1	1,9	39,0	43,5	1,1
Leinöl ⁵	—	—	—	5,7	0,1	3,6	17,6	15,1	56,5
Kokosöl ⁵	5,1	49,2	18,0	8,2	—	2,4	6,7	1,7	0,1
Palmöl ⁶	—	—	1,0	45,5	0,1	5,9	34,6	11,8	0,3
Palmkernöl ⁷	2,7	42,5	16,3	16,4	—	2,3	15,5	2,0	—

— keine Angaben

1. KATZ u. KEENEY 1966 a; 2. GALBRAITH u. MILLER 1973; 3. STEELE 1985; 4. WILKINSON u. HARDCASTLE 1973; 5. SUTTON et al. 1983; 6. GURR 1980; 7. HITCHCOCK u. NICHOLS 1971

Tab. 2.5: Gesättigte Fettsäuren in Futtermitteln (in % der Gesamtfettsäuren, MENKE u. HUSS 1980)

gesättigte Fettsäuren								
Futtermittel	4:0	6:0	8:0	10:0	12:0	14:0	16:0	18:0
Weidegras, Gras-Grünfutter						1-3	11-16	1-3
Maisöl						Spur	9-16	1-3
Milicornöl						Spur	15-20	1-2
Reisöl					0-1	0-1	15-20	0-1
Haferöl						Spur	20-25	1-2
Sojaöl					Spur	0-1	9-15	2-5
Erdnußöl *						Spur	7-13	2-5
Sonnenblumenöl					Spur	Spur	5-8	3-5
Rapsöl						Spur	3-7	1-2
Leinöl						0-1	6-18	2-3
Kokosfett			8-10	8-10	40-50	15-20	8-13	1-4
Palmkernfett **			2-5	3-7	45-52	14-19	6-9	1-3
Palmöl ***					1-2	1-6	40-45	3-4
Milchfett (Kuh)	1-4	1-3	1-2	2-4	2-5	7-13	24-34	5-13
Rindertalg					1-2	3-6	24-31	14-28
Fischöle (mehrere Arten)						4-12	10-27	1-6
Fischöle (hydriert)						7-8	24-28	2-18

Tab. 2.5: Fortsetzung; Ungesättigte FS in Futtermitteln (in % der Gesamtfettsäuren, MENKE u. HUSS 1980)

ungesättigte Fettsäuren											
Futtermittel	16:1	18:1	18:2	18:3	18:4	20:1	20:4	20:5	22:1	22:5	22:6
Weidegras	2-3	2-8	13-23	46-68							
Maisöl		22-31	48-61	1-7							
Milocornöl	1-5	30-35	40-50	2-3							
Reisöl	2-3	35-40	35-40	3-4							
Haferöl	1-2	35-40	30-40	2-3							
Sojaöl	0-1	18-28	46-57	5-10		Spur		0-1	Spur		
Erdnußöl	0-1	35-69	20-44	Spur		1-5		1-2	Spur		
Sonnenblumenöl	0-1	16-35	54-71	Spur		0-1					
Rapsöl	0-1	11-24	12-23	7-10		6-13			29-52		
Leinöl	0-3	20-30	15-25	30-50							
Kokosfett		5-11	1-5								
Palmkernfett*		10-20	1-2								
Palmöl**		40-50	6-12	0-1		0-1					
Milchfett (Kuh)	1-5	21-34	2-4	1-3							
Rindertalg	5-7	32-47	1-5	0-1							
Fischöle (mehrere Arten)	4-7	9-24	1-6	1-2	1-3	1-13	2-9	5-34	0-17	1-4	7-17
Fischöle (hydriert)	5-12	10-25	2-3	8-10	4-7		5-7	0-2	0-2		

* außerdem noch 20:0 (1 - 2 %); 22:0 (2 - 4 %); 24:0 (1 - 2 %)

** aus dem Endosperm der Samen der Ölpalme (Palmkerne)

*** aus dem Fruchtfleisch (Mesocarp) der Ölpalmenfrüchte

Tab. 2.6: Zusammensetzung, Fettsäuremuster, Kennzahlen, Verdaulichkeit und Energiegehalte von Futterölen (pro kg US; nach MEYER et al. 1999)

	Kokosnußöl	Palmkernöl	Sojaöl	Seetieröl *
Fettsäuren (%)				
Capryl-	8 - 10	2 - 5	—	—
Caprin-	8 - 10	3 - 7	—	—
Laurin-	40 - 50	45 - 52	—	—
Myristin-	15 - 20	14 - 19	0 - 1	7 - 8
Palmitin-	8 - 13	6 - 9	9 - 15	24 - 28
Stearin-	1 - 4	1 - 3	2 - 5	2 - 18
Palmitolein-	—	—	0 - 1	5 - 12
Öl-	5 - 11	10 - 20	18 - 28	10 - 25
Linol-	1 - 5	1 - 2	46 - 57	2 - 3
Linolen-	—	—	5 - 10	8 - 10
18:4	—	—	—	4 - 7
Arachidon-	—	—	—	5 - 7
Jodzahl	8 - 10	15 - 20	130 - 136	110 - 150
Verseifungszahl, (%)	254 - 264	245 - 255	190 - 193	186 - 197
Unverseifbares (%)	0,2 - 0,5	0,2 - 0,6	0,6 - 1,2	0,7 - 4,0
Energie:				
NEL, MJ	21,8	20,3	22,9	—
StE	2243	2152	2360	—

— keine Angaben; * gehärtet

Tab. 2.7: Fettsäurezusammensetzung einiger originärer pflanzlicher und tierischer Fette
(Fettsäuren in % der Gesamtfettsäuren; nach JEROCH et al. 1993)

	Sojaöl	Sbö*	Rapsöl**	Leinöl	Mais- keimöl	Fischöl	Milch- fett	Rinder- talg
FS								
4:0	-	-	-	-	-	-	2,5 - 4,5	-
6:0	-	-	-	-	-	-	1,0 - 2,5	-
8:0	-	-	-	-	-	-	1,0 - 2,0	Spur
10:0	-	-	-	-	-	-	2,0 - 3,5	0,1
12:0	≤ 0,1	-	-	-	-	≤ 1,0	1,2 - 6,0	0,1 - 3,4
14:0	0,1 - 1,0	≤ 1,0	≤ 1,0	≤ 1,0	≤ 3,0	1 - 6	6 - 15	2 - 6
16:0	2 - 14	4 - 10	1 - 6	4 - 9	8 - 13	12 - 28	20 - 33	20 - 33
18:0	2 - 7	2 - 6	1 - 3	2 - 8	1 - 4	1 - 15	2 - 15	2,7 - 3,48
20:0	≤ 2,0	≤ 1,0	≤ 2,0	≤ 1,0	≤ 1,0	-	≤ 1,0	≤ 1,0
22:0	≤ 0,5	-	≤ 2,0	-	-	-	Spur	-
24:0	≤ 0,1	-	≤ 3,0	-	-	-	-	-
12:1	-	-	-	-	-	-	≤ 1,0	-
14:1	0,1	-	-	-	-	≤ 4,0	≤ 0,7	0,5 - 5,4
16:1	0,2 - 1,0	≤ 1,0	0,5 - 2,5	≤ 0,5	≤ 1,0	7 - 33	1,5 - 6,0	0,7 - 13,4
18:1	20 - 36	10 - 12	11 - 52	7 - 30	24 - 60	20	19 - 42	26,3 - 53,0
20:1	≤ 1,0	-	2 - 13	≤ 0,5	-	14	-	-
22:1	-	-	1 - 60**	-	-	15	-	-
18:2	48 - 60	33 - 77	10 - 36	8 - 31	35 - 60	2 - 5	2 - 6	1,2 - 19,7
18:3	2 - 11	≤ 1,0	1 - 12	45 - 67	≤ 1,0	-	≤ 1,0	0,1 - 7,9
20:4	-	-	-	-	≤ 1,0	-	≤ 0,2	≤ 1,0
22:5	-	-	-	-	-	7	-	-
Schmelz- temp. °C	-15 - 40	-20 - 40	-3 - 0	-15	-10 - 18	≤ 18	15 - 25	40 - 50
Jodzahl	120 - 140	115 - 140	95 - 120	170 - 200	115 - 125	100 - 192	20 - 39	32 - 56
Verseif- ungszahl	190 - 195	185 - 195	170 - 195	187 - 195	190 - 193	185 - 196	200 - 235	190 - 200

Legende siehe nächste Seite

Tab. 2.7: Legende

* Sonnenblumenöl

** Rapsöl – Sortenunterschiede:

	Konventionell	0 - Sorten
18:1	11 - 24 %	55 - 60 %
18:2	10 - 25 %	24 - 36 %
18:3	1,0 - 10 %	7 - 12 %
**	35 - 60 %	≤ 1,0 %

Tab. 2.8: Fettsäuremuster (C12 - C18:3) verschiedener Futtermittel (%)

	12:0	14:0	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3	andere
gemischtes Weidegras ¹	2,9	3,3	9,4	3,0	1,5	13,2	20-25	30-39	1,4
gemischtes Weidegras ²	—	1,1	15,9	2,5	3,4	13,2	61,3	0,5	—
Klee ³	—	—	8,9	7,9	2,8	9,5	8,1	58,9	3,9
Rationen aus Luzernen und Konz. ⁴	0,6	2,0	24,2	4,4	2,1	9,6	33,3	18,2	4,7
Konzentrate ⁴	0,1	1,1	15,0	2,9	0,4	13,2	57,6	6,2	3,0

— keine Angaben

1. GARTON 1959; 2. GARTON 1960; 3. SHORLAND et al. 1955; 4. VIVIANI 1970

2.4 Lipide im Pansen

2.4.1 Gesamtlipidgehalt im Panseninhalt, in Pansenbakterien und -protozoen

KEENEY (1970) errechnete einen Gesamtlipidgehalt von 481 mg/100 g Panseninhalt (TM), DEMEYER (1973) gibt aufgrund verschiedener Literaturangaben eine Variation im Pansenlipidgehalt zwischen 200 - 800 mg/100 ml PAS an (Variation ist auf Filtrieren und Nichtfiltrieren des Panseninhaltes zurückzuführen, s. Tab. 2.9). Der größte Lipidanteil wurde dabei im Panseninhalt innerhalb der Futterpartikelfraktion (80 %) nachgewiesen, der Rest in Protozoen- (16 %) und Bakterienfraktionen (4 %; KATZ u. KEENEY 1966 a; KEENEY 1970; CZERKAWSKI 1967). Aus diesen Werten geht hervor, daß die Pansenlipide nahezu vollständig an Futterteilchen oder Mikroorganismen assoziiert sind und nur in sehr geringem Maße frei in der Pansenflüssigkeit vorliegen. CMELIC u. MATTHEWS (1965) stellten deshalb nur einen Gesamtlipidgehalt von 34 - 80 mg/100 ml zentrifugiertem zellfreien Pansensaft fest. HAWKE u. ROBERTSON (1964) konnten nur 10 - 20 mg/100 ml Gesamtlipide in dieser Fraktion nachweisen.

Tab. 2.9: Gesamtlipidgehalte von Panseninhalten (nach DEMEYER 1973)

Gesamtlipide mg/100 ml Panseninhalt *	Autor / Jahr
370 - 490 Schaf	GARTON et al. 1961
47 - 173 Kuh **	HAWKE u. ROBERTSON 1964
171 - 503 Schaf	CZERKAWSKI et al. 1966 a, b, c
481 - 535 Kuh	KATZ u. KEENEY 1966 a
63 - 688 Kuh **	PATTON u. BENSON 1966
350 - 790 Kuh	PATTON u. BENSON 1966
375 Kuh	PATTON u. KESLER 1967
94 - 219 Schaf	BATH u. HILL 1967
521 Kuh	ALIEV et al. 1969

* Panseninhalt wird nicht näher definiert

** Pansenflüssigkeit wurde vor Untersuchung filtriert

Die Gesamtlipidgehalte der Pansenbakterien und -Protozoen variieren nicht so stark wie die der Werte des Panseninhalts (s. o.). Quantitativ gesehen, stellen die bakteriellen- und protozoalen Lipide nur 10 – 20 % im bovinen Pansen dar (KEENEY 1970; Tab. 2.10).

Tab. 2.10: Gesamtlipidgehalte der Pansenbakterien und -protozoen

Gesamtlipidgehalt (mg/100 mg Panseninhalt)*	Autor / Jahr
Bakterien:	
5 - 10	GARTON u. OXFORD 1955
12	KEENEY et al. 1962
20	WILLIAMS et al. 1963
18	KATZ u. KEENEY 1964
10	ALIEV et al. 1969
Protozoen:	
47	KEENEY et al. 1962
13	KATZ u. KEENEY 1967
20	WILLIAMS et al. 1963
34	ALIEV et al. 1969

* starke Verluste während der Aufbereitung möglich

2.4.1.1 Die Lipidzusammensetzung der Pansenbakterien beeinflussende Faktoren

Der Gesamtlipidgehalt der Bakterien variiert zwischen 5 und 20 % (s. Tab. 2.10). Fetteinschlüsse können einen nennenswerten Anteil am Gesamtzellvolumen ausmachen und die Lipidzusammensetzung der Zellen, in denen sie vorkommen (z. B. Bakterien), stark verändern.

So konnten Lipideinschlüsse in Oberflächen gebundenen Bakterien (SAB) nach Rapssaat- und Sojaölgaben beobachtet werden (BAUCHART u. LEGAY-CARMIER 1988; BAUCHART et al. 1990). Oberflächen gebundene Bakterien (SAB) entsprechen 70 % aller Pansenbakterien, 7 % sind in der Pansenflüssigkeit gebunden (LAB) und die restl. 23 % liegen ungebunden vor, bzw. bewegen sich zwischen diesen Fraktionen.

Bei Supplementierung eines Luzerne haltigen Futters mit 300 ml Safloröl/Tag wurden veränderte FS-Konzentrationen in den Pansenbakterien beobachtet: während in der Kontrollgruppe 90 % der Neutralfette gesättigt waren, enthielten die Bakterien der Versuchsgruppe nur 60 % gesättigte FS und 31 % ungesättigte FS (O`KELLY u. SPIERS 1991).

Bei Saflorgaben (300 ml/Tag) in Kombination mit minderwertigem Futter nahmen die Stearin-, Vaccen- und Linolsäuregehalte innerhalb der Neutralfettfraktion zu. Gleichzeitig erfolgte ein Anstieg langkettig-unverzweigter FS in der Gesamtfraktion aller Lipidklassen, während die langkettig-verzweigten FS abnahmen (O`KELLY u. SPIERS 1991).

Die Autoren wiesen deshalb auf einen Zusammenhang von FS-Gehalt bzw. -Zusammensetzung der gemischten bakteriellen Lipide und der nutritiven Versorgung hin. Desweiteren wird ein stärkerer Fütterungseinfluß auf die Oberflächen gebundenen Bakterien (SAB) als auf die Flüssigkeits gebundenen Bakterien (LAB) angenommen (O`KELLY u. SPIERS 1991). Zur Klärung dieser Effekte wären weitere Untersuchungen nötig.

2.4.2 **Lipidklassen des Panseninhalts**

Die Lipidzusammensetzung des Panseninhalts unterscheidet sich grundlegend von der der Futtermittel. Die Veränderungen können einerseits durch mikrobielle Transformation der Futterlipide- und andererseits durch Vermischung mit mikrobiellen Lipiden verursacht werden.

So findet man im Pansen z. B. einen hohen Gehalt an freien Fettsäuren (40 - 70 %, s. Tab. 2.11) und einen charakteristischen Anteil (20 - 30 %) eines komplexen Gemisches aus Glycero- und Sphingophospholipiden (LENOX et al. 1968; DEMEYER 1973).

Obwohl die freien Fettsäuren zum weitaus größten Teil (> 99 %) an Mikroorganismen und Futterpartikel adsorbiert sind, kommen sie neben Neutralfetten, Wachsen und Glycolipiden auch im zellfreien (zentrifugierten) Pansensaft vor (HAWKE u. ROBERTSON 1964; CMELIC u. MATTHEWS 1965; KATZ u. KEENEY 1966 a; CZERKAWSKI 1967).

Tab. 2.11: Lipidklassenzusammensetzung im Panseninhalt

Lipidklassen (% der Gesamtlipide)			Autor / Jahr
Neutral- fette	freie Fettsäuren*	Glycero- u. Sphingo- phospholipide	
—	50 - 60	—	GARTON et al. 1958
3 - 6	49 - 71	24 - 48	BATH u. HILL 1967
28**	41**	31	PATTON u. KESLER 1967

* freie Fettsäuren werden als Lipidklasse definiert

** die Anteile können Galaktosyldiglyceride enthalten

— keine Angaben

2.4.2.1 Lipidklassen der Pansenbakterien

In den Bakterien kommen außer den bereits beschriebenen Lipidklassen des Panseninhalts (s. Kap. 2.4.2) noch Glyceroglycolipide (s. Tab. 2.12) und Fettaldehyde (s. Tab. 2.13 u. unten) vor. Die Anteile der Neutralfette, Glycerophospho- und Sphingophospholipide sind im Gegensatz zum Panseninhalt besonders hoch und das, obwohl Sphingophospholipide normal nicht als Bakterienbestandteile angesehen werden. Dasselbe gilt für die ebenfalls in bakteriellen Lipiden gefundenen Sterine (GARTON et al. 1958; O'LEARY 1962; ABRAHAM 1965; IKAWA 1967; DAWSON u. KEMP 1969; KUNSMAN 1973).

Fettaldehyde sind hauptsächlich in Pansenbakterien (anaeroben Bakterien) lokalisiert, sie kommen sowohl in den polaren- als auch unpolaren Glycerinetherlipiden (= Plasmalogenen) vor (ALLISON et al. 1962; KAMIO et al. 1969; KAMIO u. TAKAHASHI 1980; MIYAGAWA 1982).

KATZ u. KEENEY (1964) wiesen in gemischten Pansenbakterien ein Aldehyd-Phosphor-Verhältnis (molar) von 0,19 nach, während für *Fibrobacter succinogenes* und *Selenomonas ruminantium* höhere Werte angegeben wurden (WEGNER u. FOSTER 1963; KANEGASAKI u. TAKAHASHI 1968). Bei *Selenomonas ruminantium* scheint der Aldehydgehalt direkt von den Wachstumsbedingungen abzuhängen, insbesondere von der Anzahl der C-Atome der zum Wachstumsmedium zugegebenen flüchtigen FS (KAMIO et al. 1970 a, b).

VIVIANI et al. (1968) nahmen eine andere Einteilung vor, sie teilten die Lipidklassen nur grob in zwei Gruppen ein und zwar in Phospho- und nicht-Phospholipide (70 % bzw. 30 % der Gesamtlipidgehalte), wobei der Anteil der freien (unveresterten) Fettsäuren in den nicht-Phospholipiden 40 % ausmacht.

Die Zusammensetzung der Glycero- und Sphingophospholipide wurde sowohl für einzelne Bakterienstämme als auch für gemischte Pansenbakterien eingehend untersucht (s. Tab. 2.13).

Tab. 2.12: Lipidklassenzusammensetzung von Pansenbakterien

Lipidklassen (% der Gesamtlipide)				Autor / Jahr
Neutral-fette	freie FS*	Glycero- u. Sphingophospholipide	Glycero-glycolipide	
38	—	39	—	GARTON u. OXFORD 1955**
41	13	30	16	KEENEY et al. 1962
—	49	33	18	KATZ u. KEENEY 1964***

— keine Angaben

* freie FS werden als Lipidklasse definiert

** der Lipidextrakt enthielt weiterhin 12 % flüchtige FS, 10 % nicht-verseifbares Material und einen sterinartigen Stoff

*** Gesamtlipide enthielten 2,2 % Aldehyde

Tab. 2.13: Zusammensetzung von Glycero- und Sphingophospholipiden gemischter Pansenbakterien und einiger spezieller Bakterienstämme

	Anteil / Nachweis	Bakterienstamm bzw. weitere Zuordnung	Autor / Jahr
<i>Glycerophospholipide</i>			
PE und entsprechende Plasmalogene	qualitativer Nachweis	Fibrobacter succinogenes	WEGNER u. FOSTER 1963
PE PG Phosphatidsäure	57 % (enthält auch Plasmalogene) 12 % Spuren	gemischte Pansenbakterien	ABRAHAM 1965
PE PS Phosphatidsäure	Kontroll-Medium: 35,2 % Acetat-Medium: 47,5 % geringe Anteile (n. def.) Spuren	Prevotella ruminicola (Stamm 23)	KUNSMAN 1966
PE, PC, PI, PS, DPG, PG	<u>gram-pos.:</u> Nichtsporenbildner: ± PE, - PC; Sporenbildner: + PE, - PC. <u>gram-neg.:</u> anareobe u. aerobe: + PE, - PC. Pseudomonaden: + PE, + PC. Restl. Spuren	gram-positive u. gram-negative Bakterien	IKAWA 1967

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.13: Fortsetzung

	Anteil / Nachweis	Bakterienstamm bzw. weitere Zuordnung	Autor / Jahr
<i>Glycerophospholipide</i>			
PE PS PC	66,6 % 21,6 % 1,2 %	gemischte Pansenbakterien	VIVIANI et al. 1968
PE, PS Plasmalogene PG u. Cardiolipin	<u>1. Phosphorbest:</u> PE 63,4%; PS 36,6 %. <u>2. radioaktiv-markierter Phosphor:</u> PE 64,2 %; PS 35,7 % <u>entspr.</u> 1. PE 72,0 % (2. 72,0 %); 1. PS 87,4 % (2. 90,4 %) nicht nachweisbar	Megasphaera elsdenii (B159)	VAN GOLDE et al. 1973
N-acyl-PE	Geringer Anteil, kommt in allen 3 Stämmen vor (qualitativer Nachweis)	Bv. fibrisolvens (7P1), Bv. sp. (LM 8/1 A), Bv. sp. (LM 8/1 B)	CLARKE et al. 1976
Diglyceridgalactosyl- phosphorylethanol- amin	Nachweis nur in Stamm 7P1		
glycerylphosphoryl- glycerin	hoher Anteil in LM 8/1 B (qualitativer Nachweis)		
3(6-o-glycerylphos- phoryl)galacto- diglycerid	in Stamm LM 8/1 A u. LM 8/1 B (qualitativer Nachweis)		
n-Butyroylester des PG und Monogalacto- furanosyldiglycerid oder entsprechenden n-Butyroylester	in allen 3 Stämmen vorhanden		
Valeryl- Isovaleryl- Propionyl- Myristyl- } Ester des PG	Nachweis in allen drei Stämmen		

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.13: Fortsetzung

	Anteil / Nachweis	Bakterienstamm bzw. weitere Zuordnung	Autor / Jahr
<i>Glycerophospholipide:</i>			
PE, PS und entsprechende plasmalogene Analoga	Häufigste Phospholipide	M. elsdenii u. Veillonella parvula	SILBER et al. 1981
<i>Sphingophospholipide</i>			
Sphingolipid enthaltendes Ethanolamin	27 %	gemischte Pansenbakterien	ABRAHAM 1965
Sphingolipid enthaltendes Ethanolamin	Kontrollmedium: 12,1 %; Acetat-haltiges Medium: 13,2 %	Prevotella ruminicola	KUNSMAN 1966
Sphingophospholipide	bis über 50 % (in Membranlipiden lokalisiert)	Prevotella ruminicola	KUNSMAN 1973
Ceramid: phosphoryl- 3-aminopropan-1,2- diol	bis 30 % je nach Reinkultur	gemischte Pansenbakterien	KEMP et al. 1972

PG, PE, PS, PC, PI vgl. Abb. 2.2

2.4.2.2 Lipidklassen der Pansenprotozoen

Pansenprotozoen besitzen charakteristische Mengen von Phospholipiden (PE u. PC), Plasmalogenen (insgesamt 12,3 % der Phospholipide; s. Tab. 2.14) und Ciliatin (Tab. 2.15). In der Nicht-Phospholipidfraktion stellen freie Fettsäuren, Sterine und Diglyceride größere, Wachse, Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Monoglyceride und Hydroxysäuren kleinere Anteile dar. Phosphatidylserin (PS) wurde bisher in Pansenprotozoen nicht nachgewiesen.

Aufgrund der technischen Schwierigkeiten, die bei der Gewinnung von möglichst nicht kontaminierten Protozoenpräparaten (Bakterienbestandteile oder Futterpartikel) auftreten, sind die gewonnenen Daten kritisch zu bewerten. Ebenfalls bestehen große Unterschiede in der Zusammensetzung und Suspensionsdichte der Pansenprotozoen-Populationen sowohl innerhalb eines Wirtstieres, als auch zwischen mehreren Tieren.

Tab. 2.15: Phospholipidzusammensetzung von gemischten Pansenprotozoen und in-vitro-Kulturen von *Entodinium caudatum* (% des Gesamtfettgehaltes)

Phospholipide	Entodinium caudatum ^a	Gemischte Protozoen ^b
Phosphoglyceride	83,9	90,0
Phosphatidylcholin	23,0	36,3
Phosphatidylserin	-	-
Phosphatidylinositol	4,0	3,1
Phosphatidsäure	-	1,4
Phosphatidylethanolamin + Glycerylether Phospholipide	27,0	23,2
Diglycerid-aminoethylphosphonat *	21,5	11,0
Ethanolamin plasmalogen + aminoethylphosphonat-plasmalogen	1,7	11,4
Cholinplasmalogen	-	0,9
N-(1-Carboxyethyl)phosphatidylethanolamin **	6,7	3,6
Sphingophospholipide	16,1	9,1
Ceramid-phosphorylethanolamin	9,6	2,2
Ceramid-aminoethylphosphonat *	6,5	4,1
Sphingomyelin	-	2,0
nicht identifiziert	-	0,8

- nicht meßbar

* Aminoethylphosphonat entspricht Ciliatin; es kommt vorwiegend in Diglyceriden und Sphingophospholipiden von Protozoen vor, wurde erstmals von HORIGUCHI u. KANDATSU (1959) in Pansenciliaten nachgewiesen.

** auch mit Phosphatidyl-N-(2-hydroxyethyl)alanin benannt, kommt nur in *E. caudatum* vor, d.h. der Anteil in den gemischten Protozoen läßt auf das Vorhandensein von *E. caudatum* schließen (DAWSON u. KEMP 1967; BROAD u. DAWSON 1975).

^a BRAOD u. DAWSON (1975)

^b DAWSON u. KEMP (1967)

2.4.2.3 Lipidklassen und Fettsäurezusammensetzung der Pansenpilze

Bis jetzt konnte die Lipidzusammensetzung der anaeroben Pilze lediglich für zwei Species aufgeklärt werden (s. Tab. 2.16). Da es nur wenige Informationen über die Lipid- und Fettsäuregehalte von Pansenpilzen gibt, werden diese zusammenfassend beschrieben.

Tab. 2.17: Fettsäurezusammensetzung von Futterlipiden und Pansenlipiden (% Anteil an Gesamtfettsäuren, HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997)

Fettsäure	Futterlipide	Pansenlipide	
		freie FS	veresterte FS
14:0	4,41	0,97	4,24
16:0	21,5	23,0	26,5
16:1	1,74	2,76	Spuren
18:0	5,01	48,1	23,9
18:1	5,98	13,1	14,9
18:2	14,3	5,67	6,40
18:3	38,5	—	0,97
Andere	8,66	6,62	23,1

— keine Angaben

Tab. 2.18: Gesamtlipid- und Fettsäuregehalt sowie Fettsäurezusammensetzung des Pansensaftes (KATZ u. KEENEY 1966; KEENEY 1970)

		Luzerne- Heu	Zeit nach der Fütterung (min)				
			0	60	120	195	310
Gesamtlipide mg/100 g US		—	535	556	568	518	481
Fettsäuren mg/ 100 g US		—	214	222	227	207	192
Fettsäuren (% Anteil an Gesamtfettsäuren)	14:0	0,9	2,3	1,6	1,9	1,8	1,8
	14:0*	—	0,8	0,6	0,6	0,6	0,7
	15:0	0,8	2,5	2,3	2,3	2,4	1,8
	15:0*	—	2,8	2,5	2,6	2,3	2,5
	16:0	33,9	26,6	30,0	29,8	30,8	28,1
	16:0*	—	1,0	1,0	1,0	0,8	0,9
	17:0	—	2,6	2,4	2,3	2,2	2,1
	18:0	3,8	46,0	41,4	41,0	42,3	41,5
	18:1	3,0	7,0	7,0	7,1	7,2	7,6
	18:2	24,0	2,8	3,9	4,1	3,7	4,5
18:3	31,0	5,3	6,0	7,1	6,0	8,2	

* verzweigt-kettige FS; — keine Angaben

Tab. 2.19: FS-Fractionen und deren Zusammensetzung (gesättigte-, verzweigte- und ungesättigte FS) im Panseninhalt (% der Gesamtfettsäuren)

	Gesättigte FS				Verzweigte FS		Ungesättigte FS				Autor / Jahr
	C ₁₁₋₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₄₊₁₆	C ₁₅₊₁₇	C _{16:1}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	
Gesamt-lipide	4,8	26,6	2,6	46,0	1,8	2,8	-	7,0	2,8	5,3	1
	1,6	12,1	2,3	44,7	-	-	Spur	16,1	5,0	5,1	2
	5,6	21,9	1,9	22,8	3,4	3,3	2,1	11,3	11,4	4,1	3
Freie FS	3,3	23,0	1,7	48,1	0,3	0,7	2,8	13,1	5,7	0	3
	< 5,3	9,8	-	73,1	< 5,3	< 5,3	-	11,1	0,7	Spur	4
	2,0	27,0	2,0	55,0	1,0	Spur	1,0	10,0	Spur	0	5
Veres-terte FS	8,6	26,5	2,3	23,9	3,7	3,8	Spur	14,9	6,4	1,0	3
	-	25,9	-	14,9	< 28,8	< 28,8	-	18,9	1,7	3,8	4
	16,0	28,0	2,0	12,0	14,0	4,0	3,0	12,0	4,0	2,0	5

1. KATZ u. KEENEY 1966 a; 2. CZERKAWSKI et al. 1966 a, b, c; 3. VIVIANI et al. 1966; 4. FELINSKI et al. 1964; 5. BATH u. HILL 1965

2.4.3.1 Fettsäuren der Pansenbakterien

Die im Fettsäurespektrum der bakteriellen Lipide dominierenden Säuren sind neben Stearinsäure (33 %) auch Palmitin- (24 %) und Ölsäure (13 %; HAGEMEISTER u. KAUFMANN 1979 b). Beim Schaf wurden hingegen niedrigere Anteile an Stearin- und Ölsäure (15 % bzw. 6 %) und höhere Anteile an Palmitinsäure gefunden (VIVIANI et al. 1968).

Obwohl es Hinweise gibt, daß einige Pansenbakterien neugebildete Linolsäure aufnehmen und inkorporieren, findet man nur selten mehrfach ungesättigte FS in Bakterien (HAWKE 1971; GOLDFINE 1982; HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997). Wahrscheinlich sind die niedrigeren Gehalte von Linol- und Linolensäure in den Gesamtlipiden gemischter Pansenbakterien auf unspezifische Adsorption oder Kontamination der Bakterienfraktion durch Futterpartikel zurückzuführen (ERWIN et al. 1963; GARTON 1965, 1967). Der fehlende Nachweis einer Synthese von mehrfach ungesättigten FS in Pansenbakterienreinkulturen unterstützt diese Annahme [CUNNINGHAM u. LOOSLI 1954 (in vitro); GARTON et al. 1958 (in vivo) Schaf; KATES 1966; HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997].

Die Inkorporierung von Dien- und Triensäuren in bakterielle Lipide wurde auch von PANOS et al. (1966) unterstellt, die in Versuchen einen Einbau von bis zu 10 % einer Octadecadiensäure in die Gesamtfettsäuren von *Streptococcus pyogenes* nachweisen konnten (Fettsäure entstammt Nährmedium).

Octadecadiensäuren (Linolsäuren) kommen im Pansen zu 74 % in der cis-Form vor und weisen in 85 % der Fälle Doppelbindungen an den Stellen 9 und 12 auf. Auch diese könnten auf eine selektive Aufnahme durch Pansenbakterien (und -protozoen) hinweisen, da Mono-, Di- und Triensäuren in der cis-Form hauptsächlich an der β -Stelle der Glycerophospholipide von Pansenbakterien (und auch -protozoen) gefunden wurden (KATZ u. KEENEY 1966 a, 1967).

In komplexen Bakterienlipiden kommen weiterhin gesättigte FS mit Methylverzweigungen (Iso- und Anteisoform von C₁₄, C₁₅ und C₁₇) und auch eine Reihe gesättigte, unverzweigte FS mit einer ungeraden Anzahl von C-Atomen vor (C₁₃, C₁₅ und C₁₇; s. Tab. 2.20, Tab. 2.21; vgl. a. Kap. 2.8).

Iso- und anteiso- verzweigte Fettsäuren (C₁₂ bis C₁₇) stellen die häufigsten Fettsäuren in Bakterien dar, vor allem in den gram-negativen Bakterien (KATES 1966; IFKOVITS u. RAGHEB 1968; Tab. 2.22).

Neben einfach verzweigten FS wurde auch eine mehrfach verzweigte FS [3,7,11,15-Tetramethylhexadecansäure (= Phytan-Säure)] sowohl in Pansenbakterien (2,8 % der Gesamtfettsäuren) als auch im Panseninhalt (0,02 - 0,03 % der Gesamtfettsäuren) gefunden (HANSEN 1966 a, b; PATTON u. BENSON 1966). Diese Säure kommt in Futtermitteln nicht vor (Klee und Heu), deshalb wird auch hier eine Synthese durch Pansenmikroorganismen vermutet.

Tab. 2.20: Fettsäurezusammensetzung (C11- C20) der Gesamtlipide, unveresterte FS, Phosphatidylethanolamin und -serin von gemischten Pansenbakterien (% , Anteil an Gesamtfettsäuren)

		Gesamt- lipide ^a	Gesamt- lipide ^b	Gesamt- lipide ^c	Unver- esterte FS ^c	PE ^c	PS ^c
Fettsäuren	11:0	0,1	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.
	12:0	0,4	4,6	1,2	2,3	0,5	Spuren
	12:0 vzk	0,7	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.
	13:0	0,3	n.g.	0,8	0,8	0,7	Spuren
	13:0 vzk	0,7	n.g.	0,6	0,5	0,4	Spuren
	14:0	2,3	3,7	3,9	4,0	4,1	2,4
	14:0 vzk	2,4	n.g.	1,2	1,1	1,6	0,6
	15:0	4,4	n.g.	8,0	7,1	10,6	6,0
	15:0 vzk	10,1	n.g.	12,7	9,8	17,8	13,7
	16:0	35,2	25,4	31,0	29,7	30,5	28,9
	16:0 vzk	1,0	n.g.	1,2	0,2	1,9	0,9
	16:1	-	Spuren	4,0	2,2	5,2	3,1
	17:0	1,8	n.g.	1,6	1,2	1,5	1,8
	17:0 vzk	1,7	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.
18:0	2,0	20,8	15,0	22,8	7,4	12,5	

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.20: Fortsetzung

		Gesamt- lipide ^a	Gesamt- lipide ^b	Gesamt- lipide ^c	Unver- esterte FS ^c	PE ^c	PS ^c
Fettsäuren	18:0 vzk.	n.g.	n.g.	0,1	0,1	0,2	0,6
	18:1	3,9	19,7	6,0	6,4	7,0	10,5
	18:2	3,5 *	5,6	2,7	2,0	3,4	4,3
	18:3	-	Spuren	1,0	1,1	1,2	1,2
	20:0	n.g.	n.g.	0,1	-	-	0,4
	Andere	-	20,2	8,8	8,8	6,1	13,2

n.g. nicht gemessen;

bzw. nicht bekannte Daten,

vzk verzweigtkettige FS

^a TWEEDIE et al. (1966);^b WILLIAMS u. DINUSSON (1973);^c VIVIANI et al. (1968);

Die Phospholipide 13:0 vzk, 14:0 vzk,

15:0 vzk und 16:0 vzk schließen die

folgenden FS in der Reihenfolge ein:

12:1, 13:1, 14:1, 15:1

* einschließlich 18:3

Tab. 2.21: Gesättigte, verzweigte und ungesättigte FS innerhalb verschiedener FS-Fractionen von Pansenbakterien (% der Gesamtfettsäuren)

	Gesättigte FS				Verzweigte FS		Ungesättigte FS				Autor / Jahr
	C ₁₁₋₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₄₊₁₆	C ₁₅₊₁₇	C _{16:1}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	
Gesamt- lipide	14,3	30,0	1,8	6,9	2,8	19,3	-	11,3	4,1	1,2	1
Freie FS	7,5	35,2	1,8	32,0	3,4	11,8	-	3,9	3,5	3,5	2
	2,1	16,9	1,9	58,9	Spur	2,4	0,8	12,5	4,3	-	3
Neutrale Lipide	7,1	26,1	0,4	10,7	3,6	8,2	1,5	16,2	18,1	-	3
Komplexe Lipide	14,2	30,6	0,8	6,5	2,9	21,5	1,3	10,2	10,7	-	3
Plasma- logene	13,6	31,5	0,9	2,8	13,1	28,9	-	6,7	-	-	4

1. HANSEN 1966; 2. TWEEDY et al. 1966; 3. KEENEY et al. 1962;

4. KATZ u. KEENEY 1964

Tab. 2.22: Verzweigte, ungeradzahlige u. geradzahlige Fettsäuren in verschiedenen Pansenbakterien (IFKOVITS u. RAGHEB 1968; DEMEYER 1973)

	Ungeradzahlig		Geradzahlig	
	iso	anteiso	iso	anteiso
<i>Succinimonas amylytica</i>	++ *	-	+	+
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	+	-	+	+
	+	-	+	+
<i>Succinovibrio dextrinosolvens</i>	-	++	+	+
<i>Lachnospira multipara</i>	-	-	+	-
<i>Selenomonas ruminantium</i>	+	-	+	-
<i>Fusobacterium</i> sp.	++	-	+	-
<i>Megasphaera elsdenii</i>	-	+	+	+
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	++	+	+	+
	++	-	+	+
	++	-	+	+
	++	-	+	+
<i>Ruminococcus albus</i>	-	+	++	-
	+	+	++	-
<i>Streptococcus bovis</i>	-	-	+	+
<i>Eubacterium ruminantium</i>	+	+	-	-
<i>Lactobacillus</i> sp.	-	-	+	+
<i>Bacteroides symbiosus</i>	+	-	+	-
<i>Fibrobacter succinogenes</i>	-	+	+	-
<i>Ruminobacter amylophilus</i>	-	-	+	-

+ positiver Nachweis; ++ * positiver Nachweis, Konzentration > 20 %; - kein Nachweis

Untersuchungen von IFKOVITS u. RAGHEB (1968; Tab. 2.22) zeigen, daß ungerad- und geradzahlige FS-Ketten zusammen in einem Bakterium vorkommen. Innerhalb der ungeradzahligen Ketten liegen die iso- und anteiso-Formen vorwiegend getrennt vor, im Gegensatz zu den geradzahligen FS, in denen sie häufig gleichzeitig auftreten.

2.4.3.2 Fettsäuren der Pansenprotozoen

Die Lipide der Pansenprotozoen zeichnen sich gegenüber bakteriellen Lipiden durch hohe Gehalte an Palmitin- und niedrigeren Anteilen an Stearinsäure aus (HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997), weiterhin gibt es große Übereinstimmungen im Gehalt mehrfach ungesättigter FS.

Die von HAGEMEISTER u. KAUFMANN (1979 a, b) erhobenen Werte der Fettsäurespektren von Pansenprotozoen ($C_{16:0}$: 52 %; $C_{18:0}$: 12 %; $C_{18:1}$: 10 %; $C_{18:2}$: 6,6 %; Kühe) weisen z.T. erhebliche Differenzen zu Werten anderer Autoren auf (vgl. Tab. 2.23 bis Tab. 2.25), was aber auf die Art der Probengewinnung und Meßtechnik zurückgeführt werden muß (z. B. ungenaue und unterschiedliche Trennung der protozoalen von den bakteriellen Bestandteilen, dadurch variieren die Zahlen bereits erheblich).

Die beschriebene Inkorporierung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren durch Bakterien wird auch für Protozoen angenommen (s. Kap. 2.4.3.1). Sie werden von ERWIN u. BLOCH (1963) und VIVIANI u. LENAZ (1963) nicht allein auf Inkorporierung, sondern auf Synthese durch Pansenprotozoen zurückgeführt. Dagegen könnte aber sprechen, daß z. B. die γ -Linolensäure-Synthese durch Ciliaten nur über eine aerobe Desaturierung stattfinden kann.

Tab. 2.23: Fettsäurezusammensetzung der Gesamtlipide von gemischten Pansenprotozoen (% der Gesamtfettsäuren)

		Gesamtlipide VIVIANI 1970 ^a	Gesamtlipide EMMANUEL 1974 ^b	Gesamtlipide HARFOOT 1978 ^c
Fettsäuren	12:0	0,2	< 0,1	-
	13:0	0,5	< 0,1	-
	13:0 vzk.	0,2	< 0,1	-
	14:0	1,5	1,2	1,4
	14:0 vzk.	0,5	< 0,1	1,5
	15:0	4,3	2,5	3,4
	15:0 vzk.	4,3	3,0	1,5
	16:0	37,8	41,0	43,1
	16:0 vzk.	2,3	1,5	-
	16:1	6,8	-	1,1
	17:0	1,4	1,2	-
	17:0 vzk.	-	3,2	3,7
	18:0	13,5	10,5	9,3
	18:0 vzk.	0,2	< 0,1	-
	18:1	11,5	15,4	18,4
	18:2	6,3	17,0	16,1
	18:3	4,7	1,9	0,5
	20:0	0,1	< 0,1	-
	20:0 vzk.	-	-	-
Andere	4,2	1,5	-	

- nicht gemessen; vzk. verzweigt-kettige FS; ^a Schaf; ^b Kuh; ^c Schaf

Tab. 2.24: Fettsäurezusammensetzung (C12 – C18:3) der Gesamtlipide von gemischten holotrichen und entodiniomorphen Protozoen (% des Gesamtfettgehalts; WILLIAMS u. DINUSSON 1973)

		Entodiniomorphe Protozoen	Holotriche Protozoen
Fettsäuren	12:0	0,3	Spuren
	14:0	0,9	2,8
	16:0	48,2	37,2
	16:1	—	—
	18:0	10,4	9,1
	18:1	20,6	18,2
	18:2	9,7	10,5
	18:3	1,1	4,0
	Andere	8,8	18,1

— keine Angaben

Tab. 2.25: Fettsäurezusammensetzung (gesättigte-, ungesättigte- u. verzweigte FS) verschiedener FS-Fractionen (freie FS, PE und PE-Plasmalogene) holotricher Pansenprotozoen (% der Gesamtfettsäuren; KATZ u. KEENEY 1967)

	freie FS	PE		PE-Plasmalogene	
		α	β	Aldehyde α	FS β
gesättigte FS:					
C ₁₁₋₁₅	7,9	6,2	2,4	14,0	2,1
C _{16:0}	50,1	80,3	7,2	17,5	59,9
C _{17:0}	2,3	2,5	Spur	Spur	Spur
C _{18:0}	8,3	9,1	0,8	3,4	6,9
verzweigte FS:					
C ₁₄₊₁₆	2,1	1,8	12,1	16,1	4,1
C ₁₅₊₁₇	7,2	Spur	35,4	30,1	13,5
ungesättigte FS:					
C _{16:1}	—	—	—	—	—
C _{18:1}	5,9	Spur	9,9	10,6	8,6
C _{18:2}	10,2	—	20,1	2,9	5,3
C _{18:3}	6,0	—	11,4	—	—

— keine Angaben

2.5 Lipolyse (Hydrolyse)

2.5.1 Lipolyse der Futtermittel

Unter Spaltung der Esterbindungen entstehen aus Futterlipiden u.a. freie FS, Glycerin, Galactose und freie Carboxylgruppen. Letztere stellen ihrerseits eine Voraussetzung für die anschließende Hydrogenierung (Hydrierung) ungesättigter FS dar (GARTON et al. 1961; HAWKE u. SILCOCK 1970; KEPLER et al. 1970; s. Abb. 2.1 u. 2.3).

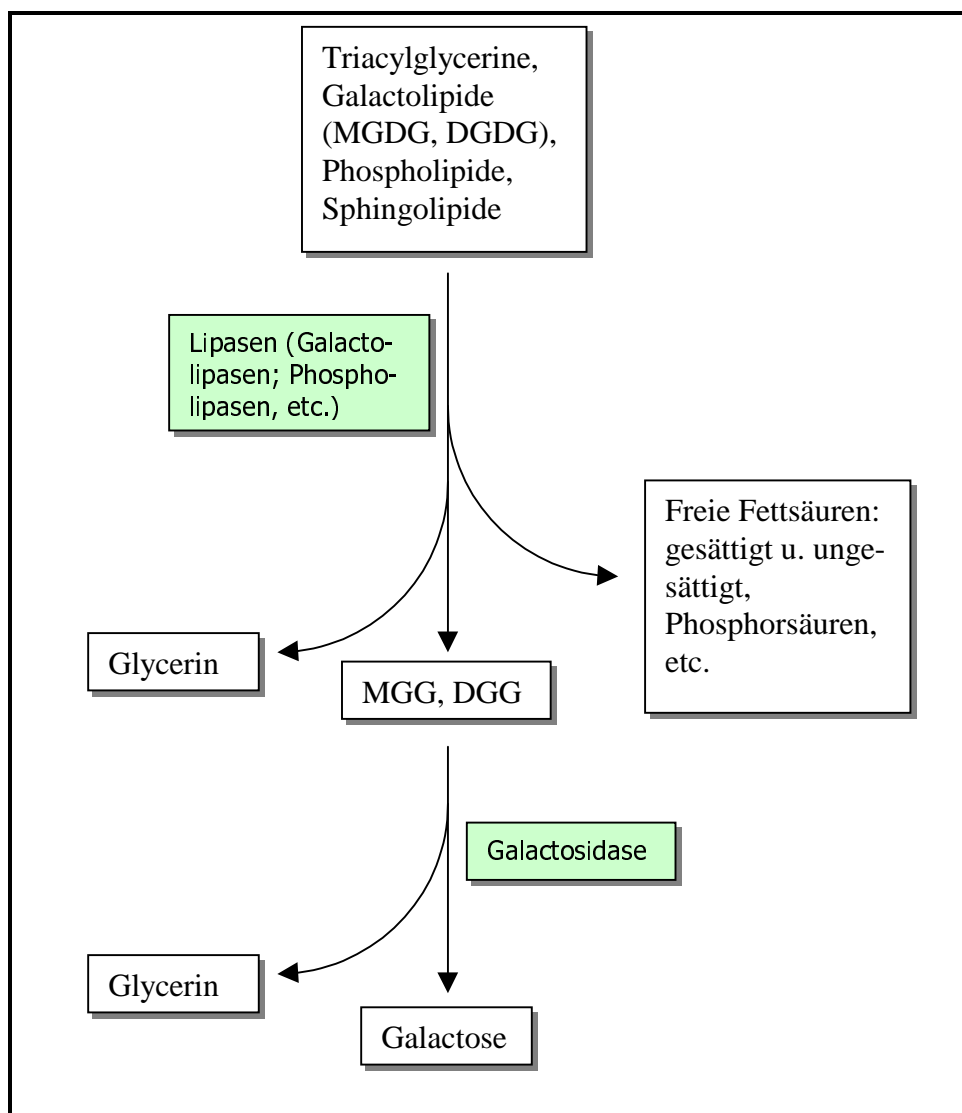


Abb. 2.3: Ablauf der Lipolyse, vereinfacht dargestellt (grau hinterlegt: beteiligte Enzyme)

Die entstehenden freien FS können entweder an die Partikelphase adsorbiert, hydriert und in mikrobielle Lipide inkorporiert werden oder mit Calcium zu Calciumseifen reagieren (KEENEY 1970; KEPLER et al. 1971; DAWSON et al. 1974; HAZLEWOOD u. DAWSON 1976; VAN DER HONING u. TAMMINGA 1986).

Neben den freien FS sind die wichtigsten Endprodukte der hydrolytischen Spaltung Glycerin und Galactose, die wiederum zu flüchtigen Fettsäuren, besonders zur Propionsäure und zur Essigsäure metabolisiert werden (DEMEYER 1973; OSLAGE 1984) und so die Konzentration des freien Glycerins im Pansen sehr niedrig halten. Dieser Effekt wurde auch nach Fütterung einer triglyceridreichen Ration im Kraftfutteranteil beobachtet (HOBSON u. MANN 1961; BLACKBURN u. HOBSON 1962; WRIGHT 1969).

Die Lipasen der Hydrolyse stammen sowohl von Futterpflanzen, wie auch von Bakterien und Protozoen (LATHAM et al. 1972; FARUQUE et al. 1974; DAWSON et al. 1977; PALMQUIST u. JENKINS 1980; s. Tab. 2.26). Unklarheiten gibt es über den jeweiligen Grad der Beteiligung. Für FARUQUE et al. (1974) sind vorwiegend pflanzliche Lipasen für die Hydrolyse verantwortlich, während mikrobielle Enzyme für ihn nur eine sekundäre Rolle spielen. Dagegen wurde eine schnelle Hydrolyse auch in konserviertem Grünfutter festgestellt, bei dem pflanzliche Lipasen weitestgehend inaktiviert waren (HARFOOT 1981).

VAN DER HONING u. TAMMINGA (1986) vertreten sogar die Meinung, daß vorrangig bakterielle und protozoale Lipasen für die Hydrolyse zuständig sind. Verschiedene Autoren messen letzteren dagegen nur eine geringe Bedeutung bei, da sie die lipolytische Aktivität der Protozoen ausschließlich auf die inkorporierten oder adsorbierten Bakterien zurückführen (DAWSON et al. 1977; MOORE u. CHRISTIE 1984).

Tab. 2.26: An der ruminalen Lipolyse beteiligte Enzyme mikrobieller und pflanzlicher Herkunft

Lipolyse-Enzyme	Herkunft	Autor / Jahr
Lipasen	mikrobiell	GARTON et al. 1958
Phospholipase A Phospholipase C Lysophospholipase Phosphodiesterase	mikrobiell	DAWSON 1959
Lipasen	protozoal (Epidinium spp.)	WRIGHT 1961
α -Galaktosidase	protozoal (E. ecaudatum)	BAILEY u. HOWARD 1963
Phospholipase A Lysophospholipase Phosphodiesterase Phosphomonoesterase	protozoal (E. caudatum)	COLEMAN et al. 1971
Zellgebundene Esterase Extrazelluläre Lipase	bakteriell (Anaerovibrio lipolytica)	HENDERSON u. HODGKISS 1973
Galaktosidasen Galaktolipasen	bakteriell	DAWSON u. HEMINGTON 1974
Lipasen	pflanzlich	FARUQUE et al. 1974
Lipasen	bakteriell	MOORE u. CHRISTIE 1984

An der Lipolyse sind hauptsächlich die Bakterienarten Anaerovibrio lipolytica und Butyrivibrio fibrisolvens beteiligt (HOBSON u. SUMMERS 1966, 1967; HENDERSON et al.

1969; HENDERSON 1971; LATHAM et al. 1972; HENDERSON u. HODGKISS 1973; HAZLEWOOD u. DAWSON 1975, 1976; HAZLEWOOD et al. 1983).

Anaerovibrio lipolytica produziert in der frühen Wachstumsphase zwei hydrolytische Enzyme: eine zellständige Esterase und eine extrazelluläre Lipase, die an das Medium abgegeben wird (s. Tab. 2.27). Letztere besteht aus zwei Untereinheiten, wobei die lipolytische Aktivität an die Komponente mit dem höheren Molekulargewicht gebunden ist (HENDERSON 1971; HENDERSON u. HODGKISS 1973). Die Lipasen von *Anaerovibrio lipolytica* hydrolysieren Diacylglycerine schneller als Triacylglycerine und greifen Phospho- und Galaktolipide gar nicht an.

Butyrivibrio fibrisolvens gehört zu einer kleinen Bakteriengruppe, die befähigt ist, Phospholipide zu hydrolysieren (HAZLEWOOD u. DAWSON 1975 a). Diese Bakterien produzieren sowohl eine Phospholipase A als auch eine Phosphorylase; die Phospholipase A deacetyliert Phospholipide zu freien Lysophospholipiden und unveresterten Fettsäuren, die Phosphorylase entfernt anorganischen Phosphor aus Phosphatidylinositol.

Sowohl die Phospholipasen A und C als auch die Galactolipasen sind bei subzellulären Fraktionierungen von *Butyrivibrio* in zytoplasmatischen Membranen lokalisiert (HAZLEWOOD et al. 1983). Die Phospholipase ist in Kulturen überwiegend zellassoziiert, wird aber auch in Überständen von Kulturen nachgewiesen, während sie in Panseninhalten stark von der Anwesenheit der Pansenbakterien abhängig ist (HAZLEWOOD 1974).

Tab. 2.27: Wachstumsoptima und Lipase beeinflussende Faktoren der Genera *Anaerovibrio lipolytica* und *Butyrivibrio fibrisolvens*

Bakterien	Wachstumsoptima	stimulierende Wirkung	inhibitorische Wirkung	Autor / Jahr
<i>Anaerovibrio lipolytica</i>	pH 7,4 20 - 22 ° C	CaCl ₂ , BaCl ₂	ZnCl ₂ , HgCl ₂	HENDERSON 1971
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	pH 6,5 - 7,5	Cystein, Asche und Natriumdodecylsulfat (NDS)	O ₂	HAZLEWOOD u. DAWSON 1975 a, b; 1976

Die Phospholipaseaktivität ist bei sehr niedrigen Temperaturen bemerkenswert hoch (HAZLEWOOD u. DAWSON 1976). Das Maximum der Hydrolyserate ist bei - 10 °C höher als bei + 39 °C, wenn bei + 39 °C nicht eine zusätzliche Stimulation durch Ölsäure- oder Natriumdodecylsulfat (NDS) Zugabe erfolgt. Die Aktivität ist bei niedrigen Temperaturen absolut vom Vorhandensein von Schwefelreagentien (n. def.) abhängig, sie kann durch Ca²⁺, Mn²⁺, Mg²⁺ gesteigert und durch EDTA gehemmt werden.

Eine weitere Eigenschaft des Phospholipasesystems von *Butyrivibrio fibrisolvens* (Stamm LM8/1B) ist die Fähigkeit, N-acylphosphatidylethanolamin durch eine intermolekulare Transacylation zu katalysieren, wobei ein Molekül von Phosphatidylethanolamin als Acyldonor und ein weiteres als Acylakzeptor dient (HAZLEWOOD u. DAWSON 1975 a).

Die Fähigkeit der Bakterien, gleichzeitig die lipolytische Spaltung und die Hydrierung vorzunehmen, ist bei einzelnen Stämmen der Pansenmikroben sehr unterschiedlich

ausgeprägt. Sie war bei den untersuchten Stämmen, die die mehrfach ungesättigten FS bis zur Stearinsäure hydrogenieren konnten, besonders niedrig (HAZLEWOOD et al. 1976).

Experimentelle Beweise für eine Protozoenbeteiligung an der Hydrolyse von Futterlipiden sind nicht überzeugend, vor allem wegen Unklarheiten über die Rolle der intrazellulären- (inkorporierten) und oberflächengebundenen Bakterien (s. Tab. 2.28).

Tab. 2.28: Chronologische Auflistung von Versuchen zur Klärung möglicher Protozoenbeteiligungen an der Hydrolyse

Versuch	Ergebnis	Autor / Jahr
Inkubation von Protozoenextrakten mit Tributyrin, Triolen, Leinsamen- und Olivenöl	Nur Hydrolyse von Tributyrin. Schätzung über 30 - 40 %ige protozoale Beteiligung an der Hydrolyse (v.a. <i>Epidinium</i> spp.)	WRIGHT 1961
α -Galaktosidase aus <i>Epidinium ecaudatum</i> extrahiert, dieses Enzym setzte Galaktose aus intakten Galaktolipiden frei	Lipaseaktivität selbst wurde nicht nachgewiesen, Einfluß von <i>E. ecaudatum</i> auf Hydrolyse angenommen.	BAILY u. HOWARD 1963
Inkubation von <i>E. caudatum</i>	Inkorporierung von Chloroplasten, Fetttröpfchen; Verdacht der anschließenden Hydrolyse dieser Substanzen	COLEMAN u. HALL 1969; PRINS 1977
Versuche mit defauniertem Pansensaft	schnelle Hydrolyse von Phosphatidylcholin; protozoale Beteiligung deshalb nur gering	DAWSON u. KEMP 1969
Inkubation von <i>E. caudatum</i>	Hydrolyse von PE; Annahme, daß dieser Prozeß für interne Zellökonomie relevanter sei, als für Verdauung von Futterlipiden im Pansen	COLEMAN et al. 1971
Messung lipolytischer Aktivität in boviner Pansenprotozoenfraktion	30 % der lipolytischen Gesamtaktivität (Schätzung)	LATHAM et al. 1972
Messung lipolytischer Aktivität von holotrichen Protozoen im bovinen Pansen	Protozoen besitzen keine lipolytische Aktivität, Lipasen und Phosphatasen der Phospholipid-Lipolyse sollen eher pflanzlicher Herkunft sein	GIRARD u. HAWKE 1978

Über einen Protozoeneinfluß auf die Lipolyse und das eventuelle prozentuale Ausmaß kann bis heute keine gesicherte Aussage gemacht werden. Es ist auch bisher noch nichts über einen Einfluß bekannt, den Pansenpilze auf die Lipolyse ausüben könnten.

2.5.2 Fütterungseinflüsse und Lipolyserate

Die Lipolyserate weist eine Substratsättigung auf und ist sowohl quantitativ als auch qualitativ von der Fütterung abhängig (s. Tab. 2.29).

Die Sättigung der lipolytischen Aktivität äußert sich im Pansen durch unverändert hohe Triacylglycerin-Gehalte bzw. geringfügig verminderte Konz. (BATH u. HILL 1967; MOORE et al. 1969; s. Tab. 2.30) oder durch zunehmende Triacylglycerin-Werte im caudalen Verdauungstrakt, wie z. B. im Duodenum (BATH u. HILL 1967). Weiterhin sprechen ansteigende Gehalte ungesättigter FS in Plasmalipiden und Lymphflüssigkeiten für eine Sättigung der Lipolyse (WADSWORTH 1968; NOBLE et al. 1969).

Tab. 2.29: Lipolyserate (% , gemessen im Pansen) bei unterschiedlichen Substratgaben in Abhängigkeit von der Zeit

Substrat	Substratkonz. (mg/100 ml)	Dauer (h)	Lipolyserate (%)	Autor / Jahr
Palmitoleyl - Linolenoyl - Oleyl - Maisöl } Glycerin	50	3	70	HAWKE u. SILCOCK 1969
	90	7	70	MOORE et al. 1969
Leinöl	1000	24	15 – 90	GARTON et al. 1961
	200	2	10	WRIGHT 1961
		6	15	
400	2	9 – 22	DEMEYER u. VAN NEVEL 1970	

Tab. 2.30: Anteilige- und Gesamtlipidgehalte in einzelnen Fraktionen (besonders Triacylglycerine) von Futter und Panseninhalten in Abhängigkeit von der Zeit (ppr.; BATH u. HILL 1967)

	Gesamtlipide (%)	Gesamtlipidgehalt (%)				
		Acylglycerine			Phospholipide	freie FS
		Tri-	Di-	Mono-		
Futter*	6,3	72,4	13,7	1,7	1,2	11
Panseninhalt 0 h	5,1	0,1	-	0,1	15,2	85
Panseninhalt 1 h	6,2	30,4	1,7	-	7,1	61
Panseninhalt 5 h	6,4	11,1	-	-	12,4	76

* 1 kg Heu und 50 g Palmöl
- keine Konzentration meßbar

Eine mögliche quantitative Beeinflussung durch die Diät wurde von DEMEYER et al. (1969) und DEMEYER u. VAN NEVEL (1970) festgestellt. So konnte bei steigenden Gehalten leicht verdaulicher Kohlenhydrate eine Abnahme der Lipolysegeschwindigkeit- bzw. eine verminderte Lipolyserate nach Glucosegabe beobachtet werden (s. Tab. 2.31). Ein Überangebot von Kohlenhydraten im Milieu zeigte in Versuchen von HOBSON u. MANN (1961) eine Verdrängung der lipolytischen Bakterienflora.

Tab. 2.31: Einfluß von Glucose auf die Lipolyserate in vitro (DEMEYER u. VAN NEVEL 1970)

Versuchbedingungen	Lipolyserate (%)	
	ohne Glucose	mit Glucose
20 ml Leinöl mit 5 ml Panseninhalten 5 h (unter CO ₂ -Begasung) inkubiert. Zugabe von 200 µmol Glucose. Bestimmung der Lipolyserate durch Veresterung vor und nach der Inkubation	23	20
	27	25
	34	23

Die Futterzusammensetzung zeigt weitreichende Wirkungen sowohl auf die Lipolyse- sowie auch auf die Hydrierungsrate. Ein Substratüberschuß hemmt die Lipolyse ebenso wie die Hydrierung, deshalb kann erstere als regulierender Prozeß angesehen werden. Die herabgesetzte lipolytische Aktivität verhindert eine zu schnelle Freisetzung von freien FS und dadurch die FS bedingte Hemmung des Bakterienwachstums (CZERKAWSKI 1967; HENDERSON 1973 b). Die Beeinträchtigung der Hydrierung durch Futtermittel, die reich an löslichen Kohlenhydraten sind, kann ebenfalls als unmittelbare Folge von verringerter (gehemmter) Lipolyse angesehen werden (TOVE u. MATRONE 1962; PATTON u. KESLER 1967).

2.6 Biohydrogenierung (Hydrierung)

2.6.1 Biohydrogenierung im Pansen

Fettgewebe von Wiederkäuern enthält ebenso wie Milchfett einen charakteristisch hohen Anteil gesättigter FS, während die wichtigsten Grundfuttermittel (Gras, Grassilage, Maissilage, Heu, Kraftfutter wie z. B. Getreide oder Sojabohnen) durch z. T. hoch ungesättigte Fettsäuremuster gekennzeichnet sind (s. a. Kap. 2.3). Ursache des hohen Sättigungsgrades von Wiederkäuerfetten ist die mikrobielle Hydrierung von ungesättigten FS. Dieser Prozeß findet hauptsächlich im Pansen statt und dehnt sich nur zu einem geringen Teil in den caudalen Verdauungstrakt aus (HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997).

Die Anwesenheit einer freien Carboxylgruppe ist Voraussetzung für das Zustandekommen der Hydrierung, deshalb müssen Ester, Salze oder andere Formen der ungesättigten FS erst hydrolysiert werden, bevor die Hydrogenierung stattfinden kann (HARFOOT et al. 1973 b). Die Voraussetzung der hydrolytischen Spaltung für die Hydrogenierung wurde von HAWKE u. SILCOCK (1970), KEPLER et al. (1971) und DAWSON et al. (1974) belegt, die im ungespaltenen Triester der Linolsäure (mit C¹⁴-Markierung) keine Hydrierung im Gegensatz zur freigesetzten Säure gemessen haben.

Die vollständige Biohydrogenierung läuft in vivo und in vitro unterschiedlich ab. Während bei in-vivo-Versuchen vollständige Hydrierungen von Linol- zu Stearinsäure beobachtet wurden, erfolgte sie in vitro, wenn überhaupt, nur bis zum trans-11-Zwischenprodukt (WILDE u. DAWSON 1966; VIVIANI u. BORGATTI 1967; NOBLE et al. 1969; HAWKE u. SILCOCK 1970; HARFOOT et al. 1973 a, b; KELLENS et al. 1986).

Obwohl die Bedeutung der Hydrogenierung bis heute noch nicht völlig geklärt ist, ist der Prozeß doch von beträchtlicher Wichtigkeit und weist tiefgreifende Effekte auf den Lipidmetabolismus der Wiederkäuer auf. Einerseits ist sie essentieller Bestandteil in der Verwertung von Futter-FS durch Fettsäure-auxotrophe Bakterien (z. B. *Butyrivibrio fibrisolvens*), andererseits wird sie als Entgiftungsmechanismus gegenüber toxisch wirkenden Fettsäuren angesehen (KEMP et al. 1984 a), da sowohl hemmende als auch toxische Wirkungen von langkettig-ungesättigten FS und Triacylglycerinen auf Bakterien (insbesondere auf gram-positive Pansenbakterien) nachgewiesen wurden (NIEMANN 1954; GAILBRAITH et al. 1971; PRINS et al. 1972; HENDERSON 1973 b; MACZULAK et al. 1981; JENKINS u. PALMQUIST 1982, 1984; KABARA 1984; s. a. Kap. 2.10.1).

In der Regel schließt sich die Hydrierung der Hydrolyse unmittelbar an. Demnach kommt nur ein geringer Anteil an ungesättigten Fettsäuren im Pansen vor (VAN DER HONING u. TAMMINGA 1986). Die einzelnen Reaktionsschritte der Hydrierung werden im folgenden (Abb. 2.4 – 2.6) sowohl bei einfach- als auch bei mehrfach ungesättigten FS dargestellt.

2.6.1.1 Hydrierung der Linolsäure

Die initiale Reaktion der Linolsäurehydrierung ist wie bei den übrigen Hydrierungen eine Isomerisation (s. Abb. 2.4, 2.6 u. 2.7). Aus der resultierenden cis-9, trans-11 konjugierten Diensäure wird durch zweimalige Hydrierung Stearinsäure. Die trans-11-Octadecensäure ist die vorletzte Stufe (wie bei der Hydrierung der α - und γ -Linolensäure) und stellt einen Anteil von über 80 % aller Octadecensäuren (C18:1) im Pansen. Auffällig ist die langsamere Hydrogenierung dieser Säure gegenüber den cis-9-Octadecensäuren (KEMP et al. 1984 a).

Für die vollständige Hydrogenierung der Linolsäure (und der übrigen ungesättigten Säuren) sind bestimmte Pansenbakterien notwendig, die von HAZLEWOOD et al. (1976) in drei und von KEMP u. LANDER (1984) in zwei verschiedene Gruppen eingeteilt wurden (s. Tab. 2.32), wobei die Gruppen 1 und 2 von HAZLEWOOD et al. (1976) mit der Gruppe A von KEMP u. LANDER (1984) übereinstimmen, die Gruppe 3 entsprechend mit der Gruppe B (vgl. a. Tab. 2.35).

Tab. 2.32: Unterteilung der an der Hydrogenierung beteiligten Bakterien

Bakterien Gruppe	Einteilungskriterium	Autor / Jahr
A	Hydrierung der Linol- und α -Linolensäure bis zur trans-11-Octadecensäure, wobei einige Isolate der Gruppe A die α -Linolensäure nur bis zur Stufe der trans-11,cis-15-Octadecadiensäure metabolisieren.*	HAZLEWOOD et al. 1976 ; KEMP u. LANDER 1984
B	Hydrierung von Octadecensäuren (cis-9-Öl-, trans-9-Elaidin- und trans-11-Vaccensäure) zu Stearinsäure; Hydrierung der trans-11,cis-15-Octadecadiensäure zur trans-15,cis-15-Octadecensäure	KEMP u. LANDER 1984
1	Alleinige Hydrierung der cis-9 Doppelbindung des cis-9,trans-11 konjugierten Diens (in trans-11-Monoensäure)	HAZLEWOOD et al. 1976
2	Hydrierung der cis-15 Doppelbindung des cis-9, trans-11,cis-15 konjugierten Triens (in trans-11,cis-15-Octadecadiensäure)	HAZLEWOOD et al. 1976
3	Entspricht Gruppe B von KEMP u. LANDER 1984	HAZLEWOOD et al. 1976

* zu diesen Isolaten werden auch *B. fibrisolvans* (KEMP et al. 1975), Pansenspirochäten (SACHAN u. DAVIS 1969; YOKOYAMA u. DAVIS 1971) und einige Darmbakterien von Nichtwiederkäuern (EYSSSEN u. VERHULST 1984; VERHULST et al. 1985) gerechnet.

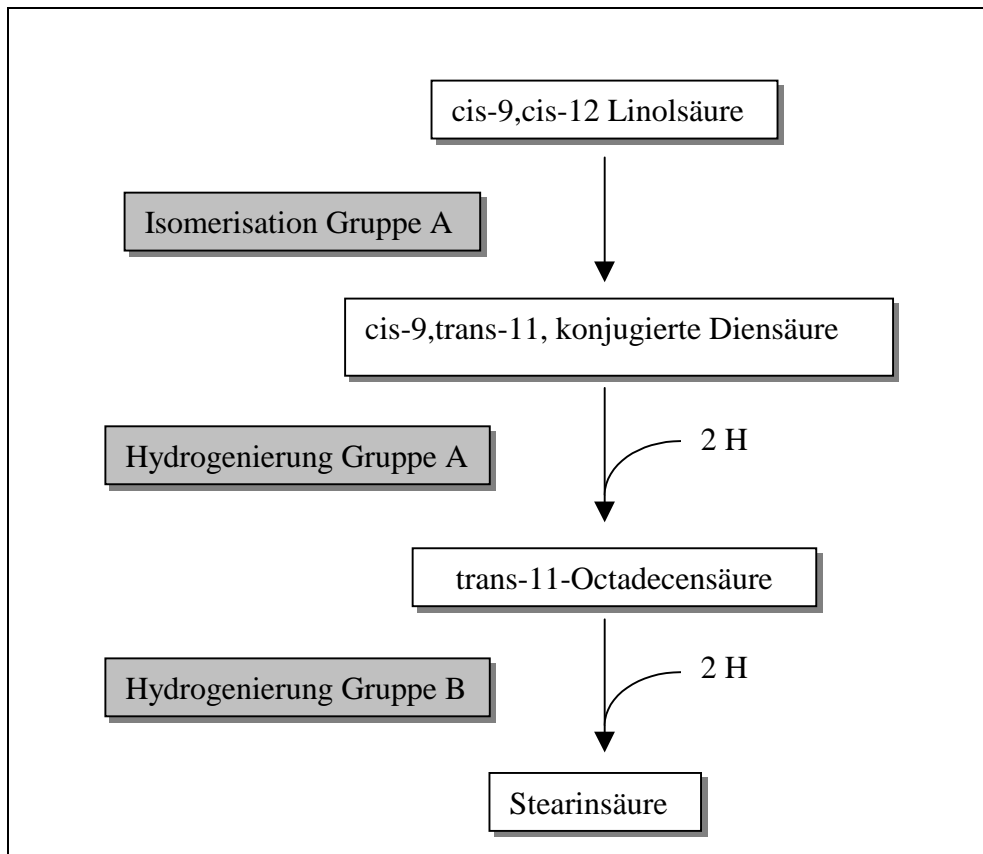


Abb. 2.4: Biohydrogenierung der Linolsäure (WOOD et al. 1963; WARD et al. 1964; WILDE u. DAWSON 1966; NOBLE et al. 1969; DAWSON u. KEMP 1970; VIVIANI 1970)

2.6.1.1.1 Wasserstoffdonatoren

Welche Wasserstoffdonatoren bzw. Cofaktoren (NADH, FADH, etc.) endgültig für die Hydrogenierung verantwortlich sind, ist bis heute nicht ausreichend geklärt.

VIVIANI (1970) konnte eine Stimulierung der Hydrierung durch Pyruvat, Formiat, Succinat und α -Ketoglutarat feststellen, die von KEMP et al. (1975) und ROSENFELD u. TOVE (1971) in der Form nicht bestätigt werden konnten (fehlende Substratumsetzung durch verschiedene Pansenbakterien).

YAMAZAKI u. TOVE (1979) wiesen in zellfreien Extrakten von *Bv. fibrisolvens* Elektronendonatoren für die Hydrierung der cis-9,trans-11-Octadecadiensäure nach. In nachfolgenden Studien identifizierten sie α -Tocopherolquinol (TQH₂) und α -Tocopherolquinon (TQH) als Donatoren (HUGHES u. TOVE 1980 a, b). Sie beobachteten weiterhin, daß in Anwesenheit von NADH (im Verhältnis 1:1) α -Tocopherolquinon zu α -Tocopherolquinol reduziert wurde, bzw. bei Zugaben von cis-9,trans-11-Octadecadiensäure (als Substrat) eine umgekehrte Reaktion stattfand (d. h. Oxidation von α -Tocopherolquinol zum α -Tocopherolquinon). Da zusätzlich Flavin-ähnliche Komponenten nachgewiesen wurden, vermuteten sie den in

Abb. 2.5 dargestellten Verlauf einer Elektronentransportkette im Rahmen der Hydrogenierung der cis-9,trans-11-Octadecadiensäure.

Ob α -Tocopherolquinol ebenfalls für die Hydrierung der trans-11-Octadecensäuren durch die Bakterien der Gruppe B in Frage kommt, ist nicht bekannt.

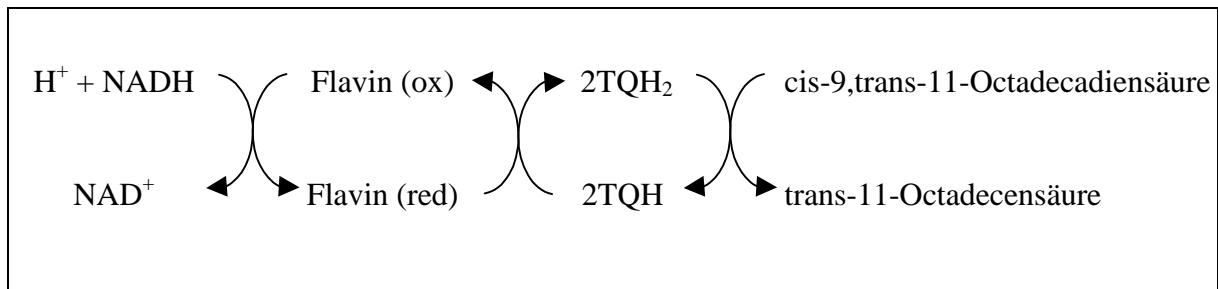


Abb. 2.5: Möglicher Elektronentransport während der Hydrogenierung der Octadecadiensäuren (HUGHES u. TOVE 1980 a)

2.6.1.1.2 Hydrierung von Linolsäure-Isomeren

Die Hydrierung von einigen Linolsäure-Isomeren, bei denen die Doppelbindung durch eine Methyl-Gruppe getrennt ist, weichen von der Hydrierung der cis-9,cis-12-Linolsäure ab. Einige Bakterien der Gruppe A sind in der Lage, die Isomere vollständig zur Stearinsäure abzubauen, während für den Abbau der cis-9,cis-12-Linolsäure beide Bakteriengruppen anwesend sein müssen. Weiterhin gibt es Isomere, die von den Bakterien überhaupt nicht hydriert werden (cis-14,cis-17-Isomer; KEMP et al. 1984 b).

Von allen untersuchten Isomeren (Versuch von KEMP et al. 1984 b) zeigten nur zwei (cis-2,cis-5 und cis-9,cis-12) eine Umwandlung in entsprechende cis-,trans-konjugierte Diensäuren, bevor die eigentliche Hydrierung stattfand.

Bakterien, die Linolsäure bis zur trans-11-Octadecensäure abbauen, bilden nur Octadecensäuren als Produkt, während diejenigen, die Linolsäure vollständig hydrieren, unterschiedliche Anteile von Öl- und Stearinsäure bilden (bei Inkubation mit verschiedenen Ausgangsisomeren). Ausgenommen sind davon die cis-12,cis-15- und cis-16,cis-18-Isomeren, aus denen nur Ölsäure entsteht (KEMP et al. 1984 b).

2.6.1.2 Hydrierung der α -Linolensäure

Bei der Hydrogenierung der α -Linolensäure entsteht nach der Isomerisation eine cis-9,trans-11,cis-15 konjugierte Octadecatriensäure, welche wiederum in eine trans-11,cis-15-Octadecadiensäure hydriert wird.

Der weitere Umwandlungsweg dieser Säure hängt davon ab, welche Bakterien an den folgenden Reaktionen beteiligt sind (s. Abb. 2.6). Wird die Hydrierung von der Gruppe B vorgenommen, entstehen sowohl trans-15-, als auch cis-15-Octadecensäuren. Diese Säuren werden nicht weiter hydriert.

Auffällig ist, daß die trans-15- und cis-15-Octadecensäuren hauptsächlich bei in-vitro-Inkubationen als Hauptendprodukte entstehen. Die Ursachen für diesen unvollständigen Abbauweg sind noch nicht geklärt (WHITE et al. 1970; BODY 1976; HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997).

Wird die Octadecadiensäure jedoch von Bakterien der Gruppe A hydriert, bildet sich die trans-11-Octadecensäure, die dann von der Gruppe B Bakterien zu Stearinsäure hydrogeniert wird (WOOD et al. 1963; WARD et al. 1964; WILDE u. DAWSON 1966; NOBLE et al. 1969; DAWSON u. KEMP 1970; EYSEN u. VERHULST 1984; VERHULST et al. 1985; HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997). Insgesamt hängt die vollständige Hydrierung der α -Linolensäure (und Linolsäure) vom Vorhandensein beider Pansenbakteriengruppen ab.

Zum Nachweis der Beteiligung beider Gruppen an der Hydrierung inkubierten KEMP u. LANDER (1984) α -Linolensäure mit gemischten Kulturen, die jeweils reine Stämme beider Bakteriengruppen enthielten. Die Versuchsansätze, die sowohl *Bv. fibrisolvens* als auch *Fusocillus* sp. beinhalteten, zeigten eine Umwandlung von 2/3 des α -Linolensäuresubstrates in Stearinsäure. Wurden dagegen nur Bakterien der Gruppe B miteinander vermischt, entstand keine Stearinsäure.

In einem weiteren Versuch wurde jeweils eine bestimmte Menge der Gruppe A- und B-Bakterien für längere Zeit inkubiert. Dabei war die Umwandlung von Linolsäure in Stearinsäure signifikant schlechter. Dies könnte auf die schnellere Wachstumsgeschwindigkeit der Gruppe A-Bakterien im Vergleich zu derjenigen der Gruppe B-Bakterien zurückzuführen sein (KEMP u. LANDER 1984). Für hohe Mengen an Stearinsäure ist es unbedingt notwendig, eine Balance zwischen den Bakterien in den Kulturen zu erreichen. Eine Rolle spielt auch die Affinität der beiden Bakteriengruppen zur α -Linolensäure. Nicht geklärt ist bisher, wie die Übertragung der trans-11-Octadecensäure von den Bakterien A auf die Bakterien B stattfindet.

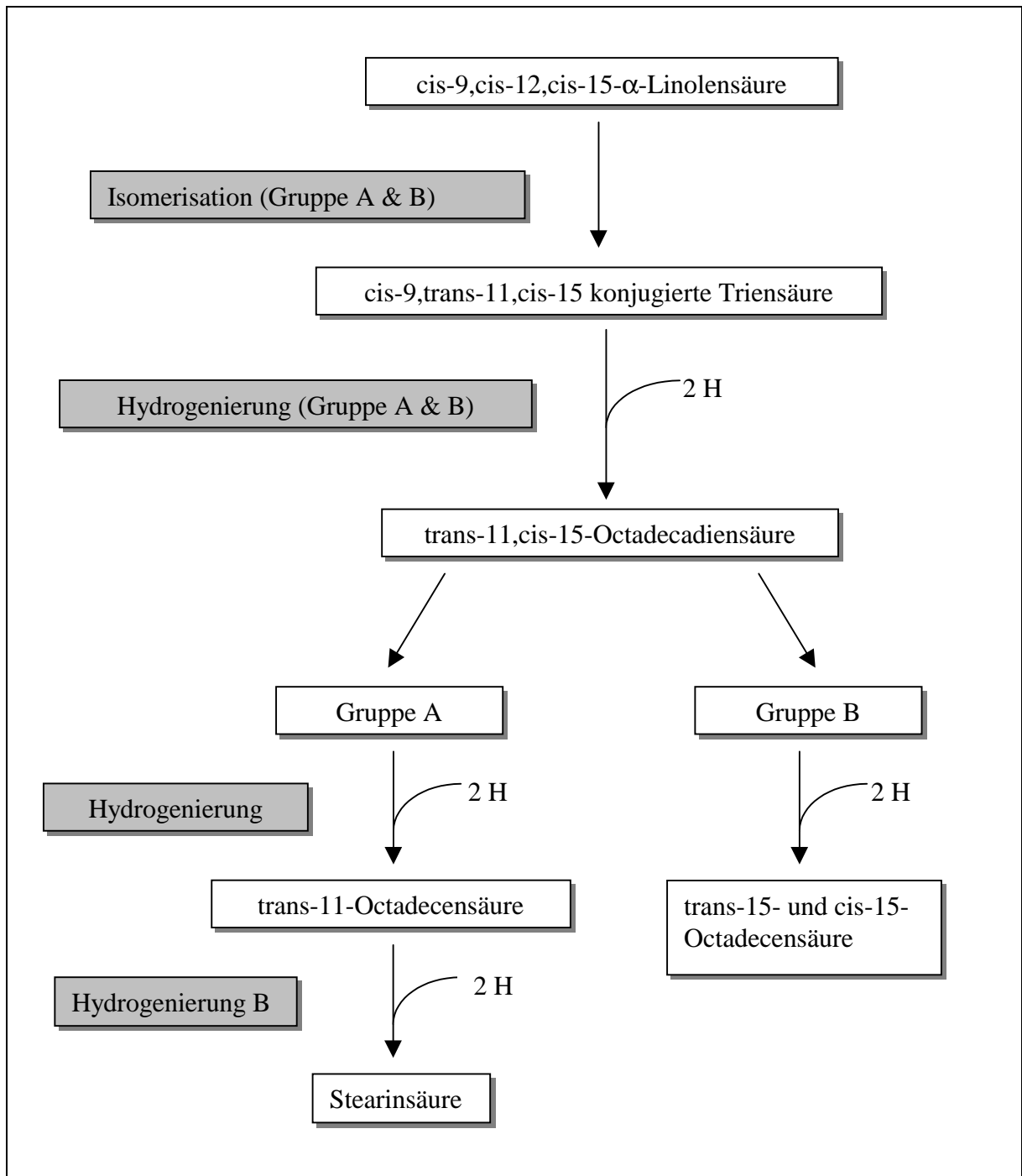


Abb. 2.6: Hydrogenierung der α -Linolensäure (WOOD et al. 1963; WARD et al. 1964; WILDE u. DAWSON 1966; NOBLE et al. 1969; DAWSON u. KEMP 1970; EYSSEN u. VERHULST 1984; VERHULST et al. 1985)

2.6.1.3 Hydrierung der γ -Linolensäure

Ein weiteres Isomer der Linolensäure stellt die γ -Linolensäure (cis-6,cis-9,cis-12-Octadeca-triensäure) dar. Sie ist nur zu einem kleinen Teil in tierischen Lipiden und höheren Pflanzen enthalten, kommt aber häufig in Lipiden von Pilzen, Algen und Ölsamen vor (KEMP u. LANDER 1983).

Ihr Hydrierungsweg ist dem der α -Linolensäure direkt analog (vgl. Abb. 2.6 u. 2.7). Ein Unterschied zwischen beiden besteht darin, daß die γ -Linolensäure vollständig durch Bakterien der Gruppe B (z. B. *Fusocillus babrahamensis*) hydriert werden kann, wohingegen die vollständige Hydrierung der α -Linolensäure von der Anwesenheit beider Bakteriengruppen essentiell abhängt (KEMP u. LANDER 1983).

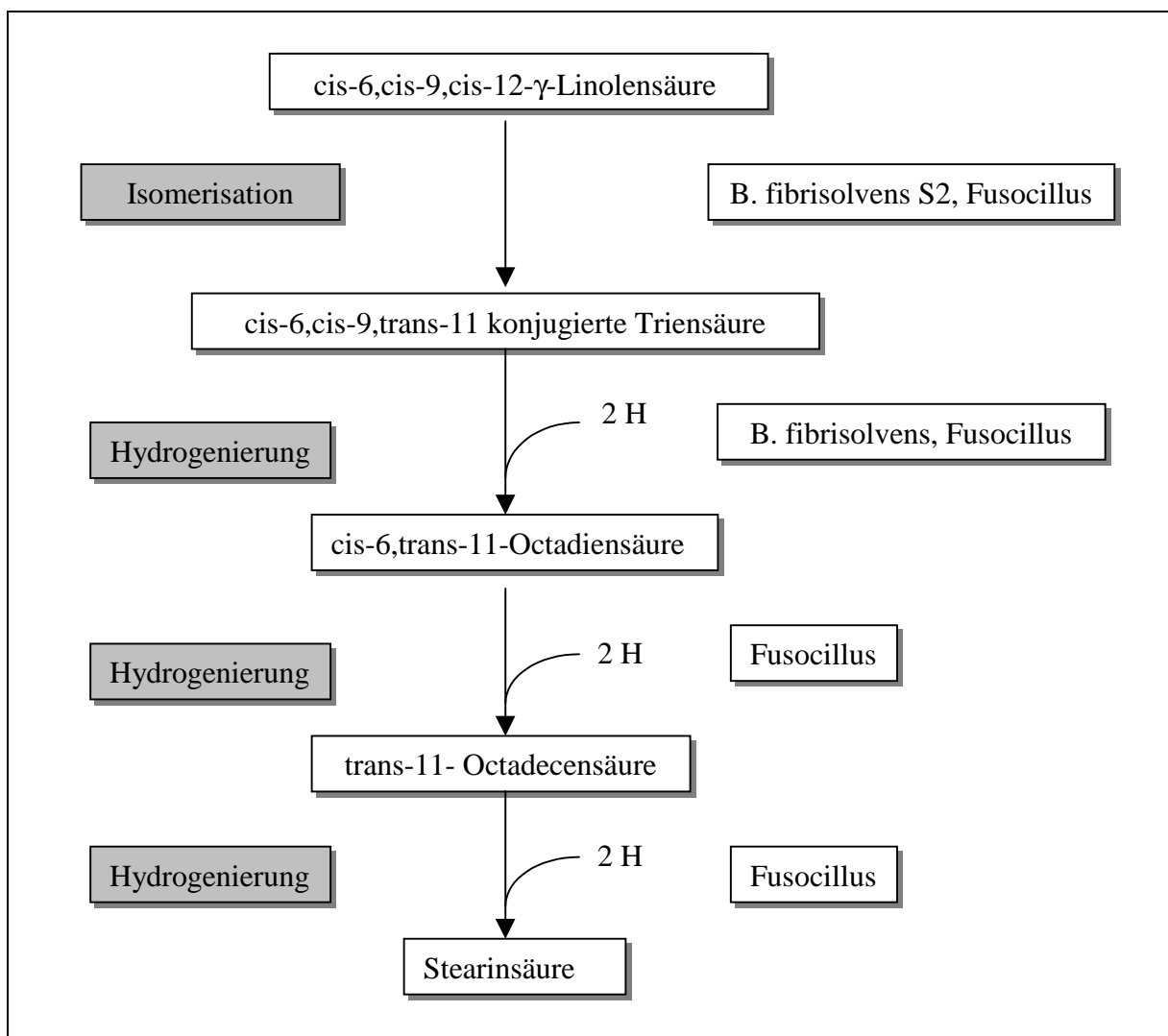


Abb. 2.7: Hydrierung der γ -Linolensäure (nach KEMP u. LANDER 1983)

2.6.1.4 Hydrierung von Octadecensäure-Isomeren

KEMP et al. (1984 a) untersuchten die Fähigkeit von *Fusocillus* sp. (Gruppe B), Octadecensäure in Stearinsäure zu hydrieren. Sie benutzten dazu cis- und trans-Isomere.

Die cis- und trans-Säuren, bei denen die Doppelbindung in der Mitte des Moleküls liegt, scheinen bevorzugt hydriert zu werden. Dies ist vor allem bei den trans-Säuren der Fall (Tab. 2.33). Voraussetzung für eine vollständige Octadecensäure-Hydrierung sind allerdings bestimmte Konfigurationen (z. B. cis-2, cis-5, cis-9 oder cis-12) und die bei der Isomerisation entstehende konjugierte Säure. Die Hydrierungsraten der Isomere bestätigen dies (KEMP et al. 1984 a).

Ob die Hydrierung durch ein Enzym oder eine Reihe von Enzymen katalysiert wird, oder ob für jedes Isomer ein eigenes Enzym zur Verfügung steht, ist bislang unklar.

Tab. 2.33: Hydrierungsraten einzelner Octadecensäure-Isomere in Abhängigkeit von der Inkubationszeit (KEMP et al. 1984 b)

Isomeren	Hydrierungsrate (Inkubation: 3h)	Hydrierungsrate (Inkubation: 24 h u. kleinere Konz. von Isomeren)
cis-2 bis cis-13 Konfiguration (ausgenommen cis-3)	cis-2 bis cis-11 bevorzugte Hydrierung, Umwandlungsrate für Stearinsäure beträgt bei: cis-2 bis cis-11: 73 - 79 % cis-12 : 30 % cis-13 : 5 %	Zunahme der Hydrierungsrate der Stearinsäure
cis-14 cis-17	Keine Hydrierung, hier schließt die Doppelbindung an das Methylgruppenende des Moleküls an	—
trans-2 bis trans-13 (ausgenommen trans-3, trans-4)	Hydrierungsrate: trans-8 45 % trans-9 45 % trans-10 45 % übrige Isomere nur sehr gering	Zunahme der Hydrierungsrate der Stearinsäure

— keine Angaben

2.6.1.5 Spezifische Rolle der Futterpartikel

Zahlreiche Experimente zeigen einen wesentlich schnelleren Ablauf der Hydrogenierung in Anwesenheit von Futterpartikeln (VIVIANI u. BORGATTI 1967; HAWKE u. SILCOCK 1970; HARFOOT et al. 1973 a, b).

Ihre wichtige Rolle konnten HARFOOT et al. (1973 a, b) aufklären. In in-vitro-Versuchen wurde filtrierter Pansensaft mit Linolensäure inkubiert. Das Gemisch wurde anschließend vierfach fraktioniert (futterpartikelreiche Phase, Bakterienfraktion, Protozoenfraktion und zellfreier Überstand). Die Hydrierungsrate war besonders in Verbindung mit Futterpartikeln sehr hoch (80 %), im zellfreien Überstand hingegen negativ (im Gegensatz zur lipolytischen Aktivität, vgl. a. Kap. 2.5).

So muß die Hydrogenierung der ungesättigten Fettsäuren durch extrazelluläre Enzyme der Pansenbakterien erfolgen und am Hauptort der Hydrierung, den Futterpartikeln wirken (HARFOOT et al. 1973 a, 1974; HUNTER et al. 1976).

Langkettige Fettsäuren adsorbieren proportional zur ihrer Sättigung an Bakterien und Futterbestandteilen, d. h. bei gleicher Kettenlänge werden gesättigte FS stärker gebunden als ungesättigte. Mit abnehmendem Sättigungsgrad verringert sich dabei v. a. die Adsorption an den Bakterien. (HARFOOT et al. 1973 a, 1974). Die Anwesenheit von Futterpartikeln mindert die Bindung der Fettsäuren an den Bakterienoberflächen zusätzlich. Dieser Prozeß ist für die Bakterien sehr bedeutsam, da eine zu starke Bindung zwischen ihnen und den Fettsäuren die Hydrierung hemmen würde (CZERKAWSKI 1967; HENDERSON 1973 b).

Wird die Adsorptionskapazität der Futterpartikel und der Bakterienzellen durch ein zu hohes Substratangebot (mehr als 0,5 – 1 g ungesättigte FS/l Pansensaft) überschritten, kommt es zur Hemmung des letzten Hydrierungsschrittes und zur Anhäufung von Zwischenprodukten, bei gleichzeitiger Wachstumshemmung der Pansenbakterien (HARFOOT et al. 1973 a; HENDERSON 1973 b).

2.6.1.6 Beteiligung der Mikroorganismen an der Hydrierung

Auf die Bakterienbeteiligung an der Hydrogenierung wurde bereits in den Kapiteln 2.6.1 – 2.6.1.5 eingegangen. Nachfolgend werden Einzelheiten zum bakteriellen Einfluß beschrieben. Tabelle 2.34 gibt einen Überblick über Versuche zum Nachweis der Beteiligung der Pansenmikroben an der Hydrogenierung.

Heutzutage geht man davon aus, daß Pansenbakterien hauptverantwortlich für die Hydrierung sind, während Pansenprotozoen eine sehr untergeordnete Rolle spielen (s. auch Kap. 2.6.6.1 und 2.6.6.2).

Tab. 2.34: Beteiligung von Mikroorganismen an der Biohydrogenierung

Versuch	Ergebnis	Autor / Jahr
Inkubation von Pansen mit lipidreichem Futter	Erster Nachweis einer Hydrogenierung von Linolensäure durch Pansenmikroorganismen	REISER 1951
Inkubation von Pansen mit FS, die repräsentativ für bestimmte FM sein sollten	Allg. Beteiligung von Pansenmikroorganismen an der Hydrogenierung	SHORLAND et al. 1957
Inkubation fraktionierter Panseninhalte	Bakterien und Protozoen sind zur Biohydrogenierung befähigt	WRIGHT 1959, 1960
Untersuchungen an gewaschenen Suspensionen von <i>Isotricha intestinalis</i>	Bestätigung, daß Protozoen zur Biohydrogenierung befähigt sind	WILLIAMS et al. 1963
Inkubation ganzer Pansen mit C-14 ungesättigten FS	Allg. Beteiligung von Pansenmikroorganismen an der Hydrogenierung	WARD et al. 1964

Diese Ergebnisse sind kritisch zu bewerten, da außerwöhnlich große Mengen von Bakterien durch Pansenprotozoen verdaut - bzw. inkorporiert werden (DAWSON u. KEMP 1969).

2.6.1.6.1 Bakterieller Einfluß auf die Hydrierung

In ersten Untersuchungen konnte nur für *Bv. fibrisolvens* die Hydrogenierung nachgewiesen werden (POLAN et al. 1964; KEPLER et al. 1966; KEPLER u. TOVE 1967). Nach und nach wurde bei weiteren Bakterienstämmen die Fähigkeit zur Hydrierung festgestellt (siehe Tab. 2.35).

Zu den Bakterienstämmen, die imstande sind, ungesättigte FS zu hydrieren, gehören außer *Bv. fibrisolvens* spp. auch *Ruminococcus albus*, *Micrococcus* sp., *Eubacterium* spp., *Fusocillus* spp., *Vibrionen*, *Treponema* und weitere nicht näher zugeordnete gram-negative Stäbchen, wobei *Bv. fibrisolvens* (Gruppe A) und *Fusocillus babrahamensis* (Gruppe B), diejenigen sind, die bis heute am häufigsten untersucht wurden (HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997).

Über die beteiligten Enzyme weiß man bisher nicht viel. Zwei Enzyme von *Bv. fibrisolvens*, eine Δ^{12} -cis, Δ^{11} -trans-Isomerase und eine cis-9,cis-12-Octadecadienreductase sind bekannt (KEPLER et al. 1970; HUNTER et al. 1976). Die Isomerase besitzt eine vollkommene Substratspezifität für die cis-9,cis-12-Octadecadiensäure, ist aber auch in der Lage, cis-2,cis-5-Octadecadiensäuren in konjugierte trans-3,cis-5-Diensäuren zu isomerieren (GARCIA et al. 1976). Die Fähigkeit zur Bildung eines konjugierten Zwischenprodukts ist allen Bakterien der Gruppe A (vgl. a. Tab. 2.32) gemein. Deshalb nimmt man an, daß sie entweder dasselbe oder ein entsprechendes Enzym besitzen (HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997).

Welche Enzyme bei den fusocillusartigen Bakterien (Gruppe B) für die Hydrierung der cis-9 und trans-11 Doppelbindungen verantwortlich sind, muß hingegen noch geklärt werden.

Tab. 2.35: Isolate von Pansenbakterien und ihre Fähigkeit Öl-, Linol- und Linolensäure zu hydrogenieren (Angabe in Klammern gibt jeweiligen Grad der Hydrierungsrate für entsprechendes FS-Isomer an)

Gruppe *	Bakterium	Endprodukt der Hydrierung von			Autor / Jahr
		α-Linolensäure (cis-9,cis-12,cis-15-Octadecatriensäure)	Linolsäure (cis-9,cis-12-Octadecadiensäure)	Ölsäure (cis-9-Octadecensäure)	
1A	Bv.	—	18:1 (46 %)	—	POLAN et al. 1964
1A	Bv. A38	—	18:2 cis-9,trans-11 (68 %); 18:1 trans-9 und trans-11 (23 %)	Nicht hydrogeniert	KEPLER et al. 1966
1A	Bv. A38	18:3 cis-9,trans-11, cis-15 18:2 Δ ¹¹ , Δ ¹⁵	18:2 cis-9,trans-11 18:1 trans-11	—	KEPLER u. TOVE 1967
1A	Bv. S2	18:1 trans-11 (Einbau in zelluläre-Lipide)	18:1 trans-11 (Einbau in zelluläre-Lipide)	—	HAZLEWOOD u. DAWSON 1979
1A	Treponema (Borrelia)	Wird isomeriert, dann hydrogeniert	18:2 cis-9,trans-11 (5 %); 18:1 trans-11 (85 %)	—	SACHAN u. DAVIS 1969; YOKOYAMA u. DAVIS 1971
1A	Micrococcus sp.	Wird isomeriert, dann hydrogeniert	18:1 trans-11 (häufigstes Zwischenprodukt)	—	MILES et al. 1970
1A	Ruminococcus albus F 2/6	18:1 trans (95 %) 18:1 cis (5 %) 18:3 cis-9,trans-11, cis-15 (transient) 18:2 trans-11,cis-15 (transient)	18:2 cis-9,trans-11 (transient) 18:1 trans (95 %) 18:1 cis (5 %)	Nicht hydrogeniert	KEMP et al. 1975
1A	Eubacterium F 2/2	18:3 cis-9,trans-11, cis-15; 18:2 trans-11,cis-15 18:1 trans-11	18:2 cis-9,trans-11 18:1 trans-11 (95 %)	Nicht hydrogeniert	KEMP et al. 1975

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.35: Fortsetzung

Gruppe*	Bakterium	Endprodukt der Hydrierung von			Autor / Jahr
		α-Linolensäure (cis-9,cis-12,cis-15-Octadecatriensäure)	Linolsäure (cis-9,cis-12-Octadecadiensäure)	Ölsäure (cis-9-Octadecensäure)	
1A	Eubacterium W461	18:3 cis-9,trans-11, cis-15, (transient) 18:2 trans-11,cis-15 (transient) 18:1 trans (50 %) 18: trans-11 (65% von 18:1 trans) 18:1 cis (50 %) 18:1 cis-11 (95 % von18:1 cis)	18:2 cis-9,trans-11 (transient) 18:1 trans (50 %) 18:1 trans-11 (95 % von 18:1 trans)	Nicht hydrogeniert	KEMP et al. 1975
1A	R 8/3 gram-neg. Stäbchen	18:2 trans-11,cis-15 (100 %)	18:1trans-11 (96 %)	Nicht hydrogeniert	HAZLEWOOD et al. 1976
1A	LM 8/1A; LM8/1B gram-neg. Stäbchen	18:2 trans-11,cis-15 (100 %)	18:1trans-11 (100 %)	Nicht hydrogeniert	HAZLEWOOD et al. 1976
1A	2/7/2	18:2 trans-11,cis-15 (100 %)	18:1 trans-11 (75 %) 18:2 cis-9,cis-12 (25 % sind unverändert)	—	HAZLEWOOD et al. 1976
2A	EC 7/2 gram-neg. Stäbchen	18:2 trans-11,cis-15 (70 %) 18:1 trans-11 (30 %)	18:1 trans-11 (100 %)	Nicht hydrogeniert	HAZLEWOOD et al. 1976
2A	R 7/5 gram-neg. Stäbchen	18:1 trans/cis (1:1; 95 %) trans 11 (32 %) trans 12 (15 %) trans 10 (6 %) cis 11 (44 %) cis 12 (5 %)	18:1 trans/cis (1:2; 95 %) trans 11 (4 %) trans 12 (11 %) trans 10 (8 %) cis 11 (62 %) cis 12 (5 %)	Nicht hydrogeniert	HAZLEWOOD et al. 1976
2A	2/9/1 gram-neg. Vibrionen	18:1 trans/cis (2:1; 95 %) trans 11 (41 %) trans 10 (14 %) trans 12 (12 %) cis 11 (29 %) cis 12 (4 %)	18:1 trans/cis (2,5:1; 100 %) trans 11 (46 %) trans 10 (15 %) trans 12 (12 %) cis 11 (25 %) cis 12 (5 %) 18:0 (80 %)	Nicht hydrogeniert	HAZLEWOOD et al. 1976

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.35: Fortsetzung

Gruppe *	Bakterium	Endprodukt der Hydrierung von			Autor / Jahr
		α-Linolensäure (cis-9,cis-12,cis-15- Octadecatriensäure)	Linolsäure (cis-9,cis-12-Octa- decadiensäure)	Ölsäure (cis-9-Octa- decensäure)	
3B	Fusocillus babra- hamenis P 2/2	18:3 cis-9,trans-11, cis-15, transient 18:2 trans-11,cis-15 (15 %) 18:1 cis-15 (85 %)	18:2 cis-9,trans-11 transient 18:1 trans-11 (70 %) 18:0 (30 %)	18:0 (80 %) 18:0 hydroxiert (20 %)	WHITE et al. 1970; KEMP et al. 1975; HAZLEWOO D et al. 1976
3B	Fusocillus T 344	18:3 cis-9,trans-11, cis-15, transient 18:2 cis-9,trans-11, transient 18:1 cis-15 (85 %)	18:2 cis-9,trans-11 transient 18:1 trans-11 (65 %) 18:0 (35 %)	18:1 trans- 11 (5 %) 18:1 cis-9 (5 %) 18:0 (90 %)	KEMP et al. 1975; HAZLEWOO D et al. 1976
3B	R 8/5 gram-neg. Stäbchen	18:2 trans-11,cis-15 (25 %) 18:1 cis-15 (50 %) 18:1 trans-15 (25 %)	18:1 trans-11 (50 %) 18:0 (40 %)	18:1 cis-9 (60 %) 18:0 hydrogeniert (40 %)	HAZLEWOO D et al. 1976

— keine Angaben; * s. 2.6.1.1

Aus der Tab. 2.35 geht hervor, daß bisher nur drei Isolate der Gruppe B bekannt sind, die Ölsäure zu Stearinsäure hydrieren, davon werden zwei der Spezies *Fusocillus* zugeordnet, ein weiteres gram-negatives Stäbchen (R 8/5) wurde noch nicht weiter benannt.

2.6.1.6.2 Protozoaler Einfluß auf die Hydrierung

Den Nachweis einer Protozoen-Beteiligung an der Hydrogenierung lieferte bereits WRIGHT (1959), später wurde dann der Einfluß von holotrichen- (GUTIERREZ et al. 1962; WILLIAMS et al. 1963) bzw. oligotrichen Protozoen beschrieben (CHALUPA u. KUTCHES 1968), wobei sich die Hydrierungsfähigkeit der einzelnen Gattungen sehr stark unterscheidet (ABAZA et al. 1975).

In defauniertem Pansensaft verringerte sich die Hydrierungsrate kaum, so daß auf eine zweitrangige Bedeutung der Protozoen an der Hydrogenierung (DAWSON u. KEMP 1969; VIVIANI 1970; HARFOOT et al. 1973 a) geschlossen wurde.

Beim Vergleich der einzelnen protozoalen Fettsäurebestandteile zueinander (s. a. Kap. 2.4.3.2) und bakteriellen Fettsäuren (s. Kap. 2.4.3.1) fällt ein niedriger protozoaler Stearinsäuregehalt (nur etwa 10 %) auf, was ebenfalls darauf hinweist, daß Protozoen nur eine untergeordnete Rolle an der Hydrogenierung spielen.

2.6.1.7 Fütterungseinflüsse auf die Hydrierung

Die Rationszusammensetzung zeigt z. T. deutliche Einflüsse auf die Hydrogenierung. So ist sie bei kraftfutterreichen Rationen in vivo niedriger als bei rauhfutterreichen. Auch der Anteil der Zwischenstufen steigt besonders bei kraftfutterreichen Rationen an (VIVIANI et al. 1967 a, b, c; SUTTON et al. 1970). Bei in-vitro-Versuchen wurden signifikant niedrigere Hydrierungsraten festgestellt, wenn in Futterrationen Rohfaseranteile vermindert- und gleichzeitig Stärkeanteile erhöht wurden (VIVIANI et al. 1967 c; GERSON et al. 1985), deshalb geht man heute davon aus, daß cellulolytische Bakterien mit zur Hydrogenierung befähigten Bakterien übereinstimmen (HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997).

Zu gleichen Ergebnissen führten auch in-vitro-Versuche mit energiereichen Diäten (TOVE u. MATRONE 1962; PAYNE 1974), die mit einer Verminderung der für die Hydrierung verantwortlichen Bakterienstämme (v. a. Bv. *fibrisolvens*) erklärt werden (LATHAM et al. 1972). Keine Veränderungen beobachteten GERSON et al. (1985). Mahlen oder Pelletieren von Futter (Gras) führt ebenso zu drastischen Konzentrationsabnahmen von Bv. *fibrisolvens* im Pansen (THORLEY et al. 1968).

Rohfaserarme Futter bewirken auch eine verringerte Biohydrogenierung (und Lipolyse). Dieses führt wiederum zur Zunahme der ungesättigten FS in Milch (LATHAM et al. 1972) und Fettgewebe (LEAT 1977).

GERSON et al. (1982) beobachteten bei Futterrationen mit konstanten Gehalten an verdaulichem Material sehr große Unterschiede hinsichtlich der Konzentrationen ungesättigter FS bei Zulage unterschiedlich großer Stickstoffmengen: Zeigte der Stickstoffgehalt des Futters Werte zwischen 1,1 % u. 1,4 %, lag der Anteil der ungesättigten FS zu den veresterten FS zwischen 70 und 80 %, war der Anteil des Futterstickstoffes höher (3,4 %) oder niedriger (0,5 %), betrug der Anteil der ungesättigten FS nur ungefähr 20 - 30 % der veresterten FS.

In weiteren in-vitro-Versuchen wurden ansteigende Stickstoffgehalte bei erhöhten Hydrogenierungsraten von Triolein und Ölsäure nachgewiesen (GERSON et al. 1983).

Weiterhin wurde vermutet, daß hohe Gaben von Futterölen die Hydrierungssysteme "überladen". So wurden nach Maisözulagen Steigerungen der Stearinsäurekonzentration beobachtet, während Linolsäuregaben den Anteil der Ölsäure (unvollständige Hydrierung) begünstigten (NOBLE et al. 1969). Es wurde eine Substrathemmung durch Linolsäure-Infusion angenommen.

Diese Aussagen stimmen mit Ergebnissen von HAGEMEISTER u. KAUFMANN (1979 c) und HAGEMEISTER (1990) überein, die bei in-vivo-Versuchen eine Hydrogenierungsrate von 76 % für Linolsäure feststellten. Diese konnte durch Zugaben von Sojaöl sogar auf über 90 % gesteigert werden, während die Summe der ungesättigten FS (Linolen-, Linol-, Ölsäure) nur eine Hydrogenierungsrate von 50 - 70 % aufwies.

2.7 Weitere Lipidtransformationen

Während die Hydrogenierung der ungesättigten FS im Pansen intensiv untersucht wurde, ist über weitere Lipidtransformationen im Pansen kaum etwas bekannt.

PAYNE (1974) beobachtete die Produktion von 10-Hydroxystearinsäure während der Pansensaftinkubation mit Ölsäure. Es gab aber weder einen Hinweis auf einen möglichen Entstehungsort, noch eine Synthesebeteiligung von Pansenmikroorganismen an dieser Säure. Etwas später wurde bekannt, daß Pansenbakterien wie *Selenomonas ruminantium*, *Enterococcus faecalis* und *Fusocillus babrahamensis* (P2/2) Ölsäure in 10-Hydroxystearinsäure umwandeln, nicht bekannt ist jedoch, wie dieses geschieht (KEMP et al. 1975; HAZLEWOOD et al. 1976; HUDSON et al. 1996). Das Vorkommen von Hydroxysäuren in holotrichen Protozoen wurde ebenfalls beschrieben (KATZ u. KEENEY 1967).

Weiterhin gibt es Hinweise auf einen menschlichen Stamm von *E. faecalis*, der Ölsäure in Hydroxystearinsäure umwandelt (THOMAS 1972). Bedeutung und Wichtigkeit dieses Vorgangs in Pansen und Darm sind z. Z. aber noch unbekannt.

2.8 Synthese langkettiger Fettsäuren

Die de-novo-Synthese langkettiger FS durch Bakterien und Protozoen stellt einen weiteren Prozeß im Lipidmetabolismus des Pansens dar. So werden alle langkettigen gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren (gerad- oder verzweigt-kettige) von den Pansenmikroben synthetisiert (ALLISON et al. 1962; KEENEY et al. 1962; TWEEDIE et al. 1966; PATTON et al. 1968, 1970; KEENEY 1970; KANEGASAKI u. NUMA 1970; DEMEYER 1973; EMMANUEL 1974; MOORE u. CHRISTIE 1984).

Die nachgewiesenen Linol- und Linolensäurekonzentrationen in bakteriellen und protozoalen Lipiden werden hingegen auf Inkorporationen bzw. Verunreinigungen zurückgeführt (ERWIN et al. 1963; GARTON 1965, 1967; vgl. a. Kap. 2.4.3.1 und 2.4.3.2).

Man geht deshalb von einer fehlenden Synthese mehrfach ungesättigter FS durch Pansenbakterien und -protozoen aus (CUNNINGHAM u. LOOSLI 1954; KATES 1966; HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997), obwohl von anderen Autoren das Vorhandensein mehrfach ungesättigter FS in gemischten Pansenbakterien (KEENEY et al. 1962; HANSEN 1966 b; KATZ u. KEENEY 1966 b; TWEEDIE et al. 1966; HAGEMEISTER u. KAUFMANN 1979 a, b) und auch in Pansenprotozoen (KATZ u. KEENEY 1967) beschrieben worden ist. EMMANUEL (1974) geht davon aus, daß die mehrfach ungesättigten FS der Pansenprotozoen pflanzlicher Herkunft sind und somit aus der Nahrung stammen.

Nachweise, daß Mikroorganismen in der Lage sind langkettige Fettsäuren aufzunehmen und in ihre Strukturlipide (z. B. Membranlipide) einzubauen, erbrachten HAWKE (1971) für Bakterien und GUTIERREZ et al. (1962) bzw. EMMANUEL (1974) für Protozoen. Es muß angenommen werden, daß auch die einfach ungesättigten Fettsäuren (z. B. Ölsäure) in mikrobiellen Lipiden aus den Futterfetten stammen (HARFOOT 1978; BAUCHART u. LEGAY-CARMIER 1988; BAUCHART et al. 1990).

HARFOOT (1981) wies in diesem Zusammenhang darauf hin, daß die für die Synthese ungesättigter Fettsäuren benötigten Desaturaseenzyme aerob arbeiten und so im anaeroben Pansenmilieu nur eine sehr geringe Synthese erwartet werden kann. PATTON et al. (1970) und SKLAN et al. (1971, 1972) konnten allerdings erhebliche Anteile eines ^{14}C -markierten Substrats (Acetat, Glukose) in C18:1- und C18:2 Fraktionen nachweisen (strikt anaerobe Verhältnisse konnten in diesen Versuchen jedoch nicht sichergestellt werden).

2.8.1 Synthese einfacher Lipide

Die Zelllipide der Pansenmikroorganismen werden generell entweder durch die de-novo-Synthese oder durch direkte Inkorporation von Vorläufermolekülen (CoA-aktivierte FS) mit anschließender Synthese erzeugt. Die Synthese richtet sich dabei nach dem verfügbaren Substrat. Als Bausteine dienen in erster Linie die im Pansen vorhandenen flüchtigen Fettsäuren (EMMANUEL 1974) bzw. verzweigtkettigen (vzw.) Vorläufer (z. B. aus dem Metabolismus der verzweigtkettigen Aminosäuren; GARTON 1977). Bei bakteriellen Lipiden wurden die hohen Anteile ungeradzahlig- bzw. vzw. Fettsäuren mit Hilfe markierter Vorstufen (Propionsäure, iso-Butter-, iso-Valeriansäure) zurückverfolgt (LEWIS u. HILL 1983; WU u. PALMQUIST 1991).

Die Synthese gesättigter Fettsäuren bis zum Palmitat geschieht durch Aneinanderreihung kurzkettiger FS. Zu Synthesebeginn wird ein Molekül Acetyl-CoA in Malonyl-CoA carboxyliert, die eigentliche Verlängerungsphase beginnt dann mit der Bildung von Acetyl-ACP und Malonyl-ACP durch entsprechende Acetyl- und Malonyltransacylasen (s. Tab. 2.36). Im weiteren Verlauf schließen sich eine Kondensation, eine 1. Reduktion, eine Dehydratisierung und eine 2. Reduktion an, die zur Bildung von Butyryl-ACP führen (s. Tab. 2.36).

Dieses bildet dann wieder den Ausgangspunkt für eine weitere Verlängerung um zwei C-Atome. Das entstehende Produkt (C6- β -Ketoacyl-ACP) wird nachfolgend durch dieselbe Schrittabfolge (5 Durchläufe) verlängert bis das C16- β -Acyl-ACP entsteht, welches dann zu Palmitat und ACP hydrolysiert wird.

Tab. 2.36: Grundreaktionen der Fettsäuresynthese in Bakterien (STRYER 1996)

Schritt	Reaktion	Enzym
1	$\text{Acetyl-CoA} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \rightarrow \text{Malonyl-CoA} + \text{ADP} + \text{P}_i + \text{H}^+$	Acetyl-CoA Carboxylase
2	$\text{Acetyl-CoA} + \text{ACP} \leftrightarrow \text{Acetyl-ACP} + \text{CoA}$	Acetyl-Transacylase
3	$\text{Malonyl-CoA} + \text{ACP} \leftrightarrow \text{Malonyl-ACP} + \text{CoA}$	Malonyl-Transacylase
4	$\text{Acetyl-ACP} + \text{Malonyl-ACP} \leftrightarrow \text{Acetoacetyl-ACP} + \text{ACP} + \text{CO}_2$	Acyl-Malonyl-ACP-kondensierendes Enzym
5	$\text{Acetoacetyl-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \leftrightarrow \text{D-3-Hydroxybutyryl-ACP} + \text{NADP}^+$	β -Ketoacyl-ACP-Reduktase
6	$\text{D-3-Hydroxybutyryl-ACP} \leftrightarrow \text{Crotonyl-ACP} + \text{H}_2\text{O}$	3-Hydroxyacyl-ACP-Dehydratase
7	$\text{Crotonyl-ACP} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{Butyryl-ACP} + \text{NADP}^+$	Enoyl-ACP-Reduktase

ACP = Acyl-Carrier-Protein

Für die Synthese der einfach ungesättigten FS gibt es grundsätzlich einen anaeroben und einen aeroben Weg. Der anaerobe Weg wird nur von einigen Bakterien (obligat oder fakultativ, z. B. E. coli) besprochen, während der aerobe bei den meisten übrigen Organismen (aerobe Bakterien, Eukaryonten) nachweisbar ist.

Der anaerobe Weg der Monoensäurebildung beginnt wie die Synthese der gesättigten FS mit dem Unterschied, daß bei einer bestimmten Kettenlänge die 2-trans-Enoyl-Verbindung (entspricht dem Produkt der 6. Reaktion Tab. 2.36) zur 3-cis-Verbindung isomerisiert wird. Diese Verbindung stellt kein Substrat für die Enoyl-ACP-Reduktase dar, kann aber nach dem oben genannten Schema kettenverlängert werden (Tab. 2.36). Auf diese Weise können dann z. B. Palmitoleyl-ACP oder cis-Vaccenyl-ACP entstehen, die entsprechend zu Palmitoleat oder cis-Vaccenat hydrolysiert werden.

Die Einführung der Doppelbindung erfolgt bei allen Eubakterien und Pseudomonaden auf der Stufe von C8, C10 oder C12. Die daraus resultierenden Fettsäuren sind in Abb. 2.8 dargestellt.

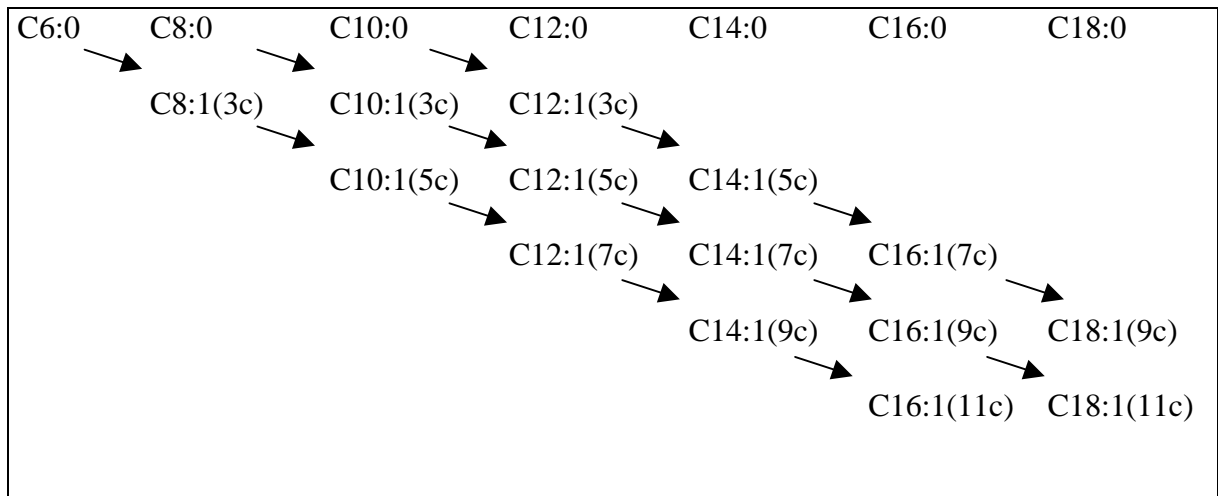


Abb. 2.8: Anaerober Weg der Biosynthese von Monoensäuren bei Eubakterien und Pseudomonaden [Angaben in Klammern geben Ort der Doppelbindung und Konfiguration (c = cis) an; THIELE 1979]

Beim aeroben (oxidativen) Weg wird die Doppelbindung direkt in eine präformierte langkettige FS eingeführt (Desaturierung). Dazu werden molekularer Sauerstoff und NADH (oder NADPH) benötigt. Der Weg zeigt eine Spezifität hinsichtlich der Stellung und Konfiguration der eingeführten Doppelbindung auf, die meisten der so gebildeten Monoensäuren enthalten eine cis- Δ^9 -Doppelbindung. Diese Reaktion wird von einem Komplex aus drei membrangebundenen Enzymen katalysiert: der NADH-Cytochrom- b_5 -Reduktase, dem Cytochrom b_5 und einer Desaturase (s. Abb. 2.9)

Man geht heute davon aus, daß die aerobe Monoensäuresynthese nur eine untergeordnete (vgl. a. Kap. 2.8) Rolle im Pansen spielt (HARFOOT u. HAZLEWOOD 1997).

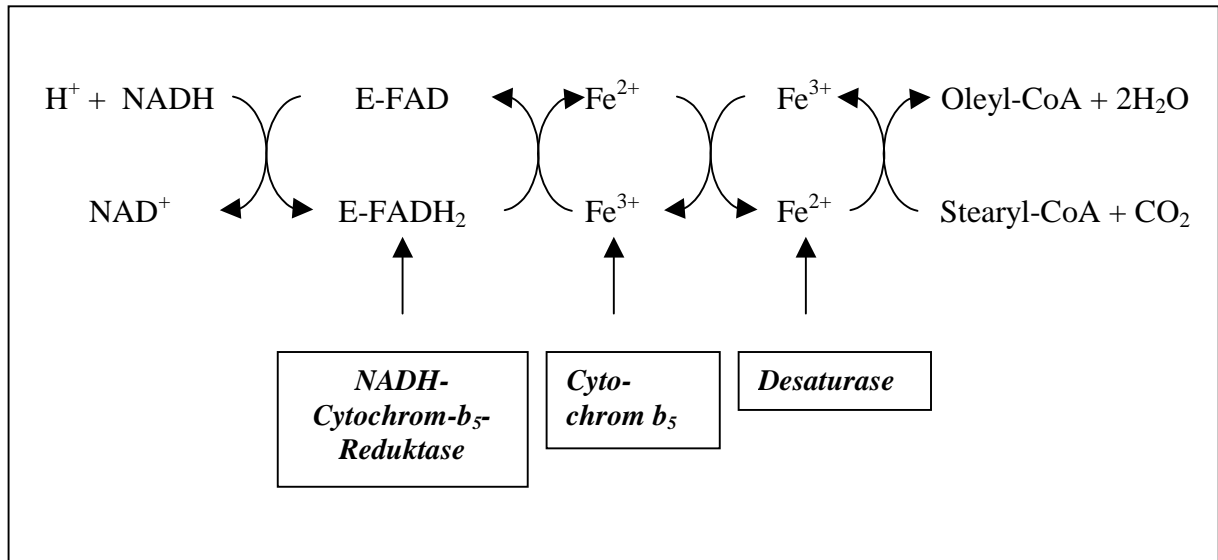


Abb. 2.9: Enzymatische Darstellung der aeroben Synthese von Monoensäuren
[Elektronentransportkette bei der Einführung von Doppelbindungen in Fettsäuren
(STRYER 1996)]

Über weitere Vorstufen bzw. Startermoleküle (außer Acetyl-CoA), die aus dem Stoffwechsel stammen, wurden Untersuchungen an gemischten und einzelnen Pansenbakterienstämmen sowie – protozoen vorgenommen (s. Tab. 2.37).

Tab. 2.37: Einfluß der Art des Startermoleküls auf die entstehenden Fettsäuren und Aldehyde

Startermolekül	Synthetisierte FS	Pansen-organismen	Autor / Jahr
Isobutyryl-CoA	Iso-C14 u. C16 vzw. FS und Aldehyde (innerhalb der Glycerophospholipidfraktion)	Ruminococcus albus	ALLISON et al. 1962
	Iso-C14 u. C16 vzw. FS	Borrelia A-10	WEGNER 1962
	Iso-C14 u. C16 vzw. FS und Aldehyde (innerhalb der Glycerophospholipidfraktion)	Fibrobacter succinogenes	WEGNER u. FOSTER 1963
	C14 u. C16 vzw. ges. FS	Gemischte Pansenflora	TWEEDIE et al. 1966

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.37: Fortsetzung

Startermolekül	Synthetisierte FS	Pansen-organismen	Autor / Jahr
n-Valeryl-CoA	n-C15 u. n-C17 ges. FS	Borrelia A-10	WEGNER 1962
	n-C13 u. n-C15 ges. FS und Aldehyde	Fibrobacter succinogenes	WEGNER u. FOSTER 1963
	Octadecensäure	Panseninhalt	HIDIROGLOU u. LEPAGE 1967
	n-C13, n-C15 u. n-C17 ges. FS (innerhalb der Glycerophospholipidfraktion)	Selenomonas ruminantium	KANEGASAKI u. TAKAHASHI 1968
Isovaleryl-CoA	iso-C15 u. iso-C17 vzw. FS; iso-C15 vzw. Aldehyde (innerhalb der Glycerophospholipidfraktion)	Rumino-coccus flavefaciens	ALLISON et al. 1962
n-Caproyl-CoA	C14 u. C16 ges. FS	Fibrobacter succinogenes	WEGNER 1962
	C12, C14 u. C16 ges. FS	Selenomonas ruminantium	KANEGASAKI u. TAKAHASHI 1968
DL-Valin	vzw. u. geradkettige FS mit gerader C-Atom-Zahl	Gemischte Pansenflora	TWEEDIE et al. 1966
Natriumacetat	C16:0, C16:1 u. C18:0	gemischte Pansenmikroorganismen	PATTON et al. 1968, 1970
Glucose	C10:0, C14:0 u. C18:1		
Isoleucin (über Propionyl-CoA)	41 % vzw. C15 u. C17; Rest geradkettige, geradzahlige FS	gemischte Protozoensuspensionen	EMMANUEL 1974
Acetyl-CoA Propionyl-CoA Butyryl-CoA	Acetyl- u. Malonyl-CoA leicht inkorporierbar. Aus Actyl-, Butyryl-, Malonyl-CoA vorwiegend C16:0; Propionyl-CoA vorwiegend in geradkettige, ungeradzahlige FS (C15 u. C17)		
Malonyl-CoA → Kettenverlängerung			

Anaerobe Pansenpilze wie *Piromonas communis* und *Neocallimastix frontalis* sind ebenfalls in der Lage, langkettige FS de novo zu synthetisieren und eine Reihe vorgeformter FS in die Membranlipide einzubauen (KEMP et al. 1984 c; BODY u. BAUCHOP 1985). Offensichtlich betreiben diese Pilze auf einem neuen anaeroben Weg eine Biosynthese von Monoensäuren analog zu dem bereits bekannten Syntheseweg der Bakterien (KEMP et al. 1984 c).

2.8.2 Synthese komplexer Lipide

Studien, die mit radioaktiv-markierten Substraten und gemischten Pansenmikroorganismen durchgeführt wurden, liefern Beweise für eine de-novo-Synthese von Phospholipiden im Pansen. Bis heute konnten jedoch nur einige Syntheseschritte und -produkte bestimmten Pansenmikroorganismen zugeordnet werden (s. Tab. 2.38). Die de-novo-Phospholipid-synthese der Bakterien beginnt mit der Aktivierung der Phosphatidsäure (s. Abb. 2.10), die in Gegenwart eines mikrosomalen Enzyms, Mg^{2+} und Cytidintriphosphat (CTP) abläuft. Dabei entstehen Cytidindiphosphatdiacylglycerin (CDP-Diacylglycerin → aktivierte Phosphatidsäure) und Diphosphat (PP_i). CDP-Diacylglycerin ist der Vorläufer für die Bildung folgender Glycerinphosphatide: PI, PS, PG und DPG. Der sich anschließende Phosphatidyltransfer auf den Alkohol erfolgt unter Abspaltung von CMP. Nur bei der Bildung von PG wird nicht der freie Alkohol, sondern sn-Glycerin-3-phosphat zur Phosphatidyltransferase-Reaktion benötigt.

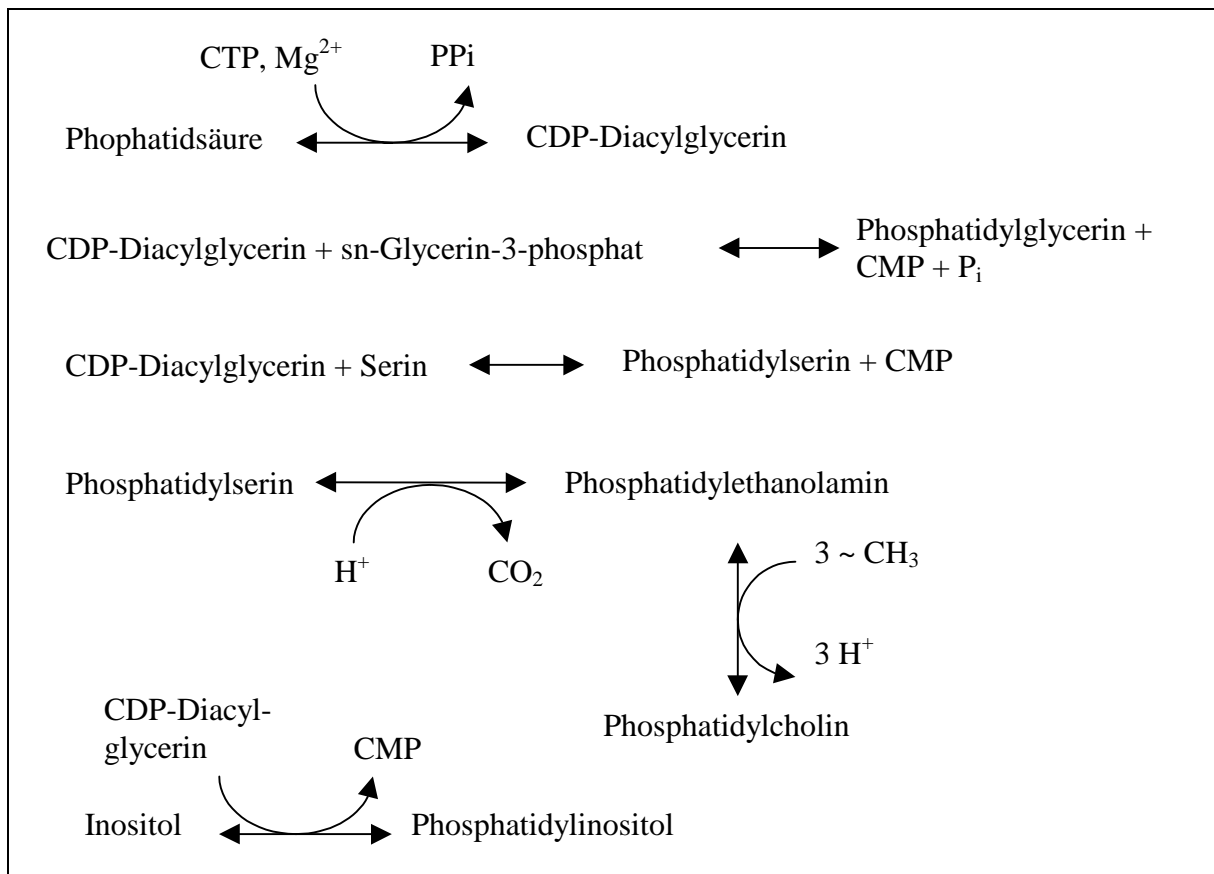


Abb. 2.10: Biosyntheseschritte von verschiedenen Phospholipiden in Bakterien (Nachweis in *E. coli*; THIELE 1979; SILBER et al. 1981; STRYER 1996)

Phosphatidylcholin (PC) wird hauptsächlich von Pansenprotozoen synthetisiert, in Bakterien gar nicht oder nur in geringen Mengen (HARFOOT 1981; vgl. a. Kap. 2.4.3), die Synthesewege unterscheiden sich aber deutlich. Während PC in den Bakterien aus PE durch dreimalige Methylierung gebildet wird (s. Abb. 2.9), werden PC und PE in den Protozoen wie

bei den Säugetieren aus Cholin und Ethanolamin, welches aus der Nahrung stammt, synthetisiert (BROAD u. DAWSON 1975, 1976; STRYER 1996; s. Abb. 2.11).

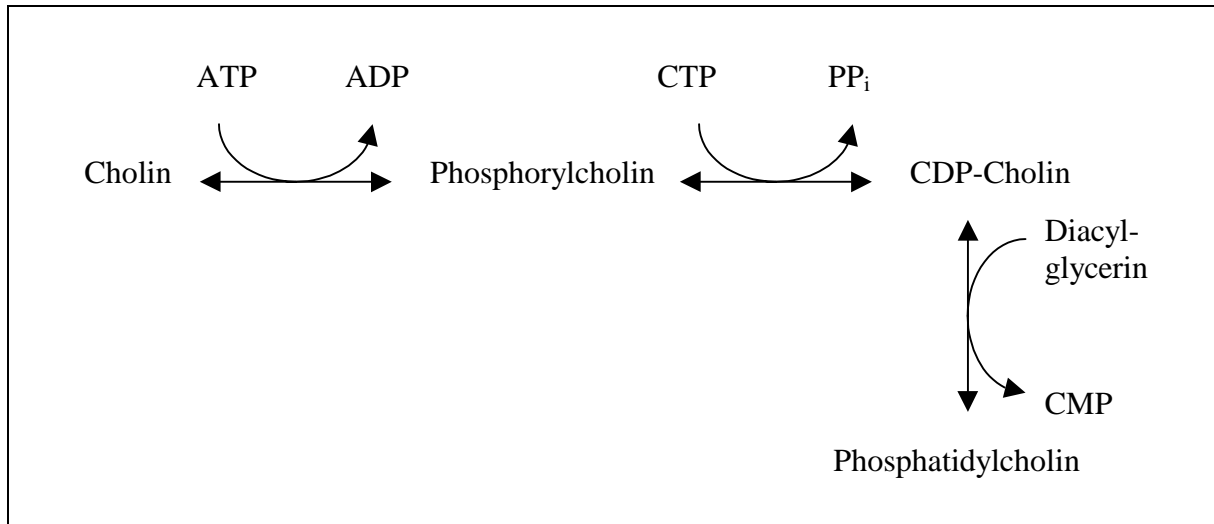


Abb. 2.11: Biosynthese von Phosphatidylcholin in Protozoen (gilt entsprechend für Phosphatidylethanolamin; BROAD u. DAWSON 1975, 1976; STRYER 1996)

Tab. 2.38: Synthese komplexer Lipide durch Pansenmikroorganismen

Substrate	Produkte	Pansenmikroorganismen	Autor / Jahr
geradkettige-, gesättigte-, kurzkettige FS	Einbau in hydrophobe Anteile der Phospholipide (PE, PS, Plasmalogen und Analoga)	<i>S. ruminantium</i> subsp. <i>lactilytica</i>	KANEGASAKI u. TAKAHASHI 1967; WATANABE et al. 1982
CDP-Diacylglycerin + l-Serin PS PS-Plasmalogen	→ PS → PE → PE-Plasmalogen (Syntheserate für PE schneller als für entspr. PE-Plasmalogen)	<i>S. ruminantium</i> subsp. <i>lactilytica</i>	WATANABE et al. 1984

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.38: Fortsetzung

Substrate	Produkte	Pansenmikroorganismen	Autor / Jahr
PS PS-Plasmalogen	→ PE → PE-Plasmalogen	<i>M. elsdenii</i>	PRINS et al. 1974
CDP-Diacylglycerin + l-Serin PS	→ PS (diacyl- Form) → PE (nur sehr geringe Umsetzungsrate)	<i>M. elsdenii</i> <i>Veillonella parvula</i> (in vitro)	SILBER et al. 1981
CDP-Diacylglycerin + sn-Glycerin-3-Phosphat CDP-Diacylglycerin + l-Serin	→ PG, Phosphatidylglycerinphosphat und Cardiolipin → PS	<i>Desulfovibrio vulgaris</i> (in vitro)	SILBER et al. 1981
¹⁴ C-Palmitinsäure	schnelle Inkorporation in PG	<i>Butyrivibrio S2</i>	HAZLEWOOD u. DAWSON 1979
Cholin (vgl. Abb. 2.11), Ethanolamin	→ PC → PE	<i>E. caudatum</i> (nur Syntheseweg wie in Abb. 2.10 dargestellt, nachgewiesen)	BROAD u. DAWSON 1975, 1976; BYGRAVE u. DAWSON 1976
PS PE	→ PE (durch Decarboxylierung wie bei den Bakterien; vgl. Abb. 2.10) → PC (durch Methylierung wie bei den Bakterien, vgl. Abb. 2.10)	<i>Piromonas communis</i>	KEMP et al. 1984 c*

* (Ergebnisse müssen mit Vorsicht interpretiert werden, da die jeweiligen Vorstufen (PS; PE) nur geringgradig inkorporiert wurden)

2.8.3 Fütterungseinflüsse und Biosyntheserate

Die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse zur mikrobiellen Fettsäuresynthese weichen z. T. deutlich voneinander ab. Ursachen für die gemessenen Unterschiede liegen in den Versuchsanstellungen und den Messungen, die nicht immer unter standardisierten Bedingungen stattgefunden haben. Weiterhin muß zwischen der de-novo-Synthese und der in den Mikroorganismen enthaltenen Fettsäuremenge (durch Aufnahme und Inkorporation) unterschieden werden. Die mikrobielle de-novo-Fettsäuresynthese in den Vormägen der

Wiederkäuer ist im Vergleich zur Milchfettsynthese relativ niedrig, einen Aufschluß über die Syntheserate (in Abhängigkeit von der Fütterung) soll Tab. 2.39 geben.

Tab. 2.39: Fettsäuresyntheserate von Pansenmikroorganismen in unterschiedlichen Versuchsansätzen

Versuchsansätze	Fettsäuresyntheserate	Autor / Jahr
Messungen von Fettsäuren im Pansensaft (in vivo, Kuh)	im Mittel 29 g FS von Bakterien und 113 g von Protozoen/Kuh u. Tag	KEENEY et al. 1962
Vergleich FS-Menge in Ration und Anflutung im Darm (in vivo, Schaf)	7 g/Tier u. Tag	VIVIANI u. LENAZ 1963
verschiedene Rationen (sowohl in Konzentration als auch Menge; in vivo, Schaf)	je kg verdauter OS Zuwachs von 16 g FS bei rauhfutterreichen FM und 23 – 26 g/FS bei kraftfutterreichen Rationen	SUTTON et al. 1970
1,5 kg Futter/Tag u. FS-Aufnahme von 21 g/Tag	→ 38 g/Tag FS im Darm (Zunahme um 17 g/Tag)	
Kleereiche Ration	Anstieg der FS-Konzentration um 14 g/Tag	HOGAN 1973
Rauhfutterreiche Ration (gehäckselte bzw, gemahlene Esparsette, in vivo, Schaf)	FS-Zunahme um 7 g/Tag	OUTEN et al. 1974
Fütterung von 200 g Heu u. 400 g Konzentrat/Tag (in vivo, Schaf)	Synthese von nur 2,4 g/Tag	KNIGHT et al. 1978
Milchkühe mit Umleitungs-kanülen: FS-Aufnahme von 32 - 36 g/Tag u. Tier FS-Aufnahme von 230 - 370 g/Tag u. Tier	→ achtfacher Anstieg bis Darm → Zunahme um 20 %	SINESHCHEKOV 1968
Milchkühe mit Umleitungs-kanülen : FS-Aufnahme von 580 g/Tag u. Tier	→ Zunahme um 8 %	TAMMINGA et al. 1976

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.39: Fortsetzung

Versuchsansätze	Fettsäuresyntheserate	Autor / Jahr
Milchkühe mit Umleitungskanülen und Pansenfisteln: Bestimmung der Differenz der Fettsäuremengen im Futter und der im Darm meßbaren Konzentration (mit Markersubstanz Diaminopimelinsäure)	mikrobielle Nettosyntheserate von 30 g/Tag, plus zusätzliche Aufnahme aus dem Pansensaft durch die Mikroben → insgesamt Zufuhr von 136 g/Tag (114 g Bakterien, 22 g Protozoen)	HAGEMEISTER u. KAUFMANN 1979 a, b
rechnerische Bestimmung: ausgehend von geschätzter Effizienz der mikrobiellen Synthese von 26 g TS/MJ ME	für Milchkuh mittlerer Leistung und Energieaufnahme von 150 MJ ME ergibt sich Syntheserate von 156 g/Tag	ROHR et al. 1986; JILG et al. 1988

Eine höhere Nettosynthese bei kraftfutterreichen Rationen im Vergleich zu grundfutterreichen Futtermitteln wurde tendenziell auch durch Versuche von ISHAQUE et al. (1971), KURILOV et al. (1975) und CZERKAWSKI (1975, 1976) bestätigt, in denen festgestellt wurde, daß sowohl der Keimgehalt als auch der Lipidgehalt der Pansenbakterien bei kraftfutterreichen Rationen höher ist.

Insgesamt wird bei Milchkühen von einer geschätzten de-novo-Synthese von 8 – 10 g Fettsäuren pro kg verdauter OS (in den Vormägen) ausgegangen, was bei einer Milchkuh ungefähr 50 g/Tag entsprechen würde (TAMMINGA et al. 1976; HAGEMEISTER u. KAUFMANN 1979 a), die de-novo-Synthese spielt in quantitativer Hinsicht also nur eine untergeordnete Rolle.

2.9 Fettabsorption im Pansen

Während kurz- und mittelkettige FS (3 - 10 C-Atome) überwiegend im Pansen absorbiert werden, wird bei längerkettigen FS beginnend ab einer Kettenlänge von 14 C-Atomen von ausschließlicher Resorption im Darm ausgegangen (HAGEMEISTER et al. 1979; HAGEMEISTER u. KAUFMANN 1979 b).

Anzeichen für eine sehr geringe Fettsäureabsorption im Pansen zeigen Untersuchungen von WOOD et al. (1963), BICKERSTAFFE et al. (1972) u. GOOSEN (1975). Nach Infusionen von ¹⁴C-markierter Öl-, Linol-, und Linolensäure bzw. eines Gemisches dieser Säuren ermittelten sie eine Resorptionsrate von 0,1 bis 0,3 % (BICKERSTAFFE et al. 1972) bzw. 4 % (WOOD et al. 1963).

Eine höhere Resorptionsrate konnten HAGEMEISTER et al. (1979) für Laurin- (30 %) und Myristinsäure (4 %) nachweisen. Das Ergebnis deutet darauf hin, daß Laurinsäure die Grenze für die Resorption im Pansen darstellt.

2.10 Effekte von Lipiden auf die Pansenfermentation

Werden Futterlipidkonzentrationen von 4 % (TS) in den Wiederkäuerrationen überschritten, wird die Verdaulichkeit der übrigen Nährstoffe im Pansen nachteilig beeinflusst, mit nachfolgenden schwerwiegenden Milieuveränderungen im Pansen (JILG et al. 1988; DROCHNER u. YILDIZ 1999). Von großer Bedeutung ist, in welcher Form die Futterlipide in den Pansen gelangen, ob sie ungeschützt (d. h. direkt ihre Wirkung entfaltend) oder geschützt (d. h. den Pansen unverändert passierend) vorliegen.

Ungeschützte Lipide führen zu Verschiebungen der Bakterien- bzw. Protozoenstämmen. Sie vermindern die flüchtigen FS-Gehalte, die Methanogenese, erzeugen deutliche pH-Wert-Senkungen und verringern die scheinbare Verdaulichkeit wichtiger Nährstoffe (u.a. Rohfaser). Geschützte Lipide können durch „coaten“ (d. h. Umhüllen der Fettkerne durch eine hitzedenaturierte Proteinschicht), Herstellen kristalliner Fette oder Ca-Seifen (durch Verseifung nativer Fette) gewonnen werden bzw. liegen in Vollbohnschroten vor (aus Leguminosen, Cruciferen; bieten aber nur Teilschutz).

2.10.1 Lipidbedingte Veränderungen des mikrobiellen Milieus

Lipide greifen selektiv und nachhaltig negativ in die Entwicklung (bzw. den Stoffwechsel) der Pansenmikroorganismen ein. Die Lipidtoxizität richtet sich nach dem Sättigungsgrad der Fettsäuren. Insbesondere mehrfach ungesättigte Fettsäuren oder hohe Gehalte ungesättigter FS weisen defaunierende Eigenschaften auf (CZERKAWSKI 1973, 1975; HENDERSON 1973 b; KNIGHT et al. 1978; IKWUEGBU u. SUTTON 1982; SUTTON et al. 1983; TAMMINGA et al. 1983; HINO u. NAGATAKE 1993).

Die Hemmung der Pansenmikroben wird durch mehrere Mechanismen verursacht, einerseits wird eine Lipidumhüllung („coating-Effekt“) der Bakterien und Protozoen vermutet, die zu Verklebungen der begeißelten und bewimperten Protozoen (Beweglichkeit eingeschränkt) führt. Andererseits rufen Fettschichtauflagerungen Hemmungen im bakteriellen und protozoalen Metabolismus hervor. Vermutlich verändern ungesättigte FS die Zytoplasmamembranen der Mikroben und bewirken erhebliche Permeabilitätsveränderungen sowie direkte Hemmungen der mikrobiellen Zellsynthese (BOGGS et al. 1987).

Auch sind durch den „coating-Effekt“ Nahrungsbestandteile betroffen. Das Nahrungsfett bildet einen Film um die Fasern, erschwert so die Adhäsion der Mikroorganismen an den Futterteilchen und senkt die Aktivität bakterieller Enzyme (z. B. Cellulasen) bzw. verhindert den Durchtritt dieser Enzyme durch die Fettschicht (KOWALCZYK et al. 1977; IKWUEGBU u. SUTTON 1982; JILG et al. 1988; JENKINS 1993; DROCHNER u. YILDIZ 1999). Substitutionen der freien Carboxylgruppe durch Amide oder Gaben unlöslicher Calciumseifen reduzieren die hemmenden Effekte der ungesättigten FS deutlich (JENKINS u. PALMQUIST 1982, 1984; WU et al. 1991).

Futterlipide bewirken eine Verschiebung der Fauna zugunsten weniger fettempfindlicher, gram-negativer Bakterien. Es werden überwiegend gram-positive Bakterien wie Methanbildner und Cellulolyten nachteilig beeinflusst (HAGEMEISTER 1990). Propionatbildner werden hingegen kaum in ihrer Funktion gehemmt, sie können unter

bestimmten Bedingungen sogar gefördert werden (vgl. Kap. 2.10.2; DEMEYER et al. 1969; CZERKAWSKI 1973; HENDERSON 1973 a; MACZULAK et al. 1981; KABARA 1984; HINO u. NAGATAKE 1993; DROCHNER u. YILDIZ 1999).

Auf die Abnahme der Protozoenzahlen wird noch ausführlich im Kapitel 2.10.4 eingegangen. Längerkettige Fettsäuren zeigen toxische Eigenschaften gegenüber den Pansenmikroben. Hier werden insbesondere Ölsäure, Myristinsäure (C14:0), mehrfach ungesättigte FS und Galaktolipide (hohe Gehalte mehrfach ungesättigter FS) genannt (GALBRAITH et al. 1971; HENDERSON 1973 b; PALMQUIST u. JENKINS 1980; CHALUPA et al. 1984; HINO u. NAGATAKE 1993).

Nach Gaben von Safloröl (200 mg/l PAS) war zunächst das Bakterienwachstum reduziert. Nach einer Applikation von 10 mg/l β -Carotin wurde diese Hemmung teilweise aufgehoben (HINO u. NAGATAKE 1993).

2.10.2 Einflüsse auf die FIFS-Gehalte

Durch Lipidzulagen in den Futterationen können sowohl Gesamtkonzentration als auch relative Anteile flüchtiger FS im Pansen erheblich beeinflußt werden.

Der Fettgehalt der Ration korreliert negativ mit dem C2/C3-Verhältnis, obwohl bei Betrachtung der Regression z. T. sehr große Streuungen (bis 100 %) auftraten (JILG et al. 1988). Es muß also deutlich zwischen der Einflußnahme gesättigter und ungesättigter sowie geschützter und ungeschützter Futterlipide unterschieden werden, eine Verallgemeinerung der Effekte sollte vermieden werden.

Verschiebungen der Konzentrationen flüchtiger FS, insbesondere das Verhältnis von Essig- zur Propionsäure, wurden vielfach untersucht (s. Tab. 2.40). Die Verengung des C2/C3-Verhältnisses kann durch eine erhöhte Propionsäure- oder geringere Acetatbildung bzw. eine Veränderung beider Parameter hervorgerufen werden.

Eine Hemmung der Methanobakterien durch ungesättigte FS kann nach DEMEYER (1973) dazuführen, daß die Propionsäurebildung zunimmt. Der durch den verminderten Verbrauch gebildete Protonenüberschuß (d. h. der bei einer Depression der Methanogenese nicht benötigte Wasserstoff) wird dabei durch die Propionsäuresynthese verbraucht.

Tab. 2.40: Versuche zum Einfluß verschiedener Fettzulagen zu Futterrationen auf die Produkte der Pansenfermentation (C2/C3-Verhältnis)

Fettzulage	Einfluß auf Parameter	Autor / Jahr
Ungeschützte Fette, hohe Anteile mehrfach ungesättigter FS	deutlich verengtes C2/C3 Verhältnis	ROHR u. OKUBO 1968; MATTOS u. PALMQUIST 1974; ROHR et al. 1978; McGUFFEY u. SCHINGOETHE 1980, 1982; SELNER u. SCHULTZ 1980; IKWUEGBU u. SUTTON 1982; SUTTON et al. 1983; CHALUPA et al. 1986
Zulage von Sojaöl an Milchkühe	deutlich verengtes C2/C3 Verhältnis → hohe Propionsäurezunahme bei geringer Abnahme der Essigsäurekonz.	LEBZIEN 1980 a, b
Fütterung verschiedener Arten hydrolysierter Fette (hohe Anteile langkettiger, einfach ungesättigter FS)	keine signifikante Beeinträchtigung des C2/C3-Verhältnisses, günstige Wirkung des hydrolysierten Fettes auf Pansenfermentation durch hohe Schmelzpunkte	PALMQUIST u. CONRAD 1980; SELNER u. SCHULTZ 1980; TAMMINGA et al. 1983; CHALUPA et al. 1984, 1986
Zulage von Ca zu fettreichen Rationen, bzw. Verabreichung von Fetten in Form von Ca-Seifen	keine Veränderung des C2/C3-Verhältnisses	DRACKLEY et al. 1985; FINN et al. 1985
Supplementierung von Leinöl u. Kokosöl (40 g/Tag, in vivo, Schaf)	kein signifikanter Effekt auf Gesamtkonzentration, jedoch signifikant geringere Essig- und höhere Propionsäureanteile (bis 100 %)	SUTTON et al. 1983
Zulage von Sonnenblumensaatöl von 3,1 % und 6,6 % (in vivo, Ochse)	Verhältnis Essigsäure : Propionsäure konstant	DRACKLEY et al. 1985
Zulage von Sonnenblumensaatöl von 3,1 % und 6,6 % (in vivo, Kühe)	Verhältnis Essigsäure : Propionsäure konstant, Gesamtkonzentration nimmt um 15 % ab	FINN et al. 1985

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.40: Fortsetzung

Fettzulage	Einfluß auf Parameter	Autor / Jahr
Verfütterung von Sojaöl und Sojabohnen	weites Essig-Propionsäure-Verhältnis; Gruppe Sojaöl = 3,6 Gruppe Sojabohnen = 4,3; Unterschiede durch langsamere Freisetzung des Fettes aus der zellgebundenen Form der Ölsaaten	AIPLE 1987
zunehmende Mengen an Talg und Sojaöl	molare Anteile der Essigsäure nahmen zugunsten der Propionsäure ab	KOWALCZYK et al. 1977; ROHR et al. 1978; BOGGS et al. 1987 ; LEBZIEN 1980 a, b; PALMQUIST u. CONRAD 1978
<u>Gruppe 1</u> : Talgzulage von 20 % in Form von Ca-Seifen; <u>Gruppe 2</u> : Talgzulage (20 %) ohne Ca (in vitro)	3-fache Erweiterung C2/C3-Verhältnisses im Vergleich zur Gruppe „Talg ohne Ca-Zulage“	CHALUPA et al. 1984
<u>Gruppe 1</u> : Zusatz pflanzlicher Fette in Form von Ca-Seifen (80 % ungesättigte FS); <u>Gruppe 2</u> : Zusatz von Talg u. Ca-Seifen (30 % ungesättigte FS) (in vivo)	keine Beeinträchtigung des C2/C3-Verhältnisses, d.h. günstige Wirkung der Ca-Zulagen durch Bildung unlöslicher Seifen; zunehmende Anteile langkettig-gesättigter FS in der Ration führen zu verstärkter Bildung unlöslicher Seifen	JENKINS u. PALMQUIST 1982, 1984; CHALUPA et al. 1984; CHALUPA et al. 1986; JENKINS 1987

Wie aus der Tabelle 2.40 zu ersehen ist, können Veränderungen des C2/C3-Verhältnisses durch Gabe von Ölsaaten, Ummantelung der Fette mit formaldehyd-behandeltem Protein oder Verabreichung von Ca bzw. Ca-Seifen vermindert oder aufgehoben werden. Zulagen von Talg und Fetten, die durch ein höher gesättigtes FS-Spektrum gekennzeichnet sind, weisen höhere Schmelzpunkte auf und zeigen nur geringe oder gar keine Auswirkungen auf das C2/C3-Verhältnis.

2.10.3 Einfluß längerkettiger Fettsäuren auf den Ammoniakgehalt

In Versuchen wurden bei zunehmender Fettzulage sinkende Ammoniakgehalte im Pansen festgestellt (s. Tab. 2.41). Im Unterschied dazu fanden DRACKLEY et al. (1985) und FINN et al. (1985) bei Verfütterung von Sonnenblumenkernöl höhere NH₃-Konzentrationen, was auf eine bessere Abbaubarkeit des Sonnenblumenproteins zurückgeführt wurde.

2.10.4 Einfluß auf Protozoenzahl und mikrobielle Proteinsynthese (MPS)

Deutlich defaunierende Wirkungen von Futterlipiden im Pansen ergaben Untersuchungen von IKWUEGBU u. SUTTON (1982), die je nach Leinölszulagen unterschiedlich stark ausfielen (s. Tab. 2.41). Umgekehrt proportional verhielt sich in diesem Versuch die Effizienz der MPS zur Protozoenzahl. Bei einer Zulage von 26 ml Leinöl/Tag wurden stark reduzierte Protozoengehalte gemessen, gleichzeitig war bei dieser Konzentration die MPS am stärksten. Wurden die Fettmengen weiter erhöht, gingen sowohl die Protozoengehalte als auch die MPS zurück. Als Erklärung vermutete man bis zu einer Fettzulage von 26 ml Öl/Tag eine alleinige Eliminierung der Protozoen, bei steigenden Fettkonzentrationen (40 ml Öl/Tag) auch zusätzlich Hemmungen der Pansenbakterien und damit sinkender MPS. Die Beziehung zwischen sinkenden Protozoenzahlen und abnehmenden NH_3 -Werten bestätigen Untersuchungen von SUTTON et al. (1983) und JENKINS u. PALMQUIST (1984).

Zu gleichen Ergebnissen kamen auch VAN NEVEL u. DEMEYER (1981), die in ihren Versuchen dieselben Korrelationen feststellten. Hier ergaben sich die mikrobiellen Proteinsyntheseraten ebenfalls aus einem Zusammenspiel zwischen Defaunierung (MPS \uparrow) und toxischem Einfluß auf die Pansenbakterien (MPS \downarrow).

Tab. 2.41: Einflußnahme verschiedener Fettzulagen in Futterrationen auf Pansenparameter wie pH-Wert, NH_3 -Konzentration, MPS und Protozoenzahl

Versuch	Futterzusatz	Parameter-Einfluß	Autor / Jahr
Fütterungsversuche an Kühen mit Pansenfistel:	0,5 kg Rindertalg/Tier u. Tag	pH-Wert \downarrow ; NH_3 $\uparrow\uparrow$	ORTH et al. 1966
	1 kg Rindertalg/Tier u. Tag	pH-Wert \downarrow ; NH_3 $\uparrow\uparrow\uparrow$	
	0,5 kg Kokos- u. Palmkernfett (1:1)/Tier u. Tag	pH-Wert \downarrow ; NH_3 $\uparrow\uparrow\uparrow$	
	1 kg Kokos- u. Palmkernfett (1:1)/Tier u. Tag	pH-Wert \downarrow ; NH_3 $\uparrow\uparrow\uparrow$	
	0,4 kg Ölsäure/Tier u. Tag	pH-Wert \uparrow ; NH_3 \uparrow	
Fütterungsversuche an Schafen, Supplementierung einer Suspension aus Talg und Monostearinsäure (Gesamtfettgehalt 300g/l)	0 g	pH-Wertanstieg und NH_3 -Absinken mit zunehmender Talgkonzentration	KOWALCZYK et al. 1977
	50 g		
	100 g		
	150 g		

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 2.41: Fortsetzung

Versuch	Futtermittelzusatz	Parameter-Einfluß				Autor / Jahr
		NH ₃	pH	MPS *	Prz. **	
Fütterungsversuche an Schafen, gestaffelte Gaben von Leinöl:	0 ml / Tag	16,7	6,62	32	372	IKWUEGBU u. SUTTON 1982
	13 ml / Tag	9,3	6,35	35	211	
	26 ml / Tag	7,1	6,41	59	9	
	40 ml / Tag	6,2	6,48	34	1	
Fütterungsversuche an Bullen u. fistulierter Färsen	30 % der Gerste durch geschrotete Rapssamen ersetzt	pH-Wert ↓; NH ₃ ↑				HUHTANEN u. POUTIAINEN 1985
Fütterungsversuche an fistulierten Schafen (Heu + Zulage ***, Fettgehalt 8 %)	TS, SE, A	pH-Wert ↓↓; NH ₃ ↓↓				DRINHAUS 1987
	TS, SB, SÖ					
	T, SE, A	pH-Wert ↑; NH ₃ ↓				
	T, SB, SÖ					
Fütterungsversuche (Stiere)	1. Mais / Sojamehl	pH-Wert nimmt von Gruppe 1. bis 4. ab (pH 6,96 → 6,76) NH ₃ -Konzentration steigt von Gruppe 1. bis 4. an (5,75 → 8,92 mmol/l)				DRACKLEY et al. 1985
	2. Mais / Sojamehl + 22 % Sonnenblumenkerne					
	3. 2. + 3,5 %igem Kalk					
	4. 2. + Sonnenblumenkerne (behandelt mit 2 %igem Calciumhydroxid)					
Fütterungsversuche (Milchkühe); Gaben von 3 verschiedenen Konzentraten	1. Mais / Sojamehl	pH-Wert: 6,4 NH ₃ -Konzentration: 7,69 mmol/l				FINN et al. 1985
	2. Mais / Sojamehl + 22 % Sonnenblumenkerne	pH-Wert: 6,6 NH ₃ -Konzentration: 9,40 mmol/l				
	3. 2. + 3,5 %igem Kalk	pH-Wert: 6,5 NH ₃ -Konzentration: 10,1 mmol/l				

* MPS = mikrobielle Proteinsyntheserate (g N/kg im Pansen scheinbar verdaute OS)

** Prz. = Protozoenzahl (% 10⁴/ml)

*** TS = Trockenschnitzel, T = Tapiokamehl, SE = Sojaextraktionsschrot, A = Alicon ®, SB = Sojavollbohnen, SÖ = Sojaöl

2.10.5 Einfluß auf pH-Wert, Pufferkapazität und Methanogenese

Verschiedene Faktoren wie Futterzusammensetzung, Fütterungstechnik, Speichelproduktion und Säurebildung beeinflussen den Pansen-pH-Wert. Hinsichtlich der Art der Einflußnahme auf den pH-Wert durch die Lipide werden vor allem Lipideinflüsse auf das Wiederkauverhalten, die Speichelsekretion und das Puffersystem im allgemeinen diskutiert.

So vermutet man, daß durch das „Coaten“ der Faserbestandteile und Mikroorganismen die Faserverdauung sinkt. Infolge dessen kommt es zu einem Acetat-Rückgang und damit einer Einengung des C2/C3-Verhältnisses mit pH-Wert Senkung. Weiterhin wird diskutiert, ob durch Fette, die großflächig auf Futtermitteloberflächen aufgebracht werden, Strukturveränderungen der Faserbestandteile hervorgerufen werden können, die Futterlipide (v. a. rauhe Futtermittel) insgesamt weicher machen und dadurch die Futteraufnahmezeit, die Kauintensität und auch das Wiederkauverhalten nachhaltig verändern (DROCHNER u. YILDIZ 1999).

Andererseits wurde festgestellt, daß Futterfette den ruminalen pH-Wert nachhaltig beeinflussen können. Seine Normalisierung ist in der postprandialen Phase verzögert, wobei als Folge eine verstärkte Einengung des C2/C3-Verhältnisses infolge einer Erhöhung der Propionsäurebildung vermutet wird (DROCHNER u. YILDIZ 1999).

Speichel spielt aufgrund seines Bicarbonatgehalts eine große Rolle für pH-Änderungen. Die Speichelmenge ist dabei von der physikalischen Form bzw. Dichte des Futtermittels abhängig (ROHR 1977). Nach ORTH et al. (1966) führen Fettzulagen zur Verminderung der Speichelsekretion und zur deutlichen Senkung der Futter- und Wasseraufnahme. Die Abnahme des Speichelflusses kann deshalb mit einer verminderten Pufferkapazität im Pansen verglichen werden (ROHR u. OKUBO 1968).

Beschrieben werden Hemmungen der Methanobakterien und damit verbunden eine Zunahme der Protonen im „Pansengesamtsystem“ (s. a. Kap. 2.10.2) mit sinkenden pH-Werten. Andererseits wird überschüssiger Wasserstoff in andere Stoffwechselwege wie Hydrolyse, Hydrierung und Propionatbildung eingeschleust (DEMEYER u. HENDERICKX 1967; DEMEYER et al. 1969; DEMEYER u. VAN NEVEL 1995). Diese Reaktionen können zur Stabilisierung des pH-Wertes beitragen (DEMEYER 1973; VAN DER HONING 1979; DRACKLEY et al. 1985; JILG 1988; DEMEYER u. VAN NEVEL 1995; DROCHNER u. YILDIZ 1999).

2.11 Zusammenfassung

In der vorliegenden Übersicht wurden die heutigen Kenntnisse über den ruminalen Lipidstoffwechsel der längerkettigen Fettsäuren (> C6) dargestellt. Dabei wurden insbesondere die Wechselwirkungen der Lipide auf andere Stoffwechselforgänge im Pansen erläutert.

Über die Futtermittel werden verschiedene Lipidklassen und -mengen in den Pansen eingetragen (Grünfutter: Galakto- und Phospholipide; Kraftfutter: Triacylglycerine und freie

Fettsäuren). Das Fettsäuremuster des Wiederkäuerfutters zeichnet sich durch hohe Anteile an Linolen- (Rauhfutter) bzw. Linol- und Ölsäure (Krautfutter) aus.

Im Pansen werden Fettverbindungen in Konzentrationen von 200 – 800 mg/100 ml PAS gefunden. Dabei unterscheidet sich die Lipidzusammensetzung des Panseninhalts grundlegend von der der Futtermittel: es werden 40 – 70 % freie Fettsäuren und 20 – 30 % Glycerin- und Sphingophospholipide gefunden. Von diesen Fetten liegt der weitaus größere Teil (~ 80 %) an die Futtermittel gebunden vor, der kleinere Rest (~ 20 %) ist mit den Mikroorganismen verbunden. Weniger als 1 % liegen frei im Pansensaft vor.

Die Veränderungen in der Zusammensetzung sind auf mikrobielle Abbau- und Umbauvorgänge zurückzuführen. Zunächst werden die Futterlipide durch die Lipolyse zu freien Fettsäuren, Glycerin und weiteren Produkten abgebaut. Die entstandenen Fettsäuren werden an die Partikelphase adsorbiert, weiter hydrolysiert oder in mikrobielle Fette eingebaut.

Die Lipasen der Lipolyse stammen zum überwiegenden Teil von Bakterien, über den protozoalen Einfluß ist bisher keine verbindliche Aussage möglich. Als wichtigste Bakterienarten werden *Anaerovibrio lipolytica* und *Butyrivibrio fibrisolvens* angesehen. Die lipolytische Aktivität ist dabei nicht in allen Stämmen gleichmäßig ausgeprägt. Die Lipolyse weist in Umfang und Ablauf eine erhebliche Abhängigkeit von der Fütterung (Fettgehalt, Anteil leichtverdaulicher Kohlenhydrate) auf.

Die auf die Lipolyse folgende Biohydrierung ist an das Vorhandensein einer freien Carboxylgruppe gebunden, die während der Lipolyse entsteht. Ihre Bedeutung liegt u.a. in der Entgiftung der auf Bakterien toxisch wirkenden langkettigen, ungesättigten Fettsäuren. Die Produkte der Hydrogenierung sind – in Abhängigkeit von den beteiligten Bakteriengruppen – Stearin- und trans-11-Octadecensäure. Die Hydrogenierung erfolgt überwiegend durch cellulolytische Bakterien. Protozoen spielen bei diesem Prozeß eine untergeordnete Rolle.

Die Pansenmikroorganismen können längerkettige, gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren synthetisieren. Die Bildung mehrfach ungesättigter Fettsäuren konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Komplexe Lipide (wie z. B. Phosphatidylcholin, -ethanolamin, -glycerin, Plasmalogene) werden von Bakterien und Protozoen aufgebaut, wobei die de-novo-Syntheserate etwa 50 g/Tag (Milchkuh) beträgt.

Fettsäuren werden bis zu einer Kettenlänge von 12 C-Atomen überwiegend im Pansen, die mit einer höheren C-Atomzahl im Darm resorbiert.

Fettgehalte in den Futtermitteln von über 4 % TS bewirken Abnahmen der Mikrobengehalte, Verschiebungen ihrer Zusammensetzung, Konzentrationsabnahmen der flüchtigen Fettsäuren (Einengung des C2/C3-Verhältnisses), sinkende pH-Werte und Ammoniakgehalte, Hemmungen der Methanogenese, Ansteigen der mikrobiellen Proteinsynthese und ein Absinken der scheinbaren Verdaulichkeit anderer Nährstoffe (Rohfaser).

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Versuchsziel

Mit den durchgeführten Untersuchungen sollte der Einfluß einer Natriumsulfat- und einer kombinierten Natriumsulfat-Thiaminzulage auf die Fermentationsvorgänge im Pansensaft mittels eines in-vitro-Langzeitinkubationssystems (RUSITEC) überprüft werden. Weiterhin sollte eine Methode zur Messung mittel- und längerkettiger FS (C6 – C24) im Pansensaft erarbeitet werden.

3.2 Material und Methodik

3.2.1 Das Langzeitinkubationssystem RUSITEC

3.2.1.1 Aufbau und Funktionsweise

Das von CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE 1977 beschriebene RUSITEC-System (RUmen SIMulation TEChnique) ist ein Pansensimulationsmodell, in dem Fermentationsvorgänge über einen genau definierten Zeitraum bis zu mehreren Wochen beobachtet und Rückschlüsse auf in-vivo-Verhältnisse gezogen werden können.

Es handelt es sich um ein geschlossenes, semi-kontinuierliches Durchflußsystem mit vier voneinander getrennten, parallel laufenden Funktionseinheiten.

Nähere Angaben zum Aufbau und der Funktionsweise werden in den Dissertationen von SCHIRMER (1990), KRAKOW (1992) und BRÖCKER (1995) sowie der Abb. 3.1 gemacht. Unterschiede zu den genannten Dissertationen ergeben sich in der Messung des pH-Wertes, da diese hier nicht kontinuierlich über 24 h erfolgt.

3.2.1.2 Inbetriebnahme

Die Überprüfung der einzelnen Bestandteile und die Vorgehensweise bei der Beladung des RUSITEC-Systems erfolgten jeweils vor jeder Versuchsreihe nach den Kriterien, die bei SCHIRMER (1990) u. MAURUSCHAT (1996) beschrieben sind.

Zu Versuchsbeginn wurde jeder einzelne Fermenter (Fassungsvermögen: 1000 ml) mit folgenden flüssigen und festen Stoffen beschickt:

- 500 ml durchsehiger Pansenflüssigkeit
- 200 ml vorgewärmter Puffer (MAIWORM 1994; Rezeptur s. Anhang, Tab. 9.1.1)
- 100 ml vorgewärmten, ionenfreiem Wasser
- 80 g festen Panseninhalt im Nylonbeutel (Maschenweite 1 mm)
- 12 g Heu im Nylonbeutel (Maschenweite 1 mm)
- 2,8 g Maisstärke im Nylonbeutel (Maschenweite 200 µm)

Die 24-stündige, kontinuierliche Pufferzufuhr pro Fermenter betrug 296 µl/min (\cong 426 ml/Tag).

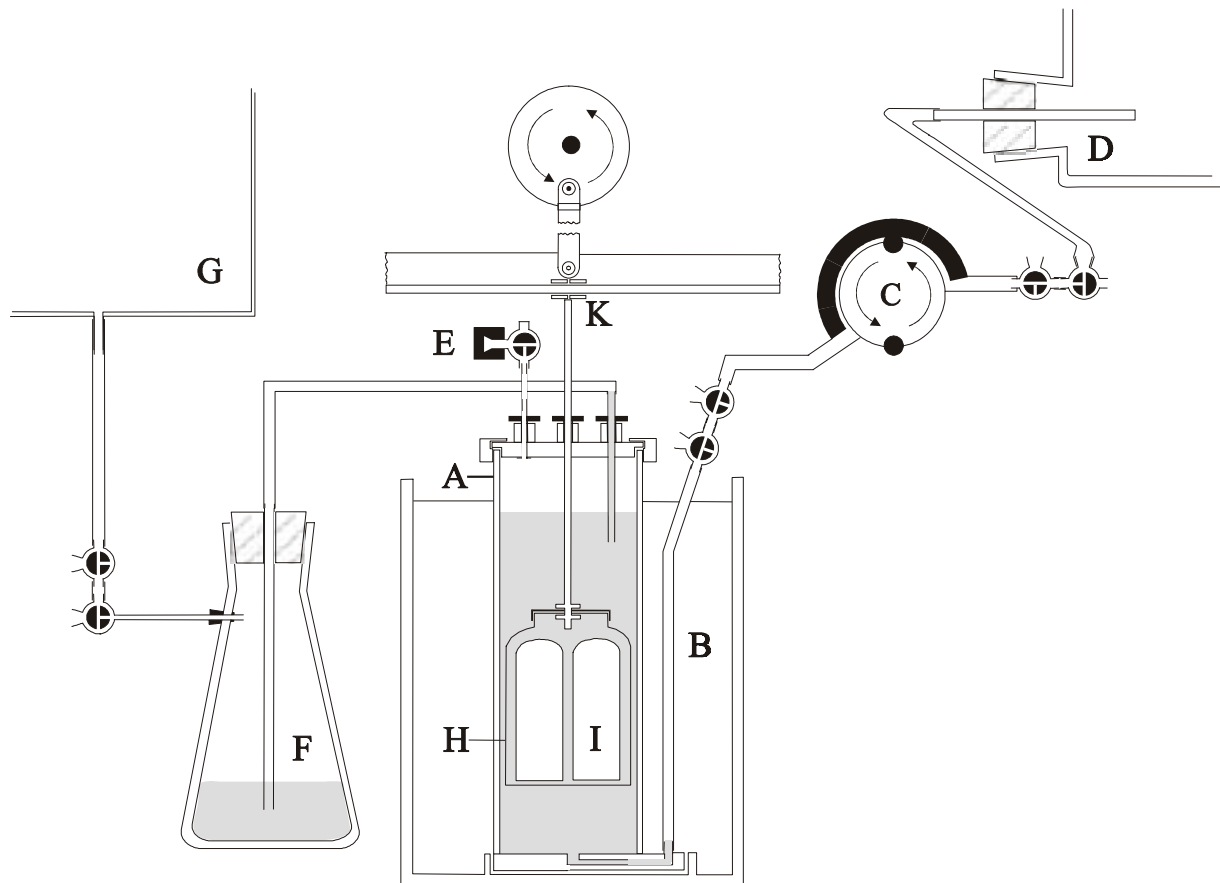


Abb. 3.1 : Das RUSITEC-System – Konstruktionsschema einer Fermentationseinheit

- | | | | |
|---|-------------------------------|---|----------------------------|
| A | Fermenter | F | Überlaufgefäß |
| B | Wasserbad | G | Gassammelbeutel |
| C | Pufferpumpe | H | perforierter Innenbehälter |
| D | Puffervorratsgefäß mit Puffer | I | Futterbeutel |
| E | Gasentnahmestutzen | K | Hubstange |

3.2.1.3 Fermentationsbetrieb

Der tägliche Arbeitsablauf am RUSITEC ist in Tabelle 3.1 zusammengefaßt.

Tab. 3.1: Zeitlicher Ablauf eines Versuchstages

Zeitleiste	Arbeitsschritt
120 min vor „Fütterung“	Kalibration des Gaschromatographen GC-8A, des pH-Meters und der Ammoniakelektrode; Abwiegen der Futtermittel und Füllen der Futterbeutel; Kontrolle des Wasserbades (39,2 °C); Vorwärmen des Puffers; Photometer einstellen; Filtern der Bradford-Lösung (Proteinbestimmung)
20 min vor „Fütterung“	Abkopplung der Gassammelbeutel; Messung des ersten Gases (Volumen und Bestimmung der Anteile der Einzelgase)
10 min vor „Fütterung“	Gewinnung der Fermenterproben mit anschließender Messung des pH-Wertes und der NH ₃ -Konzentration; Bestimmung des Überstandsvolumens und Entnahme der Überstandsproben; Beschickung der Überlaufgefäße mit 40 ml 18,5 %iger (halbkonzentrierte) Salzsäure
„Fütterung“	Abschalten des Motors; Lösen des Hubgestänges tägliche Fütterung: Entnahme des Fermenters aus dem Wasserbad; Austausch der über 48 Stunden inkubierten Futterbeutel gegen neue*; Probenentnahme (12,5 g Heu) für die Cellulaseaktivitätsbestimmung; Durchmischung des Futterbeutelinhalt mit 140 ml vorgewärmtem Puffer; Entleerung der Spülflüssigkeit mittels Kompressionsieb in den Fermenter; Verschluß des Fermenters und Arretierung im Wasserbad und Hubgestänge; CO ₂ - Begasung des Fermenters für 2 Minuten; Anschluß des Gasbeutels; Gleiche Verfahrensweise bei den Fermentern 2 – 4; Fetten des Hubgestänges und Einschalten des Hubmotors
30 min nach „Fütterung“	Fortsetzung der Probenaufbereitung und Analytik
200 min nach „Fütterung“	allgemeine Aufräumarbeiten

* Ausnahme am 2. Versuchstag: Entnahme von zwei Futterbeuteln bereits nach 24 Stunden und Austausch gegen neue Beutel mit Heu und Maisstärke.

3.2.2 **Futterkomponenten**

Während der Versuchsreihen wurden folgende Futtermittel eingesetzt:

Heu

Maisstärke (näheres s. Tab. 3. 3)

Es kam Heu aus der Charge zum Einsatz, mit dem auch die Spendertiere gefüttert wurden. Das Heu wurde jeweils vor Versuchsbeginn auf eine Länge von 2 cm geschnitten und bei Raumtemperatur gelagert.

Die einzelnen Nährstoffgehalte sind in Tabelle 3.2 angegeben.

Tab. 3.2: Nährstoffgehalte der verwendeten Futtermittel (Analyseergebnis aus dem Institut für Tierernährung der Tierärztlichen Hochschule Hannover)

Nährstoffangaben	Einheit / Bezug	Heu		Maisstärke	
		US	TS	US	TS
Trockensubstanz	g/kg	869		886	
Rohasche	g/kg	74,1	86,2	0,70	0,79
Rohprotein	g/kg	82,8	95,3	6,10	6,88
Rohfett	g/kg	21,4	24,6	14,8	16,7
Rohfaser	g/kg	262	301	0,10	0,11
N-freie Extraktstoffe	g/kg	429	494	864	975
Stärke	g/kg			833	940
ME	MJ/kg			7,53	8,67
NEL	MJ/kg			4,36	5,02
Mineralstoffe/ Vitamine					
Vitamin B ₁ *	g/kg	3,68	3,20	1,60	1,42
Schwefel	g/kg		2,10		0,10

* analysiert mit der HPLC in der Klinik für Rinderkrankheiten der Tierärztlichen Hochschule Hannover

3.2.3 Inokulum-Spendertier

Bei dem klinikeigenen Spendertier handelt es sich um ein weibliches, 13 Jahre altes Rind der Rasse Deutsche Schwarzbunte, mit einem Gewicht von 699 kg. Die für den Fermentationsbeginn benötigten Panseninhalte (Pansensaft u. fester Panseninhalt) wurden über eine permanente Pansenfistel entnommen.

3.2.3.1 Haltung und Fütterung des Spendertieres

Das Spendertier wurde in Anbindehaltung gehalten. Um eine unkontrollierte Aufnahme des Stroh durch das Tier weitestgehend zu verhindern, wurden die vorderen zwei Drittel des Standes mit einer Gummimatte ausgelegt.

Die Fütterung fand zweimal täglich (7.00 Uhr und 14.30 Uhr) statt. Die auf den Erhaltungsbedarf plus 2 Liter Milch ausgerichtete Ration bestand morgens aus 3,0 kg Heu und 800 g Kraftfutter, nachmittags aus 3,5 kg Heu und 800 g Kraftfutter. Die Wasseraufnahme erfolgte ad libitum über eine Selbsttränke.

Tab. 3.3: Nährstoffgehalte des eingesetzten Kraftfutters (Milchleistungsfutter I zur eiweißreichen Grundfütterration (Ergänzungsfuttermittel für Milchkühe HG 14G-14/3; RHG Nord AG, Hannover; Herstellerangaben)

untersuchter Parameter	Gehalte
Rohprotein (% US)	14
Rohfett (%US)	3,5
Rohfaser (%US)	10
Rohasche (% US)	9
Calcium (%US)	0,8
Phosphor (%US)	0,4
Natrium (%US)	0,25
NEL (MJ/kg US)	6,9
Vitamin A (I.E./kg US)	10000
Vitamin D ₃ (I.E./kg US)	1000
Kupfer (mg/kg US)	20
Selen (mg/kg US)	0,5

3.3 Versuchsdurchführung

Der Gesamtversuch am RUSITEC-System beinhaltete Vor- und Hauptversuche. Die einzelnen Versuchsreihen werden nachfolgend als „Lauf 1 – 6“ bezeichnet.

3.3.1 Vorversuch

Es wurden insgesamt zwei Läufe als Vorversuche am RUSITEC-System durchgeführt. Für den ersten Lauf wurde ein beladener RUSITEC nach der Kontrollphase aus den Versuchen von KAHLE (1998)¹ übernommen; die Versuchsdauer lag bei 4 Tagen.

Der zweite Lauf erstreckte sich über 23 Tage. Die Läufe wurden zur Funktionsüberprüfung des RUSITEC-Systems und zur Normierung der Versuchsbedingungen für die anschließenden Hauptversuche genutzt. Desweiteren dienten die Vorversuche für die Bestimmung der geeigneten Natriumsulfat-Zulagemenge (v. a. 2. Vorlauf) und für die Festsetzung der Zulagedauer.

3.3.2 Hauptversuch

Es erfolgten 4 voneinander unabhängige Läufe, die jeweils unter identischen Bedingungen stattfanden.

Die einzelnen Phasen der Versuchsläufe und die verschiedenen Zulagen werden in der Tab. 3.4 zusammengefaßt:

¹ persönliche Mitteilung von Herrn Wolfgang Kahle, Hannover, 06.12.1998

Tab. 3.4: Hauptversuchsphasen und Zulagen während eines Versuchslaufs

Versuchsphase	Futterzulage (g)		Zulage (mg)	
	Heu	Mais	Kontrollfermenter *	Zulagefermenter **
Vorlauf (6 Tage)	12	2,8	0	0
Kontrollphase (3 Tage)	12	2,8	0	0
Zulagephase I (5 Tage)	12	2,8	0	400 Na ₂ SO ₄ ***
Zulagephase II (5 Tage)	12	2,8	0,3 Thiamin ***	400 Na ₂ SO ₄ + 0,3 Thiamin
Nachlauf (6 Tage)	12	2,8	0	0

* Fermenter 1 + 2

** Fermenter 3 + 4

*** Na₂SO₄ und Thiaminhydrochlorid (ohne TMP- bzw. TDP- Gehalte) wurden allen Fermentern nach der Fütterung zugesetzt

3.4 Analytik

Die in den Versuchen ausgewerteten Parameter sind in der Tabelle 3.5 zusammengestellt.

Tab. 3.5: Übersicht über die untersuchten Parameter und ihre Meßverfahren (PLITT 1995; MITTROWANN 1999)

Parameter	Meßverfahren	Einheit	Literatur	VK*
pH-Wert	Elektrode	pH	ZIPORI 1989	0,59
Ammoniak	Elektrode	mmol/l	DEHARENG u. GODEAU 1988; s. ZIPORI 1989	2,36
Überstand	volumetrisch	ml	s. SCHIRMER 1990	
Gasproduktion	volumetrisch	ml	s. SCHIRMER 1990	
Methan	gaschromat.	Vol%	s. HÖLTERS- HINKEN 1990	1,29
Sauerstoff				3,08
Kohlendioxid				1,56
Stickstoff				4,58
Wasserstoff				mm ² = E *****
Essigsäure	gaschromat.	mmol/l	s. JENSEN 1973; s. RANFT 1973; s. GEISSLER et al. 1976 s. MAIWORM 1994	4,01**/2,54 ***
Propionsäure				4,51/3,07
i-Buttersäure				4,63/2,31
n-Buttersäure				2,30/2,27
i-Valeriansäure				4,11/3,62
n-Valeriansäure				1,58/4,79
Hexansäure				2,50/4,45
FIFS-Gesamt (rechnerisch aus allen FIFS)				3,40/3,12
Protein				photometrisch
Cellulase	photometrisch	mU/ml	s. KRAKOW 1992; s. MAIWORM 1994	3,28
Natrium	ionensensitiv	mmol/l	s. BECKER 1994	0,69
Kalium				4,53
Chlorid				2,85
Gesamtthiamin	chromatogr. (HPLC)	ng/ml	BOGNER 1993; SASTURAIN u. SCHWEDT 1988	1,55
TDP				4,04
TMP				3,35
Thiamin				2,42

* = Variationskoeffizient (VK) der Analysenpräzision in Serie (in %)

** = VK der Fermenterproben

*** = VK der Überstandsproben

***** = s. Kap. 3.4.4

3.4.1 Bestimmung des pH-Wertes

Zur Bestimmung des pH-Wertes in 10 ml frisch entnommener Fermenterflüssigkeit wurde ein pH-Meter (Typ pH-91) der Firma WTW[®] verwendet. Die Zweipunkt-Kalibration des Gerätes erfolgte zu Beginn eines jeden Meßtages mit zwei Puffern der Firma Merck[®] (pH = 4, Art.-Nr. 9435 u. pH = 7, Art.-Nr. 9439).

3.4.2 Bestimmung der Ammoniakkonzentration

Die Messung erfolgte unmittelbar im Anschluß an die zuvor in derselben Probe durchgeführte pH-Wertbestimmung mit Hilfe einer ionensensitiven Orion[®]-Elektrode (9512) und einem Orion[®]-Ionenanalyser (920 EA). Weil die Elektrode nur den freien Ammoniak erfassen kann, wurden die in der Probenflüssigkeit vorhandenen Ammoniumionen mit 100 µl einer Natriumhydroxidlösung in ersteren überführt. Zur Zweipunkt-Eichung wurden eine 10⁻² und eine 10⁻¹ M Ammoniakstandardlösung verwendet (weiteres s. ZIPORI 1989).

3.4.3 Volumetrische Bestimmung der Gasproduktion

Die Volumenbestimmung des durch die Fermentationsvorgänge über 24 h gebildeten und in Gassammelbeuteln (Linde[®], Art.-Nr. 037660006) aufgefangenen Gases erfolgte nach dem Prinzip der Wasserverdrängung. Dazu wurden drei wassergefüllte 1-l-Standzylinder mit der Öffnung nach unten in eine ebenfalls mit Wasser gefüllte Wanne gehängt und der Inhalt der Beutel über einen Schlauch mit Dreiwegehahn in die Zylinder geleitet. Die Menge des verdrängten Wassers entspricht dem zu bestimmenden Gasvolumen. Gleichzeitig wurde über den Dreiwegehahn aus dem strömenden Gas eine Probe für die Gasanalyse entnommen (weiteres s. KRAKOW 1992).

3.4.4 Chromatographische Analyse der Gaszusammensetzung

Die Gasproben wurden unmittelbar vor ihrer Analyse mit Hilfe einer gasdichten 1-ml-Spritze (TLL 1001, Hamilton[®]) aus dem Gasstrom (s. 3.4.3) entnommen und ihre prozentuale Zusammensetzung bezüglich Sauerstoff, Stickstoff, Methan und Kohlendioxid bestimmt. Die Angabe des Wasserstoffgehaltes erfolgte im Gegensatz zu den anderen Gasen nicht in Vol%, sondern in mm² [1 mm² = 1 E (Einheit)]; das verwendete Eichgas enthält aufgrund fehlender Stabilität keinen Wasserstoff, der Gaschromatograph mißt den Gehalt des Wasserstoffes mit Hilfe eines Peaks und gibt die Fläche nicht in Vol% sondern in mm² an].

Für die Messung stand ein Gaschromatograph (GC-8A; Shimadzu[®]) zur Verfügung. In ihm befand sich ein Wärmeleitfähigkeitsdetektor, dessen Impulse von einem Integrator (CR-3A; Shimadzu[®]) verarbeitet wurden. Die Probeninjektion erfolgte manuell, das injizierte Volumen betrug 1 ml. Zur täglichen Kalibrierung des Gerätes wurde ein spezielles Eichgasgemisch (Messer Griesheim[®] s. Tab. 3.6) eingesetzt. Aus den Mittelwerten von zwei nacheinander injizierten Eichgasproben (je 1 ml) ermittelte der Integrator einen Berechnungsfaktor für die einzelnen Gasarten.

Um die Genauigkeit des Gerätes abschließend beurteilen zu können, wurden im Anschluß an die Probenmessung zwei weitere Eichgase injiziert (näheres s. HÖLTERSHINKEN 1990).

Tab. 3.6: Zusammensetzung des Eichgasgemisches

Sauerstoff	0,92 Vol%
Stickstoff	4,00 Vol%
Methan	30,20 Vol%
Kohlendioxid	64,88 Vol%

3.4.5 Bestimmung des Überstandsvolumens

Die Volumina der einzelnen Überstände wurden mit Hilfe eines 1-l-Standzylinders gemessen.

3.4.6 Chromatographische Analyse der flüchtigen Fettsäuren

Die Analyse der flüchtigen Fettsäuren wurde sowohl in der Fermenterflüssigkeit als auch im Überstand vorgenommen. Zur chromatographischen Auswertung stand ein Zweikanal-Gaschromatograph (GC-9 AM, Shimadzu[®]) mit einem Flammenionisations-Detektor, einem automatischem Probengeber (AOC-9, Shimadzu[®]) und einem Integrator (CR-4A, Shimadzu[®]) zur Verfügung (s. auch KRAKOW 1992 u. MAIWORM 1994). Um in jedem Lauf gleiche Meßbedingungen gewährleisten zu können, wurden die Fermenterproben auf dem ersten Kanal (Säule 1) und die Überstände auf dem zweiten Kanal gemessen (Säule 2). Die berechneten Variationskoeffizienten der flüchtigen Fettsäuren sind der Tabelle 3.5 zu entnehmen.

Folgende Parameter wurden jeweils in beiden Kanälen bestimmt:

- Essigsäure
- Propionsäure
- i-Buttersäure, n-Buttersäure
- i-Valeriansäure, n-Valeriansäure
- Hexansäure
- Summe der flüchtigen Fettsäuren (rechnerisch)

3.4.7 Photometrische Bestimmung des Proteingehalts

Die Bestimmung des Proteingehalts nach BRADFORD (1976) erfolgte in der bakterienhaltigen Fraktion der Fermenterflüssigkeit. Für die Gewinnung dieser Fraktion wurde das Verfahren von SMITH u. McALLEN (1974) modifiziert.

Hierzu wurden 10 ml Fermenterflüssigkeit für 5 min bei 200 xg zentrifugiert (Hettich[®] Universal Zentrifuge, Typ 1200), im Anschluß daran wurde der Überstand 2 min im Eisbad einer Ultraschallbehandlung (Sonoplus Hochleistungsdesintegrator Typ HD60, Fa. Bandelin electronic[®]; Frequenz: 20 kHz; Geräteleistung 60 %) unterzogen. Dieser Vorgang diente dem Aufschluß der mikrobiellen Zellwände.

Zur weiteren Vorgehensweise und den dazu benötigten Chemikalien sei auf die Dissertationen von MAIWORM (1994) u. MAURUSCHAT (1996) hingewiesen. Abweichend von dem dort

beschriebenen Photometer wurde ein Photometer der Fa. Perkin Elmer® (Lambda 5 UV/VIS Spektrometer) verwendet.

3.4.8 Bestimmung des Natrium-, Kalium- und Chloridgehaltes

Diese Parameter wurden nur im zweiten Lauf aus der Fermenterflüssigkeit bestimmt. Die Proben wurden 20 min bei 1700 xg (Christ-Zentrifuge, Typ UJ3) zentrifugiert, die anschließende Messung erfolgte im gewonnenen Überstand jeweils als Doppelmessung (näheres s. BECKER 1994 u. PLITT 1995).

Die Bestimmung der Natrium- und Kaliumkonzentration wurde am Na^+/K^+ - Analyser Typ 614 der Firma Corning Medical^R mit Hilfe einer ionensensitiven Elektrode durchgeführt.

Für die Messung der Chloridkonzentration stand ein Chloridmeter (Modell 925) der Firma Ciba-Corning^R zur Verfügung, das nach dem Prinzip der coulombmetrischen Titration arbeitet.

3.4.9 Enzymatische Bestimmung der Cellulaseaktivität

Die Aufbereitung der Proben und die enzymatische Messung der Cellulaseaktivität erfolgte bis auf die Verwendung eines anderen Puffers und eines Photometers so, wie sie in den Diss. von KRAKOW (1992) u. MAIWORM (1994) beschrieben worden ist.

Der Nachweisreaktion liegt folgendes Prinzip zugrunde:

Die in der Probe befindliche Cellulase wird mit ihrem Substrat in Form von Carboxymethyl-Cellulose-Ribazolidon Brilliantblau für 30 min inkubiert, die Enzym-Substrat-Reaktion danach durch Zugabe von 1 M Salzsäure gestoppt und überschüssiges Substrat durch Zentrifugation entfernt. Die infolge des Substratumsatzes entstandene Farbveränderung wird photometrisch über die Extinktion bei einer Wellenlänge von 600 nm gegen einen Blindwert gemessen.

Abweichend wurde folgender Puffer verwendet: 35,58 g Na_2HPO_4 % $2\text{H}_2\text{O}$ ad 2 l A. dest., pH-Wert Einstellung auf pH-Wert 6,8 mit 1 M HCl-Lösung, Photometer (s. 3.4.7).

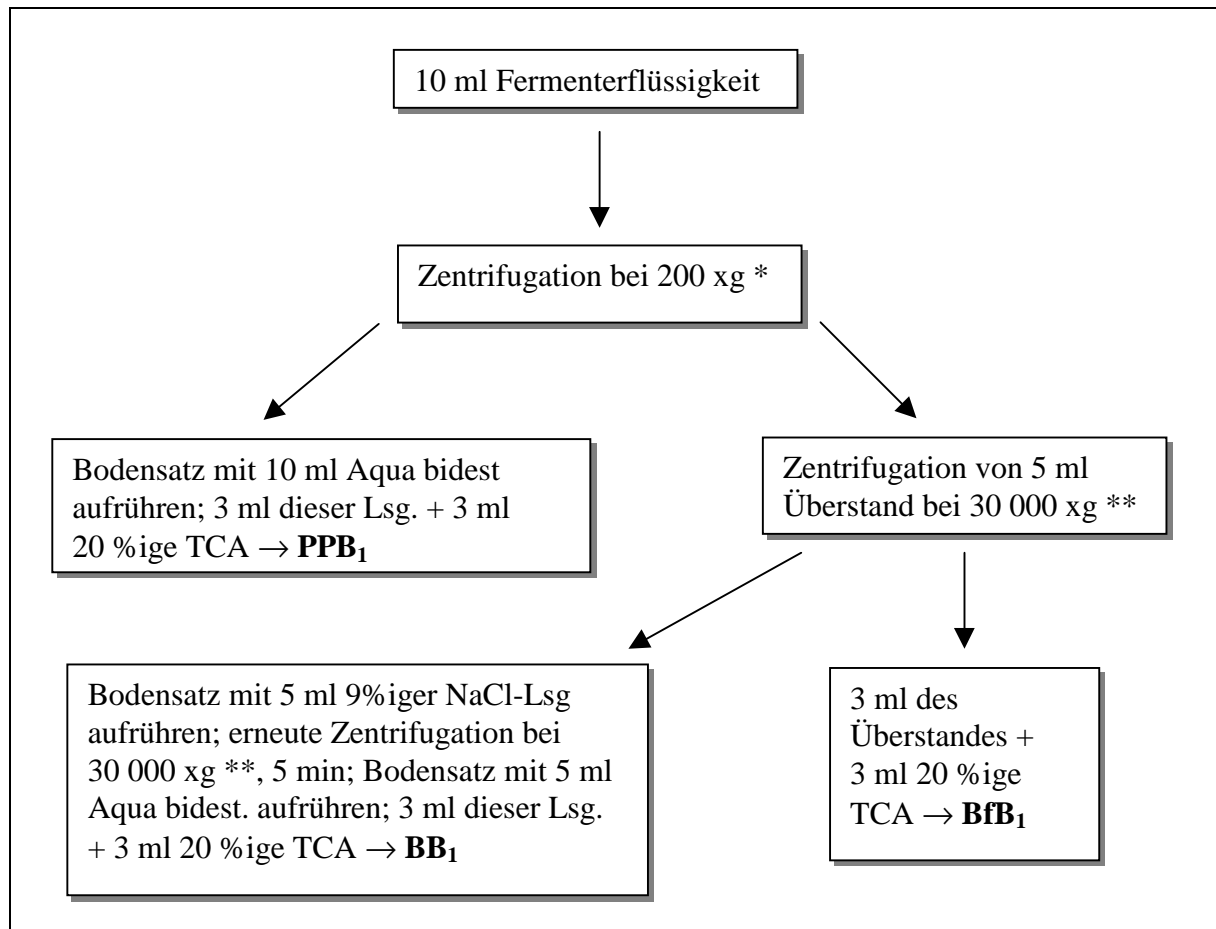
3.4.10 Bestimmung der Thiaminkonzentration

Um einen Überblick der Thiaminkonzentration in den Fraktionen zu bekommen, wurde der Thiamingehalt im Überstand, in der Fermenterflüssigkeit und den einzelnen Fraktionen der Fermenterflüssigkeit bestimmt:

- native Fermenterprobe: B_1 -gesamt Fermenter
- native Überstandsprobe: B_1 -gesamt Überstand
- Pflanzen- und Protozoenfraktion: PPB_1
- Bakterienfreie Probe : BfB_1
- Bakterienhaltige Probe: BB_1

Gewinnung der einzelnen Fraktionen:

- ml Fermenterflüssigkeit + 3 ml 20 %ige TCA → **B_1 -gesamt Fermenter**
- ml Überstandsflüssigkeit + 3 ml 20 %ige TCA → **B_1 -gesamt Überstand**



* Zentrifugation bei Raumtemperatur

** Zentrifugation bei + 4 °C

Abb. 3.2: Darstellung des Fraktionierungsweges der Fermenterflüssigkeit für die Vit.-B₁-Bestimmung

Die Aufbewahrung erfolgte bei - 20 °C. Zur Bestimmung der Thiamingehalte mittels HPLC wurden 2 ml der jeweiligen Pansensaftfraktion aufgetaut, 20 Min bei 40 000 xg (4 °C; Kühlzentrifuge Fa. Hermle, Typ ZK 401) zentrifugiert und anschließend in Autosamplern pipettiert (1 ml des Überstandes). Zur weiteren Vorgehensweise und zur Benutzung der Geräte sei auf WITTE (1998) hingewiesen.

3.4.11 Messung längerkettiger Fettsäuren

3.4.11.1 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine Methode zur Messung mittel- und langkettiger Fettsäuren (C₆ – C₂₄) im Pansensaft (PAS) mit möglichst einfacher Probenaufbereitung (ohne großen apparativen Aufwand) und rascher Durchführbarkeit (große Probenzahlen) zu erarbeiten.

Die von OUTEN et al. (1976) entwickelte und von SUKHIJA u. PALMQUIST (1988) modifizierte Ein-Schritt-Methode zur Fettsäuremessung wird oben genannten Kriterien für die Untersuchung in Futtermitteln (OUTEN et al. 1974, 1976), Plasma (LEPAGE u. ROY 1986, 1988), in Blättern (BROWSE et al. 1986), Gewebe (MacGEE u. ALLEN 1974, SHIMASAKI et al. 1977, HAAN et al. 1979) Ölsaaten, Ca-Seifen, Milch und Kotproben (SUKHIJA u. PALMQUIST 1988) gerecht. Die bestehende Methode mußte deshalb für Pansensaft adaptiert werden (s. Tab. 3.7).

3.4.11.2 Prinzip der Methode

Das Prinzip der Methode ist die kombinierte Ein-Schritt-Extraktion mit gleichzeitiger Methylierung.

3.4.11.3 Material

Die für die Modifikation der Arbeitsvorschrift von SUKHIJA u. PALMQUIST (1988) benötigten Reagenzien, Gerätschaften und Apparate sind in Tabelle 3.7 und 3.8 aufgeführt.

Tab. 3.7: Verwendete Reagenzien, Lösungen und eingesetzte Mengen im Vergleich zur Originalvorschrift (Modifikation fettgedruckt; SUKHIJA u. PALMQUIST 1988)

Originalvorschrift	erarbeitete Methode		
	Reagenzien	hergestellte Lösung	eingesetzte Menge
1 ml (4 mg/1 ml Toluol)	interner Standard: n-Nonadecansäure (Merck; Art.-Nr. 8.22.110.0025; s. a. Abb. 3.3)	0,2 mg/1ml Toluol	1 ml
3 ml	Toluol (Merck; Art.-Nr. 1.08331.1000)		3 ml
3 ml [5 %ige methanolische HCl (10 ml Acetylchlorid/100 ml wasserfreies Methanol)]	Acetylchlorid (Merck; Art.-Nr. 100031.0250) Methanol getrocknet (Merck; Art.-Nr. 1.06012.2500)	10 %ige methanolische HCl (20 ml Acetylchlorid/100 ml wasserfreies Methanol)	3 ml
5 ml [6 %ig (60 g/1 l Aqua bidest)]	Kaliumcarbonat (Merck; Art.-Nr. 1.04928.1000)	6 %ig (60 g/1 l Aqua bidest)	3 ml
1 g	wasserfreies Natriumsulfat (Merck; Art.-Nr. 6603)		1 g

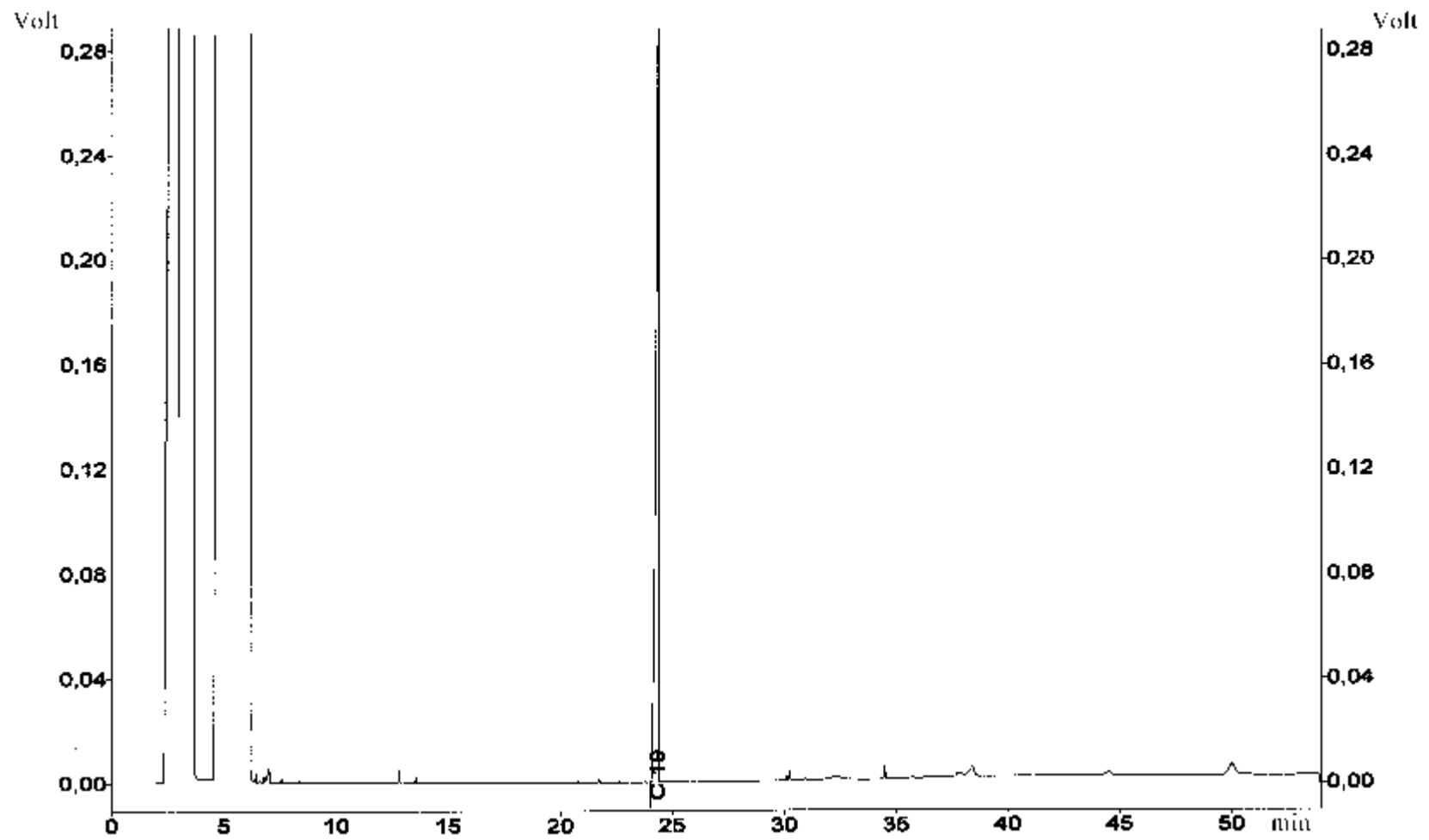


Abb. 3.3: Chromatogramm des internen Standards (vgl. Tabelle 3.7)

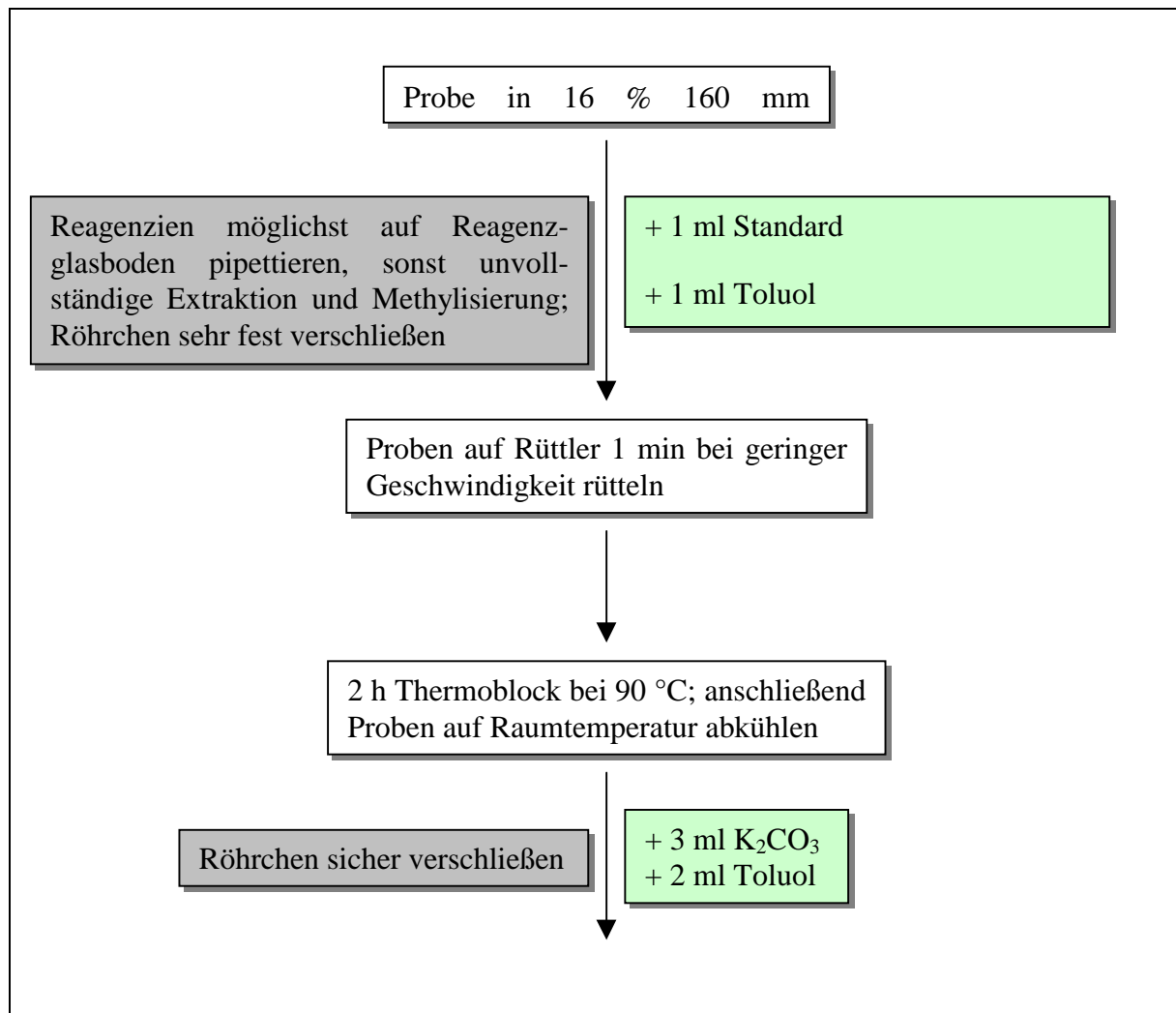
Tab. 3.8: Verwendete Gerätschaften und Apparate für die Messung langkettiger Fettsäuren im Pansensaft

Gerätschaften bzw. Apparate	Hersteller bzw. Bezugsquelle
Pyrex ® - Glasröhrchen 13 % 100 mm, mit Schraubkappen und Tefloninlett	Fischer-Scientific; Art.-Nr. 9826-13
Glasröhrchen, 16 % 160 mm, mit Schraubkappen; entsprechende Tefloninletts	LAT; Best.-Nr. 192317521 LAT; Best.-Nr.132924811
Teflonbeschichtete Wägeschale	Euro Lab, Katalog- Nr. 1125
Pasteurpipetten 150 mm	LAT; Best.-Nr. 197734145
Thermoblock (Durchmesser des Stahl-Reagenzglaseneinsatzes: 17,2 cm ; Temperaturregler von 0 °C - 200 °C)	Fa. Liebisch; Best.-Nr. CH 20/30/17
Vortex-Rüttler	Fa. IDL, Typ RS1
Zentrifuge	Fa. Christ, Typ UJ 3s
Trockenschrank	Fa. Memmert, Typ U 15
Dispergierer, Mikra-D8; mit Schneidmesserrotor Ds30/P6 SmR	Fa. ART moderne Labortechnik
GC-17A Gas-Chromatograph Detektorart: FID; <u>Analysebedingungen:</u> Injektionsvol.: 4 µl; Temperaturprogramm: Start: 50 °C (1 min); dann Steigerung um jeweils 20 °C/min bis auf 90 °C (2 min), weitere Zunahme um 5 °C/min bis auf 260 °C (34 min); totales Zeitprogramm 55 min/Probe. Detektor-Temp.: 270 °C; Injektionsmethode: Splittless; Trägergas: N ₂ : 30ml/min; H ₂ : 50 ml/min; Synthetische Luft: 500 ml/min) Verarbeitungsparameter des Integrators: Width: 0,2 sec; Threshold (= Slope): 500 µV/min; Minimum Area: 20000 counts; Stop time: 54 min; Methode: ext. St.; Attenuation: 256 mV; Trace Limits: y-Achse Minimum: - 0,0101; Maximum: 0,3	Shimadzu Europa – GmbH, Deutschland; Trägergas: Stickstoff (5.0 Messer Griesheim); Synthetische Luft (Messer Griesheim); Wasserstoff (Messer Griesheim)
AOC – 20 s Autosampler	Shimadzu Europa – GmbH, Deutschland
GC – Säule: SPB TM – PUFA, Silica Capillary Column (30 m % 0,25 mm % 0,2 µm film)	Supelco Park: Best.-Nr. 2-4314
Bearbeitung u. Integration: Class-VP Chromatography Data – System, Version 4.3 Shimadzu Class VP TM ; Copyright © 1998 Shimadzu Scientific Instruments (s. 3.4.11.4)	Shimadzu Europa – GmbH, Deutschland

3.4.11.4 Probenaufbereitung

Als Probenmaterial diente frisch entnommener, nicht filtrierter Pansensaft (PAS, 400 ml, zur Entnahme s. a. 3.2.3). Unter ständigem Rühren (Magnetrührer) wurden jeweils 5 ml PAS in exakt gewogene (auf 0,1 mg) Wägeschälchen überführt.

Anschließend fand eine Trocknung der Proben über 24 h bei 55 °C im Trockenschrank statt. Nach der Trocknungszeit folgte einerseits die Rückwaage der Schälchen (s. Tab. 3.9; Transport der Schälchen in Exsikkatoren) und andererseits die Einwaage der getrockneten PAS in 16 % 160 mm lange Kulturröhrchen. Die Überführung des getrockneten PAS verlief problemlos, die Teflonbeschichtung der Wägeschälchen verhinderte eine statische Aufladung, somit konnten zwischen 70 u. 95 % der Trockensubstanz des PAS eingewogen werden. Die weiteren Schritte der Probenaufbereitung werden in Abb. 3.4 dargestellt.



Fortsetzung siehe nächste Seite

Abb. 3.4: Fortsetzung

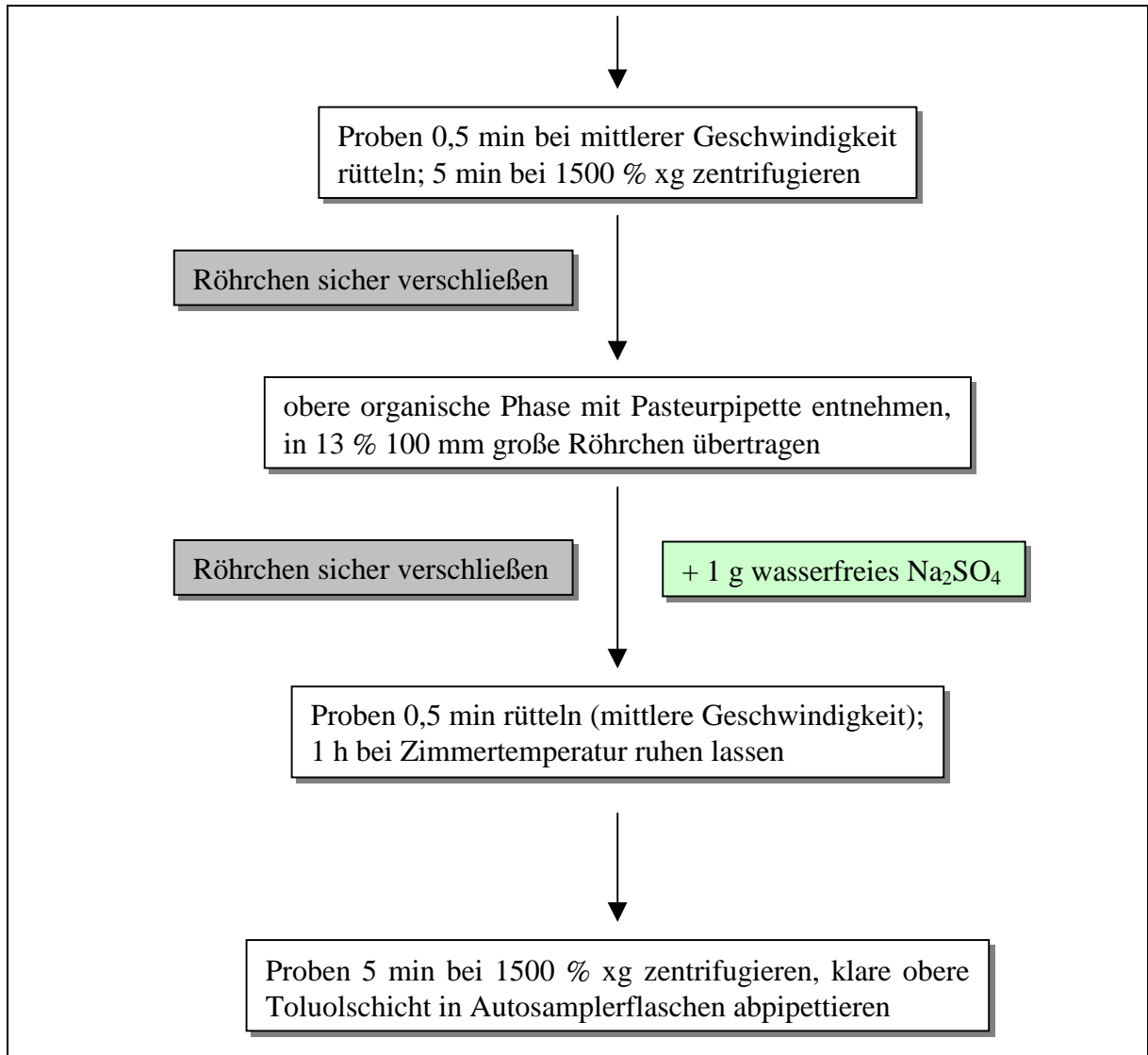


Abb. 3.4: Darstellung der modifizierten Probenaufbereitung nach SUKHIJA u. PALMQUIST (1988)

3.4.11.5 Überprüfung der Fettsäureerkennung

Zur Eichung des Gaschromatographen und FS-Erkennung wurden im Vorfeld der Messungen 15 Läufe mit externem Standard [Supelco 37 Component Fame Mix (Art.-Nr. 4-47885, Supelco Park, Bellefonte, PA) 1:10 mit Toluol verdünnt; s. Abb. 3.5] analysiert. Integration und Berechnung erfolgten durch die Class-VP-Software (Shimadzu; vgl. Tab. 3.8).

Tab. 3.9: Überprüfung der Trocknungsrate (Rückwaage) der PAS-TS im Verlauf von 120 h zur Bestimmung einer geeigneten Trocknungszeit für PAS

Te.* leer	Rw.** 24 h	Rw. 48 h	Rw. 72 h	Rw. 96 h	Rw. 120 h	Rw. 24 h minus T. leer	Rw. 120 h minus T. leer	Rw. 24 h minus 120 h	% (Rw. 24 h minus 120 h)	TS PAS/ 1 ml
2,0131	2,0968	2,0981	2,0967	2,0971	2,0968	0,0837	0,0837	0,0000	0,00	0,0167
2,1571	2,2482	2,2481	2,2488	2,2480	2,2489	0,0911	0,0918	- 0,0007	0,77	0,0184
1,7767	1,8691	1,8701	1,8698	1,8700	1,8697	0,0924	0,0930	- 0,0006	0,65	0,0186
1,8873	1,9851	1,9854	1,9853	1,9852	1,9856	0,0978	0,0983	- 0,0005	0,51	0,0197
1,857	1,9483	1,9483	1,9480	1,9482	1,9479	0,0913	0,0909	0,0004	0,44	0,0182
1,8353	1,9252	1,9272	1,9252	1,9260	1,9254	0,0899	0,0901	- 0,0002	0,22	0,0180
1,9088	2,0020	2,0030	2,0030	2,0028	2,0025	0,0932	0,0937	- 0,0005	0,54	0,0187
2,0042	2,1023	2,1021	2,1019	2,1013	2,1019	0,0981	0,0977	0,0004	0,41	0,0195
1,8797	1,9700	1,9721	1,9698	1,9701	1,9700	0,0903	0,0903	0,0000	0,00	0,0181
1,8891	1,9891	1,9894	1,9905	1,9912	1,9902	0,1000	0,1011	- 0,0011	1,10	0,0202
1,9724	2,0696	2,0702	2,0701	2,0703	2,0700	0,0972	0,0976	- 0,0004	0,41	0,0195
2,009	2,0941	2,0940	2,0939	2,0932	2,0930	0,0851	0,0840	0,0011	1,29	0,0168
1,811	1,9051	1,9078	1,9072	1,9070	1,9064	0,0941	0,0954	- 0,0013	1,38	0,0191
2,001	2,0842	2,0852	2,0840	2,0841	2,0837	0,0832	0,0827	0,0005	0,60	0,0165
2,0694	2,1677	2,1678	2,6710	2,1689	2,1680	0,0983	0,0986	- 0,0003	0,31	0,0197
2,1593	2,2543	2,2543	2,2542	2,2541	2,2534	0,0950	0,0941	0,0009	0,95	0,0188
1,8807	1,9792	1,9798	1,9800	1,9795	1,9792	0,0985	0,0985	0,0000	0,00	0,0197
1,9914	2,0892	2,0904	2,0892	2,0902	2,0893	0,0978	0,0979	- 0,0001	0,10	0,0196
1,8029	1,8979	1,8978	1,8987	1,9000	1,8994	0,0950	0,0965	- 0,0015	1,58	0,0193

* Te. Teflonschale leer

** Rw. Rückwaage

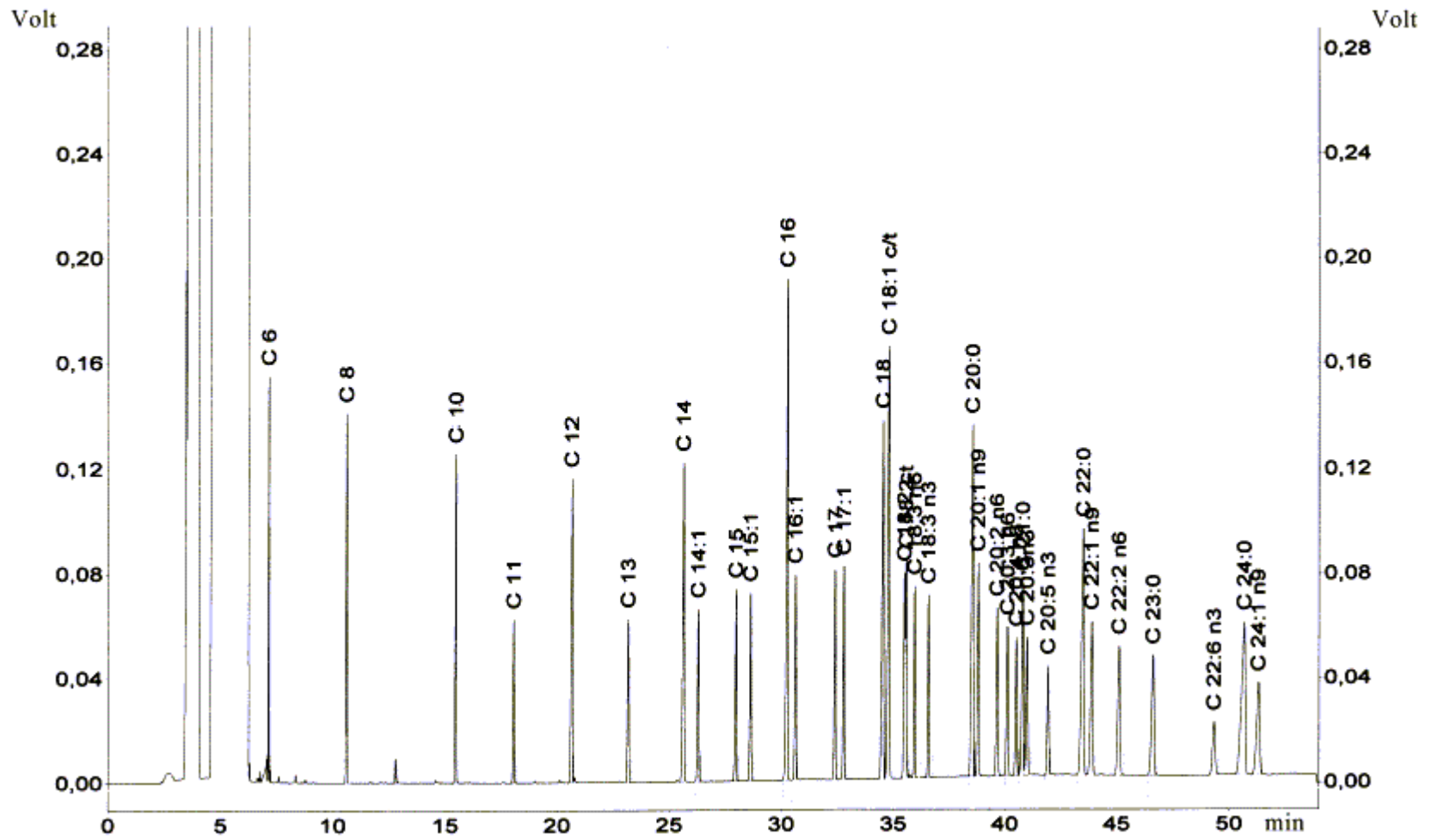


Abb. 3.5: Chromatogramm des externen Standards

Eine qualitative Überprüfung der Peakfolge (Vergleich der Retentionszeiten) fand einerseits mit Hilfe aller Reinsubstanzen, andererseits durch Addition der Reinsubstanzen zum externen Standard statt. Die Methylveresterungen der Reinsubstanzen wurden nach Anleitung der modifizierten Methode durchgeführt.

Für die Festlegung der Nachweisgrenze wurde der ext. Standard 1:100 mit Toluol verdünnt. Sie liegt bei 0,525 µmol/l bzw. bei einer Peakfläche von 20000 counts. Für die einzelnen Fettsäuremethylester wurden folgende Variationskoeffizienten der Präzision in Serie ermittelt (Gerätepräzision; s. Tab. 3.10):

Tab. 3.10: Zusammensetzung des externen Standards, Anteile der Ester (%) und jeweils ermittelte Variationskoeffizienten (VK) der Analysenpräzision

Fettsäure (-methylester) der	Anteil in (%)	VK (%)
C 4 Buttersäure	4	nicht bestimmt
C 6 Capronsäure	4	3,11
C 8 Caprylsäure	4	1,55
C 10 Caprinsäure	4	2,04
C 11 Undecansäure	2	2,65
C 12 Laurinsäure	4	3,04
C 13 Tridecansäure	2	3,25
C 14:0 Myristinsäure	4	3,33
C 14:1 Myristoleinsäure	2	3,24
C 15:0 Pentdecansäure	2	3,36
C 15:1 Pentadecensäure	2	3,26
C 16:0 Palmitinsäure	6	3,02
C 16:1 Palmitoleinsäure	2	2,96
C 17:0 Heptadecansäure	2	2,91
C 17:1 Heptadecensäure	2	3,06
C 18:0 Stearinsäure	4	2,68
C 18:1 c / t Öl- u. Elaidinsäure	4 + 2 (6)	2,66
C 18:2 c Linolsäure	2	3,27
C 18:2 t Linolelaidinsäure	2	3,22
C 18:3 n6 γ-Linolensäure	2	2,49
C 18:3 n3 Linolensäure	2	2,47
C 20:0 Arachinsäure	4	2,38
C 20:2 n6 Eicosadiensäure	2	2,29
C 20:1 n9 Eicosensäure	2	2,27
C 20:3 n6 Eicosatriensäure	2	2,26
C 20:4 n6 Eicosatetraensäure	2	2,57
C 21:0 Heneicosansäure	2	2,28
C 20:3 n3 Eicosatriensäure	2	2,21

Fortsetzung siehe nächste Seite

Tab. 3.10: Fortsetzung

Fettsäure (-methylester) der	Anteil in (%)	VK (%)
C 20:5 n3 Eicosapentaensäure	2	2,12
C 22:0	4	1,94
C 22:1 n9 Erucasäure	2	2,04
C 22:2	2	1,85
C 23:0	2	1,79
C 22:6 n3 Docosahexaensäure	2	2,07
C 24:0	4	1,47
C 24:1 n9 Nervonsäure	2	3,00

3.4.11.6 Überprüfung des Pansensaftes

Um Matrixeffekte des Pansensaftes ausschließen zu können, wurden ebenfalls alle FS als Reinsubstanzen im Additionsverfahren mit Pansensaft überprüft. Es waren keine Veränderungen im Vergleich zum ext. Standard festzustellen (s. Abb. 3.6).

3.4.11.7 Ergebnisse der Pansensaftuntersuchungen

Durch die genaue Zuordnung der Fettsäuremethylester (Peakfolge) zu den entsprechenden Retentionszeiten konnte bei Auswertung der Pansensaft-Chromatogramme eine sichere Fettsäuremethylesterbestimmung im Pansensaft für folgende FS-Methylester vorgenommen werden:

- | | | | |
|---------|---------------|---------------|------------|
| 1.) C6 | 5.) C16 | 9.) C18:2 c | 13.) C24:0 |
| 2.) C12 | 6.) C17 | 10.) C18:3 n3 | |
| 3.) C14 | 7.) C18 | 11.) C20:0 | |
| 4.) C15 | 8.) C18:1 c/t | 12.) C22:0 | |

Bei Betrachtung der Ergebnisse fielen sehr große Abweichungen der einzelnen Variationskoeffizienten auf (s. Tab. 3.11). Während sich die VK des internen Standards zwischen 1,14 % u. 4,19 % bewegten, wiesen die VK der nachgewiesenen Fettsäuremethylester (C6 - C24) im Pansensaft Unterschiede von bis zu 79 % auf (s. Tab. 3.11).

Da die ermittelten VK des internen Standards z. T deutlich unter 5 % lagen, konnte von einer konstanten präparativen Probenaufbereitung ab Einwaage der PAS-TS in die 16 % 160 mm langen Röhrchen (s. Abb. 3.4) ausgegangen werden. Die Fehlerquelle wurde in der Trocknung (ungenügende Trocknungszeit, dadurch bedingte Verdünnung des Pansensaftes) oder der unzureichenden Probenentnahme der 5 ml PAS aus den Bechergläsern vermutet (starke Entmischung des PAS bzw. mangelhafte Homogenisierung).

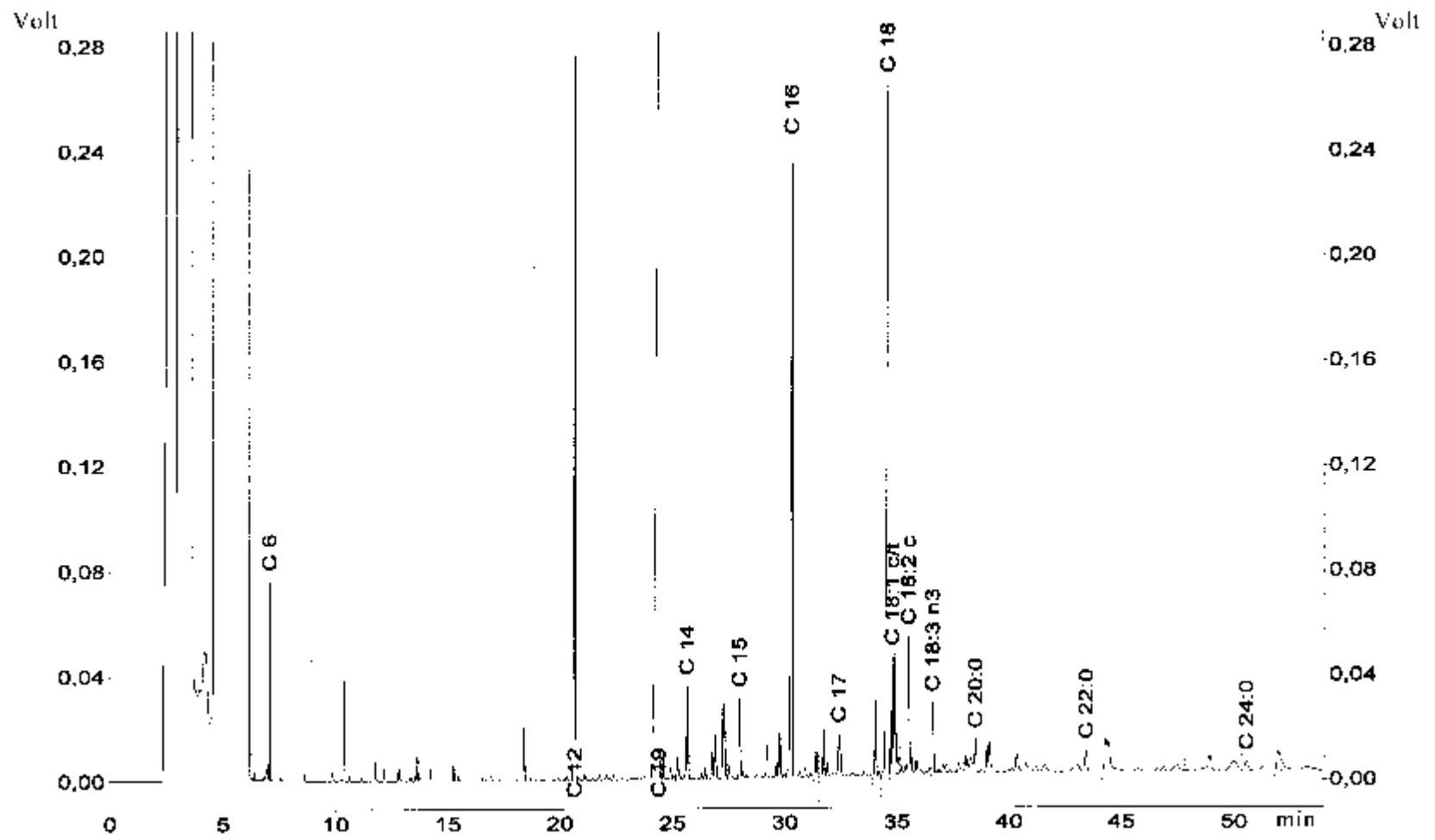


Abb. 3.6: Chromatogramm eines Pansensafts

Tab. 3.11: Variationskoeffizienten (VK, %) des unhomogenisierten PAS mit zugelegtem internen Standard

Pansensaft (n)	C6	C12	C14	C15	C16	C17	C18:0	C18:1 c / t	C18:2 c	C18:3 n3	C20:0	C22:0	C24:0	C19 (int. St.)
1 (5)	14,72	11,78	31,06	32,88	35,12	27,54	34,27	37,93	31,74	32,97	32,02	35,38	n. g.*	1,14
1 (5)	14,16	20,52	19,8	17,75	16,51	11,76	16,29	15,27	11,64	18,75	21,07	17,82	16,11	1,51
1 (5)	21,0	21,45	15,45	18,14	15,89	13,11	15,78	17,33	18,18	19,1	11,9	23,55	n. g.	1,56
1 (5)	4,21	11,52	7,06	5,82	8,32	14,62	13,21	9,02	7,86	9,44	30,03	10,92	n. g.	1,95
2 (4)	10,21	22,77	26,81	26,79	26,65	34,82	23,23	31,63	28,02	74,9	80,76	n. g.	n. g.	2,82
2 (5)	7,99	10,56	39,24	42,71	45,94	28,52	37,52	43,28	n. g.	27,81	36,77	37,18	n. g.	3,75
2 (5)	36,06	15,66	13,18	14,82	14,63	22,98	13,28	11,91	15,47	13,49	n. g.	n. g.	n. g.	2,72
2 (5)	12,25	11,28	5,04	6,4	4,61	3,93	4,18	4,84	6,78	7,38	10,05	7,14	n. g.	1,91
2 (5)	15,88	18,5	13,56	13,16	12,82	15,87	18,47	13,84	14,3	18,23	12,63	25,09	24,11	1,19
2 (5)	n. g.	11,98	11,97	12,25	14,16	18,37	13,42	14,81	n. g.	14,3	79,06	8,69	n. g.	1,67
3 (5)	21,07	21,78	16,53	16,24	14,67	17,98	16,09	15,15	12,64	11,65	14,12	15,22	n. g.	1,93
3 (5)	21,12	11,98	12,42	12,43	12,59	11,69	11,78	15,81	12,68	13,93	12,45	12,45	15,97	3,11
3 (5)	14,19	13,6	13,33	12,26	12,27	18,16	12,79	12,23	17,42	64,28	48,21	n. g.	n. g.	1,46
3 (5)	23,22	7,48	11,83	23,83	24,69	18,69	25,46	25,09	27,03	28,03	17,83	31,35	13,42	1,38
3 (5)	n. g.	13,51	10,17	14,03	11,91	13,16	10,81	12,12	10,88	10,96	59,92	n. g.	n. g.	2,06
4 (5)	6,39	10,46	9,61	10,67	12,99	10,28	12,84	13,77	18,1	20,53	20,8	20,21	58,08	2,69
4 (5)	14,17	8,89	31,23	31,75	43,41	36,73	55,9	50,34	n. g.	46,96	51,13	68,07	54,78	4,19
4 (4)	22,52	25,91	19,77	22,12	19,94	21,52	19,52	15,71	16,83	20,11	20,41	20,41	22,22	3,42
4 (4)	20,25	18,56	28,77	27,82	29,54	32,92	32,27	26,2	3,89	68,45	48,69	27,62	n. g.	3,20
4 (4)	8,50	8,43	8,84	8,67	8,59	10,36	8,91	11,13	10,14	10,56	8,15	7,02	6,18	1,51
4 (5)	n. g.	12,07	7,96	6,88	6,80	8,30	5,68	6,41	7,78	5,21	6,72	5,60	n. g.	3,00

* n. g. nicht gemessen, bzw. nicht erfasst
n = Anzahl der Messungen

Die Überprüfung der Trocknungsrate im Verlauf von 120 h (tägliche Rückwaage, s. Tab. 3.9) ergab, daß die Trocknungszeit von 24 h optimal gewählt war, die Abweichungen lagen zwischen 0,00 und 1,58 %.

Um Aussagen über Homogenisierungseffekte auf die Fettsäuremethylesterkonzentration machen zu können, wurde versucht, eine bessere Durchmischung (Homogenisierung) des PAS zu erreichen. Dazu wurden die Pansensäfte, nachdem sie in Bechergläser gefüllt worden waren, über einen Zeitraum von 2 min mit einem Dispergierer (39000 Umdrehungen/min) homogenisiert. Die anschließende Probenentnahme von 5 ml PAS fand unter ständigem Rühren (Magnetrührer) statt.

Die Homogenisierung der Pansensäfte führte zu einer erheblichen Reduzierung der Variationskoeffizienten der einzelnen Fettsäuren. Sie lagen nunmehr in Bereichen zwischen 1,29 % und 20,3 % (s. Tab. 3.12). Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Fettsäuremethylester (C6 – C24) sind der Tab. 3.13 zu entnehmen.

3.4.11.8 Abschließende Wertung

Die Genauigkeit der Methode (Variationskoeffizient der Präzision in Serie des internen Standards von 1,19 % bis 4,19 %) erwies sich als sehr gut. Dies spricht für eine konstante Probenaufbereitung, Extraktion bzw. Methylierung der FS.

Die hohen Variationskoeffizienten in unhomogenisiertem Pansensaft (PAS) wurden durch Homogenisierungsschritte mit Hilfe eines Dispergierers auf Werte zwischen 1,29 % und 20,3 % vermindert. Dennoch sind für manche Methylester (C17, C18:2c u. C20) hohe Variationskoeffizienten zu erwarten (vgl. Tab. 3.12). Mit den zur Verfügung stehenden Mitteln ließen sich diese nicht weiter senken. Niedrigere VKs sind bei Durchführung einer intensiveren Homogenisierung mittels kleinerer Schneidmesser im Dispergierer durchaus denkbar. Die Probenziehung (5 ml) unter fortwährendem Rühren für die Trocknung erwies sich als geeignet, eine zu starke Entmischung vor der Probengewinnung und damit eine Verfälschung der Ergebnisse zu verhindern.

Die erarbeitete Methode eignet sich sehr gut zur Messung mittel- und langkettiger Fettsäuren (C6 – C24) im Pansensaft, bei einfacher Probenaufbereitung, geringem Apparateaufwand, und gleichzeitig rascher Durchführbarkeit (bis zu 60 Proben/Tag). Somit wurden die in Kap. 3.4.11.1 genannten Zielsetzungen unter den bestehenden Bedingungen erreicht.

Tab. 3.12: Vergleich der FS-Methylsäureester-VKs im homogenisierten PAS zu unhomogenisiertem PAS

FS	Gruppe 1 (n = 4)	Gruppe 2 (n = 4)	Gruppe 3 (n = 4)	Gruppe 4 (n = 4)	Gruppe 5 (n = 12)	Gruppe 6 (n = 4)
C 6	2,85	4,88	4,24	6,44	4,95	5,41
C12	2,44	4,90	4,90	6,75	3,86	5,33
int. St. C19	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
C14	5,06	3,63	6,66	7,91	3,87	5,40
C15	4,81	2,97	7,10	6,83	5,08	5,40
C16	4,47	1,80	6,77	7,07	5,52	6,10
C17	2,95	2,04	3,13	12,95	1,94	12,11
C18	4,19	1,68	4,87	6,07	5,16	5,62
C18:1c/t	5,10	1,29	5,44	8,10	5,28	6,67
C18:2c	4,20	2,48	6,52	13,57	6,78	11,45
C18:3 n3	7,64	5,58	4,46	4,73	5,77	7,07
C20	2,47	20,31	14,76	22,34	5,14	8,90
C22	2,47	2,18	5,46	7,62	6,76	5,84
C24	1,91	7,57	9,52	9,74	10,07	9,39

grau hinterlegt: unhomogenisierter PAS

3.5 Statistische Berechnung

Alle Versuchsdaten wurden durch das Datenbankprogramm dBASE III plus[®] (Ashton Tate) erfaßt, mit Hilfe des Programms SPSS (Datenverarbeitungsprogramm SPSS-PC-Inc Chicago[®]) und für folgende Berechnungen herangezogen:

- T-Test für abhängige Stichproben
[T-Test PAIRS = ...]

Das verwendete Verfahren lieferte die folgenden Aussagen:

- Mittelwerte (x) und Standardabweichungen (s) für beide Fermentergruppen (KF/FSA)
- Signifikanzen (p)

Meßergebnisse aus einzelnen Fermentern der entsprechenden Fermenterpaare (KF und FSA) zum gleichen Zeitpunkt (Tag, Stunde), dem gleichem Entnahmeort (Fermenter, Überstand) und gleichen Fraktion (u. a. PPB₁, BB₁, BfB₁) während der Läufe (1 - 5) mit und ohne Sulfatzulage wurden zum arithmetischen Mittelwert zusammengefaßt und miteinander verglichen.

Tab. 3.13: Vergleich der Mittelwerte (mmol/l) und Standardabweichungen (mmol/l) der FS-Methylsäureester aus homogenisiertem und unhomogenisiertem PAS

	C 6	C12	C19	C14	C15	C16	C17	C18	C18:1c/t	C18:2c	C18:3 n3	C20	C22	C24
Gruppe 1														
\bar{x} *	162,10	434,00	100,00	32,43	22,32	198,03	16,03	198,34	13,60	20,56	13,94	5,58	5,58	4,15
s **	4,63	10,61	0,00	1,64	1,07	8,86	0,47	8,31	0,69	0,86	1,07	0,14	0,14	0,08
Gruppe 2														
\bar{x}	215,21	603,64	100,00	56,26	38,19	360,83	33,10	378,91	24,22	49,14	35,50	16,43	9,56	9,21
s	10,50	29,57	0,00	2,04	1,13	6,48	0,68	6,36	0,31	1,22	1,98	3,34	0,21	0,70
Gruppe 3														
\bar{x}	270,81	764,51	100,00	59,23	41,08	377,28	31,43	363,44	25,92	47,76	32,56	15,48	9,98	9,26
s	11,49	37,45	0,00	3,94	2,92	25,53	0,98	17,71	1,41	3,11	1,45	2,28	0,55	0,88
Gruppe 4														
\bar{x}	261,67	729,64	100,00	59,23	40,41	368,59	31,32	367,53	24,39	45,63	29,61	15,30	9,41	8,72
s	16,84	49,28	0,00	4,69	2,76	26,07	4,06	22,32	1,98	6,19	1,40	3,42	0,72	0,85
Gruppe 5														
\bar{x}	281,67	838,11	100,00	70,33	48,25	405,60	34,55	398,00	24,35	54,91	40,88	12,43	11,76	10,48
s	13,95	32,36	0,00	2,72	2,45	22,40	0,67	20,53	1,29	3,72	2,36	0,64	0,80	1,06
Gruppe 6														
\bar{x}	262,39	776,44	100,00	68,07	45,15	381,52	35,50	393,71	23,71	51,62	36,39	13,89	12,68	11,56
s	14,20	41,40	0,00	3,67	2,59	23,28	4,30	22,12	1,58	5,91	2,57	1,24	0,74	1,08

* \bar{x} : Mittelwert
 ** s: Standardabweichung
 grau hinterlegt: unhomogenisierter PAS
 C19: interner Standard

4. Ergebnisse

In der folgenden Darstellung der Ergebnisse werden die Kontrollfermenter 1 und 2 als „KF“, die Zulagefermenter 3 und 4 als „FSA“ bezeichnet. Die signifikanten Differenzen „p-KSA“ zwischen Kontroll- und Versuchsfermentern werden je nach Signifikanzgrad mit * ($\leq 0,05$); ** ($\leq 0,01$); *** ($\leq 0,001$; s. a. Legenden) dargestellt. Mittelwerte und Streuungen sind dem Anhang (Tab. 9.1 – 9.50) zu entnehmen.

4.1 pH-Wert (s. Abb. 4.1 u. Tab. 9.1)

Nach Erreichen des steady state (Tag 7) bewegten sich die pH-Werte in den KF und FSA bis zum 11. Versuchstag auf ähnlichem Niveau (pH 6,72 - 6,77). Unter Sulfateinfluß nahm der pH-Wert der FSA um 0,09 Einheiten zu (bis Tag 17), fiel zwischen dem 18. und 20. Versuchstag kontinuierlich ab und lag während dieser Zeit oberhalb der KF (0,29 % - 1,32 %; p-KSA: Tag 14 $\leq 0,05$; Tag 15 $\leq 0,01$; Tag 17 $\leq 0,01$; Tag 18 - 20 $\leq 0,05$).

Im Nachlauf lagen die FSA-Gehalte zwischen 0,03 und 0,05 pH-Einheiten unter denen der KF, insgesamt aber im Bereich des Vorlaufes.

Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,03 und 0,24.

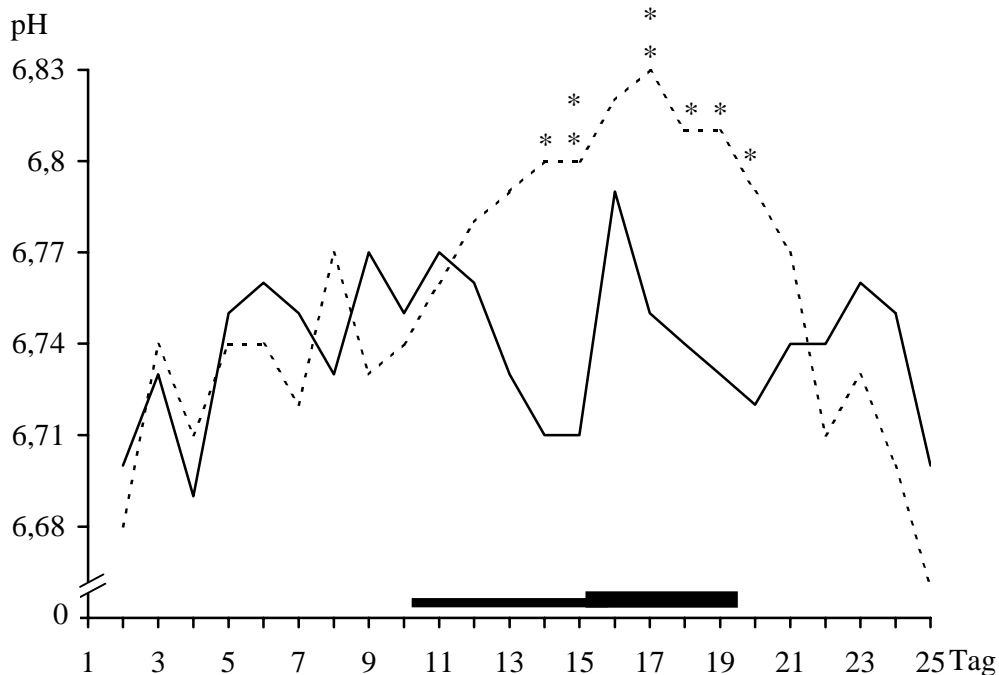


Abb. 4.1: pH-Werte im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---), Na₂SO₄-Zulage (—), Na₂SO₄- und Thiaminzulage (—); n = 5.

* = p-KSA $\leq 0,05$; * = p-KSA $\leq 0,01$; * = p-KSA $\leq 0,001$

4.2 Ammoniakkonzentrationen (s. Abb. 4.2 u. Tab. 9.2)

Die Ammoniakkonzentrationen lagen von Tag 7 (steady state) bis zum Versuchsende in beiden Fermentergruppen zwischen 15,8 und 19,7 mmol/l. Sie wurden durch keine der Zulagen beeinflusst (vgl. Kap.5.5.2).

Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 1,03 und 8,13 mmol/l.

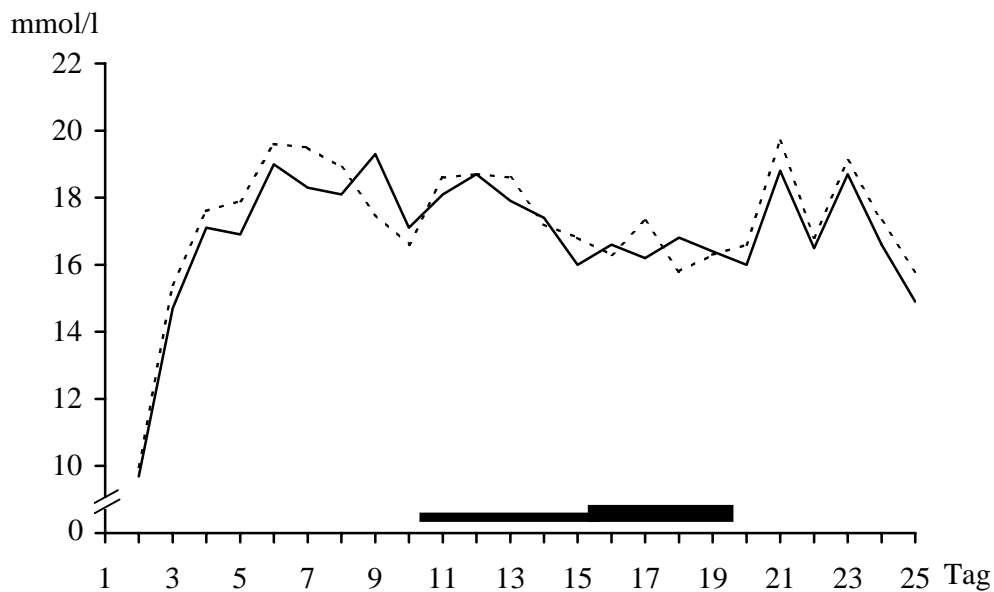


Abb. 4.2: Ammoniakkonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.3 Gasproduktion (s. Abb. 4.3 u. Tab. 9.3)

Alle Fermenter unterlagen nach Erreichen des steady state zum Teil erheblichen Schwankungen in der täglichen Gasproduktion. Die einzelnen Volumina bewegten sich im Bereich zwischen 2369 und 2701 ml, wobei die Bildung in den FSA während des gesamten Versuchslaufes etwas niedriger war (- 1,13 %; ns).

Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 32,9 und 290 ml.

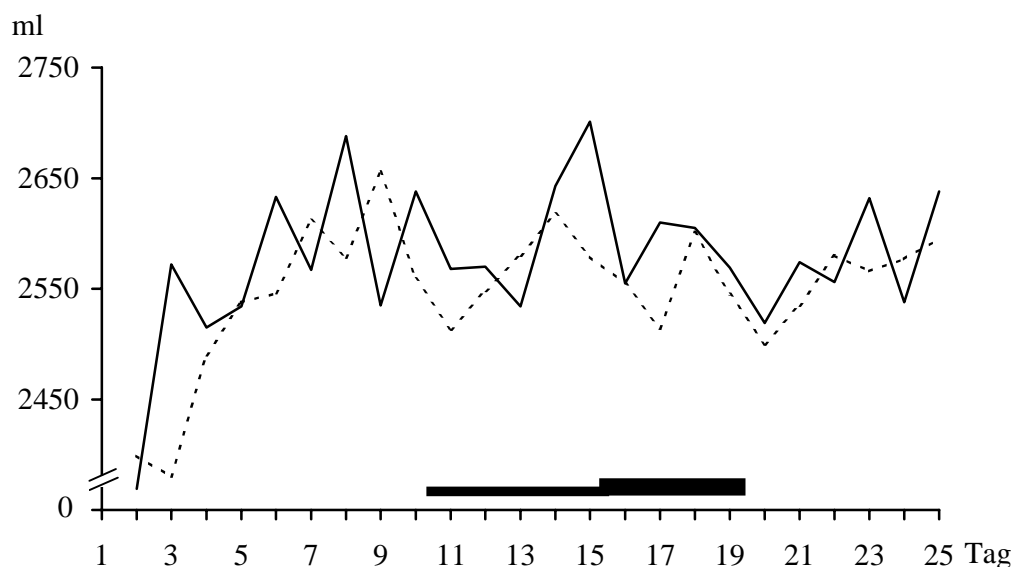


Abb. 4.3: Gasproduktion (ml) im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.4 Methananteil an der Gasproduktion (s. Abb. 4.4 u. Tab. 9.4)

Nach Erreichen des steady state variierten die Methanwerte in den KF und den FSA zwischen 7,61 und 8,12 Vol%, wobei die FSA-Konzentration bis zu 5,9 % unter der der KF lag (Tag 10 - 12: $p\text{-KSA} \leq 0,05$).

Die KF-Methankonzentration blieb bis zum Versuchsende weitestgehend konstant, für die FSA nahm sie dagegen bis zum 15. Tag unter Sulfatwirkung stetig ab (- 22 %), entwickelte zwischen dem 17. und 19. Tag ein Plateau (5,51 – 5,55 Vol%, Abnahme zwischen Tag 15 – 19 um weitere 7,2 % bei zusätzlicher Thiamingabe) und stieg im Nachlauf wieder deutlich an. Die FSA-Gehalte lagen während der gesamten Zulagephase bis zu 33,2 % unterhalb der KF-Werte ($p\text{-KSA}$: Tag 13 $\leq 0,001$; Tag 15 – 17 $\leq 0,001$; Tag 18 $\leq 0,01$; Tag 19 $\leq 0,001$).

Im Nachlauf konnten die FSA weder die Ausgangs- noch die KF-Werte erreichen (- 4,9 %, bzw. - 18,2 %; $p\text{-KSA}$: Tag 20 $\leq 0,01$; Tag 21 $\leq 0,05$; Tag 23 $\leq 0,001$; Tag 25 $\leq 0,05$).

Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,26 und 1,18 Vol%.

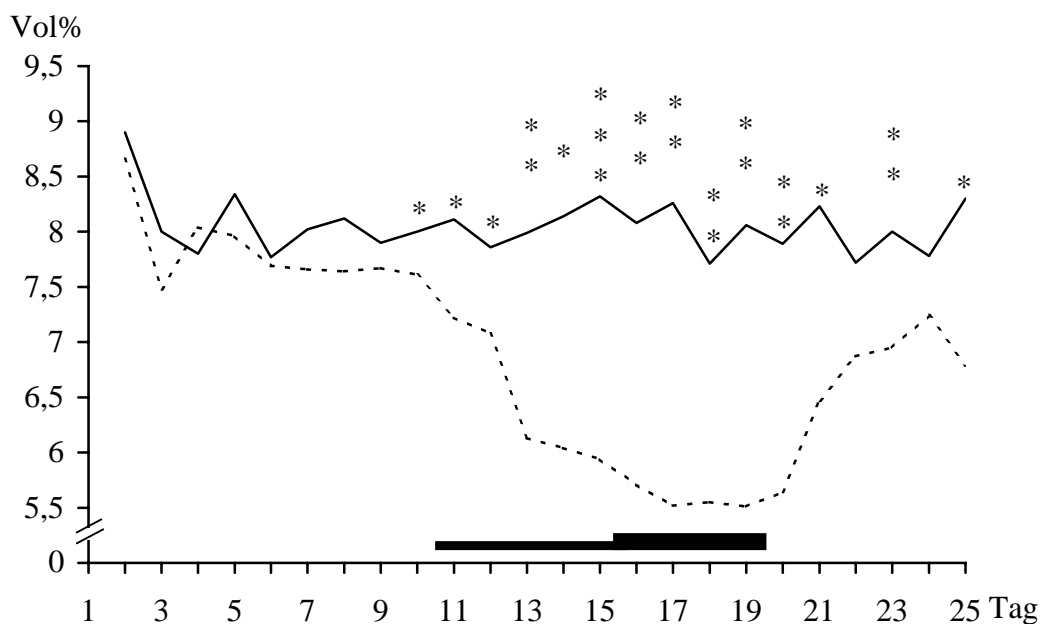


Abb. 4.4: Methananteil (Vol%) an der Gasproduktion im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.5 Wasserstoffanteil an der Gasproduktion * (s. Abb. 4.5 u. Tab. 9.25)

- * Die Angabe des Wasserstoffanteils an der Gasproduktion erfolgt nicht wie die übrigen Gase in Vol%, sondern in mm^2 . Ursache dafür ist, daß im verwendeten Eichgas aufgrund mangelnder Stabilität kein Wasserstoff vorhanden ist. Die gaschromatographische Vol%-Bestimmung erfolgte über die Identifizierung der H_2 -Peakfläche. [1 mm^2 entspricht 1 E (Einheit); s. auch 3.4.4].

Während der Kontrollphase lagen die KF-Werte zwischen 26,7 und 29,7 E, die der FSA waren im Vergleich bis zu 27,8 % erhöht. Unter Sulfateinfluß fielen die KF-Gehalte um 12,7 % ab, während die der FSA deutlich um 62,5 % anstiegen ($p\text{-KSA: Tag } 12 \leq 0,05$). In der zweiten Zulagephase sank die KF-Konzentration um weitere 48,5 %, die der FSA legte abermals zu (+ 63,7 %). Insgesamt lagen die Wasserstoffanteile (KF) zwischen 25 und 202 % unter den FSA-Anteilen.

Im Nachlauf nahm die Wasserstoffkonzentration in allen Fermenterpaaren deutlich ab, so war sie in den KF durchschnittlich um bis zu 37,4 % niedriger als in der Kontrollphase, die FSA-Gehalte entsprechend um 20,9 %. Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 1,41 und 38,6 E.

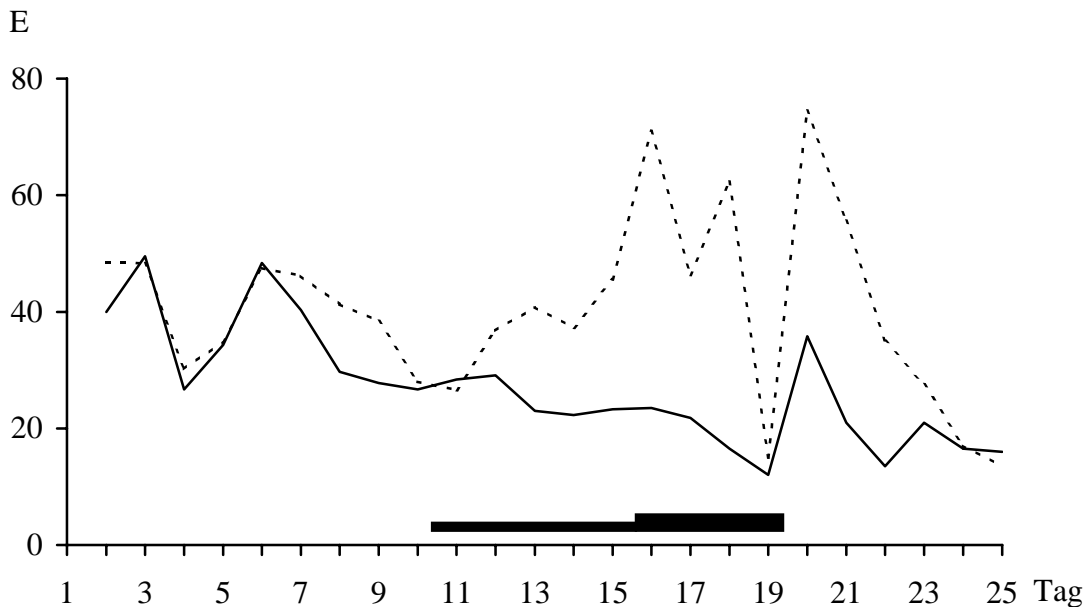


Abb. 4.5: Wasserstoffanteil ($E = \text{mm}^2$) an der Gasproduktion während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.6 Proteinkonzentrationen (s. Abb. 4.6 u. Tab. 9.26)

Nach Erreichen des steady state lagen die Proteinkonzentrationen der beiden Fermenterpaare zwischen 230 und 299 $\mu\text{g/ml}$, die FSA-Konzentrationen waren bis zu 17 % gegenüber den KF vermindert.

Die Sulfatzulage bewirkte in den FSA während der ersten Phase einen Konzentrationsanstieg von 42,5 % (p-KSA: Tag 15 u. 13 $\leq 0,05$; Tag 14 $\leq 0,01$; Tag 15 $\leq 0,05$) und unter Thiamineinfluß um weitere 26,0 % (Tag 18), die der KF betrug unter Thiamingabe 13,9 % (p-KSA: Tag 17 – 19 $\leq 0,05$).

Die KF-Konzentration stieg im Nachlauf noch einmal an und lag durchschnittlich 11,8 % über dem Niveau der Kontrollphase, währenddessen fiel die Proteinkonzentration in den FSA kontinuierlich, lag aber gegen Versuchsende noch mit 31,5 % über dem mittleren Kontrollphasenniveau.

Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 2,77 und 163 $\mu\text{g/ml}$.

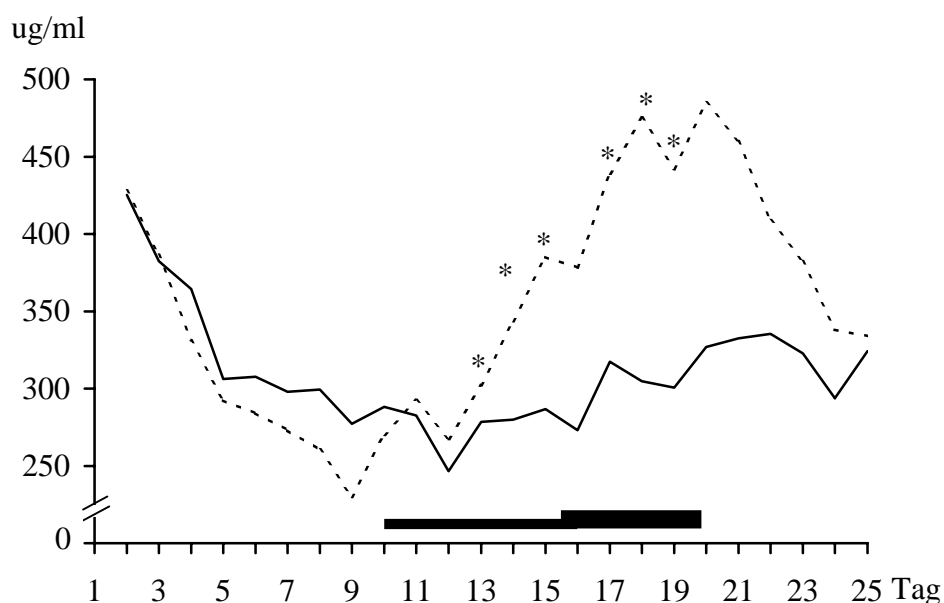


Abb. 4.6: Proteinkonzentration ($\mu\text{g/ml}$) im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.7 Cellulaseaktivität (s. Abb. 4.7 u. Tab. 9. 27)

Während der Kontrollphase bewegte sich die Cellulaseaktivität in allen Fermentern zwischen 33,7 und 54,2 U/l.

Unter Sulfateinfluß fiel die Aktivität in den FSA-Fermentern deutlich um 67,3 % (Tag 10 – 14), in den KF stieg sie dagegen geringgradig um 5,04 % an (p-KSA: Tag 15 \leq 0,05). Unter Thiamingabe kristallisierte sich ein gegensätzlicher Verlauf heraus: die Aktivität steigerte sich in den FSA-Fermentern um 166 % (Tag 14 – 19), in den KF-Fermentern sank sie gleichzeitig um 21,9 %. Bis zum Versuchsende unterlagen beide Fermenterpaare täglichen Schwankungen (zwischen 19,5 und 45,7 U/l). Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 6,59 und 36,3 U/l.

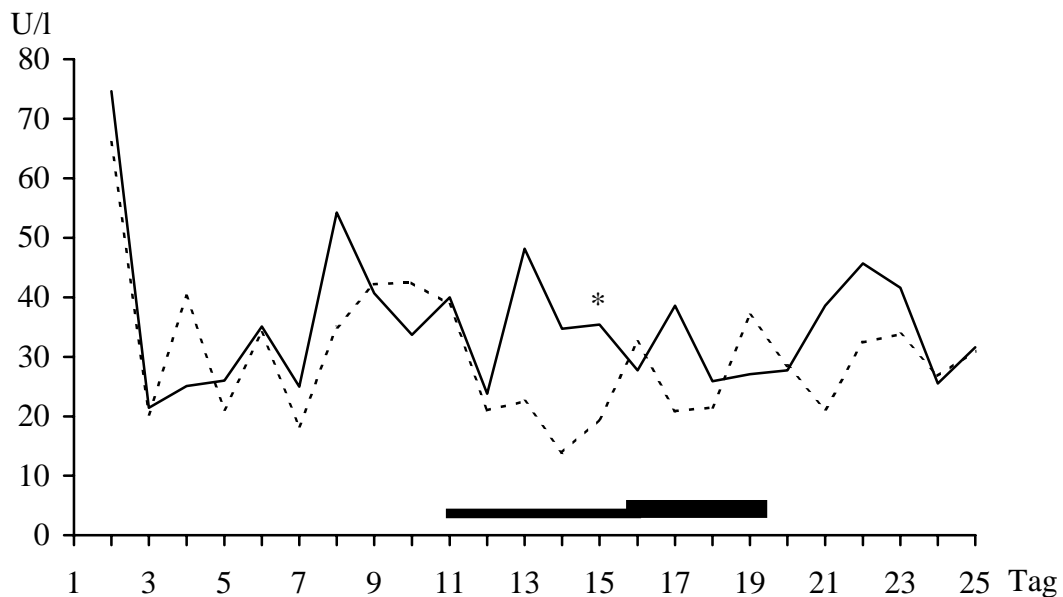


Abb. 4.7: Cellulaseaktivität (U/l) im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.8 Essigsäurekonzentrationen

Überstand (s. Abb. 4.8.1 u. Tab. 9.10)

Die Essigsäurekonzentrationen bewegten sich in der Kontrollphase zwischen 57,9 und 62,5 mmol/l (FSA - 3,2 % gegenüber KF).

Während sich die KF-Gehalte in der ersten Zulagephase nahezu konstant verhielten, lagen sie in der zweiten Zulagephase 6 % unter dem Niveau der Kontroll- und Nachlaufphase.

Die FSA-Werte verminderten sich unter der Sulfatgabe um bis zu 9,4 % (Tag 15; p-KSA: Tag 14 u. 15 $\leq 0,01$) und während der zweiten Zulagephase um weitere 6,75 % (Tag 19: insgesamt 16,2 %; p-KSA: Tag 16 u. 18 $\leq 0,05$; Tag 19 $\leq 0,01$). Im Nachlauf erreichten die FSA wieder das Kontrollphasenniveau (p-KSA: Tag 21 $\leq 0,01$).

Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 1,41 und 8,56 mmol/l.

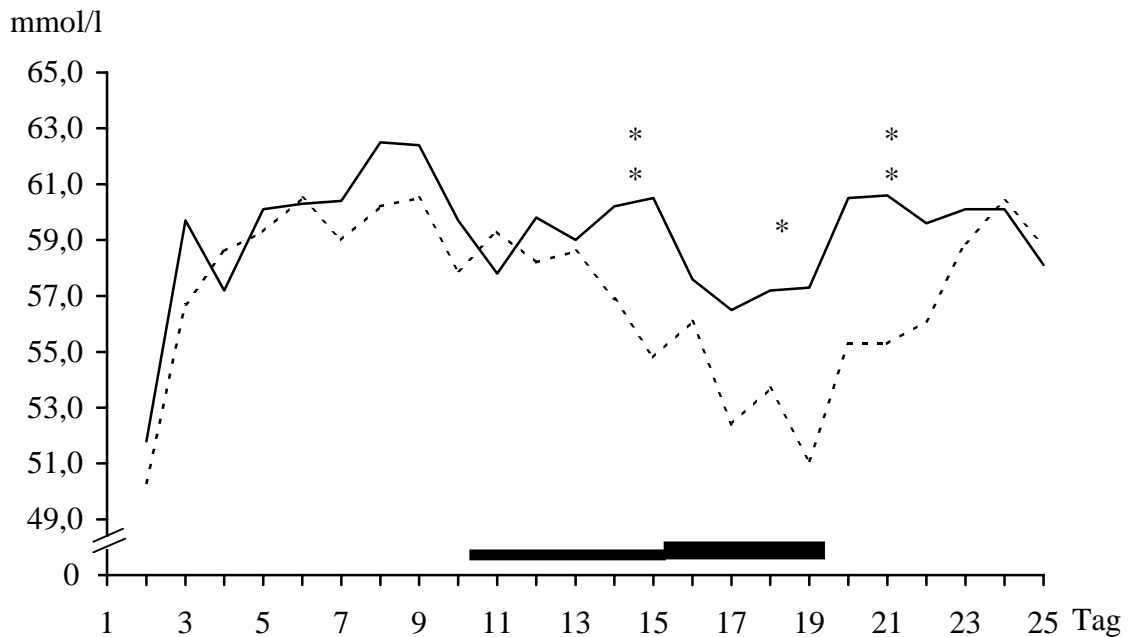


Abb. 4.8.1: Essigsäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Abb. 4.8.2 u. Tab. 9.9)

Die Essigsäurekonzentrationen der Fermenter waren in beiden Fermenterpaaren fast identisch (FSA: + 0,3 % gegenüber KF).

Sie bewegten sich in den KF bis zum Versuchsende auf dem Niveau der Kontrollphase (60,3 bis 65,8 mmol/l), wobei die Konzentrationen an den Tagen 16 und 19 kurzfristig abfielen (58,9 und 57,3 mmol/l).

In den FSA stellten sich bis zum Ende des Versuchsdurchlaufs entweder dieselben Konzentrationen wie in den KF ein oder lagen bis zu 13,5 % unterhalb dieser (Tag 18). Eine Ausnahme bildeten Tag 11 und Tag 19, mit 1,8 % bzw. 3,5 % höheren KF-Konzentrationen (p -KSA: Tag 15 $\leq 0,01$; Tag 17 u. 18 $\leq 0,05$). Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 1,44 und 12,1 mmol/l.

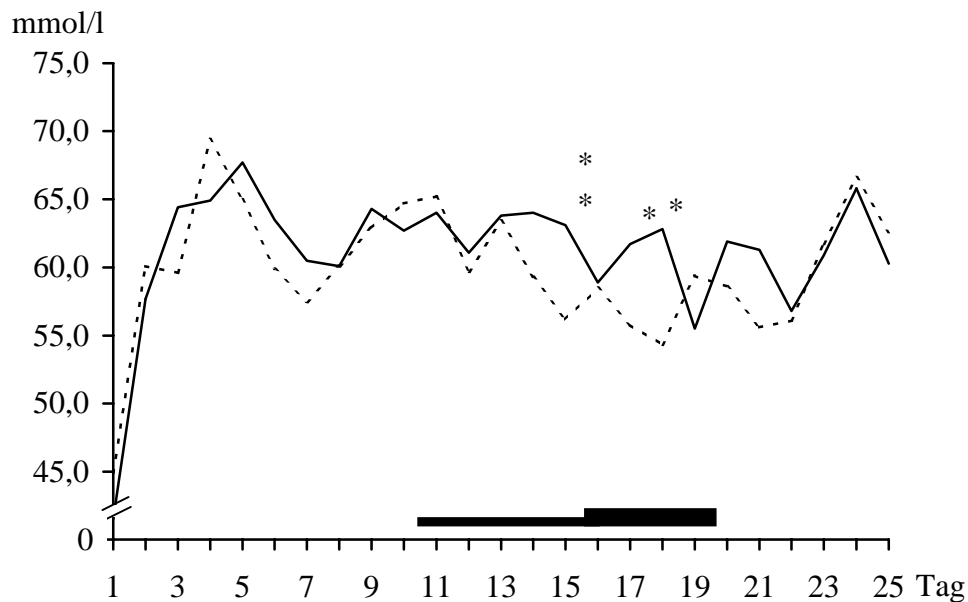


Abb. 4.8.2: Essigsäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.9 Propionsäurekonzentrationen

Überstand (s. Abb. 4.9 u. Tab. 9.12)

Nach anfänglich starker Zunahme fielen die Propionsäuregehalte beginnend vom 3. Tag (KF) bzw. 4. Tag (FSA) kontinuierlich von 23,1 und 22,7 mmol/l auf 17,3 (KF: Tag 11) bzw. 16,6 mmol/l (FSA: Tag 12) ab. Die Konzentrationen der FSA lagen dabei bis zu 7,6 % unterhalb der der KF (p -KSA: Tag 9 $\leq 0,01$).

Während der Sulfatzulage blieben die Konzentrationen in den KF konstant zwischen 17,3 – 17,5 mmol/l, nahmen unter Thiamineinfluß um 18,3 % auf 20,7 mmol/l (Tag 20) zu, und fielen im Nachlauf langsam auf Kontrollphasenniveau ab, bzw. lagen mit 4,6 % geringgradig darüber.

Die Propionsäurekonzentrationen der FSA bewegten sich vom 12. bis zum 17. Tag zwischen 16,6 und 17,6 mmol/l und wiesen bis zu 5,1 % niedrigere Werte als die der KF-Gehalte auf (Ausnahme: Tag 13: + 1,7 %). Ab Tag 17 stiegen die Propionsäurewerte in den FSA deutlich um 19,4 % bis zum 20. Versuchstag an.

Die FSA-Gehalte verliefen vom 16. bis zum 20. Tag zwischen 0,57 und 9,14 % unterhalb der KF-Werte und ab Tag 20 bis zu 15,0 % oberhalb dieser.

Im Durchschnitt lagen die Konzentrationen der FSA im Nachlauf 23,2 % über den entsprechenden Werten der Kontrollphase (ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 0,71 und 7,44 mmol/l.

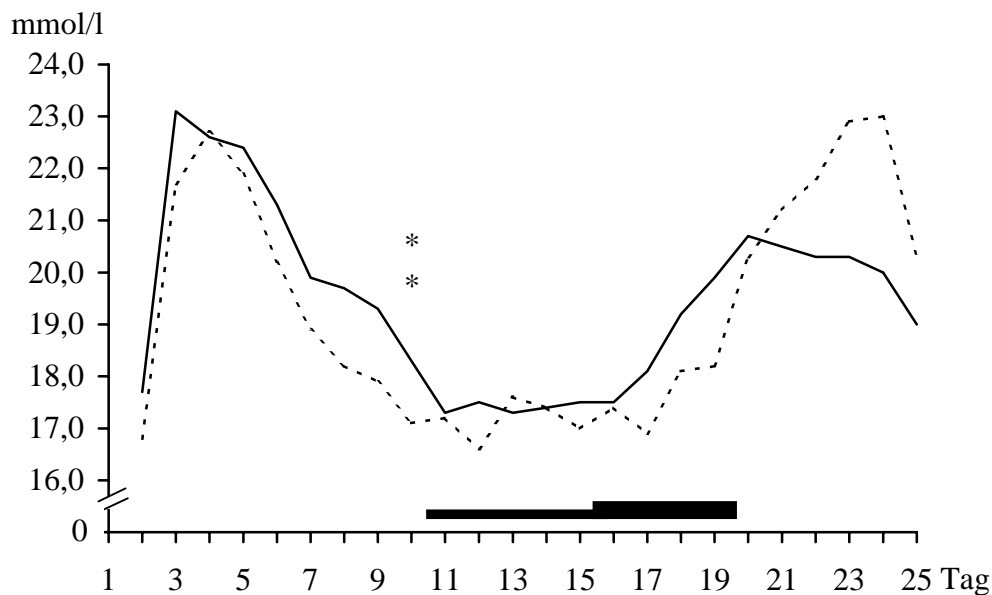


Abb. 4.9: Propionsäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in- vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Tab. 9.11)

Die FSA-Werte lagen während der Kontrollphase zwischen 3,1 und 6,2 % unter den KF-Gehalten (p-KSA: Tag 7 \leq 0,05; der Kurvenverlauf entsprach weitgehend dem des Überstandes).

Im Gegensatz zum Überstand stiegen die Konzentrationen der Propionsäure in beiden Fermenterpaaren bis zum 24. Versuchstag an (KF: 22,9 mmol/l; FSA: 25,4 mmol/l). Ab Tag 19 lagen die Propionsäurekonzentrationen der FSA bis zu 13,8 % über denen der KF (ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 0,63 und 6,12 mmol/l.

4.10 i-Buttersäurekonzentrationen

Überstand (s. Abb. 4.10 u. Tab. 9.14)

Nach Erreichen des steady state bewegten sich die Konzentrationen der i-Buttersäure bis zum Ende der ersten Zulagephase zwischen 0,70 und 0,75 mmol/l (p-KSA: Tag 7 u. 9 \leq 0,05).

Die Konzentrationen waren in beiden Fermenterpaaren während der Sulfazulage nahezu identisch, unter Thiamineinfluß stiegen sie bis zum 20. Versuchstag in den FSA auf 0,83 mmol/l (+ 16,9 %) und in den KF auf 0,77 mmol/l (+ 6,94 %) an.

Vom 18. bis zum 20. Tag waren die Konzentrationen der FSA im Vergleich zu denen der KF zwischen 2,85 und 15,5 % höher (ns). Im Nachlauf lagen die i-Buttersäuregehalte der FSA ebenso wie die der KF auf dem Niveau der Kontrollphase. Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 0,05 und 0,29 mmol/l.

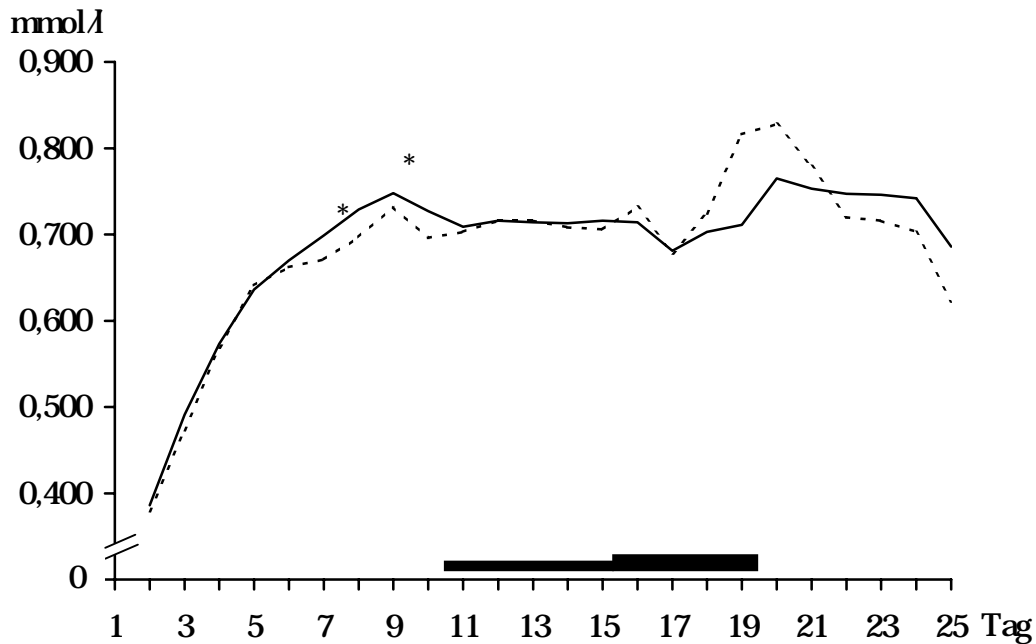


Abb. 4.10: i-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Tab. 9.13)

Die Konzentrationen der i-Buttersäure waren fast identisch mit denen der Überstände, wenn auch auf etwas höherem Niveau (Tag 8 - 10: 0,75 – 0,89 mmol/l).

Mit Beginn der zweiten Zulagephase (Tag 16) lagen die i-Buttersäurewerte der FSA 3,13% über denen der KF und steigerten sich bis zum 19. bzw. 20. Tag auf 15,3 % und 7,94 % (ns).

Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,05 und 0,98 mmol/l.

4.11 n-Buttersäurekonzentrationen

Überstand (s. Abb. 4.11 u. Tab. 9.16)

Die n-Buttersäurekonzentrationen bewegten sich in der Kontrollphase zwischen 16,7 und 17,8 mmol/l, die FSA-Gehalte waren im Durchschnitt 3,39 % niedriger als die der KF (p-KSA: Tag 8 \leq 0,05).

Die KF-Werte blieben bis zum Versuchsende konstant (17,0 – 18,1 mmol/l), mit einer Ausnahme am 19. Versuchstag (16,3 mmol/l). Die Konzentrationen der FSA zeigten unter der Sulfatgabe einen Anstieg von 7,2 % und während der Thiaminzulage eine weitere Zunahme von 2,79 % (p-KSA: Tag 11, 12 u. 15 - 18 \leq 0,05; Tag 13 u. 14 \leq 0,01). Im Nachlauf fielen

die n-Buttersäurekonzentrationen der FSA allmählich ab, lagen am 24. Tag mit 12,2 % unterhalb der KF-Gehalte und 7,00 % unter denen der entsprechenden Kontrollphasenwerte. Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 0,49 und 3,72 mmol/l.

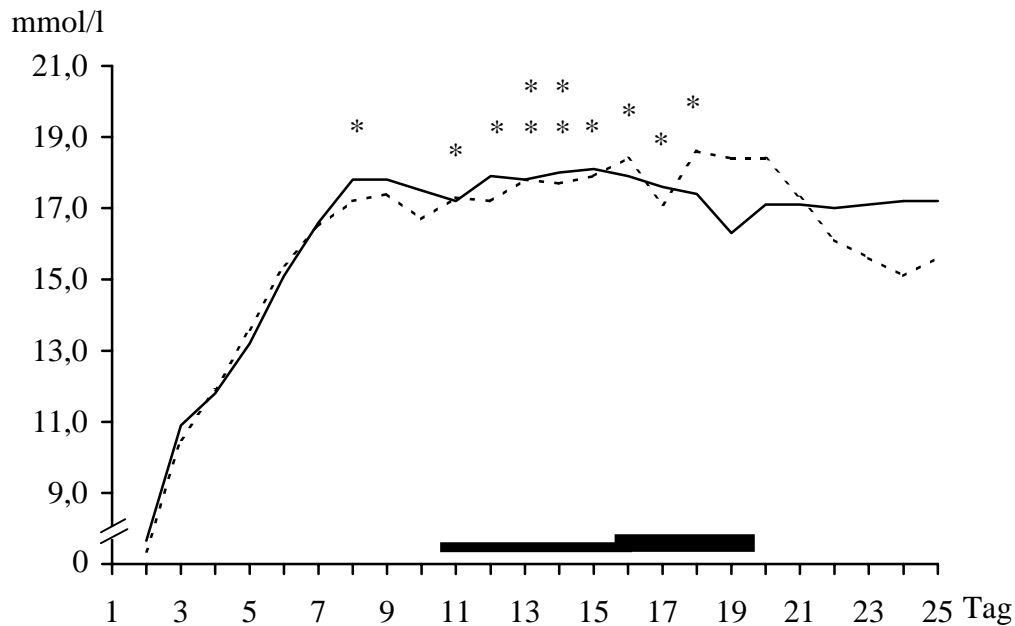


Abb. 4.11: n-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Tab. 9. 15)

Die n-Buttersäureverläufe aller Fermenterpaare entsprachen denen der Überstände auf höherem Niveau (Kontrollphase: 17,8 - 19,0 mmol/l).

Während der Sulfatgabe lagen die FSA-Konzentrationen oberhalb der der KF (bis 3,48 %; p-KSA: Tag 19 \leq 0,05). Im Nachlauf waren die FSA-Werte um 8,20 % niedriger als in der Kontrollphase und lagen 9,19 % unter denen der KF. Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 0,91 und 6,12 mmol/l.

4.12 i-Valeriansäurekonzentrationen

Überstand (s. Abb. 4.12 u. Tab. 9.18)

Nach Erreichen des steady state verliefen die i-Valeriansäure-Konzentrationen beider Fermentergruppen zwischen 3,64 und 3,83 mmol/l.

In den KF veränderten sich die Konzentrationen während der ersten Zulagephase nicht, unter dem Einfluß der Thiaminzulage gingen die Werte um 12,7 % zurück, im Nachlauf lagen die Gehalte 12,8 % unter denen der Kontrollphase.

In den FSA gingen die i-Valeriansäurekonzentrationen bis zum 17. Tag um 38,3 % gegenüber den KF zurück (innerhalb der FSA-Fermenter um 37,5 %) und nahmen auch unter der Vit-B₁-Gabe um weitere 13,9 % ab (p-KSA: Tag 12 ≤ 0,05; Tag 13 ≤ 0,01; Tag 14 ≤ 0,000; Tag 15 u. 16 ≤ 0,001; Tag 17 ≤ 0,01; Tag 18 ≤ 0,001). Im Nachlauf (ab Tag 21) wurden geringgradige Zunahmen in den FSA sichtbar, so wiesen die FSA-Gehalte gegen Versuchsende nur noch eine Differenz von 15,5 % gegenüber den KF auf (p-KSA: Tag 20 - 22 ≤ 0,01; Tag 23 u. 24 ≤ 0,05). Das Niveau der Kontrollphase wurde nicht erreicht, die Konzentrationen lagen gegen Versuchsende im Durchschnitt mit etwa 37,9 % unter den entsprechenden Kontrollphasenwerten. Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 0,11 und 0,99 mmol/l.

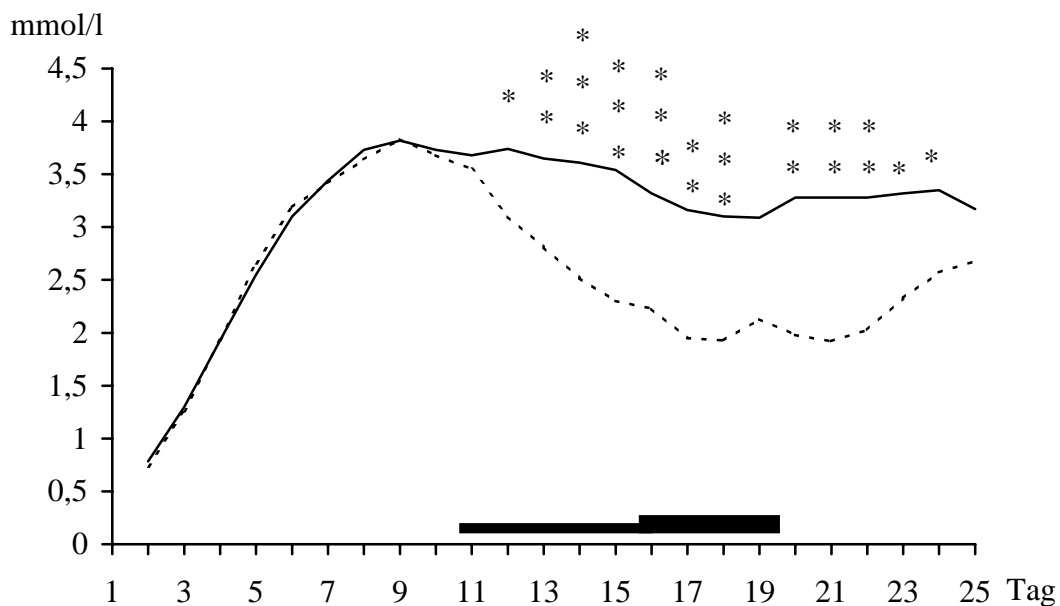


Abb. 4.12: i-Valeriansäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Tab. 9. 17)

Der Kurvenverlauf der i-Valeriansäure in den Fermentern war dem der Überstände sehr ähnlich, das Niveau lag aber geringgradig höher (Tag 8 - 10: 4,09 – 4,42 mmol/l). Die Abnahme der FSA-Konzentrationen betrug 31,8 % (Tag 15) bzw. 43,4 % (Tag 20) gegenüber den KF-Fermentern (p-KSA: Tag 12 \leq 0,05; Tag 13 u. 14 \leq 0,001; Tag 15 \leq 0,000; Tag 16 - 18 \leq 0,01; Tag 19 \leq 0,05; Tag 20 \leq 0,01). Gegen Versuchsende betrug die Differenz zwischen den FSA- und KF-Fermentern nur noch 11,9 % (p-KSA: Tag 21 – 24 \leq 0,05). Im Nachlauf lagen die FSA-Werte 34,1 % unter denen der Kontrollphase. Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 0,15 und 1,45 mmol/l.

4.13 n-ValeriansäurekonzentrationenÜberstand (s. Abb. 4.13 u. Tab. 9.20)

In der Kontrollphase bewegten sich die n-Valeriansäurekonzentrationen der Überstände zwischen 2,80 und 3,01 mmol/l. Die KF-Konzentrationen blieben bis zum Versuchsende relativ konstant (durchschnittlich 7,14 - 8,8 % geringere Konzentrationen gegenüber der Kontrollphase).

Währenddessen stiegen die n-Valeriansäuregehalte der FSA in der ersten Zulagephase um 21,5 % (Tag 15) und bis zum 23. Versuchstag auf insgesamt 33,5 % gegenüber den KF an, (innerhalb der FSA-Fermenter entsprechend um 15 % bzw. 23,3 %) um in den letzten Versuchstagen auf 3,22 mmol/l abzufallen (25. Tag: + 18,6 % oberhalb der KF und + 23,9 % über entsprechenden Kontrollphasenwerten; p-KSA: Tag 18, 20 u. 21 \leq 0,05; Tag 19, 22 u. 23 \leq 0,01; Tag 22 u. 23 \leq 0,01; Tag 24 = 0,000; Tag 25 \leq 0,05). Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 0,15 und 1,20 mmol/l.

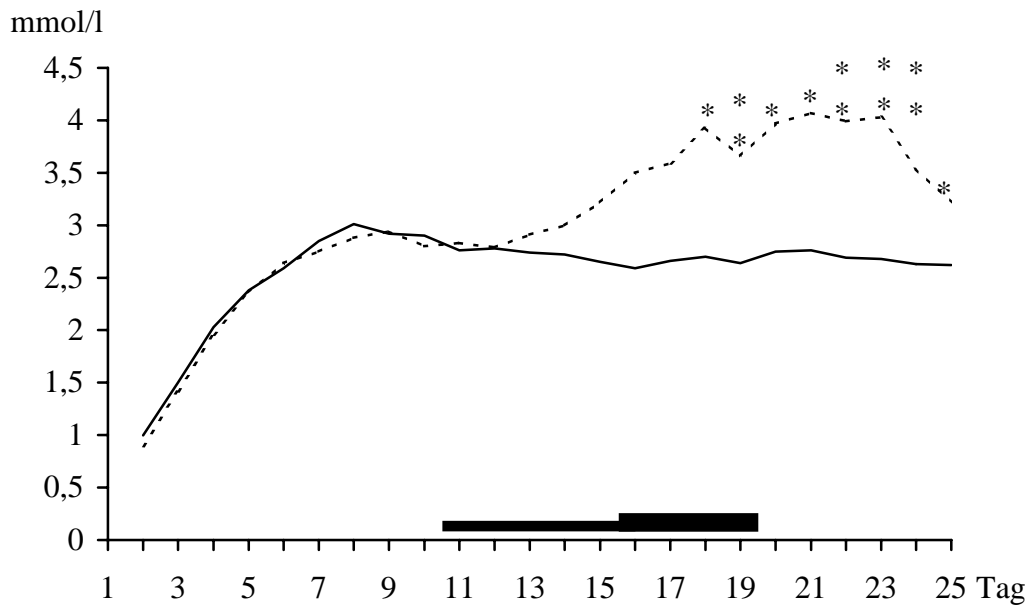


Abb. 4.13: n-Valeriansäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Tab. 9.19)

Die Verläufe der n-Valeriansäurekonzentrationen in den Fermentern entsprachen während der Kontrollphase (2,95 – 3,21 mmol/l) weitestgehend denen der Überstände, die FSA-Gehalte fielen jedoch vom 17. Tag bis zum Versuchsende kontinuierlich ab.

Während der Zulagephasen ergaben sich folgende Konzentrationsmaxima: Steigerung in den FSA um 20,0 % (Tag 15; p-KSA: Tag 14 u. 15 $\leq 0,05$) und 26,8 % (Tag 18) gegenüber den KF (p-KSA: Tag 18 u. 19 $\leq 0,01$; Tag 20 $\leq 0,05$).

Im Nachlauf lagen die Endkonzentrationen der FSA 10,9 % (Tag 25) oberhalb der der KF und durchschnittlich 16,9 % über den entsprechenden FSA-Werten der Kontrollphase (p-KSA: Tag 21 $\leq 0,05$; Tag 22 $\leq 0,01$; Tag 23 u. 24 = 0,000). Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 0,16 und 1,59 mmol/l.

4.14 Hexansäurekonzentrationen

Überstand (s. Abb. 4.14 u. Tab. 9.22)

Nach Erreichen des steady state nahmen die KF-Werte von 1,15 mmol/l (Tag 8) kontinuierlich bis 1,66 mmol/l (Tag 25) zu, die FSA verhielten sich ebenso, sie stiegen von 0,96 mmol/l (Tag 8) auf 1,72 mmol/l am Versuchsende (p-KSA: Tag 7 u. 10 $\leq 0,05$).

Unter Sulfateinfluß nahmen die FSA-Konzentrationen um 21 % zu, wiesen aber im Vergleich zu den KF-Fermentern zwischen 18,9 und 33,1 % niedrigere Werte auf (p -KSA: Tag 13 \leq 0,05). Während der zweiten Zulagephase entstand sowohl bei den KF als auch bei den FSA ein Plateau (Tag 17 - 20). Die Zulagefermenter wiesen während dieser Phase entweder dieselben Konzentrationen auf (Tag 18) oder waren bis zu 15,7 % (Tag 16) gegenüber den Kontrollen vermindert. Im Nachlauf verliefen die FSA-Gehalte oberhalb der KF-Werte (ab Tag 22; bis zu 15,7 %).

Insgesamt lagen die durchschnittlichen Hexansäurekonzentrationen der FSA am Versuchsende 57,0 % über den entsprechenden Kontrollphasenwerten. Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,02 und 1,18 mmol/l.

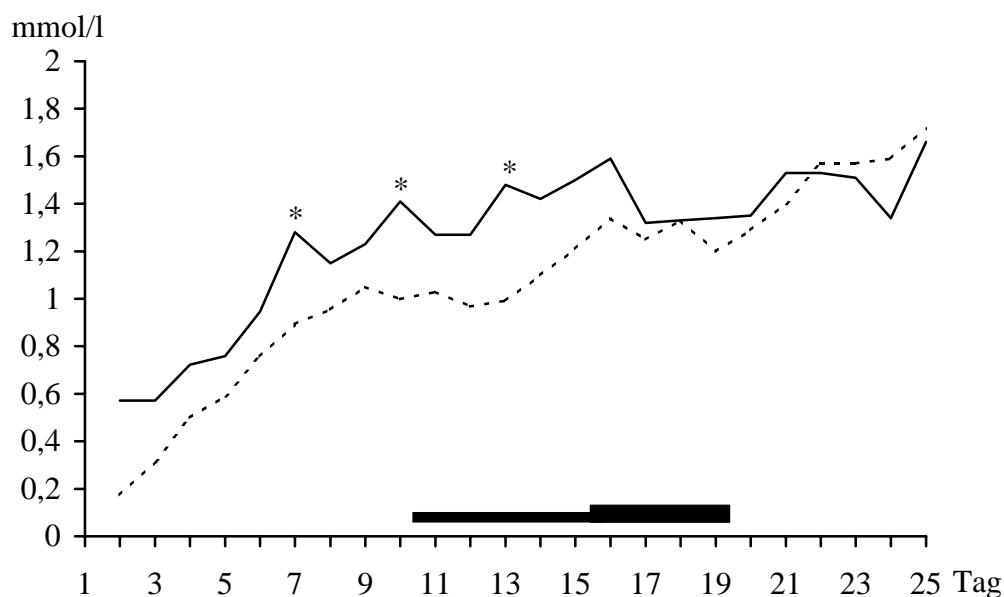


Abb. 4.14: Hexansäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Tab. 9.21)

Die Verläufe der Hexansäurekonzentrationen in den Fermentern entsprachen denen der Überstände auf höheren Kurvenniveaus (KF: 1,61 – 2,06 mmol/l).

Die FSA-Konzentrationen nahmen ebenso wie die der KF mit Zulagebeginn stetig zu, die FSA-Werte lagen zwischen 33,0 % (Tag 13) und 3,37 % (Tag 20) unter denen der KF-Gehalte (Abnahme der Differenz erfolgte kontinuierlich während der Zulagephasen; p -KSA: Tag 7, 10 u. 13 \leq 0,05). Im Nachlauf wiesen die FSA durchschnittlich 42,6 % höhere Konzentrationen als in der entsprechenden Kontrollphase auf. Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 0,06 und 1,37 mmol/l.

4.15 Summe der flüchtigen Fettsäuren

Überstand (s. Abb. 4.15.1 u. Tab. 9.24)

Die Konzentrationen der Summen aller flüchtigen Fettsäuren bewegten sich während der Kontrollphase zwischen 99,8 und 109 mmol/l (p-KSA: Tag 9 $\leq 0,05$). Während der gesamten Zulagephase lagen die Werte der FSA zwischen 1,94 (Tag 13) und 9,6 % (Tag 17) unterhalb denen der KF (Ausnahme Tag 11: FSA: 102 mmol/l; KF 101 mmol/l).

Die FSA-Werte fielen in der ersten Zulagephase (Sulfat) um 2,6 % (p-KSA: Tag 14 $\leq 0,05$; Tag 15 $\leq 0,01$) und in der zweiten Zulagephase um weitere 3,2 % (p-KSA: Tag 16 u. 18 $\leq 0,05$; Tag 19 $\leq 0,01$). Im Nachlauf erreichten sie das Kontrollphasenniveau bzw. lagen gegen Versuchsende um 1,36 % darüber. Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 2,38 und 14,2 mmol/l.

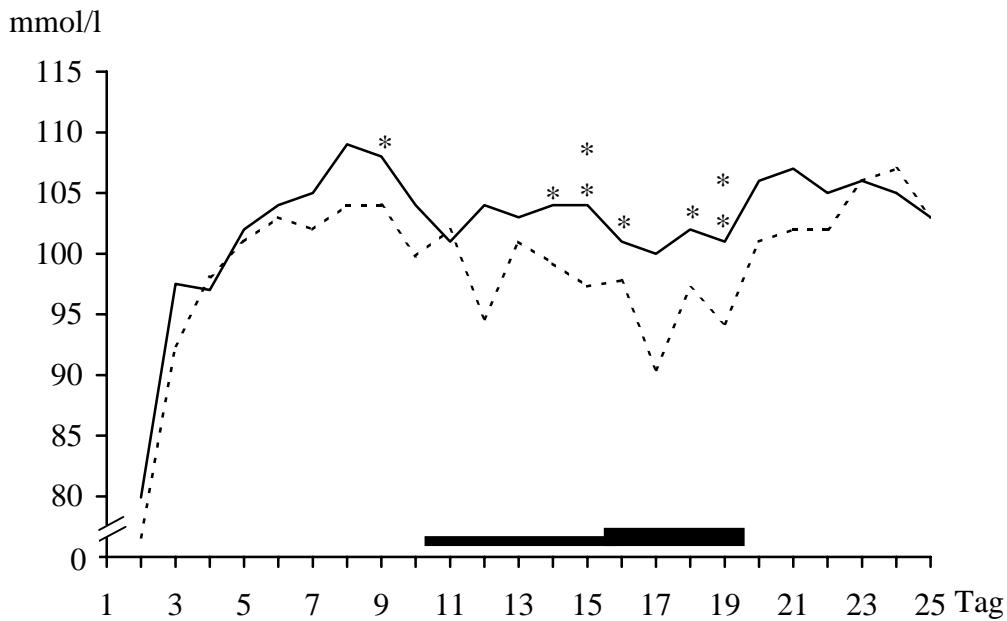


Abb. 4.15.1: Summe der flüchtigen Fettsäuren (mmol/l) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Fermenter (s. Abb. 4.15.2 u. Tab. 9.23)

Der Kurvenverlauf entsprach bis zum 15. Tag denen der Überstände auf höherem Niveau, die FSA-Konzentrationen nahmen unter Thiamineinfluß bereits während der zweiten Zulagephase bis zum Versuchsende kontinuierlich zu.

Die KF- und FSA-Werte bewegten sich bis zum 25. Tag zwischen 96,9 und 118 mmol/l, dabei wiesen die FSA-Gehalte entweder dieselben Konzentrationen wie die Kontrollfermenter auf (Tag 13) oder lagen bis zu 10 mmol/l darunter (Tag 18: - 8,77 %) (Ausnahme Tag 19: FSA + 5 mmol/l oberhalb der KF) (p-KSA: Tag 15 \leq 0,001; Tag 18 \leq 0,01). Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 4,11 und 29,8 mmol/l.

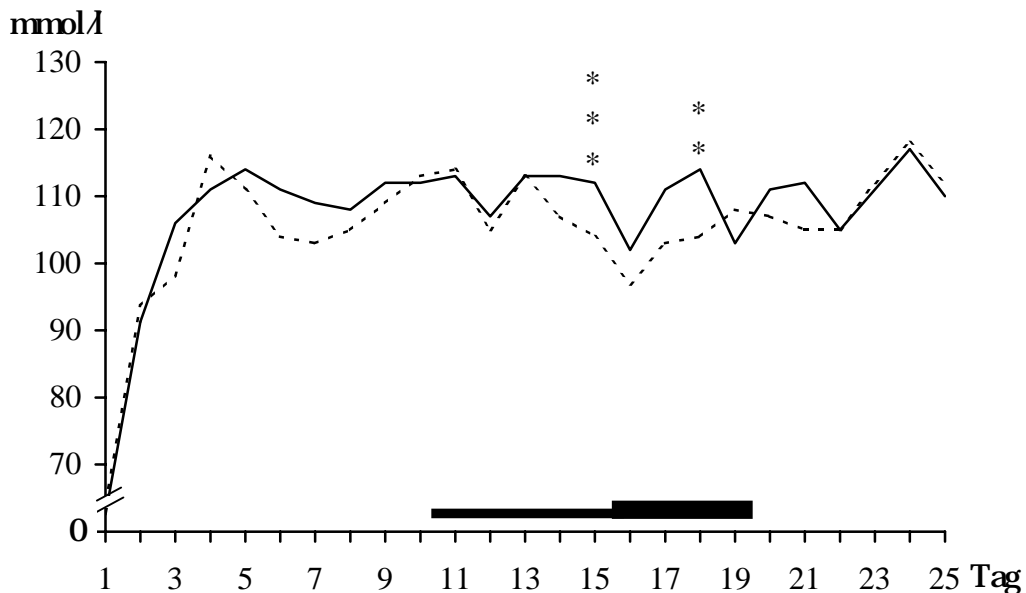


Abb. 4.15.2: Summe der flüchtigen Fettsäuren (mmol/l) im Pansen saft während 25- tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.16 Thiamin und seine Derivate in der Fermenterflüssigkeit

Sollten sich im folgenden die Kurvenverläufe der verschiedenen Thiaminderivate [Gesamtthiamin, Thiamindiphosphat (TDP), Thiaminmonophosphat (TMP), Thiamin] innerhalb der einzelnen Fraktionen (Gesamtfraktion, Pflanzen- und Protozoenfraktion, Bakterienfraktion, akterienfreier Überstand und Überstand) ähneln, wird nur der Verlauf einer Kurve eingehend beschrieben, die anderen Verläufe werden entsprechend verglichen.

4.16.1 Thiamin und seine Derivate in der Fermenterflüssigkeit (Gesamtfraktion)

Gesamtthiaminkonzentrationen (s. Abb. 4.16.1 u. Tab. 9.37)

Die Gesamtthiaminkonzentrationen zeigten während der Kontrollphase und der ersten Zulagephase in beiden Fermentergruppen einen nahezu konstanten Verlauf (zwischen 95,6 und 112 ng/ml) (p -KSA: Tag 7 u. 13 $\leq 0,05$). Mit Beginn der Thiamingabe stiegen die Kurven für die KF und FSA sehr stark an (Höhepunkt Tag 19: 252 bzw. 231 ng/ml). Die FSA-Konzentrationen lagen dabei bis zu 10,2 % unterhalb der KF-Werte (Ausnahme Tag 16: FSA 5,17 % oberhalb der KF). Im Nachlauf fielen die Gehalte in allen Fermentern bis zum 22. Versuchstag sehr schnell ab und erreichten abschließend das Kontrollphasenniveau. Die Standardabweichung der Mittelwerte zeigte in den KF und FSA Gehalte zwischen 5,53 und 44,4 ng/ml.

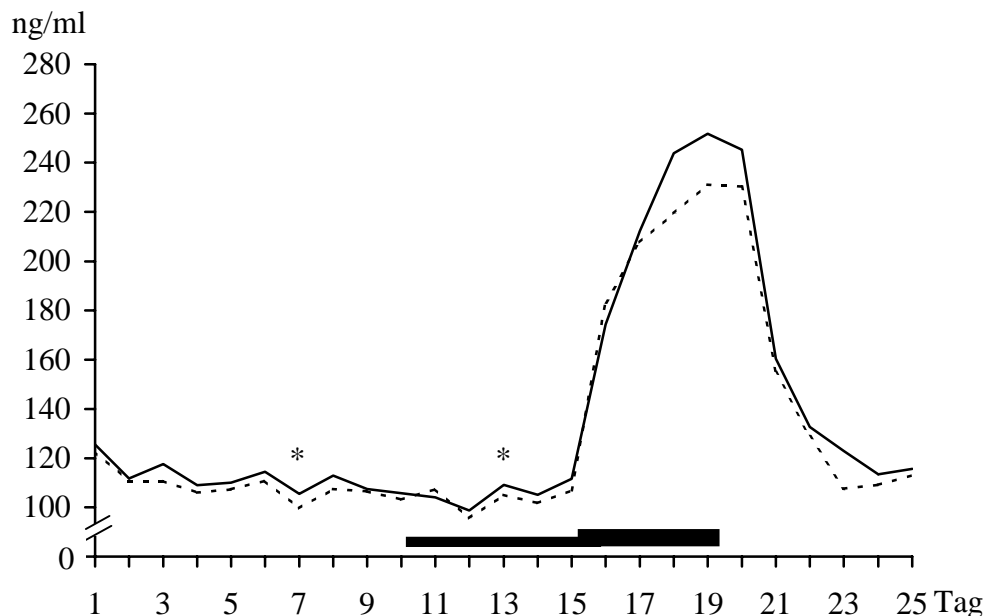


Abb. 4.16.1: Gesamtthiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Gesamtfraktion während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

TDP-Konzentrationen (s. Abb. 4.16.2 u. Tab. 9.31)

Die Kurven beider Fermenterpaare schwankten bis zum Ende der ersten Zulagephase (84,3 – 99,4 ng/ml). Dabei lagen die FSA-Konzentrationen bis zu 5,48 % niedriger als die in den KF (p -KSA: Tag 7 $\leq 0,01$; Tag 8 $\leq 0,05$; Tag 13 $\leq 0,01$; Tag 14 $\leq 0,05$).

Während der zweiten Zulagephase stiegen beide Kurven stark an (Tag 20: KF: 117 ng/ml; FSA: 111 ng/ml), die FSA-Gehalte lagen 5,13 % bis 7,89 % unter denen der KF (p -KSA: Tag 16 $\leq 0,05$; Tag 18 $\leq 0,01$).

Im Nachlauf fielen die FSA-Konzentrationen schnell bis zum 23. Versuchstag ab, in den KF sanken die Konzentrationen hingegen mäßig, trotzdem erreichten alle Fermenter das Kontrollphasenniveau. Die FSA-Werte lagen dabei zwischen 4,5 und 13,9 % unterhalb der entsprechenden KF-Gehalte (p-KSA: Tag 21 – 23 u. 25 \leq 0,05; Tag 24 \leq 0,01). Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 4,19 und 29,3 ng/ml.

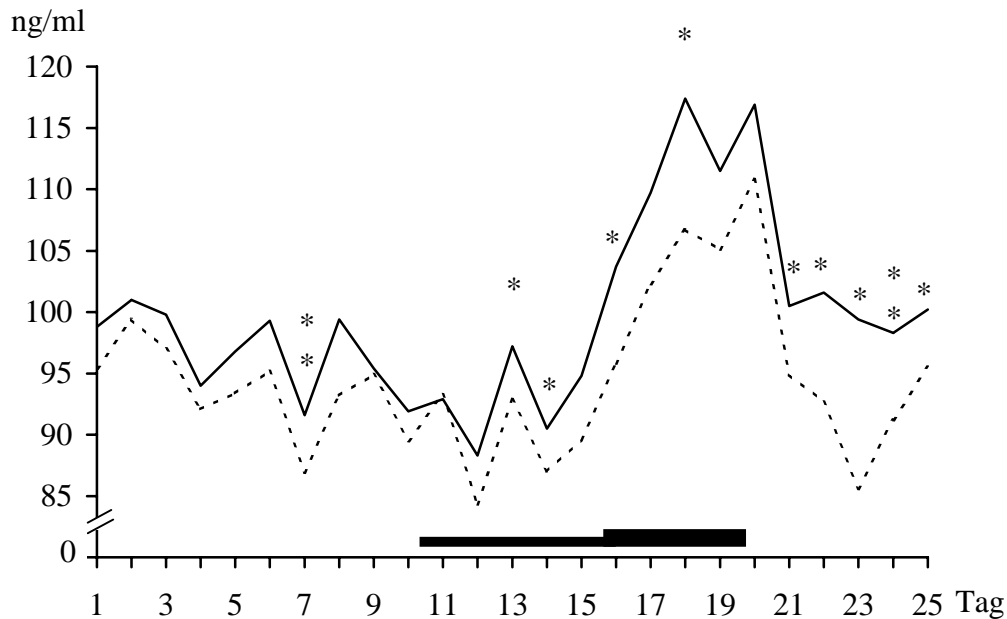


Abb. 4.16.2: TDP-Konzentrationen (ng/ml) in der Gesamtfraction während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende s. Abb. 4.1

TMP-Konzentrationen (s. Abb. 4.16.3 u. Tab. 9.33)

Die TMP-Gehalte zeigten in den KF und FSA bis zum 15. Tag Konzentrationen von 6,49 – 10,9 ng/ml. Die FSA-Konzentrationen verliefen dabei zwischen 1,52 und 25,5 % oberhalb der der KF (p-KSA: Tag 11 \leq 0,05).

Die Thiaminzulage bewirkte in beiden Gruppen einen deutlichen Anstieg der TMP-Konzentrationen bis zum 19. Versuchstag (KF: 32,9 ng/ml; FSA: 32 ng/ml). Die FSA-Werte lagen bis zu 18 % oberhalb der KF-Gehalte (Tag 16; Ausnahme Tag 19: FSA 2,74 % unterhalb der KF). Der Nachlauf zeichnete sich in allen Fermentern durch einen starken Konzentrationsabfall bis zum 24. Versuchstag aus, alle Werte erreichten das Kontrollphasenniveau.

Die FSA-Gehalte verliefen zwischen 4,52 und 24,7 % oberhalb der der KF (Ausnahme Tag 23: FSA mit 8,2 % unter den KF). Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 2,67 und 15,8 ng/ml.

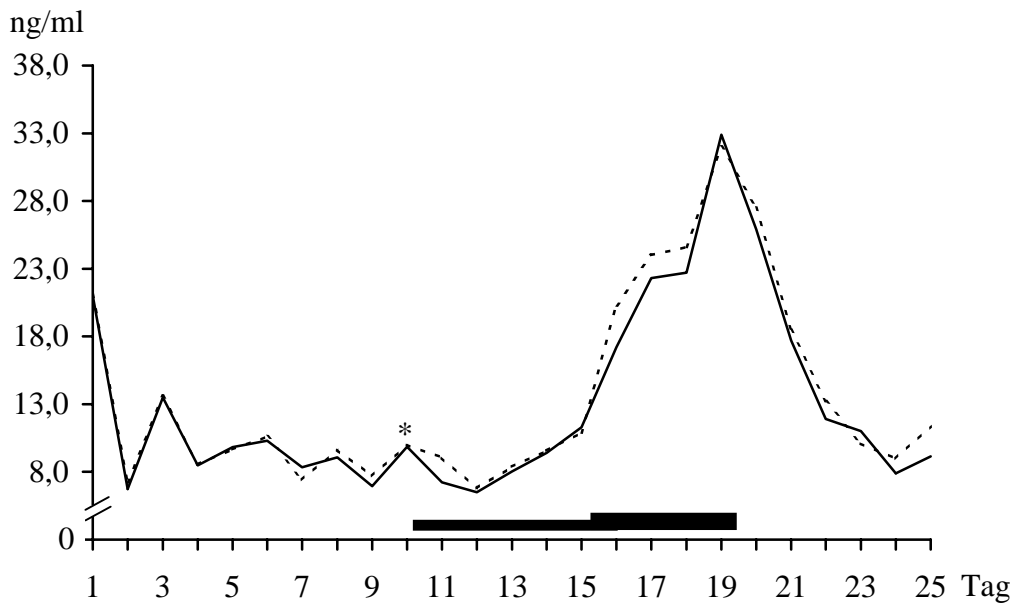


Abb. 4.16.3: TMP-Konzentrationen (ng/ml) in der Gesamtfraction während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende s. Abb. 4.1

Thiaminkonzentrationen (s. Abb 4.16.4 u. Tab. 9.35)

Die Thiaminkonzentrationen zeigten in den FSA- und KF-Fermentern bis zum 15. Versuchstag annähernd identische Kurvenverläufe, die einzelnen Gehalte variierten zwischen 3,71 - 6,53 ng/ml.

Während der Thiaminzulagephase stiegen die Konzentrationen stark an (KF: 107 ng/ml; FSA: 94 ng/ml), die FSA-Werte lagen während des 16. Versuchstages mit 13,8 ng/ml oberhalb der KF-Gehalte.

Vom 18. bis 20. Versuchstag entwickelten sich in allen Fermentern Plateaus, die FSA-Konzentrationen lagen dabei bis zu 15,4 % unter denen der KF.

Vom 21. Tag beginnend fielen die Thiaminkonzentrationen zunächst steil und dann bis zum Versuchsende flacher ab. Die Endkonzentrationen lagen in den FSA mit 1,99 ng/ml über den Kontrollphasenniveaus (KF: um 1,79 ng/ml; ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 0,80 und 48,0 ng/ml.

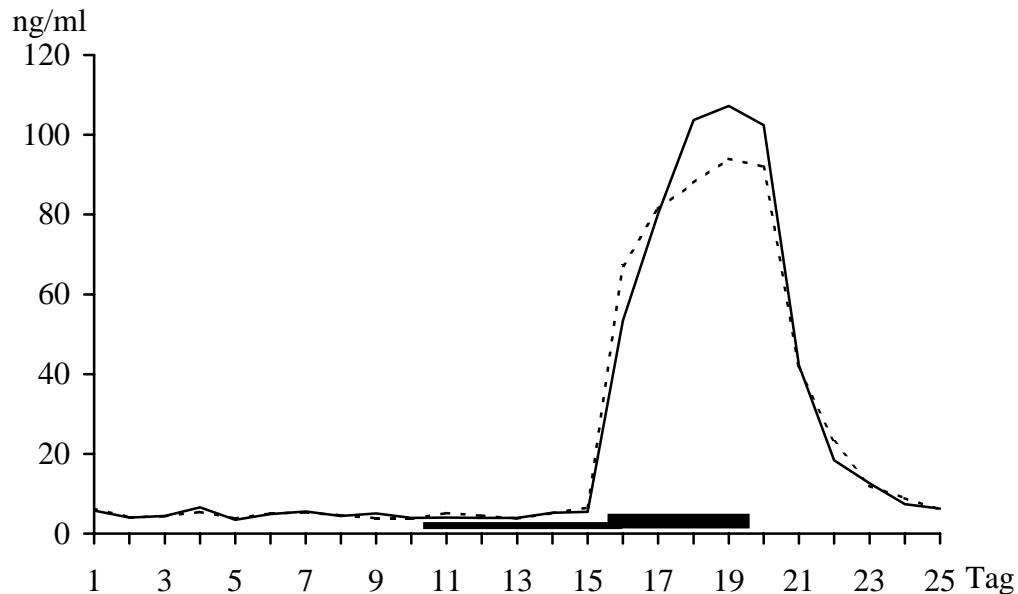


Abb. 4.16.4: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Gesamtfraction während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende s. Abb. 4.1

4.17 Thiamin und seine Derivate in der Pflanzen- und Protozoenfraktion

Gesamtthiaminkonzentrationen (s. Abb. 4.17.1 u. Tab. 9.42)

Die Gesamtthiaminkonzentrationen bewegten sich in der Kontrollphase zwischen 50,6 und 57,6 ng/ml. Unter den Sulfatzulagen verringerten sich die Konzentrationen der FSA bis zum 15. Tag um 33,2 % gegenüber denen der KF (p-KSA: Tag 14 \leq 0,05).

Mit Beginn der Thiaminzulage stiegen die Konzentrationen in allen Fermentern unter Plateaubildung stark an (KF: Tag 18 – 20: + 172 %; FSA: Tag 16 – 20: + 94,2 %; p-KSA: Tag 16 - 21 \leq 0,05). Im Nachlauf lagen die Werte der FSA durchschnittlich 30,0 % unter dem Kontrollphasenniveau und zwischen 35,8 und 46,3 % unter denen der KF (p-KSA: Tag 22 - 24 \leq 0,01). Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 8,47 und 54,5 ng/ml.

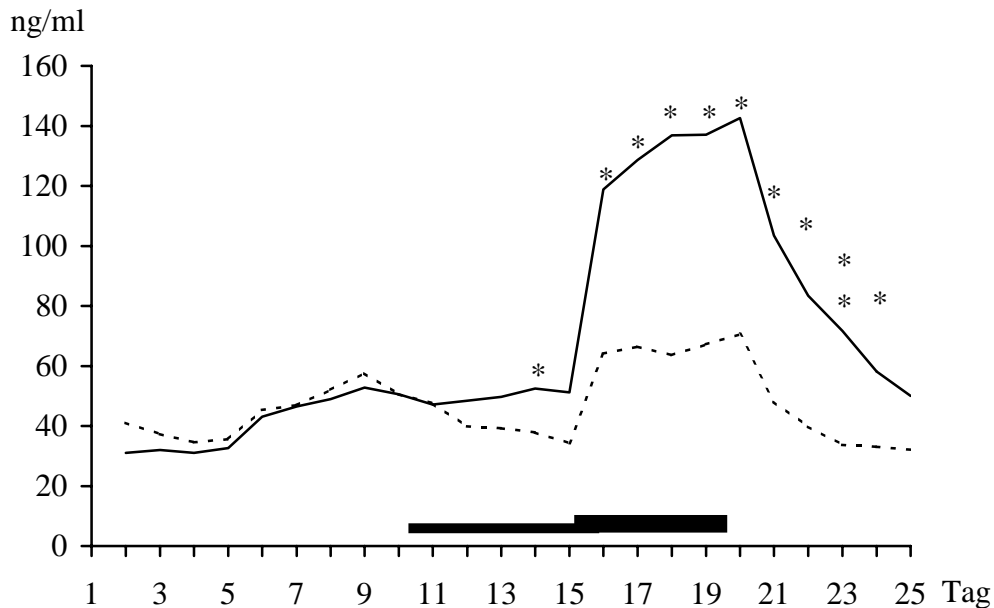


Abb. 4.17.1: Gesamthiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Pflanzen- und Protozoenfraktion während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende s. Abb. 4.1

TDP-Konzentrationen (s. Tab. 9. 39)

Die Kurvenverläufe waren denen der Gesamthiaminkonzentrationen sehr ähnlich, verliefen aber auf niedrigerem Niveau (Tag 8 – 10: 42,4 – 49,3 ng/ml). Die Abnahmen der TDP-Konzentrationen betrug unter Sulfateinfluß bis zu 34,5 % (p-KSA: Tag 14 \leq 0,01; Tag 15 - 21 \leq 0,05).

Unter der Thiamingabe bildeten sich in beiden Fermentergruppen Plateaus [KF: 83 ng/ml; FSA: 45,5 ng/ml (mit leichtem Rückgang an Tag 18)], die Werte in den FSA lagen bis zu 49,1 % unter denen der KF.

Im Nachlauf fielen die Konzentrationen langsam ab, die KF-Gehalte lagen 36,6 % über dem Kontrollphasenniveau, die der FSA 32,9 % entsprechend darunter. Außerdem wiesen sie im Vergleich zu den KF-Fermentern Differenzen von 44,1 - 46,2 % auf (p-KSA: Tag 22 - 25 \leq 0,01). Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 4,43 und 37,9 ng/ml.

TMP-Konzentrationen (s. Abb. 4.17.2 u. Tab. 9.40)

Die TMP-Konzentrationen bewegten sich in beiden Fermenterpaaren bis zum Ende der Sulfatzulage (Tag 15) zwischen 3,55 und 6,54 ng/ml.

Unter dem Einfluß der Thiaminzulage stiegen sie in den KF auf durchschnittlich 14 ng/ml (Tag 17 - 20), in den FSA lediglich auf 8,02 ng/ml (Tag 17 – 20; Ausnahme Tag 19: Abfall

auf 5,86 ng/ml) und blieben während gesamten zweiten Zulagephase um 35,4 – 56,6 % unter denen der KF.

Im Nachlauf wiesen die FSA-Gehalte schon ab dem 21. Versuchstag Kontrollphasenwerte auf, die der KF erst gegen Versuchsende. Die FSA-Kurve verlief dabei deutlich unterhalb der der KF (5,49 – 59,9 %; ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 0,50 und 11,2 ng/ml.

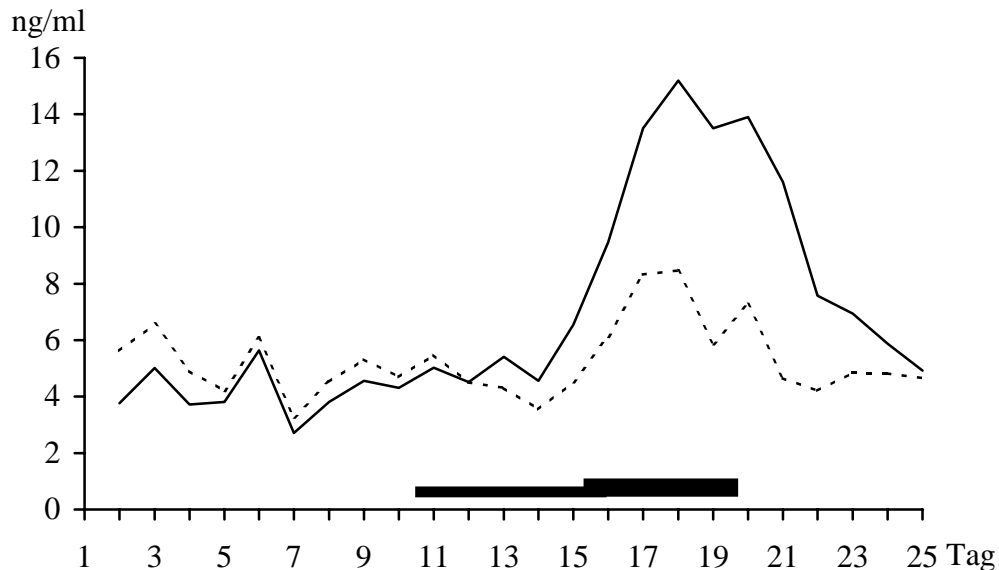


Abb. 4.17.2: TMP-Konzentrationen (ng/ml) in der Pflanzen- und Protozoenfraktion im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (– –); Restlegende siehe Abb. 4.1

Thiaminkonzentrationen (s. Abb. 4.17.3 u. Tab. 9.41)

Die Thiaminkonzentrationen bewegten sich in den Fermentergruppen bis zum 15. Versuchstag zwischen 2,42 – 3,75 ng/ml, wobei die Differenz zwischen FSA und KF am 5. Tag der Sulfatzulage 20,7 % betrug.

Während die KF-Gehalte bis zum 20. Tag auf insgesamt 42,4 ng/ml anstiegen, entwickelte sich in den FSA vom 16. – 20. Tag ein Plateau (13,2 ng/ml; d.h. - 55,9 bis - 69,3 % gegenüber den KF; p-KSA: Tag 17 - 21 \leq 0,05).

Ab Tag 21 fielen die Konzentrationen beider Fermenterpaare. In den FSA erreichten sie das Niveau der Kontrollphase bereits am 23. Versuchstag, in den KF erst gegen Versuchsende. Insgesamt lagen die FSA-Thiaminkonzentrationen im Nachlauf zwischen 7,61 - 73,6 % unterhalb der KF-Konzentrationen (p-KSA: Tag 22 u. 23 \leq 0,01). Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,31 und 20,0 ng/ml.

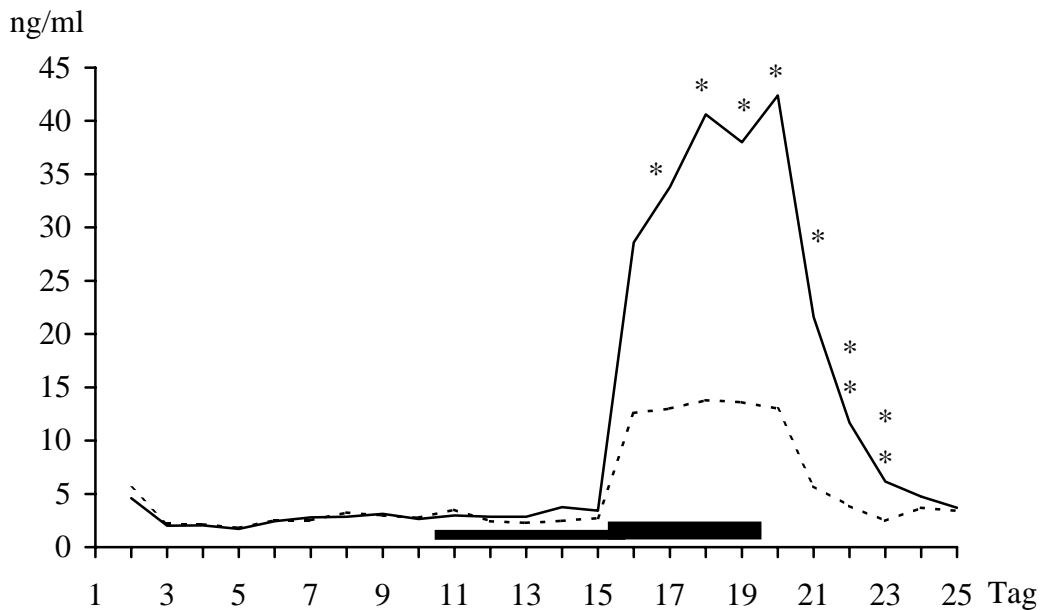


Abb. 4.17.3: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Pflanzen- und Protozoenfraktion während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende s. Abb. 4.1

4.18 Thiamin und seine Derivate im bakterienfreien Überstand

Gesamtthiaminkonzentrationen (s. Abb. 4.18.1 u. Tab. 9.46)

Die Gesamtthiaminkonzentrationen zeigten in der Kontrollphase in beiden Fermentergruppen annähernd identische Verläufe, mit Gehalten von 31,9 – 34,0 ng/ml. Bis zum Ende der Sulfatzulage nahmen die Werte in den FSA um 12,9 % und in den KF um 8,22 % zu.

Unter Thiamineinfluß stiegen die Konzentrationen in den KF stetig bis zum 20. Versuchstag an (128 ng/ml), in den FSA dagegen nur bis zum 18. Tag (108 ng/ml), danach entwickelte sich bis zum 20. Tag ein Plateau (durchschnittlich 108 ng/ml). Bis zum 18. Versuchstag lagen die Gesamtthiaminkonzentrationen in den FSA bis zu 31,3 % über denen der KF, bis zum 20. Tag hingegen zwischen 12,5 - 15,6 % unter ihnen.

Im Nachlauf fielen die Konzentrationen erst stark - (Tag 21) danach bis zum 24. Tag flacher ab (FSA bis zu 28,1 % oberhalb der KF). Am letzten Tag nahmen die Konzentrationen noch einmal geringgradig zu. Beide Kurven lagen gegen Versuchsende oberhalb der Kontrollphasenniveaus (KF: 19,1 %; FSA: 19,5 %; ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 2,50 und 49,3 ng/ml.

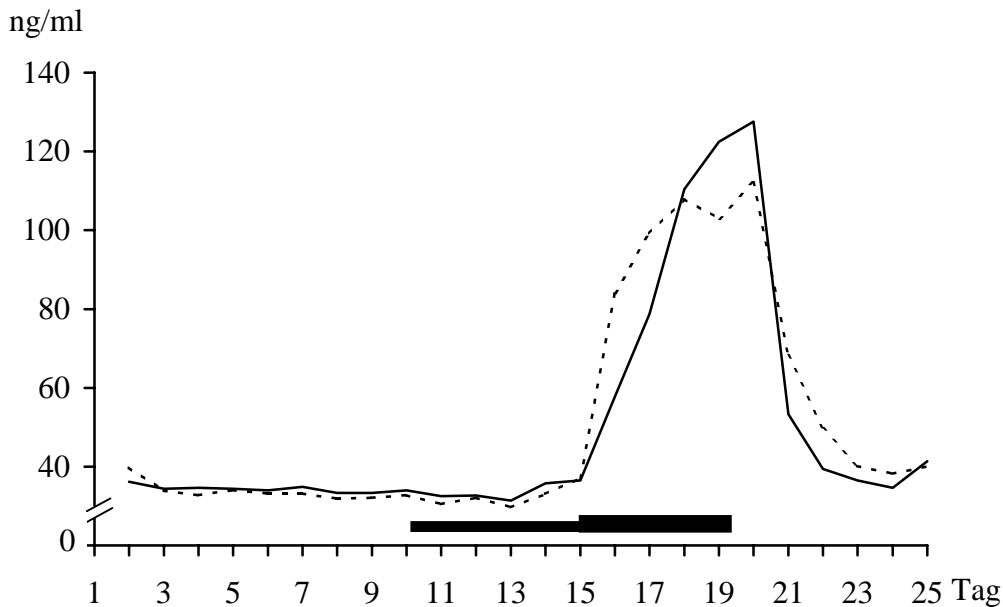


Abb. 4.18.1: Gesamthiaminkonzentrationen (ng/ml) im bakterienfreien Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

TDP-Konzentrationen (s. Abb. 4.18.2 u. Tab. 9.43)

Die TDP-Konzentrationen der Kontrollphase lagen in beiden Fermenterpaaren zwischen 29,1 und 30,8 ng/ml. Mit Beginn der Sulfatzulagephase unterlagen alle Kurven täglichen Schwankungen (p-KSA: Tag 14 u. 15 \leq 0,05).

Mit Beginn der Thiaminzulage sanken die TDP-Gehalte in allen Fermentern kurzfristig, ab dem 3. Tag der entsprechenden Zulage erfolgte ein erneuter Anstieg. Die Konzentrationen in den KF stiegen bis zum 19. Tag auf 37,0 ng/ml, in den FSA nahmen sie lediglich bis zum 18. Tag zu und lagen mit 31,5 ng/ml noch 0,9 ng/ml unter den Konzentrationen der Sulfatzulagephase. Die Differenzen zwischen den FSA- und den KF-Werten betragen während der Thiaminzulagephase 0,69 - 20,5 %.

Im Nachlauf fielen die KF-Konzentrationen bis zum 24. Tag, die der FSA bis zum 22. Tag, danach war in allen Fermentern ein erneuter Anstieg zu verzeichnen (FSA: + 5,4 %; KF: + 4,2 % gegenüber der Kontrollphase). Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 2,36 und 14,3 ng/ml.

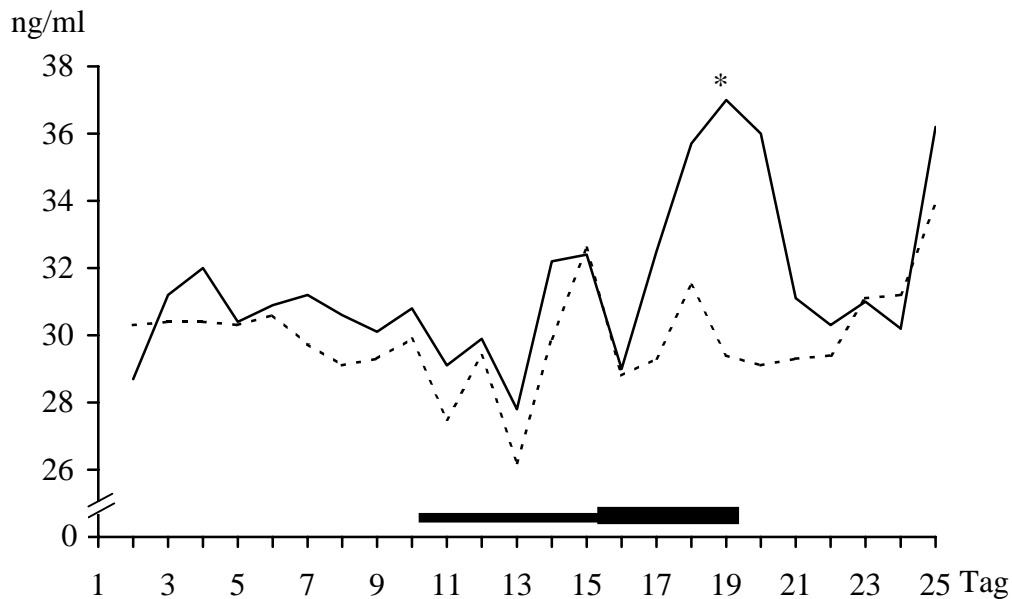


Abb. 4.18.2: TDP-Konzentrationen (ng/ml) im bakterienfreien Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

TMP-Konzentrationen (s. Abb. 4.18.3 u. Tab. 9.44)

Die TMP-Konzentrationen bewegten sich bis zum Ende der ersten Zulagephase zwischen 1,17 und 2,49 ng/ml (Differenz zwischen FSA und KF: + 4,18 % bis - 20,9 %; p-KSA: Tag 10 u. 11 $\leq 0,05$).

Während der Thiaminzulage stiegen die TMP-Konzentrationen in den FSA auf 4,82 ng/ml (Tag 18) und in den KF auf 5,42 ng/ml (Tag 20) an. Die FSA-Werte lagen zwischen 10,0 % oberhalb- (Tag 16) und 24,2 % unterhalb (Tag 20) der KF-Gehalte.

Im Nachlauf fielen die KF-Konzentrationen bis zum 22. Tag steil ab (FSA 23. Tag), am 25. Versuchstag nahm sie in allen Fermentern wieder zu [FSA bis zu 100 % oberhalb der KF (Tag 22)].

Die Konzentrationen des Nachlaufs lagen in den FSA mit 104 % und in den KF mit 33,3 % über dem Durchschnitt der Kontrollphase. Die Standardabweichung der Mittelwerte variierte in den KF und FSA zwischen 0,10 und 3,15 ng/ml.

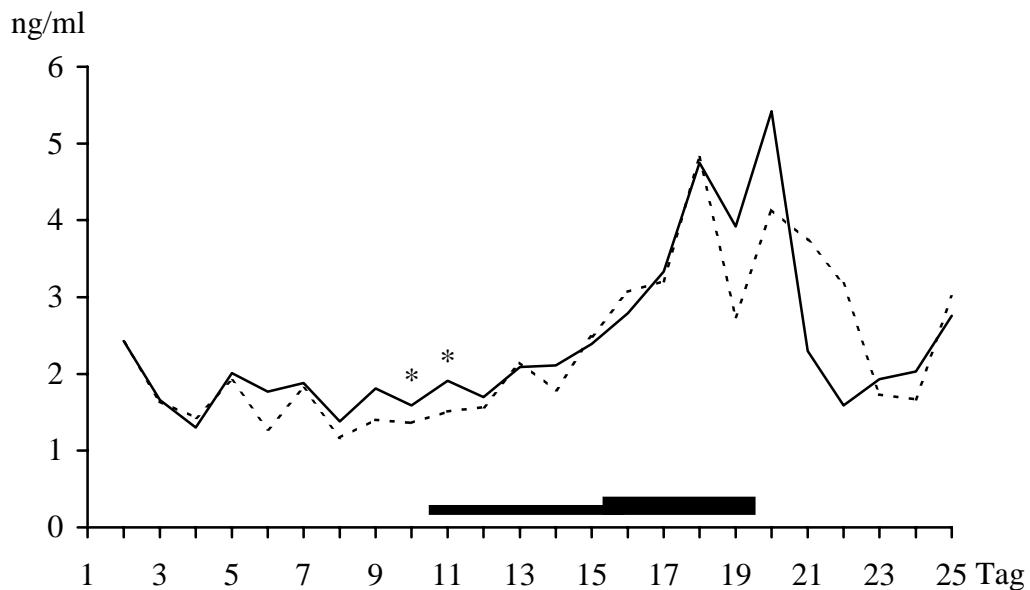


Abb. 4.18.3: TMP-Konzentrationen (ng/ml) im bakterienfreien Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Thiaminkonzentrationen (s. Tab. 9.45)

Die Kurvenverläufe der Thiaminkonzentrationen entsprachen in allen Fermentern denen der Gesamthiaminkonzentrationen auf niedrigeren Niveaus (Kontrollphase: 1,34 – 1,89 ng/ml). Die Zunahmen betragen in den KF das 50-, in den FSA das 37- fache, zwischen dem 18. und 20. Tag lagen die FSA-Gehalte zwischen 8,96 und 13,1 % unter denen der KF (ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,29 und 49,9 ng/ml.

4.19 Thiamin und seine Derivate in der Bakterienfraktion

Gesamthiaminkonzentrationen (s. Abb. 4.19.1 u. Tab. 9.50)

Die Gesamthiaminkonzentrationen bewegten sich nach Erreichen des steady state in allen Gefäßen zwischen 36,2 und 41,9 ng/ml.

Beginnend vom 4. Tag der Sulfatzulage verliefen die FSA-Gehalte bis zum Versuchsende oberhalb der KF-Werte (Sulfatzulage: 11,3 - 18,8 %; Thiamingabe: 15,2 - 30,3 %; Nachlauf: 15,7 – 17,3 %). Im Nachlauf waren die Konzentrationsabnahmen bis zum 22. Tag steil, danach flacher. Die Endkonzentrationen (Tag 25) lagen in den FSA um 39,5 % und in den KF um 14,7 % höher als die durchschnittlichen Kontrollphasenwerte (ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte zeigte in den KF und FSA Gehalte zwischen 3,27 und 28,2 ng/ml.

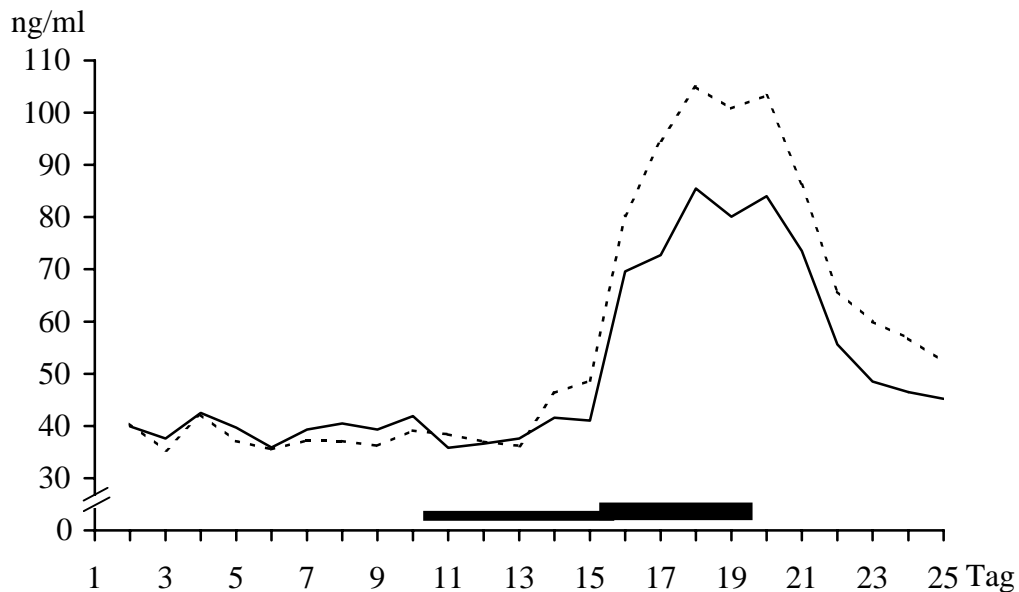


Abb. 4.19.1: Gesamthiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Bakterienfraktion während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

TDP-Konzentrationen (s. Tab. 9.47)

Die Kurvenverläufe der TDP-Konzentrationen entsprachen denen des Gesamthiamins, auf niedrigerem Niveau (Kontrollphase: 27,1 – 33,2 ng/ml).

Die FSA-Gehalte bewegten sich bis zum Versuchsende zwischen 5,46 und 27,8 % oberhalb der entsprechenden KF-Werte.

In allen Fermentern lagen die Konzentrationen am 25. Tag über den entsprechenden Kontrollphasenwerten (FSA: 27,9 %; KF: 9,78 %; ns). Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 1,91 und 25,9 ng/ml.

TMP-Konzentrationen (s. Abb. 4.19.2 u. Tab. 9.48)

Der TMP-Gehalte bewegten sich in der Kontrollphase zwischen 5,69 – 6,67 ng/ml. Mit der Sulfatzulage nahmen die FSA-Konzentrationen allmählich bis zum 5. Zulagetag um 29,6 % gegenüber den KF zu (p -KSA: Tag 12 \leq 0,05).

Unter der Thiaminzulage stiegen die Gehalte in beiden Fermentergruppen deutlich an [FSA: 29,9 ng/ml (Tag 20); KF: 15,6 ng/ml (Tag 18)]. Eine Ausnahme bildete der 4. Thiaminzulagetag, an welchem die Konzentrationen kurzfristig abfielen. Die FSA-Werte lagen dabei bis zu 106 % (Tag 20) oberhalb der KF-Konzentrationen (p -KSA: Tag 18 \leq 0,05; Tag 19 \leq 0,01; Tag 20 \leq 0,05).

Im Nachlauf fielen die Werte bis zum 22. Tag steil, danach bis zum Versuchsende flacher ab (FSA-Gehalte zwischen 45,9 - 56,8 % über KF-Fermentern).

Die Konzentrationen des 25. Tages lagen bis zu 75 % (FSA) bzw. 15,8 % (KF) über denen der Kontrollphase (p-KSA: Tag 21 \leq 0,01; Tag 23 u. 24 \leq 0,05). Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 0,45 und 11,5 ng/ml.

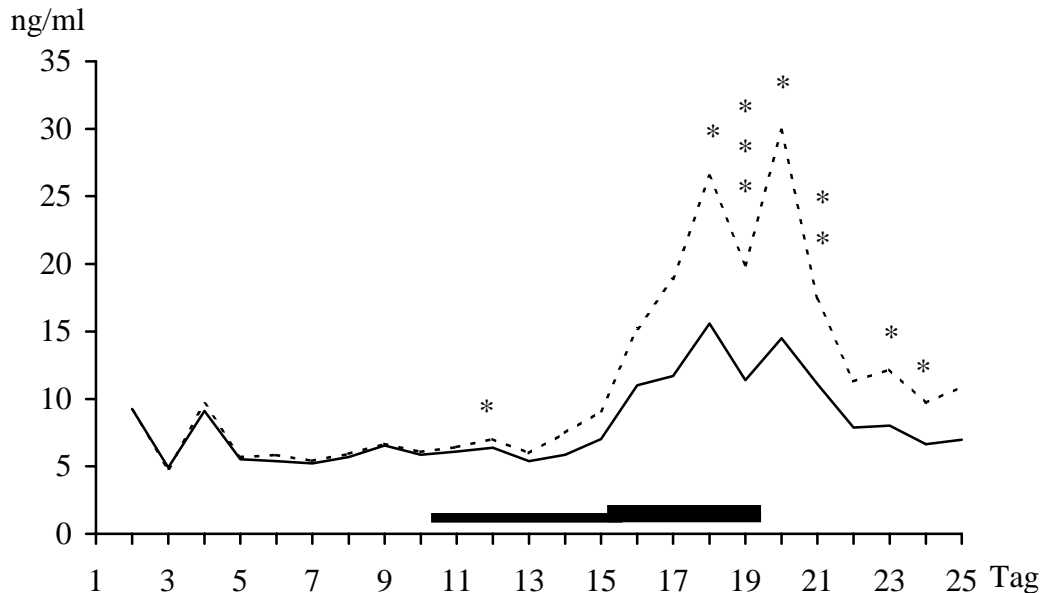


Abb. 4.19.2: TMP-Konzentrationen (ng/ml) in der Bakterienfraktion während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

Thiaminkonzentrationen (s. Abb. 4.19.3 u. Tab. 9.49)

Die Thiaminkonzentrationen verliefen während der Kontrollphase in allen Fermentern zwischen 2,47 und 3,00 ng/ml (p-KSA: Tag 8 \leq 0,05). Die Konzentrationszunahmen betragen unter Sulfatgabe in beiden Fermenterpaaren 37,0 %. Die FSA-Werte waren während dieser Phase gegenüber den KF-Gehalten zwischen 5,00 % und 15,0 % erniedrigt.

Mit Thiaminzulage stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen stark an, in den FSA entwickelten sich rasch Plateaus (Tag 16 - 18: 9,18 – 9,27 ng/ml; Tag 19 u. 20: 8,39 - 8,43 ng/ml), die KF-Werte lagen bis zum 19. Versuchstag unterhalb der FSA-Gehalte (3,47 - 17,1 %; p-KSA: Tag 18 \leq 0,05).

Nach Absetzen des Thiamins fielen die Konzentrationen in allen Fermentern bis zum 24. Tag deutlich, am letzten Tag nahmen die Werte hingegen wieder ggr. zu. Die Durchschnittsgehalte des Nachlaufs lagen deutlich über den Niveaus der Kontrollphase (FSA: 76,1 %; KF: 37,8 %). Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,48 und 5,88 ng/ml.

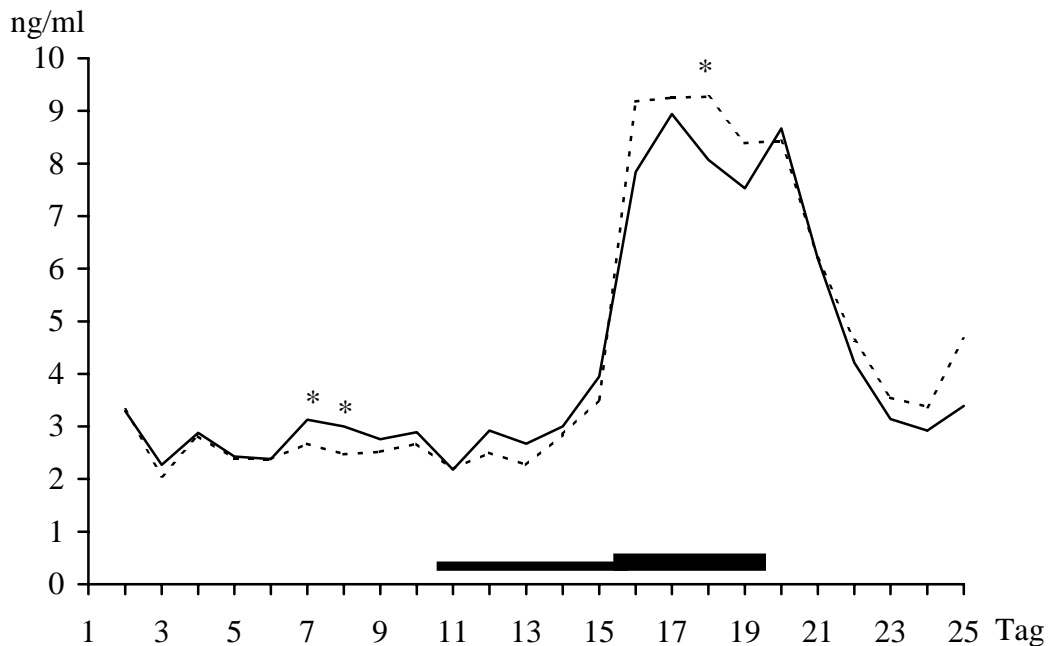


Abb. 4.19.3: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Bakterienfraktion im Pansensaft während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

4.20 Thiamin und seine Derivate im Überstand

Gesamtthiaminkonzentrationen (s. Tab. 9.38)

Die Kurvenverläufe entsprachen denen der Gesamtthiaminkonzentrationen in der Fermenterflüssigkeit (Kontrollphase u. Zulagephase I: 103 – 124 ng/ml) (Tag 8: p-KSA \leq 0,05). Während der Thiamingabe entwickelten sich nach starker Konzentrationzunahme in allen Überständen Plateaus (Tag 18 – 20: 266 – 300 ng/ml; Tag 16, 18 und 19: p-KSA \leq 0,05). Die FSA-Konzentrationen lagen bis zum Versuchsende unterhalb der KF-Werte (4,62 - 12,5 %). Die Standardabweichung der Mittelwerte zeigte in den KF und FSA Gehalte zwischen 4,39 und 43,9 ng/ml.

TDP-Konzentrationen (s. Abb. 4.20.1 u. Tab. 9.32)

Die TDP-Konzentrationen in den KF und FSA bewegten sich bis zum Ende der Sulfatgabe zwischen 74,4 und 90,4 ng/ml, die FSA-Werte lagen bis zu 9,51 % (Tag 13) unterhalb der KF-Gehalte (p-KSA: Tag 14 \leq 0,05).

Mit Beginn der Thiaminzulagen stiegen die TDP-Konzentrationen in den FSA auf ein Maximum von 105 ng/ml, in den KF entsprechend auf 120 ng/ml. Die Differenz der FSA-Werte zu denen der KF betrug bis zum Versuchsende 0,81 – 12,7 %.

Im Nachlauf fielen die Konzentrationen bis zum 23. Tag in allen Überständen flacher ab, als bei der TDP-Konzentration der Gesamtfraktion. Insgesamt lagen die Überstände im Nachlauf mit 8,80 % (KF) bzw. 4,44 % (FSA) über den Kontrollphasenniveaus. Die Standardabweichung der Mittelwerte verlief in den KF und FSA zwischen 5,04 und 30,1 ng/ml.

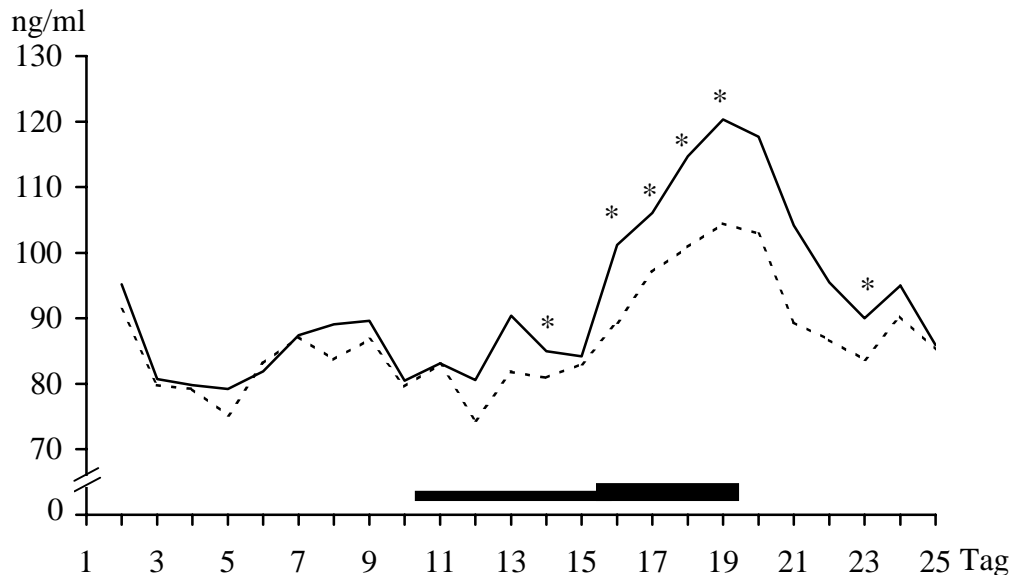


Abb. 4.20.1: TDP-Konzentrationen (ng/ml) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

TMP-Konzentrationen (s. Abb. 4.20.2 u. Tab. 9.34)

Während der Kontrollphase und Sulfatgabe schwankten die TMP-Gehalte zwischen 25,9 – 33,1 ng/ml, die FSA-Konzentrationen lagen dabei bis zu 17 % (Tag 14) oberhalb der der KF (p-KSA: Tag 8 \leq 0,05).

Unter Thiamineinfluß erhöhten sich die Gehalte in allen Überständen deutlich, zwischen dem 3. und 5. Zulagetag entwickelte sich in allen Fermentern ein Plateau (FSA: 49,9 – 54,1 ng/ml; KF: 67,4 – 70,8 ng/ml; Tag 16, 17, 19 u. 20: $p \leq 0,05$), die FSA-Gehalte lagen bis zu 29,2 % unter denen der KF (bis zum Versuchsende).

Im Nachlauf fielen die TMP-Konzentrationen in den FSA und KF bis zum 22. bzw. 23 Tag steil ab, am letzten Versuchstag nahmen sie in beiden wieder geringfügig zu.

Die durchschnittlichen Niveaus des Nachlaufs lagen in den FSA 26,1 % (KF: 36,4 %) über den Gehalten der Kontrollphase. Die Standardabweichung der Mittelwerte lag in den KF und FSA zwischen 2,91 und 18,6 ng/ml.

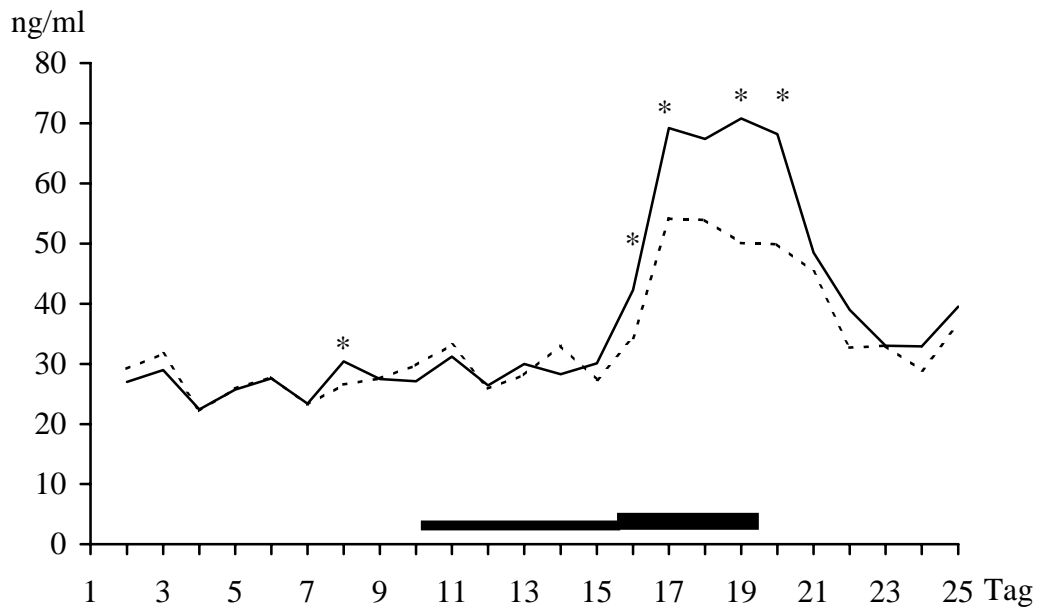


Abb. 4.20.2: TMP-Konzentrationen (ng/ml) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern; Restlegende siehe Abb. 4.1

Thiaminkonzentrationen (s. Abb. 4.20.3 u. Tab. 9.36)

Die Thiaminkonzentrationen verliefen bis zum Ende der Sulfatzulage in allen Überständen gleichmäßig (3,02 – 4,70 ng/ml). Während der Thiamingabe nahmen die Werte sehr stark zu (Tag 20: FSA: 120 ng/ml; KF: 114 ng/ml), die FSA-Gehalte lagen bis zu 11,3 % oberhalb der der KF.

Im Nachlauf erfolgte am 21. Tag ein steiler Konzentrationsabfall, danach bis zum Versuchsende ein mäßiger Rückgang, das Kontrollphasenniveau wurde in allen Überständen erreicht. Die Standardabweichung der Mittelwerte bewegte sich in den KF und FSA zwischen 0,48 und 41,2 ng/ml.

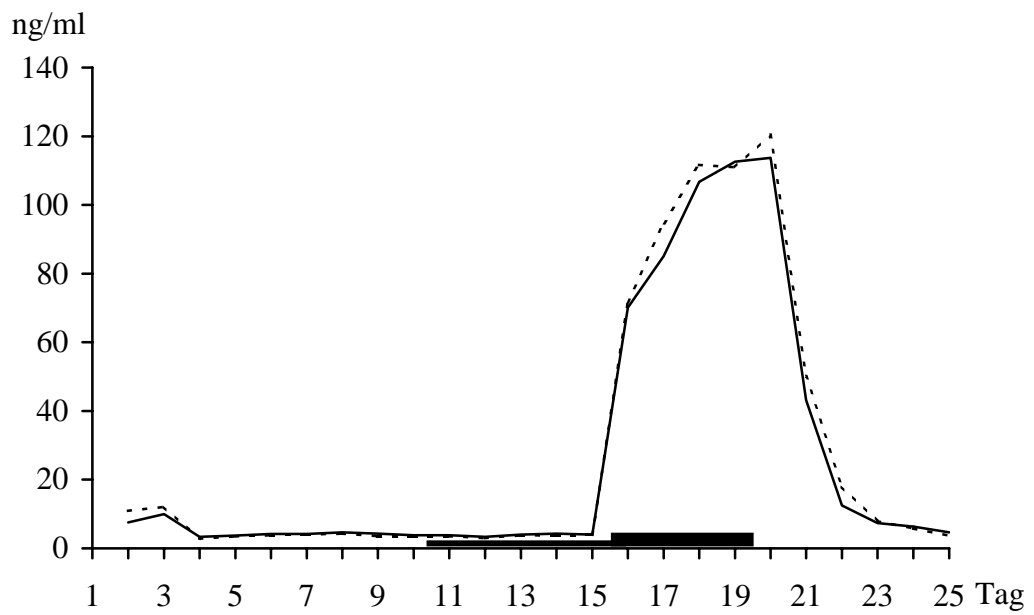


Abb. 4.20.3: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) im Überstand während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in KF-Fermentern (—) und in FSA-Fermentern (---); Restlegende siehe Abb. 4.1

5. Diskussion

5.1 Intention der Arbeit

Ziel der Versuchsreihe war es festzustellen, welchen Einfluß Natriumsulfat auf die Pansenfermentation ausübt. Diese wurde mit Hilfe des Langzeitinkubationssystems RUSITEC durchgeführt. Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand die Frage, inwieweit die Sulfatkonzentration Wirkungen auf den intraruminalen Thiamingehalt und eine Relevanz für die Entstehung der Cerebrocorticalnekrose hat.

5.2 Kritische Betrachtung der Versuchsanstellung

5.2.1 Das RUSITEC-System

Die in diesem Versuch eingesetzte Langzeitinkubationsanlage (RUSITEC) wird in den Dissertationen von SCHIRMER (1990), KRAKOW (1992), BECKER (1994) und MAIWORM (1994) sehr ausführlich beschrieben und kritisch beurteilt.

Mit Hilfe des Pansensimulationsmodells vom Typ des geschlossenen semi-kontinuierlichen Durchflußsystems können über lange Zeiträume Studien durchgeführt werden, die eine Übertragbarkeit auf in-vivo-Verhältnisse erlauben (CZERKAWSKI u. BRECKENRIDGE 1977; CZERKAWSKI 1986).

Die Präzision des RUSITEC-Systems spiegelt sich in den überwiegend parallelen Konzentrationsverläufen der gemessenen Parameter (gleiches Niveau) während der Kontrollphase wider. Die Konstanz der erzeugten Überlaufvolumina deutet (s. Tab. 9.8, 9.28, 9.29 u. 9.30) auf eine hohe Beständigkeit im Pufferzufluss hin und macht Verdünnungen und Turn-over-Raten der einzelnen Fermenterpaare vergleichbar.

5.2.2 Beurteilung des inokulierten Panseninhalts

CZERKAWSKI (1986) teilt den Pansen in vier Kompartimente ein, wobei das erste Kompartiment durch den Pansensaft dargestellt wird. Der strukturierte, feste Panseninhalt mit seinen ihm anhaftenden Bakterien entspricht dem dritten Kompartiment. Die mit der festen Phase fakultativ assoziierten Bakterien repräsentieren das zweite Kompartiment. Durch die Kompartimente 1 - 3 werden 99 % der gesamten Pansenbakterienpopulation erfaßt. Nur die absorptionsfähige Pansenwand einschließlich ihrer ihr anhaftenden Mikroorganismen kann im RUSITEC nicht dargestellt werden.

Obwohl der Pansenwand nur 1 % der gesamten Pansenbakterienpopulation zugeordnet sind, haben die Bakterien eine entscheidende Funktion in Proteo- und Ureolyse (näheres siehe HÖLTERSINKEN 1990; SCHIRMER 1990; ELIAS 1999).

Durch Einbringen der ruminalen Mikroflora des Spendertieres und Erhaltung des ruminalen Milieus (RUSITEC) werden die in den Versuchen gewonnenen Ergebnisse den intraruminalen Verhältnissen in vivo nähergebracht (weiteres s. BECKER 1994).

5.3 Parameter

Die zur Erkennung von Veränderungen im ruminalen Fermentationsablauf gewählten Parameter (pH-Wert, Ammoniakgehalt, Gasvolumen und -zusammensetzung, Essig-, Propion-, n-Butter-, i-Butter-, n-Valerian-, i-Valerian-, Hexansäurekonzentration, Summe der FIFS-Konzentrationen, Cellulaseaktivität, Proteinkonzentration, Natrium-, Kalium-, und Chloridgehalt) wurden in bezug auf ihre Eignung mehrfach beschrieben und aufgrund ihrer Präzision (VK der Analysen in Serie < 5 %) als geeignet befunden SCHIRMER (1990), KRAKOW (1992), BECKER (1994), MAIWORM (1994), PLITT (1995) und MAURUSCHAT (1996), ELIAS (1999).

5.4 Statistik

Wegen der geringen Wiederholungsanzahl ($n = 5$) ist die statistische Verrechnung der Ergebnisse unter Berücksichtigung zweier Fermenterpaare eingeschränkt. Sie wird aussagekräftiger durch den Einsatz von jeweils zwei Fermentern in der Kontroll- und Zulagephase. Die täglichen Messdaten der Versuchstage innerhalb eines Laufs können nicht als Wiederholungen angesehen werden, da sie voneinander abhängig sind.

5.5 Auswirkungen der Natriumsulfat- bzw. der sich anschließenden kombinierten Natriumsulfat- / Thiamingabe auf die Fermentationsvorgänge (vgl. Abb. 5.2)

5.5.1 Auswirkungen auf den pH-Wert

Die Sulfatzulage führt zu einer signifikanten Erhöhung des pH-Wertes um 0,06 Einheiten, die kombinierte Gabe von Sulfat u. Thiamin zu einer weiteren Zunahme von 0,03 Einheiten, d. h. insgesamt 0,09 Einheiten (ebenfalls signifikant). Die Gehalte der FIFS gehen durchschnittlich um 4 mmol/l (= 5,7 %) zurück, die Ammoniakkonzentration bleibt während der beiden Zulagephasen unverändert.

Die pH-Wert-Erhöhungen im Pansensaft können auf einer Zunahme des Basengehaltes (Zunahme der Ammoniakkonzentration) und/oder einer Abnahme des Säuregehaltes beruhen (Abnahme der FIFS-Konzentration).

Im RUSITEC ist der pH-Wert von der Pufferzuflußrate, der Pufferzusammensetzung (z. B. künstlicher Speichel), dem Pansensaftabfluß (z. B. Überstandsflüssigkeit), der Futterazidität bzw. -alkalinität und der mikrobiellen Stoffwechselaktivität abhängig (Näheres s. KRAKOW 1992). Da sowohl die Pufferzuflußrate (bzw. -zusammensetzung) als auch der Pansensaftabfluß über die gesamten Versuchsläufe hindurch konstant blieben (vgl. Kap. 3), ist die Ursache des pH-Wert-Anstiegs in der Alkalinität des Futters und /oder einer Veränderung der mikrobiellen FIFS-Produktion zu vermuten.

Da sich die Futterzusammensetzung erst mit der Zulage (Sulfat, Sulfat/Thiamin) ändert, die Ammoniakkonzentrationen aber unbeeinflusst blieben, könnte gemutmaßt werden, daß Sulfat bzw. Sulfat/Thiamin keine alkalisierenden Wirkungen nach der Dissoziation im PAS

entfalten, bzw. diese bis zur Probengewinnung (24 h nach Zulage) ausgeglichen worden sind. Eine weitere Möglichkeit bietet die Erkenntnis, daß Natriumsulfat im Pansensaft ionisiert und das freiwerdende Sulfat über Sulfit und Sulfid in H_2S umgewandelt wird (BLOCK et al. 1951; HENDERICKX 1961; WEIGAND 1974, HOWARD u. HUNGATE 1976). Letzterer ist flüchtig, wie bei der Gasbeutelentleerung olfaktorisch festzustellen war. Damit wurde dem Fermenter ein weiterer Anteil an Protonen entzogen.

Unter Sulfat bzw. Sulfat u. Thiamingabe sank die Syntheserate der FIFS um 4 mmol/l, welches einem Rückgang von insgesamt 5,7 % entspricht. Diese Abnahme könnte zum einen Ausdruck einer verminderten mikrobiellen Stoffwechselaktivität (z. B. Kohlenhydratstoffwechsel) sein, oder auf Verschiebungen innerhalb der mikrobiellen Stoffwechselvorgänge hindeuten, in denen weniger Protonen in die Umgebung, respektive den Überstand, abgegeben wurden und dadurch zu einer Erhöhung des pH-Werts (um 0,09 E) führten.

Nach Abwägung der aufgezeigten Möglichkeiten, die zu einer Veränderung des pH-Werts führen können, ist unter Einbeziehung der Veränderungen des Kohlenhydratstoffwechsels (vgl. 5.5.3.3) zu vermuten, daß der pH-Wert vor allem den durch die Zulagen eingeschränkten Kohlenhydratstoffwechsel widerspiegelt.

Da die Erhöhung nur minimal (0,09 Einheiten) ist und von einer Destabilisierung des Pansenmilieus nicht die Rede sein kann (YOKOYAMA u. JOHNSON 1988), ist davon auszugehen, daß der veränderte pH-Wert nicht Ursache für Änderungen in den mikrobiellen Stoffwechselvorgängen sein kann.

5.5.2 Auswirkungen auf den Stickstoffstoffwechsel

Sulfat- und Sulfat/Thiaminzulagen bewirkten steigende Proteinkonzentrationen bis zu 68,5 % der Bakterienfraktion bei gleichzeitig unveränderten Ammoniakgehalten (s. u.) und steigenden *i*-Buttersäure- (+ 22,1 %) bzw. sinkenden *i*-Valeriansäurekonzentrationen (- 51,4 %). Der Anstieg der Proteinkonzentration übersteigt die durchschnittlichen Gehalte der Kontrollphase um bis zu 31,5 % (s. 4.6. u. Tab. 9.26).

Offensichtlich wird unter den aufgezeigten Versuchsbedingungen das Bakterienwachstum durch Natriumsulfat begünstigt. Das legt den Gedanken nahe, daß dem RUSITEC-System nicht genügend Schwefel zur Verfügung steht. Berücksichtigt man die Zufuhr über Futtermittel [Gesamtschwefelgehalt: 0,17 % der TS (MITTROWANN 1999)], so kann man sie aus Erfahrung *in vivo* als ausreichend ansehen (STÖBER 1978; PULS 1994). Allerdings geht die Überlegung von der Tatsache aus, daß Schwefel (Sulfat) in nicht unerheblichem Umfang über Speichel (KANDYLIS u. BRAY 1987) und Pansenwand (entsprechend dem 4. Kompartiment nach CZERKAWSKI 1986; s. 5.2.2; GAWTHORNE u. NADER 1976) rezykliert wird (KENNEDY et al. 1975) und auch über das Tränkewasser dem Pansensystem angeboten wird. Dieser zusätzliche Schwefel-Zufluß ist aber im RUSITEC-System nicht möglich. Somit ist denkbar, daß unter den vorliegenden Versuchsbedingungen die Schwefelversorgung im RUSITEC suboptimal blieb.

Bei ungenügendem Schwefelangebot sinkt das Bakterienwachstum deutlich (MITTROWANN 1999). Dieses war auch im Vorlauf dieser Versuche zu beobachten, wenn man als Maß für das Bakterienwachstum die Proteinkonzentration der Bakterienfraktion ansieht (s. Tab. 9.26 u. Abb. 4.6). Deshalb müßte bei Schwefel-Zulage (ab Tag 10) das Bakterienwachstum begünstigt werden. In der Tat steigt bei Sulfat- und Sulfat-/ Thiaminzulage die

Proteinkonzentration der Bakterien um 68,5 % an (s. Tab. 9.26), was für diesen Zusammenhang spricht.

Allerdings wäre dann zu erwarten gewesen, daß bei gleichbleibendem Nährstoffangebot die NH_3 -Werte sinken müßten. Dies ist aber nicht der Fall (s. Abb. 4.2 u. Tab. 9.2). Es muß allerdings beachtet werden, daß über den täglichen Pufferzufluß Harnstoff ins RUSITEC-System gelangt, welcher durch bakterielle Ureasen schnell und effektiv in Ammoniak hydrolysiert wird (HÖLTERSHINKEN 1990) und somit eine Abnahme der Konzentration ausgleichen könnte.

Wenn auch Unsicherheiten für die Ergebnisinterpretation durch die relativ langen Untersuchungsintervalle (24 h) bleiben, ist doch unverkennbar, daß erhebliche Auswirkungen auf den N-Stoffwechsel (i-Butter- und i-Valeriansäure) bestehen.

Der stark sinkende i-Valeriansäuregehalt (- 51,4 %) könnte dabei Ausdruck einer verstärkten NH_3 -Fixierung sein (HUNGATE 1966; HÖLTERSHINKEN 1990). Die gleichzeitig steigenden i-Buttersäuregehalte (+ 22,1 %) als Ausdruck verstärkter Ureolyse lassen aber auch auf eine nicht unerhebliche proteolytische Wirkung schließen.

Diese Widersprüchlichkeiten klären sich eventuell durch Betrachtung der Protozoengehalte. Unter Sulfateinfluß fallen die Protozoenkonzentrationen drastisch um 68,4 %, unter der kombinierten Gabe von Sulfat und Thiamin sogar um weitere 16,3 % ab (HÖHLING 2000; s. Tab. 5.1).

Es ist bekannt, daß Sulfatzulagen von Pansenbakterien über Sulfit (SO_3^{2-}) zu Sulfid (S^{2-}) und Thioaminosäuren reduziert werden (BLOCK et al. 1951; HENDERICKX 1961). Sowohl von Sulfit als auch von Sulfid gehen erhebliche wachstumshemmende (toxische) Wirkungen auf Mikroorganismen aus (MITTROWANN 1999). Unterstellt man eine Lysis der Pansenprotozoen unter Sulfat- bzw. Sulfat-/Thiaminzulage (vgl. Tab. 5.1), so müßten nach Freisetzung des protozoalen Proteins und anschließender Desaminierung der Aminosäuren sowohl die i-Butter- als auch die i-Valeriansäuregehalte ansteigen (HUNGATE 1966).

Tab. 5.1: Abnahme der Protozoenkonzentration unter Sulfateinfluß (s. HÖHLING 2000)

Protozoengröße	Zulagephase I 400 mg Na_2SO_4	Zulagephase II 400 mg Na_2SO_4 plus 0,3 mg Thiamin
kleine Protozoen ($< 80 \mu\text{m}$)	- 56,3 % (bis Tag 14)	Plateaubildung auf niedrigem Niveau; Abnahme um weitere 15,1%
mittlere Protozoen ($80 - 120 \mu\text{m}$)	- 97,3 % (bis Tag 14)	Konzentration: fast null
große Protozoen ($> 120 \mu\text{m}$)	bis Tag 13 leichter Anstieg, ab Tag 14: - 99 %	keine Protozoen mehr nachweisbar
Summe aller Protozoen	- 68,4 %	Plateaubildung auf niedrigem Niveau; Abnahme um weitere 16,3 %

Dieses trifft wohl für die *i*-Buttersäure zu (s. o.), für die *i*-Valeriansäure aber nicht, was zumindest ein Ungleichgewicht zwischen ab- und aufbauenden Prozessen im N-Stoffwechsel signalisiert. So wäre aus diesen Befunden auch eine Begünstigung verstärkter Synthesen langkettiger Fettsäuren sowie verzweigter Aminosäuren abzuleiten (HUNGATE 1966; DEHORITY et al. 1967; ALLISON 1969; BRYANT 1974); ob dadurch Veränderungen der Mikrobenpopulationen- oder ihrer Stoffwechselrichtungen entstehen, bedarf weiterer Klärung.

5.5.3 Auswirkungen auf den Kohlenhydratstoffwechsel

Da die Auswirkungen im Kohlenhydratstoffwechsel maßgeblich die Cellulaseaktivität betreffen, wird auf diese ausführlicher eingegangen.

5.5.3.1 Auswirkungen auf die Cellulaseaktivität

Unter Sulfateinfluß sinkt die Cellulaseaktivität um bis zu - 67,3 % (zwischen Tag 10 u. 14) und nimmt unter Thiamineinfluß wieder stark zu (bis zu 166 %; Tag 14 – 19). Die Gehalte der Essigsäure vermindern sich während der gleichen Zeiträume um insgesamt 16,2 %. Die *i*-Buttersäure zeigt unter Sulfateinfluß keine Veränderungen, unter Thiamingabe jedoch eine Steigerung um 22,1 %. Eine Zunahme wird auch bei der *n*-Valeriansäurekonzentration beobachtet (Sulfatgabe: + 15 %, Sulfat-/Thiamingabe: + 23,3 %; auf insgesamt + 38,3 %).

Die Cellulaseaktivität stellt einen Summenparameter aller cellulolytischen Aktivitäten der Pansenorganismen dar, d. h. die Cellulaseaktivität wird nicht nur auf bakteriellen Ursprung [durch *B. succinogenes*, *R. flavefaciens*, bzw. *R. albus* und *Bv. fibrisolvens* (PETTIPHER u. LATHAM 1979 a, b; WOOD et al. 1982; STEWART u. BRYANT 1988)] zurückgeführt, vielmehr sind auch Pansenprotozoen [*Eudiplodinium maggii*, *Epidinium ecaudatum* (COLEMAN 1978; COLEMAN u. HALL 1980; COLEMAN 1985)] und anaerobe Pansenpilze [*Neocallimastix frontalis*, *Trichoderma viride*, *Phanerochaete chrysosporium* (MOUNTFORT u. ASHER 1985; WOOD et al. 1986; ENARI u. NIKU-PAAVOLA 1987; STAHLBERG et al. 1988)] in unterschiedlichem Maße beteiligt (Näheres s. KRAKOW 1992).

Die unter Sulfatzulage beobachtete Cellulaseaktivitätsabnahme (- 67,3 %) weist bei gleichzeitig sinkenden Essigsäurekonzentrationen (- 9,42 %) bzw. kaum veränderten CO₂-Gehalten (+ 2,6 %) erst einmal auf eine deutliche Benachteiligung aller im Pansen cellulolytisch wirksamen Mikroorganismen hin, da Essigsäure und CO₂ die Hauptprodukte des Stoffwechsels der Bakterien, Protozoen sowie der Pilze darstellen (HOLDEMANN et al. 1977; BAUCHOP u. MOUNTFORT 1981; ORPIN u. MUNN 1986; ABOU AKKADA u. HOWARD 1960). Einen weiteren Hinweis auf eine deutliche Beeinträchtigung der Pansenmikroben zeigt das vermehrte Auftreten von *n*-Valeriansäure (+ 15 %) bzw. die unveränderte *i*-Buttersäurekonzentration, die beide als Wachstumsfaktoren der cellulolytischen Bakterien gelten und offenbar nach deren Schädigung nicht verbraucht wurden (BRYANT et al. 1959; BRYANT 1986; näheres s. KRAKOW 1992).

Unter Thiamingabe stieg die Cellulaseaktivität um bis zu 166 % an. Dennoch nahm die Essigsäurekonzentration weiter ab, CO₂ blieb unverändert und die Gehalte der *n*-Valerian- und

i-Buttersäure nahmen weiter deutlich zu (bis + 38,3 % bzw. + 22,1 %). Diese Aktivitätszunahme würde einerseits auf eine Förderung der Cellulolyten hindeuten, die zur selben Zeit fehlende Synthese der Produkte (Essigsäure, CO₂) und der mangelnde Verbrauch der Wachstumsfaktoren (i-Butter-, n-Valeriansäure) auf eine weitere Benachteiligung der cellulolytisch aktiven Mikroben. Um diesen Widerspruch zu klären, werden im folgenden die Sulfat und Sulfat/Thiamin bedingten Einflüsse auf die Pansenmikroorganismen getrennt beschrieben und mögliche Mechanismen der Schädigung aufgezeigt. Der Literatur sind hierzu nur wenige Informationen zu entnehmen, so daß auch allgemeine Überlegungen zur Erläuterung herangezogen werden müssen.

5.5.3.1.1 Einfluß von Sulfat und Sulfat- / Thiamingaben auf Pansenbakterien

Die oben beschriebenen Veränderungen weisen auf Grund der erniedrigten Produktionsrate der Essigsäure und der gleichbleibenden bzw. zunehmenden Gehalte von i-Butter- und n-Valeriansäure auf eine deutliche Schädigung der cellulolytischen Bakterien hin (BRYANT u. DOETSCH 1955; HOLDEMANN et al. 1977; BRYANT 1986).

Sulfat wird im Pansen durch assimilierende (z. B. Hefen) und dissimilierende Bakterien (z. B. *Desulfovibrio desulfuricans*) schnell über Sulfit und Sulfid zu Schwefelwasserstoff (schweflige Säure) reduziert (PECK 1961; BICK 1978; WIDDEL u. HANSEN 1992) und für die Synthese von Thioaminosäuren, Cystin, Methionin und Thiamin genutzt (HENDERICKX 1961; BLOCK et al. 1951; JOHNSON et al. 1966; TAZUYA et al. 1987; näheres s. MITTROWANN 1999).

Schweflige Säure wirkt wachstumshemmend auf Pilze, Hefen und Bakterien (HEYDENREICH 1967), die Wirkung des Sulfits auf Pansenmikroben ist in niedrigen Konzentrationen stoffwechselsteigernd und in höheren Konzentrationen hemmend (WEIGAND 1974). Weiterhin ist bekannt, daß Bakterien nur in eingeschränktem Maße eine Resistenz gegenüber Sulfit entwickeln können (REHM u. WITTMANN 1963).

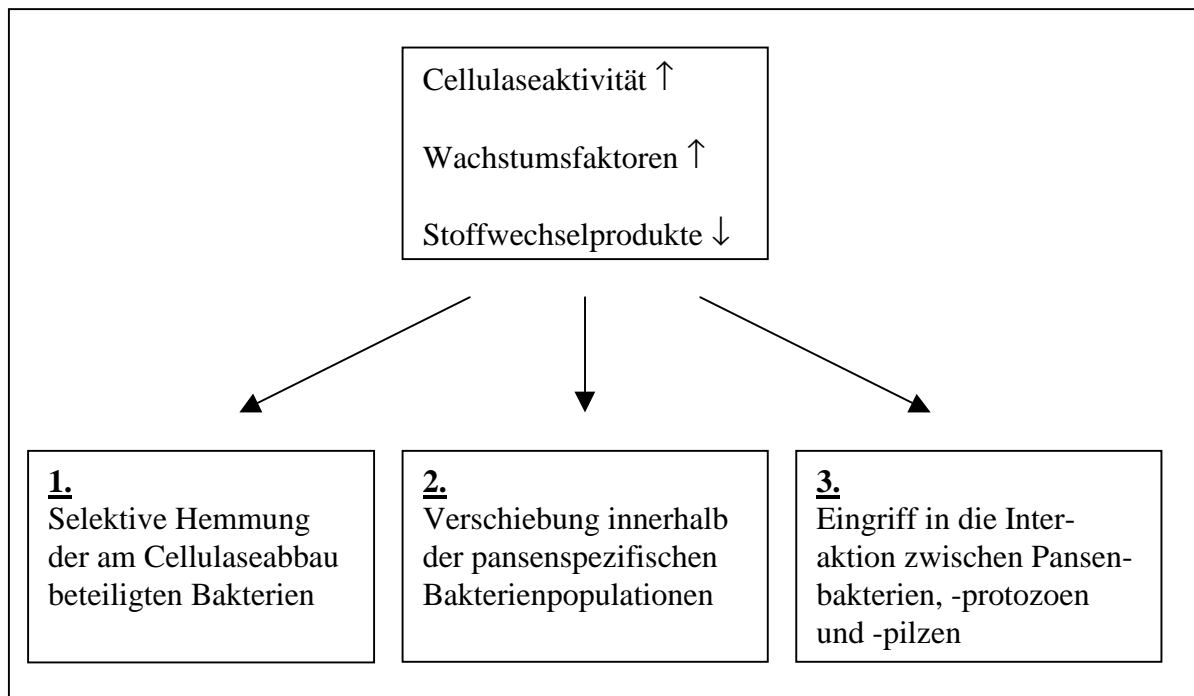
Dabei passiert Sulfit wahrscheinlich als undissoziierte schweflige Säure (besonders toxisch) die Zellwand und greift im Zellinneren in die Enzymsysteme der Mikroben selektiv ein.

Primäre Angriffspunkte des Sulfits sind z. B. die NAD-abhängigen Reaktionen der Glykolyse und der Zellatmung (WALLNÖFFER u. REHM 1965). Es spaltet sowohl Thiamin und seine Co-Enzyme (LEICHTER u. JOSLYN 1969; SCHEUNERT u. TRAUTMANN 1987) als auch Disulfidbindungen durch Sulfitolyse (ROY u. TRUDINGER 1970). Dabei ist zu beachten, daß Thiamin in Form von Thiamindiphosphat eine wichtige Rolle als Co-Enzym und aktives Zentrum folgender Enzyme einnimmt: Transketolase, Pyruvatdecarboxylase und α -Ketosäuredecarboxylasen. Sulfit schafft darüber hinaus durch Oxidation ein sauerstoffarmes Milieu (HARMEYER 1964) und sulfoniert verschiedene Carbonyle von Atmungskette und Citratzyklus (WALLNÖFFER u. REHM 1965). Von Sulfid und Schwefelwasserstoff weiß man, daß sie die Cytochrom-C-Oxidase der Bakterien blockieren und dadurch Störungen in der Zellatmung hervorrufen (PULS 1994; NICHOLLS 1975; BEAUCHAMP et al. 1984), bzw. Wirkungen durch Hemmungen der Superoxid-Dismutase oder der Glutathion-Peroxidase durch H₂S hervorrufen (KHAN et al. 1987 a, b).

Die genannten Mechanismen der Enzymschädigung innerhalb der Bakterienzellen können sowohl die bakterielle Stoffwechselaktivität, als auch die Vermehrungsfähigkeit beeinträchtigen oder gar zum direkten Zelltod durch Veränderungen innerhalb der Zellmembranen

führen. Der Frage, ob den beobachteten Veränderungen ein allgemeiner Rückgang der Bakterienzahl zugrunde liegt, konnte wegen der analytischen Schwierigkeiten nicht nachgegangen werden.

Der Sulfat bedingte Rückgang der Cellulaseaktivität wurde durch die Thiamingabe nahezu kompensiert. Dennoch blieb eine generelle Erhöhung des ruminalen Stoffwechsels aus. So blieben die Hauptprodukte weiterhin rückläufig, während die Wachstumsfaktoren kontinuierlich anstiegen (s. Übersicht 5.1 u. Abb. 5.1).



Übersicht 5.1: Mögliche Erklärungen der beobachteten Veränderungen in Cellulase- und Fermentationsaktivität

- 1.** Cellulose wird in mehreren Schritten über Cellobiose, Glucose, Pyruvat im wesentlichen zu Essigsäure und CO₂ abgebaut (BALDWIN u. ALLISON 1983; CHESSON u. FORSBERG 1988). An den verschiedenen Schritten des Katabolismus sind jeweils spezielle cellulolytische Bakterien beteiligt (DEMEYER u. GIESECKE 1973; KRAKOW 1992; MAURUSCHAT 1996; FRANK 1998 und Abb. 5.1 u. 5.2). Eine Sulfat bedingte Störung des enzymatischen Celluloseabbaus ist auf unterschiedlichen Stufen denkbar. Mit dem unvollständigen Abbau wären auch die weiter fallenden Endprodukte zu erklären. Da unter Thiamingabe ein Anstieg der Cellulaseaktivität (+ 166 %; s. Tab. 9.27) beobachtet werden konnte, kann aufgrund der bekannten Rolle des Thiamins als Coenzym (im Pyruvatstoffwechsel, Citratzyklus, Pentosephosphatweg) angenommen werden, daß dadurch eine Stabilisierung der Zellmembran, eine Verkürzung der Generationszeit und eine Steigerung der Zellteilung (z. B. durch pos. Effekte auf den Energiestoffwechsel, Aminosäuren- und Nukleinsäurensynthese) bei Cellobiose verwertenden Bakterien erzeugt wurde.

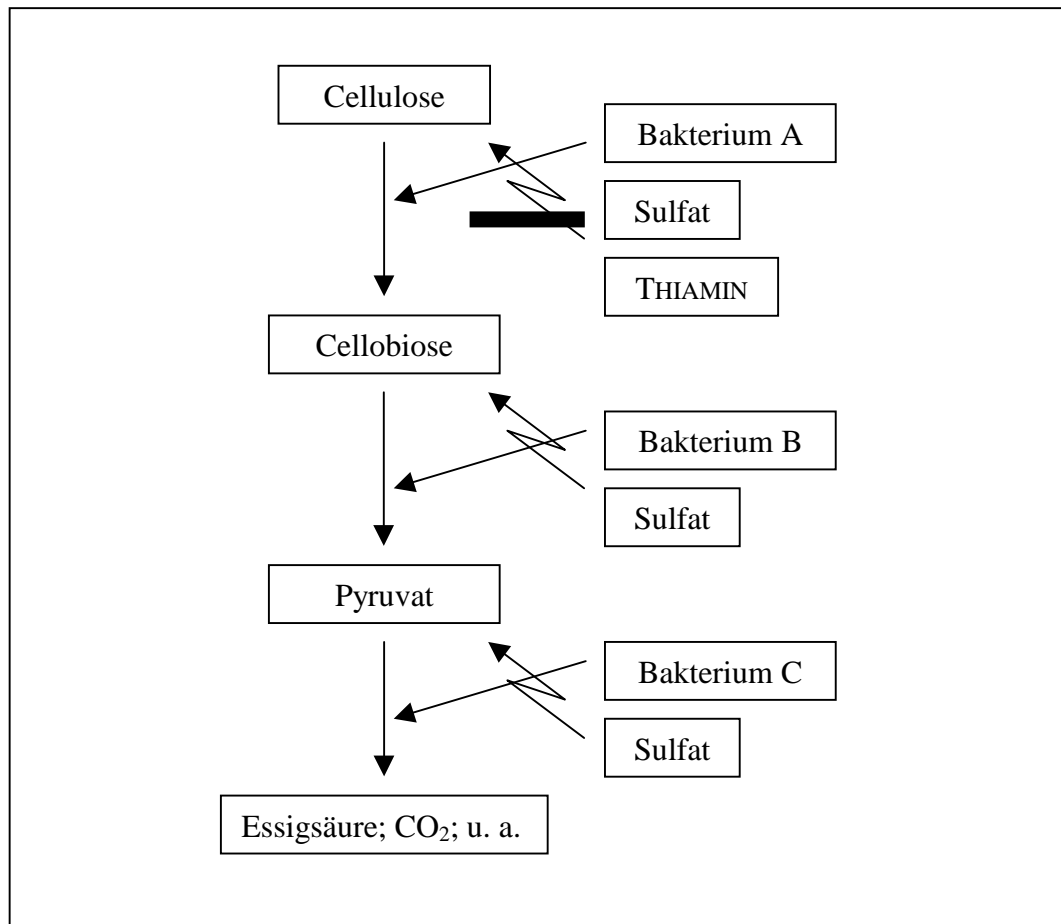


Abb. 5.1: Abbau der Cellulose und mögliche Einflußnahmen durch Sulfat (Sulfit) und Thiamin (Bakterium A: cellulolytische Keime; Bakterien B u. C: Verwerter zuvor gebildeter Substrate; ↘ Hemmender Einfluß; — Auflösung der Hemmung)

2. Man weiß von Pansenbakterien, daß sie nicht nur um dieselben Substrate konkurrieren, sondern auch je nach Substratspezifität und Stoffwechselregulation verschiedene ökologische Nischen besetzen. So z. B. der Keim *Butyrivibrio fibrisolvens*, der sowohl cellulolytisch- als auch lipolytisch aktiv ist (vgl. dazu Kap. 2; RUSSEL u. BALDWIN 1978, 1979; FRANK 1998). Wenn durch die Sulfat- bzw. Sulfat-/Thiaminzulage eine Förderung der sulfat-/sulfitreduzierenden Bakterien stattgefunden hat (vgl. 5.5.2 u. Anstieg des Proteingehaltes um 68,5 %), könnten diese nach Abnahme der Cellulolyten deren ökologische Nische eingenommen haben und neben anderen Enzymen auch in geringen Mengen Cellulasen synthetisieren. Einen Hinweis darauf findet man in der Literatur von WIDDEL u. PFENNIG (1984), die bei *Desulfovibrio*-Gattungen einen geringgradigen KH-Stoffwechsel beschrieben haben. Im Gegensatz zu den speziellen Cellulolyten kommt es beim Kohlenhydratabbau durch sulfat-/sulfitreduzierende Bakterien nicht zur Gasproduktion sondern zur Entstehung nicht näher bekannter Stoffe (WIDDEL u. PFENNIG 1984), was die sinkenden CO₂-Gehalte erklären könnte. Es ist aus oben

genannten Gründen denkbar, daß trotz geringer Cellulaseaktivität des einzelnen sulfat-/sulfitreduzierenden Bakteriums, die Masse der sulfat-/sulfitreduzierenden Bakterien aber in der Lage sein könnte, eine Aktivitätssteigerung um 166 % zu erreichen.

- 3.** Eine dritte Erklärungsmöglichkeit zur Abnahme der cellulolytischen Bakterien unter Sulfateinfluß bietet die Interaktion zwischen Pansenbakterien, -protozoen und -pilzen. Es ist bekannt, daß cellulolytische Mikroben ebenso wie jene, die Vit. B₂, Niacin oder Vit. B₁₂ synthetisieren, einen speziellen Schwefelbedarf aufweisen. Für *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus* sp., *Butyrivibrio* sp. (außer *Bv. fibriosolvens*) und für den Pansenpilz *Neocallimastix* sp. gilt der Schwefelbedarf als nachgewiesen (BRYANT 1986; CHESSON et al. 1986; DEHORITY 1986; ORPIN u. GREENWOOD 1986; VAREL u. DEHORITY 1989; ONODA et al. 1996). Von größter Wichtigkeit ist auch die Anwesenheit der Pansenprotozoen für die Pansenbakterien, weil die Sulfidgehalte im Pansen bei Abwesenheit der Protozoen sinken (IVAN et al. 1986). Da Sulfid (Schwefelwasserstoff) die wichtigste Schwefelform für die Pansenbakterien darstellt (z. B. für die Aminosäuresynthese; MOIR 1975), kann sich eine verminderte H₂S-Verfügbarkeit ungünstig auf das Wachstum und die Stoffwechselaktivität der übrigen Mikroorganismen auswirken (BRYANT 1973, 1974). Bei einer mangelhaften Schwefel- (bzw. H₂S) Bereitstellung sinkt dann z. B. die ruminale Verdauung (KENNEDY 1974; WESTON et al. 1988). In den hier beschriebenen Versuchen fielen die Protozoenzahlen extrem nach Sulfatgabe (68,4 %; vgl. Kap. 5.5.2 u. HÖHLING 2000), was für oben genannte Mechanismen sprechen würde und so eine Verminderung der cellulolytischen Aktivität zur Folge hätte. Es käme zur Entstehung einer paradoxen Situation, d. h. einerseits läge mehr als ausreichend Schwefel im Milieu vor, und andererseits würde es in den Bakterien zu einem Mangel kommen. Die beschriebene Möglichkeit der Hemmung wäre bei niedrigeren Zulagekonzentrationen von Natriumsulfat durchaus denkbar. In den hier durchgeführten Versuchen wird die Schädigung der cellulolytisch aktiven Bakterien aber wohl eher durch eine Intoxikation (d.h. eine Akkumulation durch Sulfit bzw. Sulfid s. u.) hervorgerufen als durch einen Mangel.

Anhand der in der vorliegenden Arbeit bestimmten Parameter kann keine endgültige Aussage über die tatsächlichen Abläufe hinsichtlich der Celluloseverdauung respektive Cellulaseaktivität getroffen werden. Vielmehr ist zu mutmaßen, daß die aufgezeigten Möglichkeiten **1.** und **2.** (s. Übersicht 5.1) in Betracht kommen, wobei über den jeweiligen Grad ebenfalls Unklarheit besteht. Zur weiteren Abklärung müßten deshalb weiterführende Untersuchungen erfolgen.

Die in diesen Untersuchungen festgestellte sulfatbedingte Cellulaseaktivitätsabnahme steht im Gegensatz zu Angaben in der Literatur. Die dort aufgezeigten Ergebnisse hinsichtlich des Kohlenhydratstoffwechsels beziehen sich immer auf die Celluloseverdauung im allgemeinen, und nicht auf die Cellulaseaktivität im speziellen. Um die Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, wird im folgenden Abschnitt die Bedeutung der beiden Parameter einander gleichgesetzt (d. h. eine Steigerung der Celluloseververdauung entspricht einer Cellulaseaktivitätszunahme und umgekehrt).

Vergleicht man die in vivo gewonnenen Meßdaten von MORRISON et al. (1990; vgl. auch dazu Tab. 5.2) mit den eigenen in-vitro-Versuchsergebnissen, so stellt man fest, daß in vivo genau entgegengesetzte Ergebnisse erzielt worden sind. Unter Sulfatsupplementierung (ad libitum, bis max 0,75 g SO_4^{2-} /d Tier) konnte eine deutliche Steigerung der Celluloseverdauung beobachtet werden mit den entsprechenden Veränderungen der übrigen Parameter (Essig- ↑, Buttersäure ↓). Weiterhin konnte eine schwach signifikante Erhöhung der Pansenbakterien und -protozoenzahl festgestellt werden. Die Anzahl der Pansenpilze fiel dagegen deutlich ab.

Sucht man nach einer Erklärung für die sinkende Cellulaseaktivität unter Sulfatzulage in vitro, so ist als erstes nach Besonderheiten der Versuchsanstellung zu suchen. Da im RUSITEC das 4. Kompartiment, d. h. die absorptionsfähige Pansenwand fehlt (CZERKAWSKI 1986), können die für den S-Stoffwechsel wichtigen Schritte der Rezyklierung und Eliminierung über Blut, Harn und Kot nicht stattfinden. So wird das eingegebene Sulfat im RUSITEC zwar reduziert, akkumuliert aber im Vergleich zu den in-vivo-Verhältnissen. In vivo wird bei steigenden S-Gehalten eine vermehrte Ausscheidung über den Harn festgestellt (UPTON et al. 1970; TELLER et al. 1977). Außerdem besteht eine Korrelation zwischen oraler S-Aufnahme und -Ausscheidung über den Kot (KENNEDY u. SIEBERT 1975; KENNEDY et al. 1975; SEDDEK et al. 1991).

Desweiteren scheint die Sulfidverträglichkeit für Pansenmikroorganismen in vivo besser zu sein als in vitro, d. h. es sind in vivo höhere Sulfiddosierungen erforderlich als in vitro, um die mikrobielle Fermentation zu beeinträchtigen (WEIGAND 1974). Die hohe Sulfidverträglichkeit der Mikroben läßt sich durch die speziellen Verhältnisse der Vormägen erklären. Das mit dem Futter aufgenommene Sulfat/Sulfid verteilt sich erst allmählich im Vormageninhalt. Der freigesetzte Schwefel wird dann durch Pansenmikroben reduziert und verwertet (absorbiert, eliminiert oder rezykliert). Die Wirksamkeit des Sulfids findet dadurch eine zeitliche Begrenzung (Näheres s. MITTROWANN 1999).

Eine Besonderheit des Pansens ist außerdem, daß unter den dort vorherrschenden Milieubedingungen (speziell Substratangebot und pH-Wert) die Möglichkeit besteht, daß sich Sulfonate und S-Sulfonverbindungen bilden, die antimikrobiell kaum wirksam sind (REHM et al. 1965; WEIGAND 1974).

Auf die eigenen Versuche bezogen bedeutet dies, daß das direkt in den RUSITEC applizierte Sulfat schneller und in höherem Maße durch die sulfat-/sulfidreduzierenden Mikroben als in vivo reduziert wurde. Darum wären eine ungenügende Verteilung (begrenzter Raum im RUSITEC im Vergleich zu in-vivo-Verhältnissen und im PAS per se), eine Akkumulation durch fehlende Absorption und Eliminierung sowie Entfaltung einer toxischen Wirkung denkbar.

GUARDIOLA et al. (1983) konnten in ihren in-vivo-Versuchen unter anderem hoch signifikante Steigerungen der Celluloseverdauung feststellen. Die stärkste Zunahme korreliert mit der höchsten Sulfatdosis (0,15 % Na_2SO_4) unabhängig von der chemischen Verbindung (d. h. Methioningaben von 0,15 % erzeugten die gleichen Zunahmen). Sie schlossen aus ihren Ergebnissen, daß cellulolytisch aktive Pansenmikroben schwefelabhängig sind (denkbare Mechanismen und nähere Erläuterungen s. o.).

Bei in-vitro-Versuchen von DE OLIVEIRA et al. (1997, RUSITEC; Tab. 5.2) wurden annähernd vergleichbare Konzentrationen, wie in den eigenen Versuchen, von Sulfat eingesetzt (333 mg bzw. 377 mg/Fermenter u. Tag). Unterschiede bestanden einerseits in der

Applikationsform des Agens und andererseits in den Milieubedingungen (azidotische Verhältnisse). Natriumsulfat wurde in den entsprechenden Versuchen über den künstlichen Speichel (Puffer) in das System eingebracht. In die Versuchsfermenter wurde während der Testphase zusätzlich 296 nmol Thiaminhydrochlorid/Tag über den Puffer appliziert (DE OLIVEIRA et al. 1997).

Die Cellulaseverdauung sank in diesen Versuchen ebenfalls (- 37 %), wobei der Rückgang der Cellulolyten nicht allein auf die Sulfatgabe (bzw. Sulfit u. Sulfid) zurückgeführt werden kann, da die Bakterien, mehr noch die bakterieneigenen Cellulasen, sehr empfindlich auf Milieuveränderungen in Bezug auf den pH-Wert reagieren (s. KRAKOW 1992). Es ist deshalb zu vermuten, daß der niedrige pH-Wert allein ausgereicht hätte, die Cellulasen inaktiv werden zu lassen.

Obwohl die Versuchsergebnisse von DE OLIVEIRA et al. (1997) im Hinblick auf die cellulolytische Aktivität nicht leicht zu interpretieren sind, stecken doch im Versuchsaufbau interessante Aspekte, die bei weiteren Versuchen im Pansenlabor Beachtung finden sollten. So wäre z. B. die Applikation des Agens über den Speichel viel schonender und würde den Pansenmikroben auch Möglichkeiten zur Anpassung bieten.

Tab. 5.2: Einfluß von Schwefel auf die Celluloseverdauung (nach MITTROWANN 1999)

Versuch	Schwefelzugabe	Effekte auf die Celluloseverdauung	Autor, Jahr
in-vivo, Schaf	Heu mit 0,20 bzw. 0,27 % S +0,05, 0,10 o. 0,15 % S als Na ₂ SO ₄ o. Methionin	Celluloseverdauung ↑, kein Unterschied der S-Verbindungen	GUARDIOLA et al. 1983
in-vivo, Schaf	Heu (+ Harnstoff) mit 0,4 g S/kg TS + Na ₂ SO ₄ ; N:S 10:1	Celluloseverdauung ↑ (p ≤ 0,05), Essigsäure ↑, Propionsäure ↓, Bakterien u. Protozoen ↑, Sporangien der Pilze ↓, Kot S-Gehalt ↑, Harn S-Konz. ↓	MORRISON et al. 1990
RUSITEC; 12 Tage, Schaf	(azidotische Verhältnisse) 333 mg Na ₂ SO ₄ ; 377 mg Na ₂ SO ₄	Celluloseverdauung: - 37 %	DE OLIVEIRA et al. 1997

5.5.3.1.2 Einfluß von Sulfat und Sulfat- / Thiamingaben auf Pansenprotozoen

Die abnehmende Cellulaseaktivität weist ebenso wie die verminderte Essigsäure- und die gleichbleibende CO₂-Konzentration auf eine deutliche Benachteiligung der Pansenprotozoen hin (s. 5.5.3.1). Da durch Untersuchungen von HÖHLING (2000) genaue Zahlen vorliegen (vgl. auch 5.5.2), kann man in diesem Fall von einer gesicherten sulfat- (bzw. sulfit- u. sulfid-) bedingten Schädigung der Protozoen ausgehen.

Hierbei sind die kleinen Protozoen (< 80 µm) um 56,3 %, die mittleren (80 - 120 µm) um 97,3 % und die großen (> 120 µm) um 99 % reduziert.

Da ab einer Protozoengröße von über 80 µm die Schädigung um über 40 % ansteigt, d. h. mit zunehmendem Zelldurchmesser und zunehmender Zelloberfläche auch eine größere Membranangriffsfläche vorhanden ist, könnte das ein Hinweis darauf sein, daß Sulfat (und Sulfit bzw. Sulfid) selektiv die Zellmembranen der Protozoen schädigt (s. Kap. 5.5.3.1.1).

Ein weiterer Aspekt ist, daß unter der kombinierten Gabe von Sulfat und Thiamin die Protozoenzahlen weiter abnehmen (kleine Protozoen um 15,1 %, Summe aller Protozoen um 16,3 %). Das spricht dafür, daß Sulfit (Sulfid) im PAS akkumuliert und die Protozoen derart schädigt, daß sich die zellstabilisierenden Eigenschaften, respektive die positiven Einflüsse des Thiamins, die auch für Bakterien bekannt sind, nicht entfalten können (vgl. Kap. 5.5.3.1). Vorstellbar wäre auch eine unmittelbare thiaminolytische Wirkung durch hohe Sulfit- (Sulfid-) Konzentration im Pansensaft, da das Thiamin während der Zulagephase direkt in den Pansensaft appliziert wurde und somit der direkten toxischen Wirkung des Sulfits ausgeliefert war. Thiamin könnte dadurch seine positive Wirkung gar nicht erst entfalten.

Schweflige Säure wirkt sich wachstumshemmend auf Pilze, Hefen und Bakterien aus (HEYDENREICH 1967), Sulfit hingegen je nach Konzentration stoffwechselsteigernd oder -hemmend. Während in den Versuchen von MITTROWANN (1999) unter Sulfitgabe (100 mg/Tag u. Fermenter) in den ersten fünf Tagen ein positives Protozoenwachstum beobachtet werden konnte (+ 30 %; HÖHLING 2000), fielen in den hier beschriebenen Versuchen (Zugabe von 400 mg Sulfat/Tag u. Fermenter) die Protozoenkonzentrationen beginnend vom ersten Tag an drastisch ab. Das zeigt einerseits, daß die Protozoen schwefelabhängig sind und dadurch auch ihren Stoffwechsel steigern können, andererseits aber bei zu hohen Schwefelkonzentrationen per se (bzw. durch Akkumulation) rasch absterben. Diese Beobachtungen stimmen mit den oben zitierten Literaturangaben überein.

5.5.3.1.3 Einfluß von Sulfat und Sulfat- / Thiamingaben auf Pansenpilze

Auf die Parameter, die für eine Abnahme der Pansenpilze sprechen, wurde bereits unter den Kap. 5.5.3.1.1 und 5.5.3.1.2 näher eingegangen.

Über eine Abnahme der cellulolytisch aktiven Pansenpilze können nur grundsätzliche Überlegungen angestellt werden, da in dieser Versuchsreihe weder nähere Spezifizierungen von Pilzen, noch quantitative Untersuchungen vorgenommen worden sind.

Es ist bekannt, daß der cellulolytische Enzymkomplex von *Neocallimastix frontalis* ein pH-Optimum von 5 – 6 hat (MOUNTORT u. ASHER 1985; PEARCE u. BAUCHOP 1985) und *Trichoderma viride* als Pilz ein Temperaturmaximum von 37° C aufweist (im RUSITEC dagegen 39,3° C vorliegen; SAMSON et al. 1981). So könnte man vermuten, daß die cellulolytische Aktivität der Pilze bereits im Vorlauf und während der Kontrollphase sehr eingeschränkt- und unter der Sulfat-, Sulfat-/Thiaminzulage kaum noch zu minimieren war.

Sollte trotzdem noch cellulolytische Aktivität bei Zulagebeginn bestanden haben, so ist nach Abwägung der oben aufgeführten schädigenden Mechanismen (5.5.3.1.1 u. 5.5.3.1.2) davon auszugehen, daß die Pilzsporangien (und evtl. auch ihre Sporen) durch die Sulfit- (Sulfid-) Konzentration abgetötet oder in ihrer Enzymaktivität erheblich beeinträchtigt wurden.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß Sulfat- und Sulfat-/Thiamingaben deutliche Veränderungen der Cellulaseaktivität hervorrufen. Die drastische Abnahme der Protozoenpopulation um 84,7 % (Summe der Protozoen, während beider Zulagephasen) gilt als nachgewiesen, für die übrigen cellulolytisch-aktiven Pansenmikroben kann sie nur vermutet werden. Die Zunahme der Cellulaseaktivität bei Zusatz von Thiamin deutet auf eine Aktivitätssteigerung durch die sulfat-/sulfitreduzierenden bzw. cellobiose verwertenden Bakterien hin.

5.5.3.2 Auswirkungen auf die Gaszusammensetzung

Unter Sulfatzulage bleibt die Gesamtgasproduktion unverändert, während der kombinierten Sulfat-/Thiamingabe sinkt sie um 3 %. Der Methananteil des Gesamtgasvolumens verringert sich unter Sulfatgabe um 22,0 %, unter Thiamineinfluß um weitere 7,24 %. Wasserstoff steigt entsprechend um 62,5 % und 63,7 %. Kohlendioxid nimmt um 2,6 % zu (Sulfatgabe) und zeigt unter Thiamingabe nahezu konstante Werte (- 0,87 %).

Für die nachfolgende Interpretation der Ergebnisse ist es wichtig, einige physiologische Aspekte der Methanogenese und Sulfatreduktion kurzfassend zu beschreiben.

Methanogene Bakterien (*Methanobrevibacter ruminantium*; *Methanomicrobium mobile*, *Methanobacterium formicium*; *Methanosarcina barkeri*) sind strikte Anaerobier, nutzen die Synthese von Methan als Hauptenergiequelle und sind dabei vorwiegend an Substrate wie H_2 und CO_2 gebunden, die ihnen von fermentierenden Pansenmikroorganismen (z. B. Cellulolyten, Protozoen) zur Verfügung gestellt werden (HUNGATE 1967; WOLIN u. MILLER 1988; WHITMAN et al. 1992). Die Wachstumsrate der Methanobakterien korreliert mit dem vorhandenen CO_2 -Gehalt (WOLIN u. MILLER 1988).

Formiat, Methanol und Acetat spielen als Substrate für die Methanogenese nur eine untergeordnete Rolle (HUNGATE et al. 1970; VAN HOVEN u. PRINS 1977; CZERKAWSKI 1986). Die zur Methanproduktion befähigten Bakterien sind auf die Anwesenheit von Protozoen angewiesen, sie haften an deren Oberfläche an und nutzen den als Endprodukt ausgeschiedenen Wasserstoff (VOGELS et al. 1980; STUMM et al. 1982; KRUMMHOLZ et al. 1983).

Darüber hinaus kommen Methanbildner nur im anaeroben Pansensaft vor, wenn andere Elektronenakzeptoren wie NO_3^- , Fe^{3+} , und SO_4^{2-} in niedrigen Konzentrationen vorliegen oder ganz fehlen. Andernfalls konkurrieren andere Organismen (z. B. sulfidogene Bakterien) mit den Methanobakterien um die reduzierten Substrate und verdrängen sie (KRISTJAANSSON et al. 1982; WHITMAN et al. 1992). Beispielhaft erwähnt sei die verringerte Methanproduktion bei erhöhten Nitrat- oder Sulfatwerten (DEMEYER u. VAN NEVEL 1975; ALABOUDI u. JONES 1985).

Sulfat- (sulfit-, sulfid-) reduzierende Bakterien werden in assimilierende und dissimilierende unterteilt. Assimilierende reduzieren nur so viel Sulfat zu Sulfid, wie sie als Nährstoff für den Aufbau S-haltiger Aminosäuren und Proteine benötigen (WIDDEL u. HANSEN 1992).

Für die assimilatorische Sulfatreduktion wird kein Wasserstoff benötigt (Reaktionsablauf s. MITTROWANN 1999). Anzeichen für eine assimilatorische Reduktion können steigende Aminosäuregehalte respektive Proteinkonzentrationen sein.

Dissimilierende Bakterien gewinnen ihre Energie überwiegend durch Reduktion von Sulfat und mit geringerer Bedeutung auch aus anderen oxidierten Schwefelverbindungen. Als Elektronendonatoren benötigen sie molekularen Wasserstoff oder organische Verbindungen (Laktat, Pyruvat, Formiat, Ethanol, Fumarat und Malat; POSTGATE 1984; CAMPBELL u. SINGLETON 1986; WIDDEL 1992; WIDDEL u. BAK 1992; WIDDEL u. HANSEN 1992). Der von diesen Bakterien produzierte Schwefelwasserstoff (H_2S) wird in den Pansensaft abgegeben und steht anderen Bakterien als direkte Schwefelquelle zur Verfügung (SPEARS et al. 1977).

Der hoch signifikante Rückgang der Methanogenese unter Sulfat- und anschließender Sulfat-/Thiamingabe um 22,0 % bzw. 7,24 % kann mehrere Ursachen haben. Durch den schon mehrfach beschriebenen starken Rückgang der Protozoen (vgl. Kap. 5.5.2 u. 5.5.3) wird den Methanobakterien die Möglichkeit entzogen, an diesen anzuhafte und H_2 aus dem protozoalen Stoffwechsel aufzunehmen. Über eine Depression der Methanogenese bei Abnahme der Protozoenzahl berichten auch DEMEYER u. VAN NEVEL (1979), JOUANY et al. (1981), ITABASHI et al. (1984), WHITELAW et al. (1984), KREUTZER et al. (1986). Die direkte Sulfatgabe in den Pansensaft würde bei anschließender Reduktion des Sulfats eine Verdrängung der Methanobakterien durch die sulfidogenen Bakterien induzieren. In Frage käme auch eine direkte Hemmung der Methanobakterien bzw. ihrer Enzymsysteme durch Sulfit nach der ersten Reduktion (mögliche Mechanismen s. 5.5.3.1.1).

Durch die Abnahme der cellulolytischen Pansenmikroben [gesichert für Protozoen (HÖHLING 2000), vermutet für Bakterien] müßten den methanogenen Bakterien eigentlich auch weniger Substrate in Form von CO_2 und H_2 zur Verfügung stehen und so die Methanogenese weiter vermindern.

Aufgrund der oben erwähnten Mechanismen hätte man einen stärkeren Rückgang der Methankonzentration als die gemessenen 22,0 % erwarten können, d. h. nachdem die Protozoenzahlen übermäßig stark und schnell abgenommen haben (> 80,0 %; s. Tab. 5.1), die Cellulaseaktivität um 67,3 % gesunken ist, und eine sulfitbedingte Schädigung der Methanobakterien bzw. eine Konkurrenz um das reduzierte Substrat (H_2) zu vermuten gewesen wäre.

Der nur mäßige Rückgang der Methanproduktion im Vergleich zu den Ergebnissen von MITTROWANN (1999; Abnahme der Methanproduktion von 60 % nach Zulage von 100 mg Sulfit) könnte ein Hinweis darauf sein, daß die direkte Hemmung (Toxizität) durch Sulfit zu Beginn der Zulage nur gering war. Es fällt auf, daß sich die Abnahme unter Sulfatgabe bis zum 15. Tag hinzieht (bzw. bis zum 17. Versuchstag unter Thiamingabe), unter Sulfitgabe (Versuch: MITTROWANN 1999) aber bereits innerhalb eines Tages die stärkste Hemmung erreicht wurde. Das heißt, daß das Sulfat erst durch die Reduzierung (in Sulfit u. Sulfid) der immer größer werdenden sulfatreduzierenden Bakterienpopulation toxische Wirkungen entfalten konnte. Die Toxizität baute sich bis zum Zulageende (Tag 20) auf und zeigte bis zum Versuchende (Tag 25) deutlich anhaltende Wirkungen.

Die Konkurrenz um Wasserstoff scheint nicht sehr stark gewesen zu sein, weil eine assimilierende sulfidogene Bakterienpopulation keinen Wasserstoff für ihre Reduzierung benötigt. Die dabei stattgefundenen Aminosäuresynthese könnte sich in den ansteigenden Proteingehalten der Bakterienfraktion (Sulfatgabe: + 42,5 %; Sulfat / Thiamingabe + 26,0 %) widerspiegeln. Andererseits kann man vermuten, daß durch die vorwiegend assimilierenden Sulfatreduzierer weniger Wasserstoff verbraucht wird, was die ansteigenden Wasserstoffgehalte (+ 62,5 % bzw. + 63,7 %; s. Tab. 9.25) erklären würde.

Ein weitere Möglichkeit für die geringe Abnahme ist die Substratbereitstellung (H_2 und CO_2) für die Methanobakterien. Die Cellulaseaktivität sinkt unter der Sulfatgabe um 67,3 %. Da im Kap. 5.5.3.1.1 aber unterstellt wurde, daß die Celluloseverdauung (Cellulaseaktivität) durch die steigende Zahl der sulfat-/sulfitreduzierenden- und bestimmter Cellobiose verwertender Bakterien übernommen wird (Nischenbesetzung; Cellulaseaktivität + 166 %), müßte man davon ausgehen, daß den methanogenen Bakterien genügend Substrat zur Verfügung steht, da die Abnahme der Methanogenese um 22,0 % auch bedeutet, daß noch ca. 80 % der Kontrollphasenkonzentration des Methans erreicht wird.

In der Einleitung dieses Kapitels wurde beschrieben, daß Methanobakterien an die Anwesenheit von Protozoen gebunden sind und außerdem deren Stoffwechselendprodukte (z. B. H_2) aufnehmen. Einerseits sinkt die Protozoenzahl um 84,7 %, dieses würde dazu führen, daß den Methanobakterien die Lebensgrundlage entzogen würde. Andererseits ist aber durch andere Stoffwechselfvorgänge mehr als ausreichend Wasserstoff vorhanden (+ 62,5 % bzw. + 63,7 %; s. Tab. 9.25). Deshalb könnte man vermuten, daß die Methanobakterien im Pansensaft ungebunden vorliegen aber ihre Methanproduktion weiter fortsetzen, weil genügend Substrat (H_2) vorhanden ist. Diese Annahme deckt sich mit Untersuchungen von VOGELS et al. (1980), welche Methanobakterien, die normalerweise in Haufen bzw. Ketten und nur in Verbindung mit Protozoen anzutreffen waren, im Pansensaft überwiegend frei vorliegend bestimmen konnten. Ein weiterer Aspekt könnte aber auch sein, daß die Methanobakterien sich verstärkt an die übrig gebliebenen Protozoen heften, und so die Methanproduktion zu 80 % (bzw. 70 % unter Thiaminzulage) aufrecht erhalten.

Unter Thiamineinfluß fiel die Methankonzentration um weitere 7,24 %. Im Gegensatz dazu stiegen die Methangehalte in den Versuchen von MITTROWANN (1999; zw. Tag 16 – 21: + 111 %) stetig an. Diese Ergebnisse stützen die Vermutung, daß Sulfat in reduzierter Form akkumulierte (Sulfit, Sulfid). Die Methanproduktion wird unter diesen Bedingungen auch nicht durch Thiamingaben (Vergleich MITTROWANN 1999) begünstigt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Sulfat- und Sulfat-/Thiamingaben erhebliche Auswirkungen auf die Methanogenese haben. Eine vielfach beschriebene Interaktion von sulfatreduzierenden (dissimilierenden) und methanogenen Bakterien konnte in dieser Versuchsreihe nicht nachgewiesen werden. Sie wurde u. U. durch die Wirkung assimilierender sulfatreduzierender Bakterien kompensiert.

5.5.3.3 Auswirkungen auf den Gehalt an flüchtigen Fettsäuren

Die Essigsäuregehalte nahmen unter Sulfatgabe um 9,42 % und unter der kombinierten Sulfat-/Thiaminzulage um weitere 6,75 % ab. Propionsäure zeigte erst während der zweiten Zulagephase einen Konzentrationsanstieg um 19,4 %. N-Buttersäure stieg entsprechend um 7,2 % respektive um weitere 2,8 % auf insgesamt 10,0 %. Die Summe der FIFS fiel um 2,5 % und 3,2 %. Wasserstoff zeigte starke Zunahmen von 62,5 % und 63,7%.

Essig-, Propion- und Buttersäure stellen normalerweise mehr als 95 % der mikrobiell gebildeten FIFS dar (SCHEUNERT u. TRAUTMANN 1987). Der physiologische Bereich der Gesamtkonzentration flüchtiger FS wird auf 60 – 120 mmol/l Pansensaft beziffert (DIRKSEN 1990 b) wobei sich für Essigsäure ein Anteil von 50 – 65 Mol% (= 30 – 78 mmol/l), für Propionsäure von 20 – 25 Mol% (= 12 – 30 mmol/l) und für Buttersäure von 10 – 20 Mol% (= 6 – 24 mmol/l) ergibt. Die restlichen 5 Mol% (= 3 – 6 mmol/l) entfallen auf Ameisen-, Valerian-, Capron- und höhere Fettsäuren.

Die molaren Verhältnisse der ruminalen Fettsäuren gelten bei gleichbleibender Fütterung als relativ stabil (OWENS u. GOETSCH 1988). Wenn sie sich verändern, werden diese Verschiebungen als Ausdruck massiver Einflüsse gewertet, wie sie z. B. nach Futterumstellungen entstehen können. Berechnet man die relativen Anteile dieser Säuren (s. Tab. 5.3), kristallisieren sich unter Sulfat- und Sulfat-/Thiamineinfluß Abnahmen des Essigsäureanteils- und Zunahmen bei den übrigen Säureanteilen heraus.

Tab. 5.3: Fettsäurekonzentration (mmol/l) u. prozentuale Anteile in den Zulagefermentern (Überständen)

	Essigsäure		Propionsäure		n-Buttersäure		Hexansäure		Summe	
	mmol/l	%	mmol/l	%	mmol/l	%	mmol/l	%	mmol/l	%
Kontrollphase	59,5	62,4	17,7	18,6	17,1	17,9	1,00	1,05	95,3	100
Zulagephase I	57,6	61,6	17,2	18,4	17,6	18,8	1,08	1,16	93,5	100
Zulagephase II	53,7	58,8	18,2	19,9	18,2	19,9	1,28	1,40	91,4	100
Nachlauf	57,9	59,6	21,8	22,4	15,9	16,4	1,57	1,62	97,2	100

Über Gründe, die zu einer Abnahme der Essigsäurekonzentration unter Sulfat-, Sulfat-/Thiamingabe führen (Rückgang der Cellulolyten) bzw. den sich daraus ergebenden Folgen, wurde schon in Kap. 5.5.3.1 ausführlich hingewiesen und diskutiert.

Trotzdem kann für den Rückgang der Essigsäurekonzentration nicht allein eine Beeinträchtigung der cellulolytischen Bakterien verantwortlich gemacht werden, da Essigsäure auch Hauptfermentationsprodukt anderer ruminaler Bakterien (z. B. lipolytische-, proteolytische-, amylolytische-, pektinolytische- und zuckerspaltende Bakterien) ist.

Eine mögliche Benachteiligung weiterer Spezies oder funktioneller Gruppen ist deshalb nicht auszuschließen.

Für die Erhöhung des relativen Propionsäureanteils unter der kombinierten Gabe kommt die Begünstigung zweier Stoffwechselwege in Betracht: primär der Succinat- und sekundär der Acrylatweg (FAHEY u. BERGER 1988). Für die Synthese des Propionats sind säureverwertende Bakterien verantwortlich. Sie führen eine Sekundärfermentation der Endprodukte anderer Pansenbakterien durch (z. B. Laktat, Succinat und Formiat). Dabei dient Succinat als Substrat für den Succinatweg, Laktat entsprechend für den Acrylatweg. Dieser Weg wird hauptsächlich von *Selenomonas ruminantium* (WOLIN u. MILLER 1988) und *Megasphaera elsdenii* (LADD u. WALKER 1965) besprochen.

Da in dieser Versuchsreihe keine Succinat- und Laktatmessungen und auch keine Bakterienspezifizierungen vorgenommen wurden, bleiben auch diese Überlegungen zunächst nur Vermutungen.

Unter der alleinigen Gabe von Sulfat wurde keine Veränderung der Propionsäurekonz. festgestellt, das deutet auf einen Ausgleich von hemmenden und fördernden Effekten hin. Die Zunahme unter der kombinierten Gabe von Sulfat und Thiamin, ist ein Hinweis darauf, daß auch die Propionsäurebakterien thiaminabhängig sind (Mechanismen, vgl. 5.5.3.1.1). Weiterhin ist denkbar, daß durch den Wasserstoffanstieg und die Verringerung der Essigsäure H_2 -verbrauchende Prozesse wie die Propionsäuresynthese gefördert wurden und deshalb die Werte anstiegen (SCHULMAN u. VALENTINO 1976; näheres s. TIADEN 2000).

Buttersäure kann in Umkehr der β -Oxidation von Fettsäuren oder über Malonyl-CoA im Pansen entstehen, wobei letztgenannter Weg energieaufwendiger ist. Da *Butyrivibrio fibrisolvens* als wichtigster Buttersäureproduzent im Pansen gilt (RUSSEL u. WALLACE 1988), wurde unter Sulfat und Sulfat-/Thiamingabe vermutlich vor allem dieses Bakterium in seiner Aktivität und/oder seinem zahlenmäßigen Vorkommen gefördert.

Wodurch die hohen Wasserstoffgehalte letztendlich entstehen, ist noch unklar (+ 62,5 % u. 63,7 %). Ein verminderter Verbrauch ist durch die Abnahme der Methanobakterien denkbar. Da aber die dissimilierenden Sulfatreduzierer einen hohen Bedarf haben, lassen die ansteigenden H_2 -Werte vermuten, daß auf anderen Stoffwechselwegen mehr H_2 synthetisiert als verbraucht würde.

Wasserstoff könnte auch für eine Begünstigung der Propionsäureproduktion zu Lasten der Essigsäurebildung verantwortlich sein (Näheres s. TIADEN 2000).

Diese Beobachtungen stimmen mit Literaturangaben von SCHEIFINGER et al. (1975); CHEN u. WOLIN (1977); WOLIN u. MILLER (1983) und LATHAM u. WOLIN (1977) überein, die in ihren Versuchen mit Kulturen von *Selenomonas ruminantium*, *Ruminococcus albus* und *Ruminococcus flavefaciens* höhere Wasserstoffpartialdrücke und damit verbundene Abnahmen der Essigsäure und Zunahmen der Propionsäure registrierten. Bei in-vitro-Versuchen von DURAND et al. (1987) wurden nach einer Zulage von 30 mg SO_4^{2-} /Tag u. Liter hinsichtlich der Essig- und Propionsäure ähnliche Ergebnisse beobachtet. DE OLIVEIRA et al. (1997) konnten im RUSITEC bei kontinuierlichem Fluß von 333 mg bzw. 377 mg SO_4^{2-} über 24 h dieselben Konzentrationsveränderungen bei den flüchtigen Fettsäuren beobachten.

Die erzielten Ergebnisse lassen die Vermutung zu, daß Sulfat- bzw. Sulfat-/Thiamingaben zwar einen allgemein hemmenden Effekt auf die Kohlenhydratfermentation ausüben, aber eher selektiv an diesem Stoffwechsel beteiligte Mikroorganismen- bzw. -Gruppen schädigen und zu Verschiebungen der Populationen führen. Hiervon sind besonders die Cellulolyten, die Protozoen und sulfat-/sulfitreduzierenden Bakterien betroffen.

5.5.4 Einfluß der Sulfatzulage auf den Thiaminstoffwechsel

Untersuchungsziel war die Klärung der Frage, ob Sulfatgaben in vitro thiaminolytische Wirkungen entfalten und ob diese wie beschrieben (RAISBECK 1982; HARRIES 1987; GOONERATNE et al. 1989 a, b; OLKOWSKI et al. 1991; ROUSSEAU et al. 1991; HAMLEN et al. 1993; JEAN-BLAIN et al. 1994,1995; DE OLIVEIRA 1997) von klinischer Relevanz wären.

Die thiaminolytische Wirkung wird anhand erniedrigter Gesamthiamingehalte im Überstand beurteilt. Dieses Substrat stellt in vivo den flüssigen Panseninhalt dar, der im Labmagen ankommt. Da Vit. B₁ postruminal resorbiert wird, repräsentiert der B₁-Gehalt im Überstand den zur Resorption anstehenden Anteil von Thiamin und seinen Derivaten (STEINBERG et al. 1977; HÖLLER 1990).

Eine Abnahme des Gesamthiamingehalts war sowohl während ausschließlicher Sulfatzulage um 8,06 % als auch unter zusätzlicher Thiamingabe um bis zu 12,5 % zu beobachten. Aufgrund dieser Ergebnisse kann von einer thiaminolytischen Wirkung des Sulfats ausgegangen werden.

Sie fiel moderat aus, da die Vit-B₁-Konzentration während des gesamten Versuchszeitraums nicht unter die kritische Grenze von 50 µg/l abfiel. Somit ist anzunehmen, daß mit Sulfatgaben in Zusammenhang gebrachte CCN-Erscheinungen nicht durch Vit.-B₁-Mangel bedingt sind (STEINBERG u. KAUFFMANN 1977).

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch JEAN-BLAIN et al. (1994; 1995) und DE OLIVEIRA et al. (1996; 1997). Obwohl die Veränderungen vermutlich keinen schwerwiegenden Thiaminmangel auslösen, werden zum Teil sehr ausgeprägte Einflüsse auf den Thiaminstoffwechsel innerhalb der einzelnen Pansensaftfraktionen offenbar. Erste Mitteilungen hinsichtlich des gemessenen Thiamins und seiner Derivate liegen bisher von DE OLIVEIRA et al. (1997) und MITTROWANN (1999) vor, deshalb werden im folgenden Veränderungen und Interaktionen zwischen den Fraktionen dargestellt.

1. Pflanzen- und Protozoenfraktion (PPB₁)

Die erste Sulfatgabe führte zu einer Zunahme der TMP- und Thiamingehalte um 9,16 % bzw. um 18,9 %, ab dem 2. Zulagetag sanken die Werte aller Thiaminverbindungen deutlich ab [Gesamthiamin (GT): - 33,2 %; Thiamin: - 34,4 % ; TMP: - 31,0 %; TDP: - 34,5 %].

Die am ersten Tag der Sulfatzulage gemessenen Zunahmen des Thiamin- und TMP-Gehalts decken sich auffällig mit einer Zunahme der Protozoenzahl um 12,1 % (vgl. HÖHLING 2000). Offensichtlich reichte in dieser Zeit die reduzierte Sulfit- (Sulfid-) Konzentration noch nicht für toxische Wirkungen aus, sondern förderte sogar den ruminalen protozoalen Stoffwechsel. Insgesamt bedingte die Protozoenzunahme eine höhere Thiaminaufnahme und Phosphorylierung zu TMP. Ab dem zweiten Zulagetag fielen alle Parameter drastisch und

schnell, was durch den massiven Zelltod der Protozoen infolge hoher Sulfatkonzentrationen erklärt werden kann. Dennoch sanken in dieser Fraktion trotz Protozoenrückgangs um 68,4 % die Thiamin- und Derivatkonzentrationen nur um 30,0 - 35,0 %, was wahrscheinlich auf die hohe Thiaminspeicherkapazität der Protozoen zurückzuführen ist.

Die anhaltend sinkenden Protozoengehalte unter Thiamingabe äußerten sich in weiteren Abnahmen der Thiaminverbindungen (im Vergleich zu den Kontrollfermentern; GT: - 53,5 %; Thiamin: - 69,3 %; TDP: - 56,6 %; TMP: - 49,1 %). Innerhalb der Zulagefermenter nahmen die Konzentrationen wieder zu, möglicherweise spielt auch hier das Thiaminspeichervermögen der verbliebenen Protozoenpopulation eine Rolle, wofür auch das sättigungsbedingte Plateau spricht (vgl. Kap. 4.17, Abb. 4.17., 4.17.3 und Tab. 9.42 bzw. 9.41).

2. Bakterienfraktion (BB₁)

Die Sulfatzulage führte zu einem deutlichen Anstieg der Gesamtthiamin- (+ 11,3 bis + 18,8 %), TDP- (+ 29,6 %), TMP- (+ 20,3 %) und einer Erniedrigung der Thiaminkonzentration (- 5,00 bis - 15,0 %). Diese Veränderungen sprechen für die unter Punkt 5.5.2 und 5.5.3 geäußerten Vermutungen, daß die Bakterienzahl unter Sulfatgabe stark angestiegen ist (Proteingehalt + 68,5 %). Die abnehmenden Thiamingehalte deuten darauf hin, daß der gesteigerte Thiaminbedarf wachsender Bakterienzahlen durch Aufnahme aus dem umgebenen Medium (bakterienfreier Überstand) nicht mehr gedeckt werden kann und die Bakterien zelleigenes Thiamin phosphorylieren. Die hohen TMP- und TDP-Gehalte bestätigen indes eine hohe Phosphorylierungsrate.

Unter Thiamingabe verstärkten sich die Veränderungen z. T. sehr deutlich (GT: + 30,3 %; Thiamin: + 17,1 %; TDP: + 106 %; TMP: + 27,8 %). Die Thiaminaufnahme durch die Bakterien wurde bereits am ersten Tag dieser Zulagephase gesättigt, die übrigen Parameter erst ab dem dritten Thiaminzulage-tag. Die Phosphorylierung des aufgenommenen Thiamins war auch während dieser Phase außerordentlich hoch (s. Tab. 9.47 - 9.49). Eine gesteigerte Thiaminsyntheserate der Bakterien, als Ursache für die angestiegenen Thiaminkonzentrationen kann aufgrund des in der Literatur beschriebenen negativen Feedbacks nach täglichen Thiamingaben von 0,3 mg je Fermenter ausgeschlossen werden (NEVEL u. TUCKER 1966).

3. Bakterienfreie Fraktion (BfB1)

Diese Fraktion stellt denjenigen Thiaminanteil dar, der nicht in Bakterien und Protozoen gespeichert wird. Bei erhöhtem Bedarf durch Bakterien und Protozoen wird das Thiamin dieser Fraktion entzogen, bei einem Überschuß (Sättigung) innerhalb der PPB₁- und BB₁-Fraktion an diese abgegeben. In diese Fraktion gelangt das Thiamin nach Injektion während der Thiaminzulagephase.

Die Sulfatgabe bewirkte folgende Veränderungen: (GT: - 7,54 %; Thiamin: + 20,0 % bis - 11,6 %; TDP: bis - 7,14 %; TMP: + 4,18 % bis - 20,9 %). Die positiven Werte zu Beginn dieser Phase lassen sich auf die Ereignisse in der PPB₁-Fraktion zurückführen. Die schnelle und starke Lysis der Protozoen setzt zunächst viel Thiamin- und Derivat-Gehalte frei, welche

die Werte in dieser Fraktion ansteigen lassen. Bei Zunahme der Bakterienzahl verschieben sich die Thiamin- und Derivatkonzentrationen im Verlauf der nächsten Tage und lassen deshalb die Konzentrationen in dieser Fraktion sinken, in der bakterienhaltigen Fraktion aber ansteigen. Unter Thiamingabe fielen die Konzentrationen weiter ab (GT: - 15,6 %; Thiamin: - 13,1 %; TDP: bis - 20,5 %; TMP: - 24,2 %; s. Tab. 9.43 - 9.46). Das in diese Fraktion injizierte Thiamin wird nur in geringem Maße von der PPB₁-Fraktion aufgenommen (da ungefähr 84 % aller Protozoen tot sind; HÖHLING 2000), der überwiegende Teil geht in die Bakterienfraktion über. So findet eine deutliche Verschiebung der Thiamin- und Derivatkonzentration in die bakterienhaltige Fraktion statt, während die „Abgabe“ in die Protozoenfraktion nur eine untergeordnete Rolle spielt.

4. Fermenterflüssigkeit (Gesamtfraktion)

Die Parameter der PPB₁-, BB₁- und BfB₁-Fraktionen müßten als Summe die Werte dieser Fraktion ergeben. Das ist aber nicht der Fall. Die Gesamtthiamin-, Thiamin-, TDP- und TMP-Gehalte der Fermenterflüssigkeit weisen konstant zwischen 9,00 % und 23,0 % niedrigere Werte als die Summe der Einzelfraktionen (vgl. auch MITROWANN 1999) auf. Die Ursache dafür könnte in der Auftrennung der Fraktionen, d. h. der Probenaufbereitung bis zur HPLC liegen. Um dieses klären zu können, müßten weitere Untersuchungen folgen.

Die erfaßten Veränderungen unter der Sulfat- [Gesamtthiamin (GT): + 3,8 % bis - 4,46 %; Thiamin: - 3,56 % bis + 28,5 %; TMP: bis + 25,5 %; TDP: - 5,48 %] und Thiamingabe (GT: - 10,3 %; Thiamin: + 25,8 % bis - 15,4 %; TMP: + 18,0 %; TDP: - 5,13 % bis - 7,89 %) spiegeln aber trotz der Abweichungen den Verlauf der Einzelfraktionen als Summe wider.

Die Veränderungen dieser Fraktion können auch nur als Hinweis angesehen werden, daß sich etwas ändert. Sie geben aber keinen Aufschluß darüber, in welcher der Fraktionen die größten Abweichungen gemessen wurden bzw. welche Interaktionen zwischen den einzelnen Fraktionen ablaufen. Für die Ergebnisinterpretation sind deshalb die oben ausführlich beschriebenen Einzelfraktionen wichtig. Diese Fraktion spielt in der Bewertung der Ergebnisse nur eine untergeordnete Rolle.

Abschließend kann von einem sulfatbedingten Einfluß auf das Fermentationsgeschehen des Thiamins ausgegangen werden. Die deutlichsten Veränderungen spiegeln sich in der Pflanzen-/Protozoen- und Bakterienfraktion wider und als Folge beider auch in der bakterienfreien Fraktion. Während es in der Protozoenfraktion zu einer starken Populations-reduzierung (HÖHLING 1999) mit wahrscheinlich nachfolgender Verminderung der Thiaminaufnahme und Phosphorylierung kam, wird die Zahl der sulfat-/sulfitreduzierenden und eines Teils der cellulolytischen (cellobioseverwertenden) Bakterien möglicherweise stark zugenommen und eine verstärkte Aufnahme- und Phosphorylierungsrate des Thiamins in der Bakterienfraktion zur Folge gehabt haben. Der bakterienfreie Überstand diente dabei als Transportmedium für das Thiamin und seine Derivate.

Die im Überstand festgestellte Abnahme der Gesamtthiaminkonzentration (- 12,5 %) scheint einerseits gering zu sein, andererseits fiel die Konzentration während des gesamten Versuchszeitraums nicht unter 50 µg/l, welche als Grenzkonzentration des Labmagens für die Entstehung einer CCN angesehen wird (STEINBERG u. KAUFFMANN 1977). Man kann

deshalb davon ausgehen, daß unter den hier durchgeführten Bedingungen (Sulfat- und Sulfat-/Thiaminzulage) eine Entstehung der CCN nicht zu erwarten gewesen wäre.

5.6 Zusammenfassende Wertung

Die Cerebrocorticalnekrose (CCN, PEM) des Rindes ist eine weltweit verbreitete Erkrankung, die vorwiegend Jungtiere betrifft und mit zentralnervösen Symptomen einhergeht. Sie wird vermutlich durch einen Thiaminmangel verursacht, wobei die Ursachen für das Zustandekommen bis heute nicht vollständig geklärt werden konnten. In der Vergangenheit wurden immer wieder Korrelationen zwischen hohen Schwefel- bzw. Sulfataufnahmen und CCN-Erkrankungen diskutiert. Gegenstand der durchgeführten Versuche war deshalb die Überprüfung der Auswirkungen von Natriumsulfatgaben auf die in-vitro-Fermentationsvorgänge des Rindes unter besonderer Berücksichtigung des Thiaminhaushalts. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen und werten:

Natriumsulfatgaben beeinträchtigen die Pansenfermentation mittelgradig. Die erzeugten Einflüsse auf die Pansenfermentation äußern sich in sowohl ausgeprägten negativen-, als auch positiven Veränderungen und Verschiebungen innerhalb des Stickstoff- (s. 5.5.2), Kohlenhydrat- (vgl. 5.5.3) und Thiaminstoffwechsels (s. 5.5.4). Letztere reichen aber nicht aus, eine CCN entstehen zu lassen. Im einzelnen sind folgende Veränderungen zu erkennen (vgl. Kap. 4):

- pH-Wert Zunahme um bis zu 0,09 Einheiten ($p \leq 0,01$)
- Erhöhung der Proteinsynthese um 68,5 % ($p \leq 0,01$)
- Rückgang der Methankonzentration (bis - 29,2 %; $p \leq 0,001$)
- hoher Wasserstoffanstieg (+ 126 %; $p \leq 0,05$)
- Abnahme der Essigsäuregehalte um bis zu 16,2 % ($p \leq 0,01$)
- Propionsäureanstieg um 19,4 %
- Zunahme der i-Buttersäurekonzentration (+ 22,1 %)
- Anstieg der n-Buttersäuregehalte (+ 10,0 %; $p \leq 0,01$)
- starke Abnahme der i-Valeriansäurekonzentration (bis - 51,4 %; $p \leq 0,001$)
- deutliche Erhöhung der n-Valeriansäurekonzentration (bis + 38,3 %; $p \leq 0,01$)
- Abnahme der Summe der FIFS um bis zu 5,7 % ($p \leq 0,01$)
- Cellulaseaktivitätsabnahme um 67,3 % (Sulfatgabe) und Zunahme um 166 % (Sulfat-/Thiamingabe)
- Sulfatzulage: deutlich erhöhte Gesamtthiamin- und Derivatkonzentrationen in der BB₁-Fraktion und entsprechend erniedrigte in der PPB₁-Fraktion, verminderte Gesamtthiamingehalte des Überstands (- 8,06 %) und der Fermenterflüssigkeit (- 4,5 %; Signifikanzen vgl. Kap. 4.16 – 4.20)
- Sulfat-/Thiaminzulage: fortschreitende Zunahme aller Werte in der BB₁-Fraktion und Abnahme in der PPB₁-Fraktion, als Folge entsprechender Rückgang in der BfB₁-Fraktion, Verringerung des Gesamtthiamins von Überstand (- 12,5 %) und Fermenterflüssigkeit (- 10,3 %; Signifikanzen vgl. Kap. 4.16 – 4.20)

Die oben aufgeführten Veränderungen können auch als Folge des starken Protozoenrückgangs (84,7 %; HÖHLING 2000) und des gesteigerten Bakterienwachstums sulfat-/sulfitreduzierender und bestimmter cellobioseverwertender Bakterien interpretiert werden. Im weiteren werden die erzielten Effekte und deren mögliche Erklärung zusammenfassend erläutert:

1. Zunahme des Proteingehalts infolge vermehrten Bakterienwachstums (s. o.).
2. Verminderung der Cellulaseaktivität infolge selektiver Hemmung der cellulolytischen Bakterienflora durch Sulfat. Anschließende Aktivitätszunahme unter kombinierter Gabe von Sulfat und Thiamin möglicherweise infolge Thiamins (Förderung cellobioseverwertender Bakterien) oder Aktivitätszunahme durch sulfat-/sulfitreduzierende Bakterien.
3. Verminderung der Methangehalte infolge Protozoenrückgangs und damit verbundener Abnahme methanogener Bakterien. Eine Interaktion von sulfat-/sulfitreduzierenden und methanogenen Bakterien (KRISTJAANSSON et al. 1982; ALABOUDI u. JONES 1985; WHITMAN 1992) konnte nicht nachgewiesen werden.
4. Verschiebungen in den Konzentrationen der FIFS (s. o.) möglicherweise infolge Veränderungen der Bakterienflora (Anstieg des H₂-Partialdrucks).
5. Deutliche Veränderungen der Thiamingehalte in den einzelnen Pansensaft - Fraktionen.

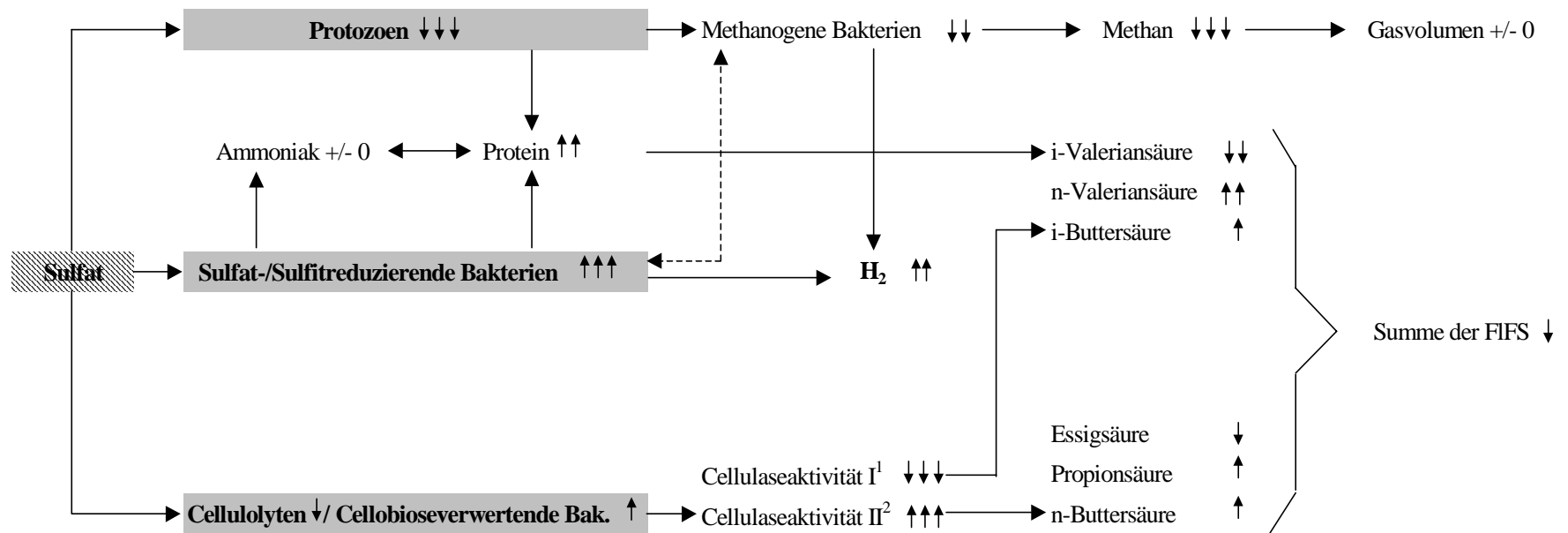


Abb. 5.2: Übersicht über die Fermentationsvorgänge unter Sulfat- und Sulfat-/Thiamingabe (I¹ = Sulfatgabe, II² = Sulfat- und Sulfat-/Thiamingabe)

6. Zusammenfassung

Der Einfluß von Natriumsulfatzulagen auf die in-vitro-Fermentation des bovinen Panseninhalts wurde unter besonderer Berücksichtigung des Thiaminstoffwechsels mit Hilfe des Langzeitinkubationssystems RUSITEC (RUMen SIMulation TECHnique) untersucht.

Es wurden insgesamt fünf Versuchsläufe mit einer Dauer von jeweils 25 Tagen durchgeführt. Der Vorlauf erstreckte sich über sechs Tage, gefolgt von einer dreitägigen Kontrollphase. Im Anschluß begann die fünftägige Zulagephase I, in der beiden Zulagefermentern jeweils 400 mg Natriumsulfat zugelegt wurden. In der folgenden fünftägigen Zulagephase II, wurden täglich jedem Kontroll- und Zulagefermenter 0,3 mg Thiamin zugelegt (Natriumsulfatzulage entsprechend Zulagephase I). Als Regenerationsphase schloß sich die sechstägige Nachlaufphase an.

Folgende Einflüsse (ruminale Produktionsraten) von Sulfat- bzw. Sulfat und Thiaminzulage auf das Fermentationsgeschehen konnten beobachtet werden (s. Tab. 6.1):

Tab. 6.1: Veränderungen ruminaler Produktionsdaten unter Sulfat- und Sulfat-/Thiaminzulage in der Überstandsflüssigkeit:

Parameter	Sulfatzulage (Tag 11 – 15)	Sulfat- u. Thiaminzulage (Tag 16 – 20)
pH-Wert	bis zu + 0,06 Einheiten ($p \leq 0,01$)	bis zu + 0,09 Einheiten ($p \leq 0,01$)
Methan	bis - 22,0 % ($p \leq 0,001$)	bis - 29,7 % ($p \leq 0,001$)
Wasserstoff	bis + 62,5 % ($p \leq 0,05$)	bis + 126 %
Protein	bis + 42,5 % ($p \leq 0,01$)	bis + 68,5 % ($p \leq 0,05$)
Cellulase-aktivität	bis - 67,3 %	bis + 166 %
Essigsäure	bis - 9,4 % ($p \leq 0,01$)	bis - 16,2 % ($p \leq 0,01$)
Propionsäure	keine Veränderung	bis + 19,4 %
i-Buttersäure	keine Veränderung	bis + 22,1 % (Tag 18 – 20)
n-Buttersäure	bis + 7,2 % ($p \leq 0,01$)	bis + 10,0 % ($p \leq 0,05$)
i-Valeriansäure	bis - 37,5 % ($p = 0,000$)	bis - 51,4 % ($p \leq 0,001$)
n-Valeriansäure	bis + 15,0 %	bis + 38,3 % ($p \leq 0,01$)
Summe der flüchtigen FS	bis - 2,5 % ($p \leq 0,01$)	bis - 5,7 % ($p \leq 0,01$)

Folgende Einflüsse von Sulfat- bzw. Sulfat- und Thiaminzulage auf die ruminale Thiamin-, Gesamtthiamin- und Derivatkonzentrationen konnten beobachtet werden (s. Tab. 6.2):

Tab. 6.2: Veränderungen der in verschiedenen Pansensaftfraktionen gemessenen Thiamin-, Gesamtthiamin-, Thiamindiphosphat- (TDP) und Thiaminmonophosphatkonzentrationen (TMP) während der Zulage von Sulfat und Sulfat plus Thiamin

		TDP	TMP	Thiamin	Gesamtthiamin
PAS (Fermenter- flüssigkeit)	Sulfat- zulage	bis - 5,48 % (p ≤ 0,01)	+ 1,25 % bis + 25,5 % (p ≤ 0,05)	- 3,56 % bis + 28,5 %	+ 3,8 % bis - 4,46 % (p ≤ 0,05)
	Sulfat und Thiamin- zulage	- 5,13 % bis - 7,89 % (p ≤ 0,01)	- 2,74 % bis + 18 %	+ 25,8 % bis - 15,4 %	- 10,2 %
Pflanzen/ Protozoen- fraktion:	Sulfat- zulage	bis - 34,5 % (p ≤ 0,01)	+ 9,16 % bis - 31,0 %	+ 18,9 % bis - 34,4 %	bis - 33,2 % (p ≤ 0,05)
	Sulfat und Thiamin- zulage	- 49,1 % (p ≤ 0,05)	bis - 56,6 %	- 55,9 % bis - 69,3 % (p ≤ 0,05)	- 53,5 % (p ≤ 0,05)
Bakterien- freie Fraktion:	Sulfat- zulage	bis - 5,76 %	+ 4,18 % bis - 20,9 % (p ≤ 0,05)	- 11,6 % bis + 20,0 %	bis - 7,54 %
	Sulfat und Thiamin- zulage	- 0,69 % bis - 20,5 %	+ 10,0 % bis - 24,2 %	- 8,96 % bis - 13,1 %	+ 31,3 % bis - 15,6 %
Bakterien- haltige Fraktion:	Sulfat- zulage	bis + 20,3 %	bis + 29,6 %	- 5,00 % bis - 15,0 %	+ 11,3 % bis + 18,8 %
	Sulfat und Thiamin- zulage	bis + 27,8 %	bis + 106 %	+ 3,57 % bis + 14,6 %	+ 15,2 % bis + 30,3 %
Überstands- flüssigkeit:	Sulfat- zulage	bis - 9,51 % (p ≤ 0,05)	bis + 17 %	bis - 12,9 %	bis - 8,06 %
	Sulfat und Thiamin- zulage	- 12,7 %	bis - 29,2 %	- 4,62 % bis + 11,3 %	- 12,5 % (p ≤ 0,05)

Die deutlichsten Veränderungen spielten sich innerhalb der Pflanzen-/Protozoen- (s. Tab. 6.2) und bakterienhaltigen Fraktion ab. Durch den Sulfat bedingten starken Rückgang der Protozoenpopulation um 68,4 % wurden Thiaminaufnahme und -phosphorylierung innerhalb dieser Fraktion vermindert. Im Gegensatz dazu kann man von einer starken Zunahme der sulfat- / sulfatreduzierenden Bakterien ausgehen (Proteingehalt + 68,5 %), was eine verstärkte Thiaminaufnahme und -phosphorylierungsrate in der bakterienhaltigen Fraktion zur Folge hatte. In Pansensaft und Überstandsflüssigkeit ging die Konzentration des Gesamtthiamins um 10,2 % bzw. 12,5 % zurück.

Die zulagebedingten Veränderungen der Fermentationsparameter glichen sich im Nachlauf ihren Ausgangswerten (Kontrollphase) weitestgehend wieder an.

Die unter den oben genannten Versuchsbedingungen beobachteten Veränderungen der Pansenfermentationsparameter reichen ebenso wie die gemessenen Veränderungen des Thiaminstoffwechsels nicht aus, eine CCN- relevante Veränderung der Thiaminverfügbarkeit entstehen zu lassen. Es konnten sogar wider Erwarten Konzentrationserhöhungen des Thiamins und seiner Derivate beobachtet werden.

Jasper, M. (2000): Investigations on the influence of sodiumsulfate on content of thiamine and its derivatives in the bovine rumen fluid (in vitro).

7. Summary

The influence of sodiumsulfate on the in-vitro-fermentation of the bovine rumen contents was investigated in special consideration of the thiamine metabolism using the long-term rumen simulation system (RUSITEC).

Five investigation-periods (25 days each) were carried out.

After the first six days of the trial, a three day controlphase followed. During the next five days 400 mg sodiumsulfate were added to two vessels (testphase I). In the subsequent five days (testphase II) all reaction vessels were substituted with 0,3 mg thiamine daily; the sodiumsulfate dose was continued.

The last six days served as regeneration time for the system.

The following influences of sodiumsulfate and sodiumsulfate plus thiamine addition upon ruminal fermentation, respectively, was observed (Table 6.1):

Table 6.1: Changes of the ruminal production rate influenced by sodiumsulfate and sodiumsulfate / thiamine addition, respectively:

parameter	sodiumsulfate (day 11 – 15)	sodiumsulfate + thiamine (day 16 – 20)
pH level	increase: up to + 0.06 units ($p \leq 0.01$)	increase: up to + 0.09 units ($p \leq 0.01$)
methane	decrease: - 22.0 % ($p \leq 0.001$)	decrease: - 7.24 % to - 29.7 % ($p \leq 0.001$)
hydrogen	increase: + 62.5 % ($p \leq 0.05$)	increase: + 63.7 % to + 126 %
protein	increase: + 42.5 % ($p \leq 0.01$)	increase: + 26.0 % to + 68.5 % ($p \leq 0.05$)
cellulase-activity	decrease: - 67.3 %	increase: + 166 %
acetate	decrease: - 9.4 % ($p \leq 0.01$)	decrease: - 6.75 % to - 16.2 % ($p \leq 0.01$)
propionate	no changes	decrease: - 19.4 %
i- butyrate	no changes	increase: + 22.1 % (day 18 – 20)
n-butyrate	decrease: + 7.2 % ($p \leq 0.01$)	increase: + 2.71 % to + 10.0 % ($p \leq 0.05$)
i- valerate	decrease: - 37.5 % ($p = 0.000$)	decrease: - 13.9 % to - 51.4 % ($p \leq 0.001$)
n-valerate	increase: + 15.0 %	increase: + 23.3 % to + 38.3 % ($p \leq 0.01$)
sum of volatile fatty acids	decrease: - 2.5 % ($p \leq 0.01$)	decrease: - 3.2 % to - 5.7 % ($p \leq 0.01$)

The influence of sodiumsulfate resp. sodiumsulfate plus thiamine addition on the ruminal thiamine, total thiamine and its derivate concentrations could be noted as follows:

Table 6.2: Changes in different rumen fractions concerning thiamine, total thiamine, thiaminemonophosphate (TMP) and thiaminediphosphate (TDP) during the addition of sodiumsulfate and sodiumsulfate plus thiamine, respectively:

		TDP	TMP	thiamine	total thiamine
vessel (rumen fluid)	sodium-sulfate	to - 5.48 % (p ≤ 0.01)	+ 1.25 % to + 25.5 % (p ≤ 0,05)	- 3.56 % to + 28.5 %	+ 3.8 % to - 4.46 % (p ≤ 0,05)
	sodium-sulfate/ thiamine	- 5.13 % to - 7.89 % (p ≤ 0.01)	- 2.74 % to + 18 %	+ 25.8 % to - 15.4 %	- 10.2 %
plant and protozoa fraction:	sodium-sulfate	to - 34.5 % (p ≤ 0.01)	+ 9.16 % to - 31.0 %	+ 18.9 % to - 34.4 %	to - 33.2 % (p ≤ 0.05)
	sodium-sulfate/ thiamine	- 49.1 % (p ≤ 0.05)	to - 56.6 %	- 55.9 % to - 69.3 % (p ≤ 0.05)	- 53.5 % (p ≤ 0.05)
bacteria free fraction:	sodium-sulfate	to - 5.76 %	+ 4.18 % to - 20.9 % (p ≤ 0.05)	- 11.6 % to + 20.0 %	to - 7.54 %
	sodium-sulfate/ thiamine	- 0.69 % to - 20.5 %	+ 10.0 % to - 24.2 %	- 8.96 % to - 13.1 %	+ 31.3 % to - 15.6 %
bacteria fraction:	sodium-sulfate	to + 20.3 %	to + 29.6 %	- 5.00 % to - 15.0 %	+ 11.3 % to + 18.8 %
	sodium-sulfate/ thiamine	to + 27.8 %	to + 106 %	+ 3.57 % to + 14.6 %	+ 15.2 % to + 30.3 %
supernatant:	sodium-sulfate	to - 9.51 % (p ≤ 0.05)	to + 17 %	to - 12.9 %	to - 8.06 %
	sodium-sulfate/ thiamine	- 12.7 %	to - 29.2 %	- 4.62 % to + 11.3 %	- 12.5 % (p ≤ 0.05)

The main changes were observed in the plant and protozoa fraction as well as in the bacteria fraction. Due to the considerable reduction of the protozoa population caused by sodiumsulfate, the thiamine absorption and phosphorylation within this fraction was diminished.

Therefore a strong increase of sulfate-/sulfite reducing bacteria (protein concentration: + 68,5 %) can be assumed which would result in an increase of thiamine incorporation and phosphorylation also in the bacteria fraction.

In rumen fluid and overflow the concentrations of the total thiamine were 10,2 % and 12,5 % reduced, respectively.

The changes of the fermentation patterns during the supply was equalized at the end of the trial. The changes observed cannot be responsible for a development of CCN. The concentration of thiamine and its derivatives even increased during the trial.

8. Schrifttumsverzeichnis

ABAZA, M. A., A. R. ABOU AKADA u. K. EL-SHAZLY (1975):

Effect on rumen protozoa on dietary lipid in sheep.

J. Agric. Sci. **85**, 135 - 143

ABOU AKADA, A. R., u. B. H. HOWARD (1960):

The biochemistry of rumen protozoa. 3. The carbohydrate metabolism of *Entodinium*.

Biochem. J. **76**, 445 - 451

ABRAHAM, D. (1965):

Characterization of the lipids from a mixed population of rumen bacteria.

University of Maryland, Ph. D.

Ref. in: Diss. Abstr. Int., **B 27** (1966), S. 71 B

AIPLE, K. P. (1987):

Zur Wirkung von Sojaöl in Form von vollfetten Bohnen oder als freies Öl auf Nährstoffverdaulichkeit, Milchmenge und Milchinhaltstoffe bei der Kuh.

Hohenheim, Univ., Fak. IV, Dipl. Arb.

ALABOUDI, A. R., u. G. A. JONES (1985):

Effect of acclimatisation to high nitrate intakes on some rumen fermentation parameters in sheep.

Can. J. Anim. Sci. **65**, 841 - 849

ALIEV, A. A., M. S. KAFAROV u. A. I. SMIRNOV (1969):

Lipidi i vysokomolekuljarnye zirnye kisloty otdel'nyh frakcij soderzimogo rubca.

(Lipids and high-molecular fatty acids of individual fractions of rumen contents.)

Nutr. Abstr. Rev. **39**, 1144

ALLISON, M. J. (1969):

Biosynthesis of amino acids by rumen microorganisms.

J. Anim. Sci. **29**, 797 - 807

ALLISON, M. J., M. P. BRYANT, I. KATZ u. M. KEENEY (1962):

Metabolic function of branched-chain volatile fatty acids; growth factors for ruminococci. II.

Biosynthesis of higher branched-chain fatty acids and aldehydes.

J. Bacteriol. **83**, 1084 - 1093

BAILEY, R. W., u. B. H. HOWARD (1963):

Carbohydrases of the rumen ciliate *Epidinium ecaudatum*. α -Galactosidase and isomaltase.

Biochem. J. **87**, 146 - 151

BALDWIN, R. L., u. M. J. ALLISON (1983):

Rumen metabolism.

J. Anim. Sci. **57**, 461 - 477

- BATH, I. H., u. K. J. HILL (1965):
Ruminal lipolysis and hydrogenation in the sheep.
Proc. Nutr. Soc. **24**, xii
- BATH, I. H., u. K. J. HILL (1967):
The lipolysis and hydrogenation of lipids in the digestive tract of the sheep.
J. Agric. Sci. **68**, 139 - 148
- BAUCHART, D., u. F. LEGAY-CARMIER (1988):
Effects of meal ingestion and diet lipid-content on the amount of free and solid-adherent bacteria on the rumen of dairy cows.
Reprod. Nutr. Dev. **28**, 139-140
- BAUCHART, D., u. F. LEGAY-CARMIER, M. DOREAU, u. B. GAILLARD (1990):
Lipid metabolism of liquid-associated and solid-adherent bacteria in rumen contents of dairy cows offered lipid-supplemented diets.
Br. J. Nutr. **63**, 563 - 78
- BAUCHOP, T., u. D. O. MOUNTFORT (1981):
Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and presence of rumen methanogens.
Appl. Environ. Microbiol. **42**, 1103 - 1110
- BEAUCHAMP, R. O., J. S. BUS, J. A. POPP, C. J. BOREIKO u. D. A. ANDJELKOVICH (1984):
A critical review of the literature on hydrogen sulfide toxicity.
CRC Crit. Rev. Toxicol. **13**, 25 - 97
- BECKER, J. (1994):
Untersuchungen zum Einfluß eines Pansenstimulans auf ruminale Fermentationsvorgänge des Rindes (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- BENITEZ, I. H. F. (1988):
Einfluß gestaffelter oraler Gaben geschützter Fette (kristallines Fett, Sojavollbohnenmehl) auf verdauungsphysiologische Parameter im Pansen, Ileumchymus und Kot des Schafes.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- BICK, S. (1978):
Nettosynthese von mikrobiellem Protein und Thiamin (Vit. B₁) im Panseninhalt eiweißfrei ernährter Schafe bei unterschiedlichen Substrat- und Sulfat-S-Konzentrationen in-vitro.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss

BICKERSTAFFE, R., D. E. NOAKES u. E. F. ANNISON (1972):

Quantitative aspects of fatty acid biohydrogenation, absorption and transfer into milk fat in the lactating goat, with special reference to the cis- and trans-isomers of octadecenoate and linoleate.

Biochem. J. **130**, 607 - 617

BLACKBURN, T. H., u. P. N. HOBSON (1962):

Further studies on the isolation of proteolytic bacteria from the sheep rumen.

J. Gen. Microbiol. **29**, 69 - 81

BLOCK, R. J., J. A. STEKOL u. J. K. LOOSLI (1951):

Synthesis of sulfur amino acids from inorganic sulfate by ruminants. 2. Synthesis of cystine and methionine from sulfate by the goat and by microorganisms of the rumen of the ewe.

Arch. Biochem. Biophys. **33**, 353 - 363

BODY, D. R. (1976):

The occurrence of cis-octadec-15-enoic acid as a major biohydrogenation product from methyl linolenate in bovine rumen liquor.

Biochem. J. **157**, 741 - 744

BODY, D. R., u. T. BAUCHOP (1985):

Lipid composition of an obligately anaerobic fungus, *Neocallimastix frontalis*, isolated from a bovine rumen.

Can. J. Microbiol. **31**, 463 - 466

BOGGS D. L., W. D. BERGEN u. D. R. HAWKINS (1987):

Effects of tallow supplementation and protein withdrawal on ruminal fermentation, microbial synthesis and site of digestion.

J. Anim. Sci. **64**, 907 - 914

BOGNER, A. (1993):

Problematik der Bestimmung von Vitamin B1 und B2 in Lebensmitteln mittels HPLC.

Firmenschrift der Sykam[®] GmbH, Gilching, 1 - 4

BRADFORD, M. M. (1976):

A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.

Anal. Biochem. **72**, 248 - 254

BROAD, T. E., u. R. M. C. DAWSON (1975):

Phospholipid biosynthesis in the anaerobic protozoon *Entodinium caudatum*.

Biochem. J. **146**, 317 - 328

BROAD, T. E., u. R. M. C. DAWSON (1976):

Role of choline in the nutrition of the rumen protozoon *Entodinium caudatum*.

J. Gen. Microbiol. **92**, 391 - 397

- BRÖCKER, R. (1996):
Auswirkungen von Selenzulagen auf Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- BROWSE, J., P. J. McCOURT u. C. R. SOMMERVILLE (1986):
Fatty acid composition of leaf lipids determined after combined digestion and fatty acid methyl ester formation from fresh tissue.
Biochem Anal. **152**, 141 - 145
- BRYANT, M. P. (1973):
Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria.
US-Fed. Proc. **32**, 1809 - 1813
- BRYANT, M. P. (1974)
Nutritional features and ecology of predominant anaerobic bacteria of the intestinal tract.
Am. J. Clin. Nutr. **27**, 1313 - 1319
- BRYANT, M. P. (1986):
Ruminococcus.
in: P. H. A. SNEATH, N. S. MAIR, M. E. SHARPE u. J. G. HOLT (Hrsg.): Bergey's
Manual® of systematic bacteriology, Vol. 2.
Verlag Williams & Wilkins, Baltimore, London, Los Angeles, Sydney. S. 1093 – 1097
- BRYANT, M. P., u. R. N. DOETSCH (1955):
Factors necessary for the growth of *Bacteroides succinogenes* in the volatile acid fraction of rumen fluid.
J. Dairy Sci. **38**, 340 - 350
- BYGRAVE, F. L., u. R. M. C. DAWSON (1976):
Phosphatidylcholine biosynthesis and choline transport in the anaerobic protozoon *Entodinium caudatum*.
Biochem. J. **160**, 481 - 490
- BRYANT, M. P., I. M. ROBINSON u. H. CHU (1959):
Observation on *Bacteroides succinogenes*: a ruminal cellulolytic bacterium.
J. Dairy Sci. **42**, 1831 – 1847
- CAMPBELL, L.L., u. R. SINGLETON (1986):
Desulphotomaculum.
in: P. H. A. SNEATH, N. S. MAIR, M. E. SHARPE u. J. G. HOLT (Hrsg.): Bergey's
Manual® of systematic bacteriology, Vol. 2.
Verlag Williams u. Wilkins, Baltimore, London, Los Angeles, Sydney. S. 1200 - 1202
- CHALUPA, W., u. A. J. KUTCHES (1968):
Biohydrogenation of linoleic-1-¹⁴C acid by rumen protozoa.
J. Anim. Sci. **27**, 1502 - 1508

- CHALUPA, W., B. RICKABAUGH, D. S. KRONFELD u. D. SKLAN (1984):
Rumen fermentation in vitro as influenced by long-chain fatty acids.
J. Dairy Sci. **67**, 1439 - 1444
- CHALUPA, W., W. VECCHIARELLI, A. E. ELSER, D. S. KRONFELD, D. SKLAN u. D. L. PALMQUIST (1986):
Ruminal fermentation in vivo as influenced by long-chain fatty acids.
J. Dairy Sci. **69**, 1293 - 1301
- CHEN, M., u. M. J. WOLIN (1977):
Influence of CH₄ production by *Methanobacterium ruminantium* on the fermentation of glucose and lactate by *Selenomonas ruminantium*.
Appl. Environ. Microbiol. **34**, 756 - 759
- CHESSON, A., u. C. W. FORSBERG (1988):
Digestion of plant cell walls by rumen microorganisms.
in: P. N. HOBSON (Hrsg.): The rumen ecosystem.
Elsevier Applied Science, London, New York. S. 251 - 284
- CHESSON, A., C. S. STEWART, K. DALGARNO u. T. P. KING (1986):
Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell walls in rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture.
J. Appl. Bacteriol. **60**, 327 - 336
- CLARKE, N. G., G. P. HAZLEWOOD u. R. M. C. DAWSON (1976):
Novel lipids of *Butyrivibrio spp.*.
Chem. Phys. Lipids **17**, 222 - 232
- CME LIC, S. H. W., u. R. J. MATTHEWS (1965):
Non-volatile fatty acids in the rumen of grazing steers.
Rhod. Zamb. Malawi J. Agric. Res. **3**, 95 - 99
- COLEMAN, G. S. (1978):
The metabolism of cellulose, glucose and starch by rumen ciliate protozoon *Eudiplodinium maggi*.
J. Gen. Microbiol. **107**, 359 - 366
- COLEMAN, G. S. (1985):
The cellulase content of 15 species of entodiniomorphid protozoa, mixed bacteria and plant debris isolated from the ovine rumen.
J. Agric. Sci. **104**, 349 - 360
- COLEMAN, G. S., u. F. J. HALL (1969):
Electron microscopy of the rumen ciliate *Entodinium caudatum*, with special reference to the engulfment of bacteria and other particulate matter.
Tissue Cell **1**, 607 - 618

COLEMAN, G. S., u. F. J. HALL (1980):

The digestion of grass particles by rumen cellulolytic protozoa.

Soc. Gen. Microbiol. Q. 7, 87

COLEMAN, G. S., P. KEMP u. R. M. C. DAWSON (1971):

The catabolism of phosphatidylethanolamine by the rumen protozoon *Entodinium caudatum* and its conversion into the N-(1-carboxyethyl) derivative.

Biochem. J. 123, 97 – 104

CUMMINGS, B. A., D. H. GOULD, D. R. CALDWELL u. D. W. HAMAR (1995):

Ruminal microbial alteration associated with sulfide generation in steers with dietary sulfate-induced polyoencephalomalacia.

Am. J. Vet. Res. 56, 1390 – 1395

CUNNINGHAM, H. M., u. J. K. LOOSLI (1954):

The effect of fat-free diets on lambs and goats.

J. Anim. Sci. 13, 265 - 273

CZERKAWSKI, J. W. (1967):

Incubation inside the bovine rumen.

Br. J. Nutr. 21, 865 - 878

CZERKAWSKI, J. W. (1973):

Effect of linseed oil fatty acids and linseed oil on rumen fermentation in sheep.

J. Agric. Sci. 81, 517 - 531

CZERKAWSKI, J. W. (1975):

Composition of microbial matter in the rumen.

Proc. Nutr. Soc. 34, 62 A

CZERKAWSKI, J. W. (1976):

Chemical composition of microbial matter in the rumen.

J. Sci. Food Agric. 27, 621 - 632

CZERKAWSKI, J. W. (1986):

An introduction to rumen studies.

Pergamon Press, Oxford, New York

CZERKAWSKI, J. W., K. L. BLAXTER u. F. W. WAINMAN (1966 a):

The metabolism of oleic, linoleic and linolenic acids by sheep with reference to their effects on methane production.

Br. J. Nutr. 20, 349 - 362

CZERKAWSKI, J. W., K. L. BLAXTER u. F. W. WAINMAN (1966 b):

The effect of linseed oil and of linseed oil fatty acids incorporated in the diet on the metabolism of sheep.

Br. J. Nutr. 20, 485 - 494

- CZERKAWSKI, J. W., K. L. BLAXTER u. F. W. WAINMAN (1966 c):
The effect of functional groups other than carboxyl on the metabolism of C₁₈ and C₁₂ alkyl compounds by sheep.
Br. J. Nutr. **20**, 495 - 508
- CZERKAWSKI, J. W., u. G. BRECKENRIDGE (1977):
Design and development of a long-term rumen simulation technique (RUSITEC).
Br. J. Nutr. **38**, 371 - 384
- DAWSON, R. M. C. (1959):
Hydrolysis of lecithin and lysolecithin by rumen microorganisms of the sheep.
Nature (London) **183**, 1822 - 1823
- DAWSON, R. M. C., u. N. HEMINGTON (1974):
Digestion of grass lipids and pigments in the sheep rumen.
Br. J. Nutr. **32**, 327 - 340
- DAWSON, R. M. C., N. HEMINGTON, D. GRIME, D. LANDER u. P. KEMP (1974):
Lipolysis and hydrogenation of galactolipids and the accumulation of phytanic acid in the rumen.
Biochem. J. **144**, 169 - 171
- DAWSON, R. M. C., N. HEMINGTON u. G. P. HAZLEWOOD (1977):
On the role of higher plant and microbial lipases in the ruminal hydrolysis of grass lipids.
Br. J. Nutr. **38**, 225 - 232
- DAWSON, R. M. C., u. P. KEMP (1967):
The aminoethylphosphonate-containing lipids of rumen protozoa.
Biochem. J. **105**, 837 - 842
- DAWSON, R. M. C., u. P. KEMP (1969):
The effect of defaunation on the phospholipids and on the hydrogenation of unsaturated fatty acids in the rumen.
Biochem. J. **115**, 351 - 352
- DAWSON, R. M. C., u. P. KEMP (1970):
Biohydrogenation of dietary fats in ruminants.
in: A. T. PHILLIPSON (Hrsg.): Physiology of digestion and metabolism in the Ruminant.
Verlag Oriel Press, Newcastle upon Tyne, England. S. 504 - 518
- DE FIGUEIREDO, M. P. (1994):
Auswirkungen therapeutischer Gaben unterschiedlicher Hefezubereitungen (*Saccharomyces cerevisiae*) auf die Fermentationsvorgänge im azidotischen Pansensaft (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

DEHARENG, D., u. J. H. GODEAU (1988):

Incidense of liquid volume variations on endogenous and exogenous ammonia concentration in the rumen liquor of a mature dry cow.

Arch. Tierernähr. **38**, 767 - 774

DEHORITY, B. A. (1986):

Microbes in the foregut of arctic ruminants.

in: L. P. MILLIGAN, M. L. GROVUM u. A. DOBSON (Hrsg.): Control of Digestion and Metabolism in Ruminants.

Reston, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, S. 307 – 325

DEHORITY, B. A., H. W. SCOTT u. P. KOWALUK (1967):

Volatile fatty acid requirements of cellulolytic rumen bacteria.

J. Bacteriol. **94**, 537 - 543

DEMEYER, D. I. (1973):

Lipidstoffwechsel im Pansen.

in: D. GIESECKE u. H. K. HENDERICKX (Hrsg.): Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung, 1. Auflage.

BLV-Verlag, München, Bern, Wien. S. 209 - 234

DEMEYER, D. I., u. D. GIESECKE (1973):

Abbau der Kohlenhydrate und Biochemie der Gärung im Pansen.

in: D. GIESECKE u. H. K. HENDERICKX (Hrsg.): Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung, 1. Auflage.

BLV-Verlag, München, Bern, Wien. S. 135 – 167

DEMEYER, D. I., u. H. K. HENDERICKX (1967):

The effect of C₁₈ unsaturated fatty acids on methane production in vitro by mixed rumen bacteria.

Biochim. Biophys. Acta **137**, 484 - 497

DEMEYER, D. I., u. C. J. VAN NEVEL (1970):

(zitiert in: DEMEYER, D. 1973): Lipidstoffwechsel im Pansen.

in: D. GIESECKE u. H. K. HENDERICKX (Hrsg.): Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung, 1. Auflage.

BLV-Verlag, München, Bern, Wien. S. 209 – 234

DEMEYER, D. I., u. C. J. VAN NEVEL (1975):

Methanogenesis, an integrated part of carbohydrate fermentation, and its control.

in: I. W. McDONALD u. A. C. I. WARNER (Hrsg.): Digestion and metabolism in the ruminant.

Univers. of New England, Publ. Unit, Armidale, Australia. S. 366 - 382

DEMEYER, D. I., u. C. J. VAN NEVEL (1979):

Effect of defaunation on the metabolism of rumen microorganisms.

Br. J. Nutr. **42**, 515 - 524

- DEMEYER, D. I., u. C. J. VAN NEVEL (1995):
Transformations and effects of lipids in the rumen: three decades of research at Gent University.
Arch. Anim. Nutr. **48**, 119 - 134
- DEMEYER, D. I., C. J. VAN NEVEL, H. K. HENDERICKX u. J. MARTIN (1969):
The effect of unsaturated fatty acids upon methane and propionic acid in the rumen.
in: K. L. BLAXTER (Hrsg.): Energy metabolism of farm animals.
Verlag Oriol Press, Newcastle upon Tyne, England. S. 139 - 147
- DE OLIVEIRA, L. A., C. JEAN-BLAIN, V. DAL CORSO, V. BÉNARD, A. DURIX u. S. KOMISAECZUK-BONY (1996):
Effect of high sulfur diet on rumen microbial activity and rumen thiamine status in sheep receiving a semi-synthetic, thiamine-free diet.
Reprod. Nutr. Dev. **36**, 31 - 42
- DE OLIVEIRA, L. A., C. JEAN-BLAIN, S. KOMISARCZUK-BONY, A. DURIX u. C. DURIER (1997):
Microbial thiamin metabolism in the rumen simulating fermenter (RUSITEC): the effect of acidogenic conditions, a high sulfur level and added thiamin.
Br. J. Nutr. **78**, 599 - 613
- DIRKSEN, A. (1990):
Untersuchungen zum Einfluß von Magnesiumoxid auf die Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- DIRKSEN, G. (1990):
Verdauungsapparat.
in: G. DIRKSEN, H. GRUENDER u. M. STOEBER (Hrsg.): Die klinische Untersuchung des Rindes, 3. Auflage.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg. S. 288 - 400
- DRACKLEY, J. K., A. K. CLARK u. T. SAHLU (1985):
Ration digestibilities and ruminal characteristics in steers fed sunflower seeds with additional calcium.
J. Dairy Sci. **68**, 356 - 367
- DRINHAUS, M. (1987):
Untersuchungen zur sogenannten diätetischen Wirkung von Trockenschnitzeln auf einige Stoffwechselfparameter im Pansen von Schafen.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- DROCHNER, W., u. G. YILDIZ (1999):
Aktuelles zum Einsatz von Ca-Seifen in der Milchkuhfütterung.
in: Lohmann Information Fa. LAH, Cuxhaven, 3/99, S. 7 - 12

- DURAND, M., J. STEVANI u. S. KOMISARCZUK (1987):
Effect of some major minerals on rumen microbial metabolism in a semi-continuous fermentor (RUSITEC).
Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent. **52**, 1655 - 1663
- ELIAS, K. (1999):
Ruminale Fermentation unter chronisch-azidotischen Bedingungen (in-vitro) bei unterschiedlicher Vit-B₁-Verfügbarkeit.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- EMMANUEL, B. (1974):
On the origin of rumen protozoan fatty acids.
Biochim. Biophys. Acta **337**, 404 - 413
- ENARI, T.-M., u. M.-L. NIKU-PAAVOLA (1987):
Enzymatic hydrolysis of cellulose: is the current theory of the mechanisms of hydrolysis valid?
CRC Crit. Rev. Biotechnol. **5**, 67 - 87
- ERWIN, J., u. K. BLOCH (1963):
Polyunsaturated fatty acids in some photosynthetic microorganisms.
Biochem Z. **338**, 496 - 511
- ERWIN, E. S., W. STERNER, u. G. I. MARCO (1963):
Effect of type of oil and site of administration on the fate of fatty acids in sheep.
J. Am. Oil Chem. Soc. **40**, 344 - 347
- EYSEN, H., u. A. VERHULST (1984):
Biotransformation of linoleic acid and bile acids by *Eubacterium lentum*.
Appl. Environ. Microbiol. **47**, 39 - 43
- FAHEY, G. C., u. L. L. BERGER (1988):
Carbohydrate nutrition of ruminants.
in: D. C. CHURCH (Hrsg.): The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition.
Verlag Reston, New Jersey. S. 276 - 297
- FARUQUE, A. J. M. O., B. D. W. JARVIS u. J. C. HAWKE (1974):
Studies on rumen metabolism. IX. Contribution of plant lipases to the release of free fatty acids in the rumen.
J. Sci. Food Agri. **25**, 1313 - 1328
- FELDMANN, M. (1992):
Auswirkungen von Aktivkohle auf Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

- FELINSKI, L., G. A. GARTON, A. K. LOUGH u. A.T. PHILLIPSON (1964):
Lipids from sheep lymph, transport from the intestine.
Biochem. J. **90**, 154 - 160
- FINN, A. M., A.K. CLARK, J. K. DRACKLEY, D. J. SCHINGOETHE u. T. SAHLU (1985):
Whole rolled sunflower seeds with or without additional limestone in lactating dairy cattle rations.
J. Dairy Sci. **68**, 903 - 913
- FRANK, A. (1998):
Einfluß einer durch Fusarien verdorbenen Heucharge auf Keimzahlen ruminaler Bakteriengruppen (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- GALBRAITH, H., u. T. B. MILLER (1973):
Effect of metal cations and pH on the antibacterial activity and uptake of long chain fatty acids.
J. Appl. Bacteriol. **36**, 635 - 639
- GALBRAITH, H., T. B. MILLER, A. M. PATON u. J. K. THOMPSON (1971):
Antibacterial activity of long chain fatty acids and the reversal with calcium, magnesium, ergocalciferol and cholesterol.
J. Appl. Bacteriol. **34**, 803 - 813
- GARCIA, P. T., W. W. CHRISTIE, H. M. JENKIN, L. ANDERSON u. R. T. HOLMAN (1976):
The isomerization of 2,5- and 9,12-octadecadienoic acids by an extract of *Butyrivibrio fibrisolvens*.
Biochim. Biophys. Acta **424**, 296 - 302
- GARTON, G. A. (1959):
Lipids in relation to rumen function.
Proc. Nutr. Soc. **18**, 112 - 117
- GARTON, G. A. (1960):
Fatty acid composition of the lipids of pasture grasses.
Nature (London) **187**, 511 - 512
- GARTON, G. A. (1965):
The digestion and assimilation of lipids.
in: R. W. DOUGHERTY (Hrsg.): Physiology of digestion in the ruminant.
Verlag Butterworths Inc. Washington. S. 390 - 398
- GARTON, G. A. (1967):
The digestion and absorption of lipids in ruminant animals.
World Rev. Nutr. Diet **7**, 225 - 250

- GARTON, G. A. (1977):
Fatty acid metabolism in ruminants.
in: T. W. GOODWIN (Hrsg.): Biochemistry of lipids II, Vol. 14.
University Park Press, Baltimore. S. 337 - 370
- GARTON, G. A., P. N. HOBSON u. A. K. LOUGH (1958):
Lipolysis in the rumen.
Nature (London) **182**, 1511 - 1512
- GARTON, G. A., A. K. LOUGH u. E. VIOQUE (1961):
Glyceride hydrolysis and glycerol fermentation by sheep rumen contents.
J. Gen. Microbiol. **25**, 215 - 225
- GARTON, G. A., u. A. E. OXFORD (1955):
The nature of bacterial lipids in the rumen of hay-fed sheep.
J. Sci. Food Agric. **6**, 142 - 148
- GAWTHORNE, J. M., u. C. J. NADER (1976):
The effect of molybdenum on the conversion of sulphate to sulphide and microbial-protein-sulphur in the rumen of sheep.
Br. J. Nutr. **35**, 11 - 23
- GEISSLER, C., M. HOFFMANN u. B. HICKEL (1976):
Ein Beitrag zur Bestimmung flüchtiger Fettsäuren.
Arch. Tierernähr. **26**, 123 - 129
- GERSON, T., A. JOHN u. A. S. D. KING (1985):
The effects of dietary starch and fibre on the in vitro rates of lipolysis and hydrogenation by sheep rumen digesta.
J. Agric. Sci. **105**, 27 - 30
- GERSON, T., A. JOHN, I. D. SHELTON u. B. R. SINCLAIR (1982):
Effects of dietary N on lipids of rumen digesta, plasma, liver, muscle and perirenal fat in sheep.
J. Agric. Sci. **99**, 71 - 78
- GERSON, T., A. JOHN u. B. R. SINCLAIR (1983):
The effect of dietary N on in vitro lipolysis and fatty acid hydrogenation in rumen digesta from sheep fed diets high in starch.
J. Agric. Sci. **101**, 97 - 101
- GIRAD, V., u. J. C. HAWKE (1978):
The role of holotrichs in the metabolism of dietary linoleic acid in the rumen.
Biochim. Biophys. Acta **528**, 17 - 27

GOETSCH, A. L., u. F. N. OWENS (1987):

Effect of supplement sulfate (Dynamate R) and thiamine-HCL on passage of thiamine to the duodenum and site of digestion in steers.

Arch. Anim. Nutr. **37**, 1075 – 1083

GOLDFINE, H. (1982):

Lipids of prokaryotes: structure and distribution.

in: F. BRONNER u. A. KLEINZELLER (Hrsg.): Current topics in membranes and transport, Vol. 17.

Verlag Academic Press, New York u. London. S. 1 - 43

GOONERATNE, S. R., A. A. OLKOWSKI u. D. A. CHRISTENSEN (1989 a):

Sulfur induced polioencephalomalacia in sheep: Some biochemical changes.

Can. J. Vet. Res. **53**, 462 - 467

GOONERATNE, S. R., A. A. OLKOWSKI, R. G. KLAMMER, G. A. KESSLER u. D. A. CHRISTENSEN (1989 b):

High sulfur related thiamine deficiency in cattle: A field study.

Can. Vet. J. **30**, 139 - 146

GOOSEN, P. C. M. (1975):

Absorption of long-chain fatty acids by rumen epithelium; experiments in vivo and in vitro.

Z. Tierphysiol., Tierernähr. u. Futtermittelkd. **35**, 296 - 302

GOULD, D. H., B. A. CUMMINGS u. D. W. HAMAR (1997):

In vivo indicators of pathologic ruminal sulfide production in steers with diet-induced polioencephalomalacia.

J. Vet. Diagn. Invest. **9** (1), 72 - 76

GOULD, D. H., M. M. McALLISTER, J. C. SAVAGE u. D. W. HAMAR (1991):

High sulfide concentrations in rumen fluid associated with nutritionally induced polioencephalomalacia in calves.

Am. J. Vet. Res. **52**, 1164 - 1169

GUARDIOLA, C. M., G. C. FAHEY, J. W. SPEARS, U. S. GARRIGUS, O. A. IZQUIERA u. C. PEDROZA (1983):

The effects of sulphur supplementation on cellulose digestion in vitro and on nutrient digestion, nitrogen metabolism and rumen characteristics of lambs fed on good quality fescue and tropical star grass hays.

Anim. Feed Sci. Technol. **8**, 129 – 138

GURR, M. I. (1980):

The biosynthesis of triacylglycerols.

in: P. K. STUMPF u. E. E. CONN (Hrsg.): The biochemistry of plants. Lipids: Structure and Function, Vol. 4.

Verlag Academic Press, New York.

GURR, M. I. (1984):

The chemistry and biochemistry of plant fats and their nutritional importance.

in: J. WISEMAN (Hrsg.): Fat in animal nutrition.

Verlag Butterworths, London. S. 3 - 22

GÜRTLER, H. (1980):

Die Physiologie der Verdauung und Absorption.

in: E. KOLB (Hrsg.): Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, Teil 1.

VEB G. Fischer Verlag, Jena. S. 177 - 339

GUTIERREZ, J., P. P. WILLIAMS, R. E. DAVIS u. E. J. WARWICK (1962):

Lipid metabolism of rumen ciliates and bacteria. 1. Uptake of fatty acids by *Isotricha prostoma* and *Entodinium simplex*.

Appl. Microbiol. **10**, 548 – 551

HAAN, G. J., S. VAN DER HEIDE u. B. G. WOLTERS (1979):

Analysis of fatty acids from human lipids by gas chromatography.

Chromatogr. **162**, 261 - 271

HAGEMEISTER, H. (1990):

Fetteinsatz in der Milchviehfütterung unter besonderer Berücksichtigung der im Pansen entstehenden trans-Fettsäuren.

Kiel. milchwirtsch. Forschungsber. **42** (2), 271 - 280

HAGEMEISTER, H., u. W. KAUFMANN (1979 a):

Mikrobielle Synthese nicht flüchtiger Fettsäuren in den Vormägen von Milchkühen.

Kiel. milchwirtsch. Forschungsber. **31**, 11 - 29

HAGEMEISTER, H., u. W. KAUFMANN (1979 b):

Verwendungsmöglichkeiten von Fett in der Ernährung von Milchkühen.

Übers. Tierernähr. **7**, 1 - 30

HAGEMEISTER, H., u. W. KAUFMANN (1979 c):

Hydrogenierung von ungesättigten Fettsäuren in den Vormägen der Kuh.

Kiel. milchwirtsch. Forschungsber. **31**, 41 - 52

HAGEMEISTER, H., W. KAUFMANN u. A. WIECHEN (1979):

Messungen des Resorptionsortes von Fettsäuren im Verdauungstrakt der Kuh.

Kiel. milchwirtsch. Forschungsber. **31**, 5 - 10

HAMLEN, H., E. CLARK u. E. JANSEN (1993):

Polioencephalomalacia in cattle consuming water with elevated sodium sulphate levels: a herd investigation.

Can. Vet. J. **34**, 153 - 158

- HANSEN, R. P. (1966 a):
Occurrence of phytanic acid in rumen bacteria.
Nature (London) **210**, 841
- HANSEN, R. P. (1966 b):
Phytanic acid and other branched-chain fatty acid constituents of bovine rumen bacteria.
J. Dairy Res. **33**, 333 - 342
- HARFOOT, C. G. (1978):
Lipid metabolism in the rumen.
Prog. Lipid Res. **17**, 21 - 54
- HARFOOT, C. G. (1981):
Lipid metabolism in the rumen.
in: W. W. CHRISTIE (Hrsg.): Lipid metabolism in ruminant animals.
Verlag Pergamon Press, Kronberg / Taunus. S. 21 - 55
- HARFOOT, C. G., M. L. CROUCHMAN, R. C. NOBLE u. J. H. MOORE (1974):
Competition between food particles and rumen bacteria in the uptake of long-chain fatty acids and triglycerids.
J. Appl. Bacteriol. **37**, 633 - 641
- HARFOOT, C. G., u. G. P. HAZLEWOOD (1997):
Lipid metabolism in the rumen.
in: P. N. HOBSON u. C. S. STEWART (Hrsg.): The rumen microbial ecosystem.
Verlag Blackie Academic & Professional, London, Weinheim, New York. S. 383 - 426
- HARFOOT, C. G., R. C. NOBLE u. J. H. MOORE (1973 a):
Food particles as a site for biohydrogenation of unsaturated fatty acids in the rumen.
Biochem. J. **132**, 829 - 832
- HARFOOT, C. G., R. C. NOBLE u. J. H. MOORE (1973 b):
Factors influencing the extent of biohydrogenation of linoleic acid by rumen microorganisms in vitro.
J. Sci. Food Agric. **24**, 961 - 970
- HARMEYER, J. (1964):
Zur Methodik experimenteller Untersuchungen an Pansenprotozoen.
Zentralbl. Veterinärmed. A. **12**, (9) S. 841 - 880
- HARRIES, W. M. (1987):
Polioencephalomalacia in feedlot cattle drinking water high in sodium sulfate.
Can. Vet. J. **28**, 717

- HAWKE, J. C. (1971):
The incorporation of long-chain fatty acids into lipids by rumen bacteria and the effect on biohydrogenation.
Biochim. Biophys. Acta **248**, 167 - 170
- HAWKE, J. C., u. J. A. ROBERTSON (1964):
Studies on rumen metabolism. II.– In vivo Hydrolysis and hydrogenation of lipid.
J. Sci. Food Agric. **15**, 283 - 289
- HAWKE, J. C. u. W. R. SILCOCK (1969):
Lipolysis and hydrogenation in the rumen.
Biochem. J. **112**, 131 - 132
- HAWKE, J. C. u. W. R. SILCOCK (1970):
The in vitro rate of lipolysis and biohydrogenation in rumen contents.
Biochim. Biophys. Acta **218**, 201 - 212
- HAZLEWOOD, G. P. (1974):
Metabolism of phospholipids and fatty acids by a rumen bacterium.
University of Cambridge, Ph. D.
- HAZLEWOOD, G. P., K. Y. CHO, R. M. C. DAWSON u. E. A. MUNN (1983):
Subcellular fractionation of the gram negative rumen bacterium *Butyrivibrio S₂* by protoplast formation, and localisation of lipolytic enzymes in the plasma membrane.
J. Appl. Bacteriol. **55**, 337 - 347
- HAZLEWOOD, G. P., u. R. M. C. DAWSON (1975 a):
Isolation and properties of a phospholipid-hydrolysing bacterium from ovine rumen fluid.
J. Gen. Microbiol. **89**, 163 - 174
- HAZLEWOOD, G. P., u. R. M. C. DAWSON (1975 b):
Intermolecular transacylation of phosphatidylethanolamine by a *Butyrivibrio sp.*.
Biochem. J. **150**, 521 - 525
- HAZLEWOOD, G. P., u. R. M. C. DAWSON (1976):
A phospholipid-deacylating system of bacteria active in a frozen medium.
Biochem. J. **153**, 49 - 53
- HAZLEWOOD, G. P., u. R. M. C. DAWSON (1979):
Characteristics of a lipolytic and fatty acid-requiring *Butyrivibrio sp.* isolated from the ovine rumen.
J. Gen. Microbiol. **112**, 15 - 27
- HAZLEWOOD, G. P., P. KEMP, D. LANDER u. R. M. S. DAWSON (1976):
C₁₈ unsaturated fatty acid hydrogenation patterns of some rumen bacteria and their ability to hydrolyse exogenous phospholipid.
Br. J. Nutr. **35**, 293 - 297

HENDERICKX, H. (1961):

The incorporation of sulfate in the ruminal proteins.

Arch. Int. Physiol. Biochim. **69**, 449 - 458

HENDERSON, C. (1971):

A study of the lipase produced by *Anaerovibrio lipolytica*, a rumen bacterium.

J. Gen. Microbiol., **65**, 81 - 89

HENDERSON, C. (1973 a):

An improved method for enumerating and isolating lipolytic rumen bacteria.

J. Appl. Bacteriol. **36**, 187 - 188

HENDERSON, C. (1973 b):

The effects of fatty acids on pure cultures of rumen bacteria.

J. Agric. Sci. **81**, 107 - 112

HENDERSON, C., u. W. HODGKISS (1973):

An electron microscopic study of *Anaerovibrio lipolytica* (strain 5S) and its lipolytic enzyme.

J. Gen. Microbiol. **76**, 389 - 393

HENDERSON, C., P. N. HOBSON u. R. SUMMERS (1969):

The production of amylase, protease and lipolytic enzymes by two species of anaerobic rumen bacteria.

in: I. MALEK (Hrsg.): Proceedings of the fourth symposium on continuous cultivation of microorganisms, Prag.

Verlag Academic Press, London. S. 189 - 204

HEYDENREICH, G. A. (1967):

Die schweflige Säure und ihre Salze in der Lebensmittelverarbeitung und -lagerung.

Z. Ernährwiss. **8**, 44 - 65

HIDIROGLOU, M., u. M. LEPAGE (1967):

L'Utilisation de l'acide valérique- $1-^{14}\text{C}$ et la synthèse de lipides marqués par les bactéries cellulolytiques du rumen in vitro.

Can. J. Biochem. **45**, 1789 - 1793

HINO, T., u. Y. NAGATAKE (1993):

The effects of grass lipid on fibre digestion by mixed rumen microorganisms in vitro.

Anim. Sci. Technol. **64**, 121 - 128

HITCHCOCK, C., u. B. W. NICHOLS (1971):

Plant lipid biochemistry.

Verlag Academic Press, New York.

HOBSON, P. N., u. S. O. MANN (1961):

The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep.

J. Gen. Microbiol. **25**, 227 - 240

- HOBSON, P. N., u. R. SUMMERS (1966):
Effect of growth rate on the lipase activity of a rumen bacterium.
Nature (London) **209**, 736 - 737
- HOBSON, P. N., u. R. SUMMERS (1967):
The continuous culture of anaerobic bacteria.
J. Gen. Microbiol., **47**, 53 - 65
- HOGAN, J. P. (1973):
Intestinal digestion of subterranean clover by sheep.
Austr. J. Agric. Res. **23**, 87 - 95
- HÖHLING, A. (2000):
Auswirkungen von verschimmeltem Futter, chronischer Pansenazidose, sowie Schwefelzulagen auf die Protozoenpopulation im Pansen (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss. (in Vorbereitung)
- HOLDEMANN, L. V., E. P. CATO u. W. E. C. MOORE (1977):
Anaerobe Laboratory Manual.
Virginia Polytechnic Institute, Blacksburg
- HÖLLER, H. (1990):
Mineralstoffe - Schwefel S.
in: H. HÖLLER (Hrsg.) Vorlesungsbegleitende Zusammenfassung eines Teils des Lehrgebietes Ernährungsphysiologie. S. 16, 47
- HÖLTERSHINKEN, M. (1990):
In-vitro-Untersuchungen über die Wirkungen von Baquiloprim/Sulfadimidin auf die Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- HORIGUCHI, M., u. M. KANDATSU (1959):
Isolation of 2-aminoethane phosphonic acid from rumen protozoa.
Nature (London) **184**, 901 - 902
- HOWARD, B. H., u. R. E. HUNGATE (1976):
Desulfovibrio of the sheep rumen.
Appl. Environ. Microbiol. **32**, 598 - 602
- HÜBNER, E. (2000):
Untersuchungen zum Gehalt von Thiamin und seinen Derivaten im Pansensaft des Rindes nach Verfütterung von mit *Alternaria alternata* verpilztem Heu (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss. (in Vorbereitung)
- HUDSON, J. A., C. A. M. MacKENZIE u. K. N. JOBLIN (1996):
Conversion of oleic acid to 10-hydroxystearic acid by 2 species of ruminal bacteria.
Appl. Microbiol. Biotechnol. **44**, 1 - 6

- HUGHES, P. E., u. S. B. TOVE (1980 a):
Identification of an endogenous electron donor for biohydrogenation as α -tocopherolquinol.
J. Biol. Chem. **255**, 4447 - 4452
- HUGHES, P. E., u. S. B. TOVE (1980 b):
Identification of deoxy- α -tocopherolquinol as another endogenous electron donor for biohydrogenation.
J. Biol. Chem. **255**, 11802 - 11806
- HUHTANEN, P., u. E. POUTIAINEN (1985):
Effect of full-fat rapeseed on digestibility and rumen fermentation in cattle.
J. Agric. Sci. Finl. **57**, 67 - 73
- HUNGATE, R. E. (1966):
The rumen and its microbes.
Academic Press, New York, London
- HUNGATE, R. E. (1967):
Hydrogen as an intermediate in the rumen fermentation.
Arch. Microbiol. **59**, 158 - 164
- HUNGATE, R. E., W. SMITH, T. BAUCHOP, I. YU u. J. C. RABINOWITZ (1970):
Formate as an intermediate in the bovine rumen fermentation.
J. Bacteriol. **102**, 389 - 397
- HUNTER, W. J., F. C. BAKER, I. S. ROSENFELD, J.B. KEYSER u. S. B. TOVE (1976):
Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. VII. Hydrogenation by cell-free preparation of *Butyrivibrio fibrisolvens*.
J. Biol. Chem. **251**, 2241 - 2247
- IFKOVITS, R. W., u. H. S. RAGHEB (1968):
Cellular fatty acid composition and identification of rumen bacteria.
Appl. Microbiol. **16**, 1406 - 1413
- IKAWA, M. (1967):
Bacterial Phosphatides and natural relationships.
Bacteriol. Rev. **31**, 54 - 64
- IKWUEGBU, O. A., u. J. D. SUTTON (1982):
The effect of varying the amount of linseed oil supplementation on rumen metabolism in sheep.
Br. J. Nutr. **48**, 365 - 375
- ISHAQUE, M., P. C. THOMAS u. J. A. F. ROOK (1971):
Consequences to the host of changes in rumen microbial activity.
Nature (London) **231**, 253 - 256

ITABASHI, H., T. KOBAYASHI u. M. MATSUMOTO (1984):

The effects of rumen ciliate protozoa on energy metabolism and some constituents in rumen fluid and blood plasma of goats.

JPN. J. Zootech. Sci. **55**, 248 - 256

IVAN, M., D. M. VEIRA u. C. A. KELLEHER (1986):

The alleviation of chronic copper toxicity in sheep by ciliate protozoa.

Br. J. Nutr. **55**, 361 - 367

JAKUBKE, H.-D. (1981):

in: H.-D. JAKUBKE u. H. JESCHKEIT (Hrsg.): Lexikon Biochemie, 2. Auflage.

Verlag Chemie, Weinheim.

JEAN-BLAIN, C., V. DAL CORSO, V. BUNARD, A. DURIX u. L. ALVES (1994):

Effect of a high sulphur diet on the rumen synthesis of thiamin and on the thiamin status of the sheep.

Proc. Soc. Nutr. Physiol. **3**, 199

JEAN-BLAIN, C., L. A. de OLIVEIRA, S. KOMISAREZUK-BONY u. A. DURIX (1995):

Study of the effect of sulphur level and addition of thiamin on the microbial net production of thiamin in the rumen.

9. Int. Conf. Product. Dis. Farm Animals, S. 358

JEFFREY, M., J. P. DUFF, R. J. HIGGINS, V. R. SIMPSON, R. JACKMAN, T. O. JONES, S. C. MECHIE u. C. T. LIVESEY (1994):

Polioencephalomalacia associated with the ingestion of ammonium sulphate by sheep and cattle.

Vet. Rec. **134**, 343 - 348

JENKINS, T. C. (1987):

Effects of fats and fatty acid combinations on ruminal fermentation in semi-continuous in vitro cultures.

J. Anim. Sci. **64**, 1526 - 1532

JENKINS, T. C. (1993):

Lipid metabolism in the rumen.

J. Dairy Sci. **76**, 3851 - 3863

JENKINS, T. C., u. D. L. PALMQUIST (1982):

Effect of added fat and calcium on in vitro formation of insoluble fatty acid soaps and cell wall digestibility.

J. Anim. Sci. **55**, 957 - 963

JENKINS, T. C., u. D. L. PALMQUIST (1984):

Effect of fatty acids or calcium soaps on rumen and total nutrient digestibility of dairy rations.

J. Dairy Sci. **67**, 978 - 984

- JENSEN, K. (1973):
Gas-solid adsorption chromatographic determination of short-chain fatty acids in rumen fluid.
Acta Vet. Scand. **14**, 335 - 337
- JEROCH, H., G. FLACHOWSKI u. F. WEISSBACH (1993):
in: H. JEROCH, G. FLACHOWSKI u. F. WEISSBACH (Hrsg.): *Futtermittelkunde*.
Verlag Fischer Jena, Stuttgart. Kap. 10, S. 378 - 388
- JILG, T., K. P. AIPLE, u. H. STEINGASS (1988):
Fettstoffwechsel und Wirkungen von Futterfetten beim Wiederkäuer.
Übers. *Tierernähr.* **16**, 109 - 152
- JOHNSON, D. B., D. J. HOWELLS u. T. W. GOODWIN (1966):
Observations on the biosynthesis of thiamine in yeast.
Biochem. J. **98**, 30 - 37
- JOUANY, J. P., B. ZAINAB, J. SENAUD, C. A. GROLIERE, J. GRAIN u. P. THIVEND
(1981):
Role of the rumen ciliate protozoa *Polyplastron multivesiculatum*, *Entodinium spp.* and
Isotricha prostoma in the digestion of a mixed diet in sheep.
Reprod. Nutr. Dev. **21**, 871 - 884
- KABARA, J. J. (1984):
Antimicrobial agents derived from fatty acids.
J. Am. Oil Chem. Soc. **61**, 397 - 403
- KAMIO, Y., S. KANEGASAKI u. H. TAKAHASHI (1969):
Occurrence of plasmalogens in anaerobic bacteria.
J. Gen. Appl. Microbiol. **15**, 439 - 451
- KAMIO, Y., S. KANEGASAKI u. H. TAKAHASHI (1970 a):
Fatty acid and aldehyde compositions in phospholipids of *Selenomonas ruminantium* with
reference to growth conditions.
J. Gen. Appl. Microbiol. **16**, 29 - 38
- KAMIO, Y., K. C. KIM u. H. TAKAHASHI (1970 b):
Glycerol ether phospholipids in *Selenomonas ruminantium*.
J. Gen. Appl. Microbiol. **16**, 291 - 300
- KAMIO, Y., u. H. TAKAHASHI (1980):
Isolation and characterisation of outer and inner membranes of *Selenomonas ruminantium*:
lipid composition.
J. Bacteriol. **141**, 888 - 898
- KANDYLIS, K., u. A. C. BRAY (1987):
Effects of variation of dietary sulfur on movement of sulfur in sheep rumen.
J. Dairy Sci. **70**, 40 - 49

- KANEGASAKI, S., u. S. NUMA (1970):
Medium-chain fatty acyl-CoA requirement for long-chain fatty acid synthesis in some anaerobic bacteria.
Biochim. Biophys. Acta **202**, 436 - 446
- KANEGASAKI, S., u. H. TAKAHASHI (1967):
Function of growth factors for rumen microorganisms. I. Nutritional characteristics of *Selenomonas ruminantium*.
J. Bacteriol. **93**, 456 - 463
- KANEGASAKI, S., u. H. TAKAHASHI (1968):
Function of growth factors for rumen microorganisms. II. Metabolic fate of incorporated fatty acids in *Selenomonas ruminantium*.
Biochim. Biophys. Acta **152**, 40 - 49
- KATES, M. (1966):
Biosynthesis of lipids in microorganisms.
Annu. Rev. Microbiol. **20**, 13 - 44
- KATZ, I., u. M. KEENEY (1964):
The isolation of fatty aldehydes from rumen-microbial lipid.
Biochim. Biophys. Acta **84**, 128 - 132
- KATZ, I., u. M. KEENEY (1966 a):
Characterization of the octadecenoic acids in rumen digesta and rumen bacteria.
J. Dairy Sci. **49**, 962 - 966
- KATZ, I., u. M. KEENEY (1966 b):
Occurrence of ketostearic acids in the rumen.
J. Dairy Sci. **49**, 967 - 970
- KATZ, I., u. M. KEENEY (1967):
The lipids of some rumen holotrich protozoa.
Biochim. Biophys. Acta **144**, 102 - 112
- KEENEY, M. (1970):
Lipid metabolism in the rumen.
in: A. T. PHILLIPSON (Hrsg.): Physiology of digestion and metabolism in the ruminant.
Verlag Oriel Press, Newcastle upon Tyne. S. 789 - 503
- KEENEY, M., I. KATZ u. M. J. ALLISON (1962):
On the probable origin of some milk fat acids in rumen microbial lipids.
J. Am. Oil Chem. Soc. **39**, 198 - 201
- KELLENS, M. J., H. L. GODERIS, u. P. P. TOBBACK (1986):
Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by a mixed culture of rumen microorganisms.
Biotechnol. Bioeng. **28**, 1268 - 1278

- KEMP, P., R. M. C. DAWSON u. R. A. KLEIN (1972):
A new bacterial sphingophospholipid containing 3-aminopropane-1,2-diol.
Biochem. J. **130**, 221 - 227
- KEMP, P., u. D. J. LANDER (1983):
The hydrogenation of $\uparrow\downarrow$ -linolenic acid by pure cultures of two rumen bacteria.
Biochem. J. **216**, 519 - 522
- KEMP, P., u. D. J. LANDER (1984):
Hydrogenation in vitro of α -linolenic acid to stearic acid by mixed cultures of pure strains of rumen bacteria.
J. Gen. Microbiol. **130**, 527 - 533
- KEMP, P., D. J. LANDER u. F. D. GUNSTONE (1984 a):
The hydrogenation of some cis- and trans-octadecenoic acids to stearic acid by a rumen *Fusocillus* sp..
Br. J. Nutr. **52**, 165 - 170
- KEMP, P., D. J. LANDER u. R. T. HOLMAN (1984 b):
The hydrogenation of the series of methylene-interrupted cis, cis-octadecadienoic acids by pure cultures of six rumen bacteria.
Br. J. Nutr. **52**, 171 - 177
- KEMP, P., D. J. LANDER u. C. G. ORPIN (1984 c):
The lipids of the rumen fungus *Piromonas communis*.
J. Gen. Microbiol. **130**, 27 - 37
- KEMP, P., R. W. WHITE u. D. J. LANDER (1975):
The hydrogenation of unsaturated fatty acids by five bacterial isolates from the sheep rumen, including a new species.
J. Gen. Microbiol. **90**, 100 - 114
- KENNEDY, D. M. (1974):
The utilization and excretion of sulphur in cattle fed on tropical roughages.
Aust. J. Agric. Res. **25**, 1015 - 1022
- KENNEDY, P. M., u. B. D. SIEBERT (1975):
Sulphur metabolism in sheep and cattle fed tropical forages.
Sulphur Inst. J. **11** (1), 6 - 11
- KENNEDY, P. M., E. R. WILLIAMS u. B. D. SIEBERT (1975):
Sulphate recycling and metabolism in sheep and cattle.
Aust. J. Biol. Sci. **28**, 31 - 42

- KEPLER, C. R., K. P. HIRONS, J. J. McNEILL u. S. B. TOVE (1966):
Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*.
J. Biol. Chem. **241**, 1350 - 1354
- KEPLER, C. R., u. S. B. TOVE (1967):
Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. III. Purification and properties of a linoleate λ^{12} -cis, λ^{11} -trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*.
J. Biol. Chem. **242**, 5686 - 5692
- KEPLER, C. R., W. P. TUCKER u. S. B. TOVE (1970):
Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Substrate specificity and inhibition of linoleate λ^{12} -cis, λ^{11} -trans-isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*.
J. Biol. Chem. **245**, 3612 - 3620
- KEPLER, C. R., W. P. TUCKER u. S. B. TOVE (1971):
Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. V. Stereospecificity of proton addition and mechanism of action fo linoleic acid λ^{12} -cis, λ^{11} -trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens*.
J. Biol. Chem. **246**, 2765 - 2771
- KHAN, A. A., D. LOVEJOY, A. K. SHARMA, R. M. SHARMA, M. G. PRIOR u. L. E. LILLIE (1987 b):
Effects of high dietary sulphur on enzyme activities, selenium concentrations and body weights of cattle.
Can. J. Vet. Res. **51**, 174 - 180
- KHAN, A. A., M. M. SCHULER u. R. W. COPPOCK (1987 a):
Inhibitory effects of various sulfur compounds on the activity of bovine erythrocyte enzymes.
J. Toxicol. Environ. Health **22**, 481 - 490
- KNIGHT, R., J. D. SUTTON, J. E. STORRY u. P. E. BRUMBY (1978):
Rumen microbial synthesis of long chain fatty acids.
Proc. Nutr. Soc. **38**, 4 A
- KOWALCZYK, J., E. R. ØRSKOV, J. J. ROBINSON u. C. S. STEWARD (1977):
Effect of fat supplementation on voluntary food intake and rumen metabolism in sheep.
Br. J. Nutr. **37**, 251 - 257
- KRAKOW, L. (1992):
Untersuchungen (RUSITEC-System) zum Einfluß von Magnesiumoxid auf Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

- KRAMER, H. (1993):
Auswirkungen von Aditoprim® auf Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- KREUTZER, M., M. KIRCHGESSNER u. H. L. MÜLLER (1986):
Effect of defaunation on feed energy in wethers fed different quantities of cellulose and normal or steam flaked maize starch.
Anim. Feed Sci. Technol. **16**, 233 - 241
- KRISTJAANSSON, J. K., P. SCHÖNHEIT u. R. K. THAUER (1982):
Different K_v values for hydrogen of methanogenic bacteria and sulfate reducing bacteria.
Arch. Microbiol. **131**, 278 - 282
- KRUMMHOLZ, L. R., C. W. FORSBERG u. D. M. VEIRA (1983):
Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa.
Can. J. Microbiol. **29**, 676 - 680
- KUNSMAN, J. E. (jr.) (1966):
Characterization of the lipids from pure cultures of rumen bacteria.
University of Maryland, Ph. D.
Ref. in: Diss. Abstr. Int., **B 27** (1966), S. 2978 B
- KUNSMAN, J. E. (1973):
Characterisation of the lipids of six strains of *Bacteroides rumenicola*.
J. Bacteriol. **113**, 1121 - 1126
- KURILOV, N. V., N. A. SEVASTJANOVA, N. D. MYSNIK u. V. N. KORSCHUNOV (1975):
Die bakterielle Synthese im Pansen und die Anwendung von Methionin bei der Fütterung von laktierenden Kühen und Schafen.
in: G. HENNING u. A. KIELIANOWSKY (Hrsg.): Tierernährung und Fütterung, Erfahrungen, Ergebnisse, Entwicklungen.
VEB Dtsch. Landw. Verlag, Berlin. S. 11 - 17
- LADD, J. N., u. D. J. WALKER (1965):
Fermentation of lactic acid by the rumen microorganism *Peptostreptococcus elsdenii*.
Ann. N. Y. Acad. Sci. **119**, 1038 - 1045
- LATHAM, M. J., J. E. STORRY u. M. E. SHARPE (1972):
Effect of low-roughage diets on the microflora and lipid metabolism in the rumen.
Appl. Microbiol. **24**, 871 - 877
- LATHAM, M. J., u. M. J. WOLIN (1977):
Fermentation of cellulose by *Ruminococcus flavefaciens* in the presence and absence of *Methanobacterium ruminantium*.
Appl. Environ. Microbiol. **34**, 297 - 301

LEAT, W. M. F. (1977):

Depot fatty acids of Aberdeen Angus and Frisian cattle reared on hay and barley diets.
J. Agric. Sci. **89**, 575 - 582

LEBZIEN, P. (1980 a):

Untersuchungen zur Quantifizierung der Produktionsraten an flüchtigen Fettsäuren im Pansen von Milchkühen bei Einsatz von Futtermitteln mit unterschiedlicher Energiekonzentration.
Hohenheim, Univ., Fak. IV, Diss.

LEBZIEN, P. (1980 b):

Fütterungsbedingte Einflüsse auf die Pansenfermentation und Möglichkeiten zur Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren in den Vormägen.
Übers. Tierernähr. **8**, 151 - 184

LEHNINGER, A. L., D. L. NELSON u. M. M. COX (1998):

in: H. TSCHESCHE (Hrsg.): Prinzipien der Biochemie, 2. Auflage.
Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford.

LEICHTER, J., u. M. A. JOSLYN (1969):

Kinetics of thiamin cleavage by sulphite.
Biochem. J. **113**, 611 - 615

LENOX, A. M., A. K. LOUGH u. G. A. GARTON (1968):

Observations on the nature and origin of lipids in the small intestine of the sheep.
Br. J. Nutr. **22**, 237 - 246

LEPAGE, G., u. C. C. ROY (1986):

Direct transesterification of all classes of lipids in a one step reaction.
J. Lipid. Res. **27**, 114 - 120

LEPAGE, G., u. C. C. ROY (1988):

Specific methylation of plasma nonesterified fatty acids in a one step reaction.
J. Lipid. Res. **29**, 227 - 235

LEWIS, D., u. K. J. HILL (1983):

The provision of nutrients.
in: J. A. F. ROOK u. P. C. THOMAS (Hrsg.): Nutritional physiology of farm animals.
Verlag Longman, London, New York. S. 3 - 30

MACZULAK, A. E., B. A. DEHORITY u. D. L. PALMQUIST (1981):

Effect of long-chain fatty acids on the growth of rumen bacteria.
Appl. Microbiol. **42**, 856 - 862

MAIWORM, K. (1994):

Wirkung havariierter Maissilage auf Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

- MATTOS, W., u. D. L. PALMQUIST (1974):
Increased polyunsaturated fatty acid yields in milk of cows fed protected fat.
J. Dairy Sci. **57**, 1050 - 1054
- MAURUSCHAT, A. (1996):
Untersuchungen zum Einfluß von Roquefortin auf Fermentationsvorgänge im Panseninhalt
des Rindes (in vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- McALLISTER, M. M., D. H. GOULD, M. F. RAISBECK, B. A. CUMMINGS u. G. H.
LONERAGAN (1997):
Evaluation of ruminal sulfide concentrations and seasonal outbreaks of polioencephalomalacia
in beef cattle in a feedlot.
J. Am. Vet. Med. Assoc. **211** (2), 1275 - 1279
- McGEE, J., u. K. G. ALLEN (1974):
Preparation of methyl esters from the saponifiable fatty acids in small biological specimens
for gas-liquid chromatographic analysis.
J. Chromatogr. **100**, 35 - 42
- McGUEFFEY, R. K., u. D. J. SCHINGOETHE (1980):
Feeding value of a high oil variety of sunflowers as silage to lactating dairy cows.
J. Dairy Sci. **63**, 1109 - 1113
- McGUEFFEY, R. K., u. D. J. SCHINGOETHE (1982):
Whole sunflower seeds for high producing dairy cows.
J. Dairy Sci. **65**, 1479 - 1483
- MELLA, C. M., O. PEREZ-OLIVA u. F. M. LOEW (1976):
Induction of bovine polioencephalomalacia with a feeding system based on molasses and urea.
Can. J. Comp. Med. **40**, 104 - 110
- MENKE, K.H., u. W. HUSS (1980):
Tierernährung und Futtermittelkunde, 2. Auflage.
Verlag. Ulmer, Stuttgart
- MEYER, H. (1999):
in: J. KAMPHUES, D. SCHNEIDER u. J. LEIBETSEDER (Hrsg.): Supplemente zu
Vorlesungen und Übungen in der Tierernährung, 9. Auflage.
Verlag Schaper, Alfeld-Hannover
- MILES, S. C., T. W. SCOTT, G. R. RUSSELL u. R. M. SMITH (1970):
Hydrogenation of C₁₈ unsaturated fatty acids by pure cultures of a rumen micrococcus.
Aust. J. Biol. Sci. **23**, 1109 - 1113

- MITTROWANN, M. (1999):
Untersuchungen zum Einfluß von Sulfit auf den Thiamin- und -derivatgehalt im bovinen Pansensaft (in-vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- MIYAGAWA, E. (1982):
Cellular fatty acid and fatty aldehyde composition of rumen bacterium.
J. Gen. Appl. Microbiol. **28**, 389 - 408
- MOIR, R. J. (1975):
The role and requirement for sulphur in ruminant nutrition.
in: K. D. McLACHLAN (Hrsg.): Sulphur in Australasian Agriculture.
Sydney Univ. Press, S. 109
- MOORE, J. H., u. W. W. CHRISTIE (1984):
Digestion, absorption and transport of fats in ruminant animals.
in: J. WISEMAN (Hrsg.): Fats in animal nutrition.
Verlag Butterworth, London. S. 123 - 149
- MOORE, J. H., R. C. NOBLE, W. STEELE u. J. W. CZERKAWSKI (1969):
Differences in the metabolism of esterified and unesterified linoleic acid by rumen microorganisms.
Br. J. Nutr. **23**, 869 - 878
- MORRISON, M., R. M. MURRAY u. A. N. BONIFACE (1990):
Nutrient metabolism and rumen microorganisms in sheep fed a poor-quality tropical grass hay supplemented with sulphate.
J. Agric. Sci. **115**, 269 - 276
- MOUNTFORT, D. O., u. R. A. ASHER (1985):
Produktion and regulation of cellulase by two strains of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*.
Appl. Environ. Microbiol. **49**, 1314 - 1322
- NEWELL, P. C., u. R. G. TUCKER (1966):
The control mechanism of the thiamine biosynthesis. A model for the study of control of converging pathways.
Biochem. J. **100**, 517 - 524
- NICHOLLS, P. (1975):
The effect of sulphide on cytochrome a3 isotheric and allosteric shifts of the reduced alpha-peak.
Biochim. Biophys. Acta **396**, 24 - 35
- NIEMANN, C. (1954):
Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganisms.
Bacteriol. Rev. **18**, 147 - 167

NOBLE, R. C. (1981):

Digestion, absorption and transport of lipids in ruminant animals.

in: W. W. CHRISTIE (Hrsg.): Lipid metabolism in ruminant animals.

Verlag Pergamon Press, Kronberg / Taunus. S 57 - 93

NOBLE, R. C., W. STEELE u. J. H. MOORE (1969):

The incorporation of linoleic acid into the plasma lipids of sheep given intraruminal infusion of maize oil or free linoleic acid. Br. J. Nutr. **23**, 709 - 714

ODENKIRCHEN, S. (1992):

Auswirkungen von Kupfersulfat auf die Fermentation von Stärke und Harnstoff im Pansensaft (in vitro).

Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

OLKOWSKI, A. A., C. G. ROUSSEAUX u. D. A. CHRISTENSEN (1991):

Association of sulfate-water and blood thiamine concentration in beef cattle: Field studies.

Can. J. Anim. Sci. **71**, 825 - 832

O' KELLY, J. C., u. W. G. SPIERS (1991):

Influence of host diet on the concentrations of fatty acids in rumen bacteria from cattle.

Aus. J. Agric. Res. **42**, 243 - 252

O' LEARY, W. M. (1962):

The fatty acids of bacteria.

Bacteriol. Rev. **26**, 421 - 447

OLKOWSKI, A. A., B. LAARVELD, J. F. PATIENCE, S. I. FRANCIS u. D. A.

CHRISTENSEN (1993):

The effect of sulphate on thiamine-destroying activity in rumen content cultures in-vitro.

Int. J. Vitam. Nutr. Res. **63**, 38 - 44

ONODA, A., Y. KOBAYASHI u. S. HOSHINO (1996):

Effects of amino acids on the growth of an anaerobic rumen fungus *Neocallimastix* sp. N 13.

Reprod. Nutr. Dev. **36**, 311 - 320

ORPIN, C. G., u. Y. GREENWOOD (1986):

Nutritional and germination requirements of the rumen chytridiomycete *Neocallimastix patriciarum*.

Trans. Br. Mycol. Soc. **86**, 103 - 109

ORPIN, C. G., u. E. A. MUNN (1986):

Neocallimastix patriciarum: new member of the Neocallimasticaceae inhabiting the sheep rumen.

Trans. Br. Mycol. Soc. **86**, 103 - 109

- ORTH, A., W. KAUFMANN u. K. ROHR (1966):
Beitrag zur Frage des Einflusses höherer und verschiedenartiger Fettgaben auf die Leistung von Milchkühen und die Verdauungsvorgänge im Pansen.
Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkd. **21**, 83 - 96
- OSLAGE, H. J. (1984):
Einsatzmöglichkeiten von Fetten in der Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere.
Fette, Seifen, Anstrichm. **86**, 25 - 33
- OUTEN, G. E., D. E. BEEVER u. J. S. FENLON (1976):
Direct methylation of long chain fatty acids in feeds, digesta and faeces without prior extraction.
J. Sci. Food Agric. **27**, 419 - 425
- OUTEN, G. E., D. E. BEEVER u. D. F. OSBOURN (1974):
Digestion and absorption of lipids by sheep fed chopped ground dried grass.
J. Sci. Agric. **25**, 981 - 987
- OWENS, F. N., u. A. L. GOETSCH (1988):
Ruminal fermentation.
in: D. C. CHURCH (Hrsg.): The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition.
Verlag Reston, New Jersey. S. 145
- PALMQUIST, D. L., u. H. R. CONRAD (1978):
High fat rations for dairy cows. Effect on feed intake, milk and fat production and plasma metabolites.
J. Dairy Sci. **61**, 890 - 901
- PALMQUIST, D. L., u. H. R. CONRAD (1980):
High fat rations for dairy cows: tallow and hydrolyzed blended fat at two intakes.
J. Dairy Sci. **63**, 391 - 395
- PALMQUIST, D. L., u. T. C. JENKINS (1980):
Fat in lactation ration: Review.
J. Dairy Sci. **63**, 1 - 14
- PANOS, C., M. COHEN u. G. FAGAN (1966):
Lipid alterations after cell wall inhibition. Fatty acid content of *Streptococcus pyogenes* and derived l-form.
Biochemistry **5**, 1461 - 1465
- PATTON, S., u. A. A. BENSON (1966):
Phytol metabolism in the bovine.
Biochim. Biophys. Acta **125**, 22 - 32

PATTON, S., u. E. M. KESLER (1967):
Saturation in milk and meat fats.
Science **156**, 1365 - 1366

PATTON, S., R. D. McCARTHY u. L. C. GRIEL (1968):
Lipid Synthesis by rumen microorganisms. I. Stimulation by methionine in vitro.
J. Dairy Sci. **51**, 1310 - 1311

PATTON, S., R. D. McCARTHY u. L. C. GRIEL (1970):
Lipid synthesis by rumen microorganisms. II. Further characterization of the effects of
methionine.
J. Dairy Sci. **53**, 460 - 465

PAYNE, E. (1974):
Hydrogenation of unsaturated fatty acids by ruminal fluid in vitro.
Proc. NZ Soc. Anim. Prod. **34**, 65

PEARCE, P. D., u. T. BAUCHOP (1985):
Glycosidases of the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis* grown on cellulosic
substrates.
Appl. Environ. Microbiol. **49**, 1265 - 1269

PECK, H. D. (1961):
Enzymatic basis for assimilatory and dissimilatory sulfate reduction.
J. Bacteriol. **82**, 933 - 939

PETTIPHER, G. L., u. M. J. LATHAM (1979 a):
Characteristics of enzymes produced by *Ruminococcus flavefaciens* which degrade plant cell
walls.
J. Gen. Microbiol. **110**, 21 - 27

PETTIPHER, G. L., u. M. J. LATHAM (1979 b):
Production of enzymes degrading plant cell walls and fermentation of cellobiose by
Ruminococcus flavefaciens in batch and continuous culture.
J. Gen. Microbiol. **110**, 29 - 38

PLITT, U. (1995):
Einfluß von verpilztem Gras auf intraruminale Fermentation und Thiaminstoffwechsel des
Rindes (in-vitro).
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

POLAN, C. E., J. J. McNEILL u. S. B. TOVE (1964):
Biohydrogenation of unsaturated fatty acids by rumen bacteria.
J. Bacteriol. **88**, 1056 - 1064

POSTGATE, J. R. (1984):

Desulfovibrio.

in: N. R. KRIEG u. J. G. HOLT (Hrsg.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. Verlag Williams & Wilkins, Baltimore. S. 666 - 672

PRINS, R. A. (1977):

Biochemical activities of gut microorganisms.

in: R. T. J. CLARKE u. T. BAUCHOP (Hrsg.): *Microbial ecology of the gut*. Verlag Academic Press, London, New York. S. 73 - 183

PRINS, R. A., J. AKKERMANS-KRUYSWIJK, W. FRANKLIN-KLEIN, A. LANKHORST u. L. M. G. VAN GOLDE (1974):

Metabolism of serine and ethanolamine plasmalogens in *Megasphaera elsdenii*.

Biochim. Biophys. Acta **347**, 361 - 369

PRINS, R. A., C. J. VAN NEVEL u. D. I. DEMEYER (1972):

Pure culture studies of inhibitors for methanogenic bacteria.

Antonie Leeuwenhoek **38**, 281 - 287

PULS, R. (1994):

Sulphur.

in: R. PULS (Hrsg.): *Mineral levels in animal health. Diagnostic Data*, 2. Auflage. Sherpa International, Clearbrook, Canada. S. 264 - 266

RAAZ, A. (1993):

Aktivitätsänderungen (in vitro) von Pansensaft des Rindes in Abhängigkeit von Art und Dauer der extraruminalen Lagerung.

Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

RAISBECK, M. F. (1982):

Is polioencephalomalacia associated with high-sulfate diets?

JAVMA **180**, 1303 - 1305

RANFT, K. (1973):

Gaschromatographische Bestimmung kurzkettiger, flüchtiger Fettsäuren im Pansensaft.

Arch. Tierernähr. **23**, 343 - 352

RATHJENS, U. (1999):

Auswirkungen von Hefezulagen auf Fermentationsvorgänge im chronisch azidotischen Pansensaft (in vitro).

Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

REHM, H.-J., P. WALLNÖFFER u. H. KESKIN (1965):

Beitrag zur Kenntnis der antimikrobiellen Wirkung der schwefligen Säure. IV. Dissoziation und antimikrobielle Wirkung einiger Sulfonate.

Z. Lebensm.-Untersuch.-Forsch. **127**, 72 - 85

REHM, H.-J., u. H. WITTMANN (1963):

Beitrag zur Kenntnis der antimikrobiellen Wirkung der schwefligen Säure. II. Die Wirkung der dissoziierten und undissoziierten Säure auf verschiedene Mikroorganismen.

Z. Lebensm.-Untersuch. Forsch. **120**, 465 - 478

REISER, R. (1951):

Hydrogenation of polyunsaturated fatty acids by the ruminant.

Fed. Proc. FASEB **10**, 236

ROHR, K. (1977):

Die Verzehraleistung des Wiederkäuers in Abhängigkeit von verschiedenen Einflußfaktoren.

Übers. Tierernähr. **5**, 75 - 102 ROHR, K.,

ROHR, K., R. DAENICKE u. H. J. OSLAGE (1978):

Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Fettbeimischungen zum Futter auf Stoffwechsel und Leistungen von Milchkühen.

Landbauforschung Völkenrode **28**, 139 - 150

ROHR, K., P. LEBZIEN, H. SCHAFFT u. E. SCHULZ (1986):

Prediction of duodenal flows on non-ammonia nitrogen and amino acid nitrogen in dairy cows.

Livest. Prod. Sci. **14**, 29 - 40

ROHR, K., u. M. OKUBO (1968):

Über den Einfluß höherer Mengen an Kokos- und Palmkernfett auf die Leistung von Milchkühen.

Milchwissenschaft **23**, 608 - 614

ROSENFELD, I. S., u. S. B. TOVE (1971):

Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. IV. Source of hydrogen and stereospecificity of reduction.

J. Biol. Chem. **246**, 5025 - 5030

ROUGHAN, P. G., u. R. D. BATT (1969):

Glycerolipid composition of leaves.

Phytochemistry **8**, 363 - 369

ROUSSEAU, C. G., A. A. OLKOWSKI, a. CHAUVET, S. R. GOONERATNE u. D. A. CHRISTENSON (1991):

Ovine polioencephalomalacia associated with dietary sulphur intake.

J. Vet. Med. **A 38**, 229 - 239

ROY, A. B., u. P. A. TRUDINGER (1970):

The biochemistry of inorganic compounds of sulphur.

University Press, Cambridge

- RUSSEL, J. B., u. R. L. BALDWIN (1978):
Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanisms.
Appl. Environ. Microbiol. **36**, 319 - 329
- RUSSEL, J. B., u. R. L. BALDWIN (1979):
Comparison of substrate affinities among several rumen bacteria: a possible determinant of rumen bacterial competition.
Appl. Environ. Microbiol. **37**, 531 - 536
- RUSSEL, J. B., u. R. J. WALLACE (1988):
Energy yielding and consuming reactions.
in: P. N. HOBSON (Hrsg.): The rumen microbial ecosystem.
Elsevier Applied Science, London, New York. S. 185 - 216
- SACHAN, D. S., u. C. L. DAVIS (1969):
Hydrogenation of linoleic acid by a rumen spirochete.
J. Bacteriol. **98**, 300 - 301
- SAMSON, R. A., E. S. HOEKSTRA u. C. A. N. VAN OORSCHOT (1981):
Introduction to food borne fungi.
Institute of the Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences
- SASTURAIN, J., u. G. SCHWEDT (1988):
HPLC-Analytik von Thiamin mit Vor- und Nachsäulenderivatisierung sowie direkter UV-Detektion.
in: Kongressband der 3. Würzburger Chromatographie-Gespräche, S. 53 – 58
- SCHEIFINGER, C. C., B. LINEHAN u. M. J. WOLIN (1975):
H₂ production by Selenomonas ruminantium in the presence and absence of methanogenic bacteria.
Appl. Microbiol. **26**, 789 - 795
- SCHEUNERT, A., u. A. TRAUTMANN (1987):
Lehrbuch der Veterinär-Physiologie.
Verlag Parey, Berlin, Hamburg, S. 84 - 119
- SCHIRMER, M. (1990):
Untersuchungen (RUSITEC-System) zum Einfluß von Baquiloprim (R) auf die Pansenfermentation beim Rind.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- SCHULMAN, M. D., u. D. VALENTINO (1976):
Factors influencing rumen fermentation: Effect of hydrogen on formation of propionate.
J. Dairy Sci. **59** (8), 1445 - 1451

- SEDDEK, A. S., A. A. AMER, T. A. IBRAHIM u. A. SHEHATA (1991):
Industrial sulphrosis in goats.
Assiut Vet. Med. J. **24**, 211 - 216
- SELNER, D. R., u. L. H. SCHULTZ (1980):
Effect of feeding oleic acid or hydrogenated vegetable oils to lactating cows.
J. Dairy Sci. **63**, 1235 - 1241
- SHIMASAKI, H., F. C. PHILLIPS u. O. S. PRIVETT (1977):
Direct trans-esterification of lipids in mammalian tissue for fatty acid analysis via
dehydration with 2,2-Dimethoxypropane.
J. Lipid Res. **18**, 540 - 543
- SHORLAND, F. B. (1961):
Acetone-soluble lipids of grasses and other forage plants. II. General observations on the
properties of the lipids with special reference to the yield of fatty acids.
J. Sci. Food Agric. **12**, 39 - 42
- SHORLAND, F. B., R. O. WEENINK u. A. T. JOHNS (1955):
Effect of the rumen on dietary fat.
Nature (London) **175**, 1129 - 1130
- SHORLAND, F. B., R. O. WEENINK, A. T. JOHNS u. I. R. C. McDONALD (1957):
The effect of sheep rumen contents on unsaturated fatty acids.
Biochem. J. **67**, 328 - 333
- SILBER, P., R. P. BORIE, E. J. MIKOWSKI u. H. GOLDFINE (1981):
Phospholipid biosynthesis in some anaerobic bacteria.
J. Bacteriol. **147**, 57 - 61
- SINESHCHEKOV, A. D. (1968):
The biology of nutrition of farm animals.
in: J. H. B. ROY (Hrsg.): Biological bases of rational feed utilization. Vol. 2 (Part IV. u. V.).
Verlag: National Lending Library for Science and Technology, Boston, Spa, Yorkshire,
England.
- SKLAN, D., R. VOLCANI u. P. BUDOWSKI (1971):
Formation of octadecadienoic acid by rumen liquor of calves, cows and sheep in vitro.
J. Dairy Sci. **54**, 515 - 519
- SKLAN, D., P. BUDOWSKI u. R. VOLCANI (1972):
Synthesis in vitro of linoleic acid by rumen liquor of calves.
Br. J. Nutr. **28**, 239 - 248
- SMITH, R. H., u. A. B. McALLAN (1974):
Some factors influencing the chemical composition of mixed rumen bacteria.
Br. J. Nutr. **31**, 27 - 34

SPEARS, J. W., L. P. BUSH u. D. G. ELY (1977):

Influence of nitrate and molybdenum on sulfur utilization by rumen microorganisms.

J. Dairy Sci. **60**, 1889 - 1893

STÅHLBERG, J., G. JOHANSSON u. G. PETTERSSON (1988):

A binding-site-deficient, catalytically active, core protein of endoglucanase III from the culture filtrate of *Trichoderma reesei*.

Eur. J. Biochem. **173**, 179 - 183

STEELE, W. (1985):

High-oil, high-protein diets and milk secretion by cows.

J. Dairy Sci. **68**, 1409 - 1415

STEINBERG, W., u. W. KAUFMANN (1977):

Untersuchungen zur bakteriellen Thiaminsynthese in den Vormägen von Milchkühen.

Z. Tierphysiol. **39**, 289 - 301

STEINBERG, W., W. KAUFMANN u. H. HAGEMEISTER (1977):

Messungen zur Bestimmung der Resorption von Thiamin in den Vormägen und Darm von Milchkühen.

Z. Tierphysiol. **39**, 282 - 288

STEWART, C. S., u. M. P. BRYANT (1988):

The rumen bacteria.

in: P. N. HOBSON (Hrsg.): The rumen microbial ecosystem.

Elsevier Applied Science, London, New York. S. 21 - 75

STÖBER, M. (1978):

Stoffwechsel- und Mangelkrankheiten. Vergiftungen. - Schwefel.

In: ROSENBERGER, G., G. DIRKSEN, H. D. GRÜNDER u. M. STÖBER (Hrsg.):
Krankheiten des Rindes, 2. Auflage.

Verlag Parey, Berlin, Hamburg. S. 1050 - 1174

STRYER, L. (1996):

Biochemie, 4. Auflage.

Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York

STUMM, C. K., H. J. GIJZEN u. G. D. VOGELS (1982):

Association of methanogenic bacteria with ovine rumen ciliates.

Br. J. Nutr. **47**, 95 - 99

SUKHIJA, P. S., u. D. L. PALMQUIST (1988):

Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces.

J. Agric. Food Chem. **36**, 1202 - 1206

- SUTTON, J. D., R. KNIGHT, A. B. McALLEN u. R. H. SMITH (1983):
Digestion and synthesis in the rumen of sheep given diets supplemented with free and protected oils.
Br. J. Nutr. **49**, 419 - 432
- SUTTON, J. D., J. E. STORRY u. J. W. G. NICHOLSON (1970):
The digestion of fatty acids in the stomach and intestines of sheep given widely different rations.
J. Dairy Res. **37**, 97 - 105
- TÄUFEL, A., W. TERNES, L. TUNGER u. M. ZOBEL (1998):
Lebensmittel-Lexikon, 3. Auflage.
Behr's Verlag, Hamburg.
- TAMMINGA, S., A. STEG-BEERS, W. VAN HOVEN u. H. T. BADINGS (1976):
Produktion of milk with a high content of polyunsaturated fatty acids. 1. Experiments in relation to the efficiency of production.
Neth. Milk Dairy J. **30**, 106 - 117
- TAMMINGA, S., A. M. VAN VUUREN, C. J. VAN DER KOELEN, H. M. KHATAB u. L. G. M. VAN GILS (1983):
Further studies on the effect of fat supplementation of concentrates fed to lactating cows. 3. Effect on rumen fermentation and site of digestion of dietary components.
Neth. J. Agric. Sci. **31**, 249 - 268
- TAZUYA, K., M. MORISAKI, K. YAMADA, K. KUMAOKA u. K. SAIKI (1987):
Biosynthesis of thiamin. Different biosynthetic routes of the thiazole moiety of thiamin in aerobic organisms and anaerobic organisms.
Biochem. Int. **14**, 153 - 160
- TELLER, E., R. DE BAERE u. A. LOUSSE (1977):
Einfluß von Natriumdisulfat auf die Futtermittelverwertung beim Wiederkäuer.
Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelkd. **39**, 302 - 312
- THIELE, O. W. (1979):
Lipide, Isoprenoide mit Steroiden.
Thieme Verlag, Stuttgart.
- THOMAS, P. J. (1972):
Identification of some enteric bacteria which convert oleic acid to hydroxystearic acid in vitro.
Gastroenterology **62**, 430 - 435
- THORLEY, C. M., M. E. SHARPE u. M. P. BRYANT (1968):
Modification of the rumen bacterial flora by feeding cattle ground and pelleted roughage as determined with culture media with and without rumen fluid.
J. Dairy Sci. **51**, 1811 - 1816

TIADEN, C. (2000):

Einfluß von *Epicoccum nigrum* auf die Fermentationsvorgänge im Pansensaft des Rindes unter besonderer Berücksichtigung des Thiaminstoffwechsels (in vitro).

Hannover, Tierärztl. Hochsch., (Diss. in Vorbereitung)

TOVE, S. B., u. G. MATRONE (1962):

Effect of purified diets on the fatty acid composition of sheep tallow.

J. Nutr. **76**, 271 - 277

TWEEDIE, J. W., M. G. RUMSBY u. J. C. HAWKE (1966):

Studies on rumen metabolism. V. Formation of branched long chain fatty acids in cultures of Rumen bacteria.

J. Sci. Food Agric. **17**, 241 – 244

UPTON, P. K., J. L. L'ESTRANGE u. D. M. McALEESE (1970):

Studies on high intakes of various sulphate salts and sulphuric acid in sheep.

Ir. J. agric. Res. **9**, 151 – 159

VAN DER HONING, Y. (1979):

The utilization by high-yielding cows of energy from animal tallow or soya bean oil added to a diet rich in concentrates.

in: L. E. MOUNT (Hrsg.): Energy metabolism.

Verlag Butterworths, London, Boston. S. 64 – 67

VAN DER HONING, Y., u. S. TAMMINGA (1986):

Effect of fat on rumen fermentation and gastrointestinal absorption.

in: A. NEIMANN-SØRENSEN (Hrsg.): New developments and future perspectives in research on rumen function. A seminar in the EG programme of coordination of agricultural research.

Rep. Eur. 10054 EN, publ. Commission of the European Communities, Forsogsanlaeg Foulum, Denmark. S. 55 - 68

VAN GOLDE, L. M. G., R. A. PRINS, W. FRANKLIN-KLEIN u. J. AKKERMANS-KRUYSWIJK (1973):

Phosphatidylserine and its plasmalogen analogue as major lipid constituents in *Megasphaera elsdenii*. Biochim. Biophys. Acta **236**, 314 – 323

VAN HOVEN, W., u. R. A. PRINS (1977):

Carbohydrate fermentation by the rumen ciliate *Dasytricha ruminantium*.

Protistologica **13**, 599 – 606

VAN NEVEL, C. J., u. D. I. DEMEYER (1981):

Effect of methane inhibitors on the metabolism of rumen microbes in vitro.

Arch. Tierernähr. **31**, 141 – 151

- VAREL, V. H., u. B. A. DEHORITY (1989):
Cellulolytic bacteria and protozoa from bison, cattle-bison hybrids, and cattle fed three alfalfa-corn diets.
Appl. Environ. Microbiol. **55**, 148 – 153
- VERHULST, A., G. SEMJEN u. U. MEERTS (1985):
Biohydrogenation of linoleic acid by *Clostridium sporogenes*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium sordellii* and *Bacteroides sp.*.
FEMS Microbiol. Ecol. **31** 255 – 259
- VIVIANI, R. (1970):
Metabolism of long-chain fatty acids in the rumen.
Adv. Lipid Res. **8**, 267 – 346
- VIVIANI, R., u. A. R. BORGATTI (1967):
Microorganismi del rumine e bioidrogenazione degli acidi grassi poliinsaturi.
Atti Soc. Ital. Sci. Vet. **21**, 254 – 259
- VIVIANI, R., A. R. BORGATTI, P. CORTESI u. G. CRISSETIG (1968):
Consituenti lipidici dei batteri e dei protozoi del rumine di ovino.
Nuova Vet. **44**, 279 – 283
- VIVIANI, R., A. R. BORGATTI u. G. CRISSETIG (1967 a):
Donatori D`idrogeno per la bioidrogenazione degli acidi grassi insaturi nel rumine.
Nuova Vet. **43**, 598 - 604
- VIVIANI, R., A. R. BORGATTI u. G. GENTILE (1967 b):
Effect of antibiotics on long chain fatty acids and DNA in cattle rumen fluid.
Zentralbl. Veterinärmed. **A 14**, 189 – 197
- VIVIANI, R., A. R. BORGATTI, P. G. MONETTI u. A. MORDENTI (1967 c):
Studies on long chain fatty acids composition in rumen fluid during the development of ruminal function in the calf.
Zentralbl. Veterinärmed. **A 14**, 833 – 844
- VIVIANI, R., M. G. GANDOLFI u. R. DI MICHELE (1966):
Non-esterified, esterified and bound long chain fatty acids in rumen liquor of the sheep.
Zentralbl. Veterinärmed. **A 13**, 385 – 391
- VIVIANI, R., u. G. LENAZ (1963):
Sintesi di acidi grassi a lunga catena nel rumine di ovino.
Boll. Soc. ital. Biol. sper. **44**, 2185 – 2189
- VOGELS, G. D., W. F. HOPPE u. C. K. STUMM (1980):
Association of methanogenic bacteria with rumen ciliates.
Appl. Environ. Microbiol. **40**, 608 - 612

- WADSWORTH, J. C. (1968):
Effect of feeding safflower oil on the composition of absorbed fatty acid in grazing cows.
J. Dairy Sci. **51**, 1382 - 1386
- WALLNÖFFER, P., u. J.-J. REHM (1965):
Beitrag zur Kenntnis der antimikrobiellen Wirkung der schwefligen Säure. V. Die Wirkung der schwefligen Säure auf den Stoffwechsel atmender und gärender Hefe- und Colizellen.
Z. Lebensm.-Unters.-Forsch. **127**, 195 - 206
- WARD, P. F. V., T. W. SCOTT u. R. M. C. DAWSON (1964):
The hydrogenation of unsaturated fatty acids in the ovine digestive tract.
Biochem. J. **92**, 60 - 68
- WATANABE, T., S. OKUDA u. H. TAKAHASHI (1982):
Physiological importance of even-numbered fatty acids and aldehydes in plasmalogen phospholipids of *Selenomonas ruminantium*.
J. Gen. Appl. Microbiol. **28**, 22 - 33
- WATANABE, T., S. OKUDA u. H. TAKAHASHI (1984):
Turn-over of phospholipids in *Selenomonas ruminantium*.
J. Biochem. **95**, 521 - 527
- WEENINK, R. O., u. F. B. SHORLAND (1964):
The isolation of trans-3-hexadecenoic acid from the lipids of red-clover (*Trifolium pratense*) leaves.
Biochim. Biophys. Acta **84**, 613 - 614
- WEGNER, G. H. (1962):
The metabolic fate of fatty acids required by certain rumen bacteria.
University of Wisconsin, Madison. Ph. D.
- WEGNER, G. H., u. E. M. FOSTER (1963):
Incorporation of isobutyrate and valerate into cellular plasmalogen by *Bacteroides succinogenes*.
J. Bacteriol. **85**, 53 - 61
- WEIGAND, E. (1974):
Zur biologischen Wirkung von Sulfit im Futter beim Wiederkäuer.
Übers. Tierernähr. **2**, 29 - 58
- WENDELKEN, G. (2000):
Untersuchungen des Thiamingehalts im Pansensaft bei niedrigen pH-Werten (in vitro) und wechselnder Vitaminzufuhr.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss. (in Vorbereitung)

WESTON, R. H., J. R. LINDSAY, D. B. PURSER, G. L. R. GORDON u. P. DAVIS (1988):
Feed intake and digestion responses in sheep to the addition of inorganic sulfur to a herbage diet of low sulfur content.

Aust. J. Agric. Res. **39**, 1107

WHITE, R. W., P. KEMP u. R. M. C. DAWSON (1970):

Isolation of a rumen bacterium that hydrogenates oleic acid as well as linoleic acid and linolenic acid.

Biochem. J. **116**, 767 - 768

WHITELAW, F. G., J. M. EADIE, L. A. BRUCE u. W. J. SHAND (1984):

Methane formation in faunated and ciliate-free cattle and its relationship with rumen volatile fatty acid proportions.

Br. J. Nutr. **52**, 261 - 275

WHITMAN, W. B., T. L. BOWEN u. D. R. BOONE (1992):

The methanogenic bacteria.

in: A. BALOWS, H. G. TRÜPER, M. DWORKIN, W. HARDER u. K. H. SCHLEIFER (Hrsg.): The prokaryotes. A handbook of the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications, 2. Aufl., Vol. 1.

Springer-Verlag, New York. S. 719 - 767

WIDDEL, F. (1992):

The genus *Desulfotomaculum*.

in: A. BALOWS, H. G. TRÜPER, M. DWORKIN, W. HARDER u. K. H. SCHLEIFER (Hrsg.): The prokaryotes. A handbook of the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications, 2. Aufl., Vol. 2.

Springer-Verlag, New York. S. 1792 - 1799

WIDDEL, F., u. F. BAK (1992):

Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria.

in: A. BALOWS, H. G. TRÜPER, M. DWORKIN, W. HARDER u. K. H. SCHLEIFER (Hrsg.): The prokaryotes. A handbook of the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications, 2. Aufl., Vol. 4.

Springer-Verlag, New York. S. 3352 - 3378

WIDDEL, F., u. N. PFENNIG (1984):

Genus *Desulfovibrio*, Kluyver u. von Niel 1936, 397^{AL}.

in: N. R. KRIEG u. J. G. HOLT (Hrsg.): Bergey's Manual® of systematic bacteriology.

Vol. 1, Verlag Williams u. Wilkins Co., Baltimore, London. S. 666

WIDDEL, F., u. T. A. HANSEN (1992):

The dissimilatory sulfate- and sulfur-reducing bacteria.

in: BALOW, A., H. G. TRÜPER, M. DWORKIN, W. HARDER u. K. H. SCHLEIFER (Hrsg.): The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications, Vol. 1, 2. Auflage.

Springer Verlag, New York. S. 583 - 624

- WILDE, P. F., u. R. M. C. DAWSON (1966):
The biohydrogenation of α -linolenic acid and oleic acid by rumen microorganisms.
Biochem. J. **98**, S. 469 - 475
- WILKINSON, R. E., u. W. S. HARDCASTLE (1973):
Commercial herbicide influence on corn oil composition.
Weed Sci. **21**, 433.
(zit. nach: D. L. PALMQUIST u. T. C. JENKINS (1980): Fat in lactation rations: Review.
J. Dairy Sci. **63**, 1 - 14)
- WILLIAMS, P. P. u. W. E. DINUSSON (1973):
Amino acid and fatty acid composition of bovine ruminal bacteria and protozoa.
J. Anim. Sci. **36**, 151 - 155
- WILLIAMS, P. P., J. GUTIERREZ u. R. E. DAVIS (1963):
Lipid metabolism of rumen ciliates and bacteria. II. Uptake of fatty acids and lipid analysis of
Isotricha intestinalis and rumen bacteria with further information on *Entodinium simplex*.
Appl. Microbiol. **11**, 260 - 264
- WITTE, B. (1998):
Untersuchungen zum Gehalt von Thiamin und seinen Derivaten in Vollblut und Blutplasma
bei Rindern sowie deren Verhältnis zum Transketolasetest.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.
- WOLIN, M. J., u. T. L. MILLER (1983):
Interactions of microbial populations in cellulose fermentation.
Fed. Proc. **42**, 109 - 113
- WOLIN, M. J., u. T. L. MILLER (1988):
Microbe – microbe interactions.
in: P. N. HOBSON (Hrsg.): The rumen microbial ecosystem.
Elsevier Applied Science, London, New York. S. 217 - 249
- WOOD, R. D., M. C. BELL, R. B. GRAINGER u. R. A. TEEKEL (1963):
Metabolism of labelled linoleic-1-¹⁴C acid in the sheep rumen.
J. Nutr. **79**, 62 - 68
- WOOD, T. M., C. A. WILSON u. C. S. STEWART (1982):
Preparation of the cellulase from the cellulolytic anaerobic rumen bacterium *Ruminococcus
albus* and its release from the bacterial cell wall.
Biochem. J. **205**, 129 - 137
- WOOD, T. M., C. A. WILSON, S. I. McCRAE u. K. N. JOBLIN (1986):
A highly active extracellular cellulase from the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix
frontalis*.
FEMS Microbiol. Lett. **34**, 37 - 40

- WRIGHT, D. E. (1959):
Hydrogenation of lipids by rumen protozoa.
Nature (London) **184**, 875 - 876
- WRIGHT, D. E. (1960):
Hydrogenation of chloroplast lipids by rumen bacteria.
Nature (London) **185**, 546 - 547
- WRIGHT, D. E. (1961):
Bloat in cattle. XX. Lipase activity of rumen microorganisms.
N. Z. J. Agric. Res. **4**, 216 - 223
- WRIGHT, D. E. (1969):
Fermentation of glycerol by rumen microorganisms.
N. Z. J. Agric. Res. **12**, 281 - 286
- WU, Z., u. D. L. PALMQUIST (1991):
Synthesis and Biohydrogenation of fatty acids by ruminal microorganisms in vitro.
J. Dairy Sci. **74**, 3035 - 3046
- WU, Z., O. A. OHAJURUKA u. D. L. PALMQUIST (1991):
Ruminal synthesis, biohydrogenation and digestibility of fatty acids by dairy cows.
J. Dairy Sci. **74**, 3025 - 3034
- YAMAZAKI, S., u. S. B. TOVE (1979):
Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. 8. Presence of dithionite and an endogenous electron donor in *Butyrivibrio fibrisolvens*.
J. Biol. Chem. **254**, 3812 - 3817
- YOKOYAMA, M. T., u. A. L. JOHNSON (1988):
Microbiology of the rumen and intestine.
in: D. C. CHURCH (Hrsg.): The ruminant animal. Digestive physiology and nutrition.
Verlag Reston, New Jersey, S. 125 - 144
- YOKOYAMA, M. T., u. C. L. DAVIS (1971):
Hydrogenation of unsaturated fatty acids by *Treponema (Borrelia)* strain B₂₅, a rumen spirochete.
J. Bacteriol. **107**, 519 - 527
- ZIPORI, G. (1989):
Einfluß der oralen Applikation von Baquiloprim-Sulfadimidin® auf die in-vitro-Fermentation im Pansensaft vom Rind.
Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

9. Anhang

9.1 Kalibrationskurve der Proteinbestimmung nach BRADFORD

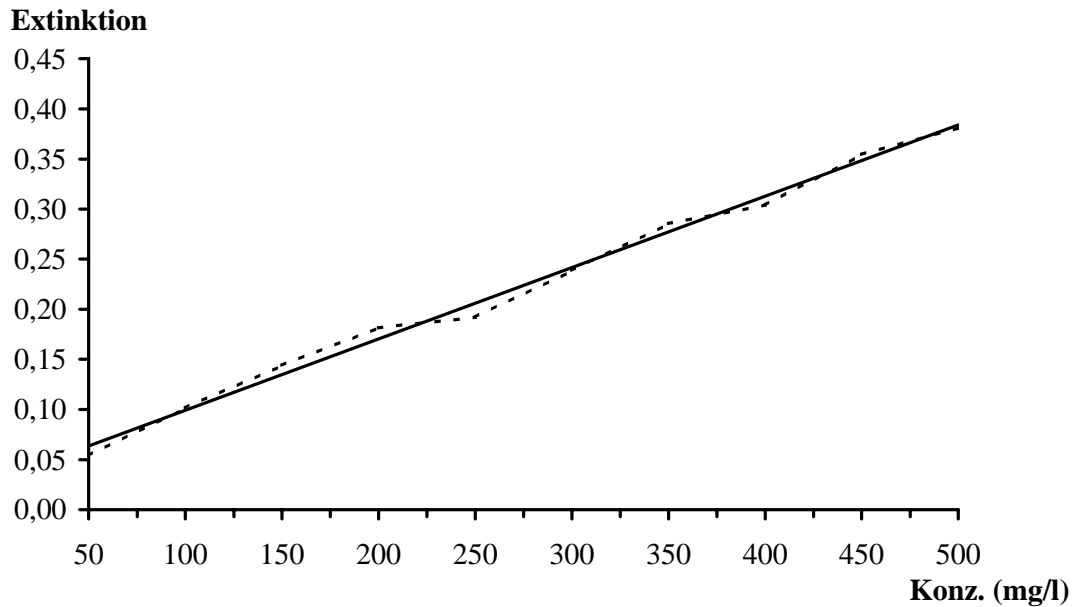


Abb. 9.1: Kalibrationskurve Proteine; ---- Kalibrationskurve, — Trendlinie

Die Geradengleichung zur Berechnung der Konzentration aus der Extinktion wurde mit der Zwei-Punkte-Formel ermittelt:

$$x = (y - 0,0279)/0,000722$$

y = Extinktion bei 600 nm, x = mg Protein pro Liter Fermenterflüssigkeit

9.2 Kalibrationskurve der Cellulasebestimmung

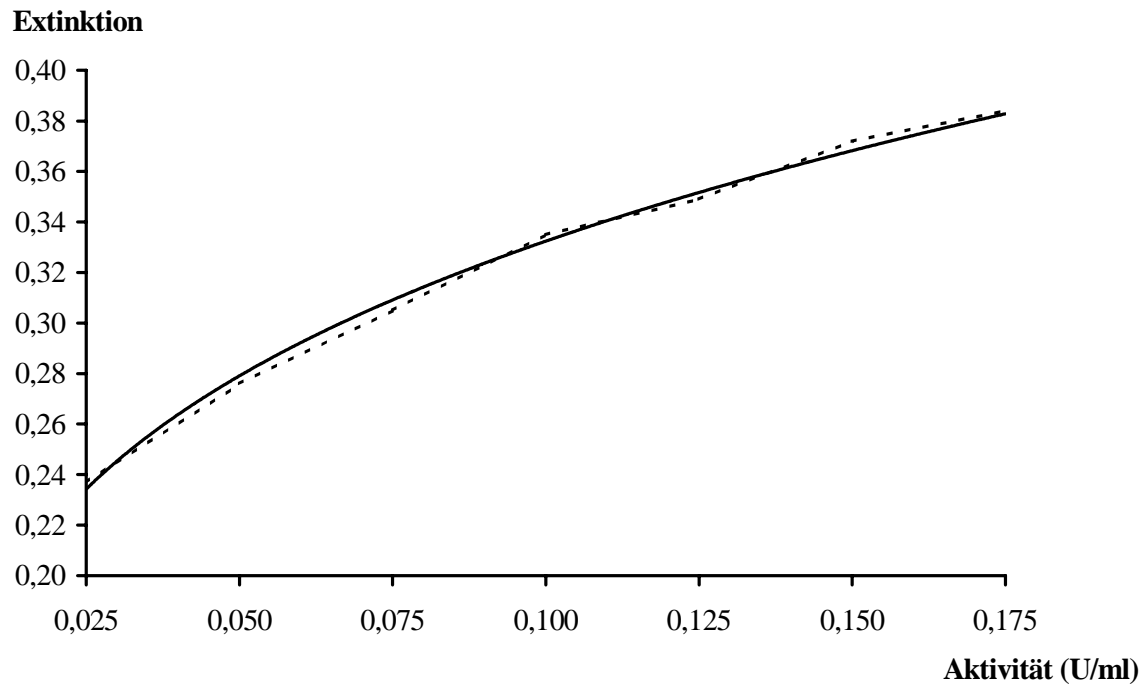


Abb. 9.3: Kalibrationskurve Cellulase; ---- Kalibrationskurve, — empirische Formel
Empirisch wurde die folgende Formel ermittelt:

$$x = 7,72 * y^{3,94}$$

x = Cellulaseaktivität (Units pro ml aufbereitete Probe), y = Extinktion bei 600 nm

9.3 Statistische Daten

In den folgenden Tabellen sind die Meßwerte der einzelnen Parameter an den jeweiligen Versuchstagen, sowie deren Mittelwerte, Standardabweichungen und Signifikanzen der Differenzen dargestellt.

Folgende Abkürzungen wurden benutzt:

d	Tag
n	Anzahl der einberechneten Versuchsläufe
x	Mittelwert
s	Standardabweichung
KF	Kontrollfermenter
FSA	Versuchsfermenter
p-KSA	Differenzsignifikanz zwischen KF und FSA

Trotz der fünf durchgeführten Läufe im Rahmen des Hauptversuchs ist n in einigen Fällen < 5. Das hat folgende Ursachen:

1. am 25. Tag ist n = 4, da der 3. Lauf nur aus 24 Tagen bestand
2. an den Tagen 4, 16 und 17 des 2. Laufs fehlten infolge fehlerhafter Bedienung des RUSITECS die Gasvolumina und somit auch deren Gaszusammensetzungen
3. der Gaschromatograph GC-8A war am Tag 14 des 6. Laufs defekt, so daß der Sauerstoffgehalt nicht ermittelt werden konnte
4. die Wasserstoffmenge war z. T. unterhalb des Meßbereiches
5. am 3. Tag von Lauf 2 konnte die TMP-Konzentration im bakterienfreien Überstand nicht exakt ermittelt werden, da die HPLC-Anlage nicht einwandfrei arbeitete
6. am 2. Tag von Lauf 3 konnte die Thiaminkonzentration in der Bakterienfraktion nicht exakt bestimmt werden*
7. die Essigsäurekonzentration in der Fermenterflüssigkeit konnte am 16. Tag von Lauf 2 nicht genau bestimmt werden, da der GC-9 nicht störungsfrei arbeitete*
8. die Hexansäurekonzentration in der Fermenterflüssigkeit war am 1. Tag von Lauf 2, 3 und 5 sowie am Tag 2 von Lauf 2 unterhalb des Meßbereichs*

* (weitere Messungen waren nicht möglich, da das Probenmaterial bei Messungen in den defekten Anlagen aufgebraucht wurde)

Tab. 9. 1: pH-Werte in KF- und FSA-Fermentern während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	6,70	0,10	6,68	0,08	0,538
3	5	6,73	0,24	6,74	0,20	0,772
4	5	6,69	0,19	6,71	0,15	0,486
5	5	6,75	0,13	6,74	0,10	0,380
6	5	6,76	0,14	6,74	0,12	0,382
7	5	6,75	0,15	6,72	0,11	0,249
8	5	6,73	0,13	6,77	0,11	0,212
9	5	6,77	0,15	6,73	0,09	0,157
10	5	6,75	0,15	6,74	0,15	0,245
11	5	6,77	0,14	6,76	0,07	0,838
12	5	6,76	0,15	6,78	0,12	0,394
13	5	6,73	0,14	6,79	0,11	0,079
14	5	6,71	0,15	6,80	0,10	0,031
15	5	6,71	0,10	6,80	0,08	0,004
16	5	6,79	0,12	6,82	0,08	0,285
17	5	6,75	0,11	6,83	0,08	0,005
18	5	6,74	0,13	6,81	0,09	0,036
19	5	6,73	0,13	6,81	0,11	0,047
20	5	6,72	0,08	6,79	0,08	0,042
21	5	6,74	0,13	6,77	0,04	0,503
22	5	6,74	0,14	6,71	0,09	0,612
23	5	6,76	0,10	6,73	0,03	0,459
24	5	6,75	0,13	6,70	0,06	0,308
25	4	6,70	0,11	6,66	0,06	0,441

Tab. 9. 2: Ammoniakkonzentrationen (mmol/l) in KF- und FSA-Fermentern während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	9,69	3,19	9,97	3,13	0,781
3	5	14,7	5,52	15,4	5,19	0,145
4	5	17,1	4,83	17,6	3,98	0,486
5	5	16,9	8,13	17,9	7,82	0,249
6	5	19,0	5,15	19,6	3,93	0,668
7	5	18,3	4,52	19,5	3,34	0,235
8	5	18,1	1,25	18,9	1,03	0,099
9	5	19,3	3,38	17,5	1,28	0,185
10	5	17,1	2,22	16,6	2,86	0,561
11	5	18,1	3,42	18,6	3,11	0,582
12	5	18,7	4,58	18,7	4,25	1,00
13	5	17,9	3,77	18,6	3,94	0,351
14	5	17,4	4,83	17,2	3,17	0,840
15	5	16,0	4,89	16,8	5,08	0,650
16	5	16,6	5,78	16,3	5,84	0,646
17	5	16,2	4,41	17,3	4,01	0,097
18	5	16,8	4,18	15,8	3,58	0,154
19	5	16,4	3,60	16,3	2,84	0,906
20	5	16,0	3,16	16,6	2,82	0,426
21	5	18,8	5,07	19,7	4,93	0,088
22	5	16,5	4,20	16,8	4,84	0,621
23	5	18,7	5,09	19,1	5,88	0,596
24	5	16,6	3,63	17,3	5,78	0,631
25	4	14,9	3,25	15,8	4,56	0,340

Tab. 9. 3: Gasproduktion (ml) der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	2369	128	2399	255	0,784
3	5	2572	238	2380	264	0,092
4	4	2515	133	2490	275	0,883
5	5	2534	83,5	2538	212	0,975
6	5	2633	112	2546	175	0,431
7	5	2567	102	2612	157	0,431
8	5	2688	148	2578	120	0,223
9	5	2535	191	2656	132	0,148
10	5	2638	122	2559	151	0,197
11	5	2568	135	2513	106	0,355
12	5	2570	290	2548	236	0,739
13	5	2534	153	2580	211	0,428
14	5	2643	95,2	2618	138	0,649
15	5	2701	89,0	2579	150	0,241
16	4	2555	77,7	2555	72,5	1,00
17	4	2610	32,9	2514	157	0,225
18	5	2605	105	2601	89,8	0,952
19	5	2569	134	2545	82,5	0,733
20	5	2519	80,0	2500	91,0	0,407
21	5	2574	264	2535	93,0	0,793
22	5	2556	190	2580	48,9	0,829
23	5	2632	77,5	2566	94,8	0,091
24	5	2538	176	2577	129	0,449
25	4	2638	116	2595	155	0,474

Tab. 9. 4: Methankonzentrationen (Vol%) im Pansengas der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	8,90	0,43	8,66	0,53	0,264
3	5	8,00	1,18	7,48	1,09	0,155
4	4	7,80	0,85	8,04	0,85	0,079
5	5	8,34	1,14	7,96	0,84	0,313
6	5	7,77	0,68	7,69	0,58	0,733
7	5	8,02	1,02	7,66	0,41	0,303
8	5	8,12	0,80	7,64	0,52	0,067
9	5	7,90	1,11	7,67	0,39	0,578
10	5	8,00	0,67	7,61	0,56	0,025
11	5	8,11	0,85	7,22	0,34	0,045
12	5	7,86	1,06	7,08	0,96	0,028
13	5	7,99	0,84	6,13	0,41	0,001
14	5	8,14	0,79	6,04	0,72	0,002
15	5	8,32	0,61	5,94	0,57	0,000
16	4	8,08	0,59	5,71	0,33	0,001
17	4	8,26	0,60	5,52	0,96	0,001
18	5	7,71	1,12	5,55	0,53	0,003
19	5	8,06	0,80	5,51	0,50	0,000
20	5	7,89	1,01	5,64	0,43	0,003
21	5	8,23	1,07	6,47	0,26	0,014
22	5	7,72	0,70	6,87	0,63	0,169
23	5	8,00	0,71	6,95	0,55	0,001
24	5	7,78	0,99	7,24	0,34	0,233
25	4	8,30	0,91	6,79	0,99	0,040

Tab. 9. 5: Sauerstoffkonzentrationen (Vol%) im Pansengas der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	0,70	0,46	1,29	0,85	0,272
3	5	0,88	0,62	0,63	0,32	0,496
4	4	0,88	0,55	0,72	0,47	0,380
5	5	0,57	0,38	0,44	0,21	0,399
6	5	1,37	0,82	0,74	0,56	0,075
7	5	0,60	0,37	0,93	0,76	0,169
8	5	0,77	0,56	0,45	0,23	0,357
9	5	0,84	0,94	0,59	0,11	0,584
10	5	0,77	0,43	0,48	0,34	0,111
11	5	0,57	0,33	0,53	0,34	0,878
12	5	0,75	0,81	0,51	0,48	0,245
13	5	0,39	0,28	0,86	0,76	0,166
14	4	0,54	0,36	0,77	0,48	0,269
15	5	0,37	0,08	0,35	0,07	0,783
16	4	0,94	0,65	0,58	0,35	0,413
17	4	0,80	0,53	1,26	1,55	0,521
18	5	0,45	0,16	0,57	0,31	0,482
19	5	0,50	0,39	0,65	0,40	0,572
20	5	0,39	0,23	0,59	0,51	0,243
21	5	0,51	0,34	0,37	0,13	0,406
22	5	1,08	0,68	0,71	0,53	0,177
23	5	0,66	0,55	0,37	0,27	0,398
24	3	0,52	0,22	0,36	0,15	0,233
25	4	0,54	0,46	0,72	0,71	0,355

Tab. 9. 6: Kohlendioxidkonzentrationen (Vol%) im Pansengas der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	87,4	2,45	85,0	3,80	0,291
3	5	87,7	3,08	89,3	2,18	0,338
4	4	87,8	2,38	88,2	2,52	0,554
5	5	88,6	0,90	89,6	1,06	0,146
6	5	87,0	3,88	88,6	2,89	0,033
7	5	88,9	1,32	89,3	0,75	0,474
8	5	88,0	2,73	89,8	1,12	0,266
9	5	87,9	3,32	89,2	0,47	0,474
10	5	88,0	1,57	89,7	1,09	0,063
11	5	88,7	1,51	89,8	1,17	0,328
12	5	88,3	3,42	90,1	2,14	0,074
13	5	89,7	1,45	89,5	3,62	0,872
14	5	89,1	2,08	90,0	1,83	0,464
15	5	89,6	0,77	92,0	0,52	0,002
16	4	88,1	0,98	91,1	1,39	0,029
17	4	87,7	2,27	88,3	6,22	0,842
18	5	89,7	1,79	91,3	1,64	0,173
19	5	89,1	1,86	90,9	1,47	0,227
20	5	89,9	1,48	91,2	2,22	0,036
21	5	89,1	1,91	91,3	0,74	0,034
22	5	86,9	3,32	89,7	2,48	0,053
23	5	89,4	3,72	90,9	0,73	0,449
24	5	90,1	1,56	90,8	0,77	0,207
25	4	88,8	1,91	89,4	3,16	0,423

Tab. 9. 7: Stickstoffkonzentrationen (Vol%) im Pansengas der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	2,99	1,59	5,05	2,84	0,249
3	5	3,46	2,13	2,64	0,95	0,496
4	4	3,52	1,85	3,02	1,47	0,419
5	5	2,49	1,27	2,07	0,81	0,497
6	5	4,14	3,00	2,96	1,87	0,095
7	5	2,53	1,31	2,44	0,64	0,887
8	5	3,13	1,86	2,09	0,86	0,383
9	5	2,05	0,62	2,56	0,22	0,154
10	5	3,19	1,56	2,22	1,13	0,090
11	5	2,49	1,45	2,42	1,09	0,930
12	5	3,05	2,73	2,35	1,62	0,317
13	5	1,89	0,90	3,59	2,61	0,142
14	5	2,24	1,31	3,20	1,64	0,220
15	5	1,77	0,29	1,72	0,51	0,845
16	4	3,09	1,13	2,65	1,20	0,500
17	4	3,20	1,70	4,90	5,36	0,501
18	5	2,09	0,53	2,54	1,07	0,431
19	5	2,28	1,25	2,93	1,34	0,491
20	5	1,84	0,84	2,63	1,79	0,172
21	5	2,15	1,21	1,83	0,52	0,573
22	5	4,27	2,33	3,00	1,90	0,186
23	5	2,74	1,87	1,83	0,95	0,416
24	5	1,84	0,76	1,63	0,52	0,219
25	4	2,67	1,66	3,09	2,52	0,276

Tab. 9. 8: Überstandsvolumen (ml) der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	446	36,3	442	13,2	0,763
3	5	459	55,0	457	24,1	0,943
4	5	445	17,7	462	17,4	0,102
5	5	481	33,6	473	23,1	0,544
6	5	462	36,0	474	17,9	0,510
7	5	475	18,7	477	14,3	0,730
8	5	469	16,6	465	19,5	0,594
9	5	470	23,8	468	16,0	0,841
10	5	469	17,6	471	9,45	0,749
11	5	453	24,7	461	15,9	0,519
12	5	460	22,7	467	15,6	0,119
13	5	465	22,8	461	15,1	0,530
14	5	458	27,1	468	11,5	0,299
15	5	463	28,2	465	20,2	0,784
16	5	454	39,3	451	36,6	0,807
17	5	471	27,1	485	42,3	0,189
18	5	460	29,9	475	24,5	0,038
19	5	463	23,3	473	9,01	0,223
20	5	465	27,1	477	17,2	0,175
21	5	473	18,9	481	13,5	0,189
22	5	469	17,9	477	13,6	0,169
23	5	478	16,0	476	15,7	0,684
24	5	473	23,2	478	16,8	0,481
25	4	478	14,8	472	19,1	0,548

Tab. 9. 9: Essigsäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
1	5	41,5	6,37	44,9	13,4	0,414
2	5	57,7	6,05	60,1	10,4	0,516
3	5	64,4	7,27	59,6	9,42	0,143
4	5	64,9	2,53	69,4	6,42	0,139
5	5	67,7	5,70	65,0	6,80	0,445
6	5	63,5	4,79	59,9	5,68	0,348
7	5	60,5	6,20	57,5	10,2	0,278
8	5	60,1	12,1	60,1	6,94	0,993
9	5	64,3	7,28	62,9	7,00	0,548
10	5	62,7	5,55	64,7	5,30	0,215
11	5	64,0	3,06	65,2	4,70	0,564
12	5	61,1	7,51	59,7	4,72	0,391
13	5	63,8	2,59	63,4	1,44	0,787
14	5	64,0	2,68	59,3	2,99	0,078
15	5	63,1	4,25	56,2	4,48	0,007
16	5	58,9	3,76	58,5	3,73	0,836
17	5	61,7	6,02	55,8	4,63	0,042
18	5	62,8	7,37	54,3	7,32	0,045
19	5	55,5	8,11	59,4	5,82	0,684
20	5	61,9	7,20	58,6	6,73	0,184
21	5	61,3	5,89	55,6	4,14	0,131
22	5	56,8	4,13	56,1	5,79	0,652
23	5	60,9	3,33	61,7	6,63	0,783
24	5	65,8	9,14	66,6	10,9	0,486
25	4	60,3	5,50	62,6	10,5	0,472

Tab. 9. 10: Essigsäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	51,8	8,56	50,3	4,51	0,465
3	5	59,7	5,01	56,7	5,34	0,260
4	5	57,2	5,08	58,6	3,43	0,416
5	5	60,1	2,93	59,3	1,96	0,410
6	5	60,3	3,02	60,5	3,39	0,799
7	5	60,4	2,89	59,0	3,60	0,190
8	5	62,5	4,88	60,2	5,24	0,090
9	5	62,4	4,42	60,5	3,79	0,028
10	5	59,7	2,87	57,9	6,47	0,328
11	5	57,8	7,08	59,3	7,50	0,420
12	5	59,8	5,59	58,2	3,60	0,337
13	5	59,0	4,26	58,6	2,37	0,772
14	5	60,2	3,58	56,9	2,53	0,009
15	5	60,5	2,35	54,8	2,52	0,009
16	5	57,6	5,44	56,1	1,41	0,075
17	5	56,5	7,73	52,4	4,34	0,117
18	5	57,2	3,50	53,7	2,80	0,081
19	5	57,3	2,06	51,1	2,46	0,031
20	5	60,5	5,80	55,3	3,46	0,131
21	5	60,6	4,48	55,3	4,46	0,008
22	5	59,6	2,83	56,1	4,31	0,099
23	5	60,1	3,76	58,9	4,94	0,405
24	5	60,1	3,00	60,4	6,02	0,915
25	4	58,1	2,42	58,8	4,50	0,841

Tab. 9. 11: Propionsäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
1	5	12,3	2,76	12,2	3,18	0,860
2	5	20,8	3,67	21,0	5,51	0,848
3	5	24,7	4,84	22,7	5,48	0,028
4	5	24,9	3,93	26,0	5,22	0,297
5	5	24,3	3,52	23,3	4,90	0,535
6	5	22,1	3,82	20,3	2,04	0,105
7	5	20,7	2,31	18,7	2,73	0,020
8	5	19,5	3,26	18,3	1,70	0,250
9	5	19,6	2,45	18,7	1,36	0,286
10	5	19,7	0,88	19,1	1,34	0,360
11	5	19,5	0,63	19,4	1,15	0,701
12	5	17,9	2,01	18,5	1,93	0,358
13	5	19,5	1,48	19,9	1,54	0,705
14	5	19,2	2,00	19,2	1,86	0,984
15	5	19,4	1,06	19,1	2,02	0,793
16	5	18,9	3,44	18,2	5,78	0,657
17	5	21,3	2,18	19,6	2,27	0,379
18	5	22,8	2,69	20,4	3,52	0,175
19	5	20,7	2,93	21,7	3,05	0,530
20	5	21,8	2,27	21,7	3,57	0,975
21	5	21,9	2,98	22,8	4,42	0,660
22	5	21,3	3,24	23,1	4,73	0,556
23	5	21,8	3,17	24,8	6,12	0,427
24	5	22,9	3,89	25,4	5,73	0,331
25	4	21,4	4,01	22,8	1,41	0,474

Tab. 9. 12: Propionsäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	17,7	3,38	16,8	2,89	0,205
3	5	23,1	2,94	21,7	3,44	0,140
4	5	22,6	2,93	22,7	3,01	0,963
5	5	22,4	2,81	21,9	2,89	0,439
6	5	21,3	1,32	20,2	0,91	0,015
7	5	19,9	0,99	18,9	0,97	0,183
8	5	19,7	1,34	18,2	1,09	0,059
9	5	19,3	1,28	17,9	0,80	0,007
10	5	18,3	1,16	17,1	1,93	0,096
11	5	17,3	2,33	17,2	2,18	0,902
12	5	17,5	1,92	16,6	2,05	0,413
13	5	17,3	1,73	17,6	1,14	0,735
14	5	17,4	1,67	17,4	1,17	0,980
15	5	17,5	1,51	17,0	0,71	0,644
16	5	17,5	1,99	17,4	1,91	0,877
17	5	18,1	1,58	16,9	1,83	0,231
18	5	19,2	1,57	18,1	2,53	0,428
19	5	19,9	3,24	18,2	3,02	0,453
20	5	20,7	4,06	20,3	5,57	0,872
21	5	20,5	4,05	21,2	7,31	0,802
22	5	20,3	3,22	21,8	7,44	0,652
23	5	20,3	2,47	22,9	6,64	0,395
24	5	20,0	1,58	23,0	6,23	0,319
25	4	19,0	1,30	20,3	3,60	0,548

Tab. 9.13: i-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
1	5	0,42	0,12	0,44	0,16	0,426
2	5	0,48	0,82	0,50	0,10	0,547
3	5	0,62	0,10	0,16	0,98	0,466
4	5	0,68	0,14	0,70	0,15	0,268
5	5	0,80	0,15	0,76	0,08	0,271
6	5	0,79	0,11	0,72	0,07	0,077
7	5	0,80	0,07	0,73	0,12	0,085
8	5	0,77	0,15	0,75	0,06	0,545
9	5	0,89	0,10	0,81	0,06	0,192
10	5	0,84	0,08	0,84	0,07	0,904
11	5	0,88	0,07	0,86	0,10	0,486
12	5	0,80	0,15	0,80	0,11	0,993
13	5	0,88	0,12	0,86	0,11	0,492
14	5	0,85	0,05	0,82	0,05	0,286
15	5	0,82	0,05	0,82	0,07	0,973
16	5	0,80	0,13	0,82	0,14	0,378
17	5	0,80	0,11	0,82	0,23	0,711
18	5	0,83	0,09	0,84	0,11	0,733
19	5	0,80	0,18	0,92	0,27	0,166
20	5	0,86	0,07	0,93	0,17	0,386
21	5	0,89	0,14	0,81	0,12	0,258
22	5	0,75	0,11	0,85	0,10	0,338
23	5	0,82	0,09	0,80	0,10	0,756
24	5	0,91	0,13	0,86	0,15	0,141
25	4	0,79	0,10	0,72	0,07	0,269

Tab. 9.14: i-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	0,39	0,06	0,38	0,05	0,549
3	5	0,49	0,11	0,47	0,10	0,345
4	5	0,57	0,09	0,57	0,08	0,516
5	5	0,64	0,07	0,64	0,07	0,535
6	5	0,67	0,11	0,66	0,10	0,109
7	5	0,70	0,09	0,67	0,08	0,034
8	5	0,73	0,09	0,70	0,10	0,088
9	5	0,75	0,08	0,73	0,08	0,044
10	5	0,73	0,06	0,70	0,08	0,312
11	5	0,71	0,09	0,70	0,09	0,777
12	5	0,72	0,09	0,72	0,07	0,982
13	5	0,71	0,08	0,72	0,08	0,928
14	5	0,71	0,08	0,71	0,09	0,644
15	5	0,72	0,09	0,71	0,10	0,380
16	5	0,71	0,07	0,73	0,13	0,570
17	5	0,68	0,09	0,68	0,17	0,950
18	5	0,70	0,07	0,72	0,16	0,680
19	5	0,71	0,09	0,82	0,21	0,178
20	5	0,77	0,15	0,83	0,29	0,391
21	5	0,75	0,11	0,78	0,24	0,682
22	5	0,75	0,11	0,72	0,19	0,561
23	5	0,75	0,12	0,72	0,17	0,410
24	5	0,74	0,11	0,70	0,17	0,238
25	4	0,69	0,08	0,62	0,11	0,055

Tab. 9. 15: n-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
1	5	5,96	0,98	5,32	1,16	0,067
2	5	9,34	1,07	9,68	1,32	0,341
3	5	12,0	1,18	11,4	1,68	0,291
4	5	13,9	1,91	14,3	2,41	0,522
5	5	15,2	0,91	15,1	1,68	0,870
6	5	16,6	1,65	16,2	1,66	0,112
7	5	18,2	2,45	18,1	2,77	0,896
8	5	18,4	2,34	17,8	2,28	0,171
9	5	18,4	3,13	18,0	2,94	0,361
10	5	19,0	3,76	19,0	3,70	0,957
11	5	19,4	3,48	19,4	3,02	0,992
12	5	18,7	4,09	18,9	3,96	0,597
13	5	19,4	3,19	20,1	3,89	0,232
14	5	19,5	3,16	19,6	2,71	0,803
15	5	19,4	3,38	19,9	1,70	0,720
16	5	18,3	4,08	18,3	6,12	0,992
17	5	19,0	3,19	18,0	3,78	0,973
18	5	18,9	3,89	20,0	2,49	0,602
19	5	17,3	2,72	20,4	2,39	0,043
20	5	18,3	4,12	18,4	2,35	0,732
21	5	18,6	4,34	17,7	3,38	0,543
22	5	17,7	3,71	16,2	3,97	0,344
23	5	18,5	3,67	16,4	3,98	0,080
24	5	19,0	3,79	16,6	4,85	0,087
25	4	18,9	3,07	17,3	4,79	0,214

Tab. 9. 16: n-Buttersäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	7,66	1,20	7,35	0,57	0,528
3	5	10,9	1,50	10,5	1,17	0,187
4	5	11,8	0,96	11,9	0,49	0,793
5	5	13,2	0,65	13,6	1,06	0,344
6	5	15,1	0,65	15,4	0,69	0,146
7	5	16,6	0,60	16,5	1,00	0,750
8	5	17,8	1,00	17,2	1,11	0,033
9	5	17,8	1,89	17,4	2,14	0,741
10	5	17,5	2,61	16,7	2,21	0,395
11	5	17,2	2,35	17,3	1,90	0,013
12	5	17,9	2,44	17,2	2,53	0,013
13	5	17,8	3,32	17,8	3,02	0,003
14	5	18,0	2,79	17,7	2,34	0,004
15	5	18,1	2,48	17,9	1,80	0,011
16	5	17,9	3,39	18,4	2,76	0,050
17	5	17,6	3,72	17,1	3,61	0,032
18	5	17,4	3,21	18,6	1,50	0,043
19	5	16,3	2,78	18,4	2,22	0,064
20	5	17,1	2,99	18,4	1,48	0,066
21	5	17,1	3,27	17,3	1,72	0,120
22	5	17,0	3,38	16,1	3,22	0,340
23	5	17,1	3,23	15,6	3,45	0,498
24	5	17,2	3,00	15,1	3,56	0,629
25	4	17,2	2,42	15,6	3,43	0,708

Tab. 9. 17: i-Valeriansäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
1	5	0,86	0,24	0,73	0,20	0,111
2	5	1,13	0,18	1,12	0,15	0,823
3	5	1,88	0,37	1,74	0,52	0,237
4	5	2,74	0,52	2,91	0,64	0,270
5	5	3,18	0,45	3,35	0,78	0,397
6	5	3,69	0,08	3,62	0,81	0,530
7	5	4,03	1,12	3,99	0,89	0,791
8	5	4,17	1,07	4,09	1,11	0,684
9	5	4,30	1,22	4,33	1,45	0,880
10	5	4,37	1,17	4,42	1,17	0,593
11	5	4,44	1,09	4,13	0,87	0,122
12	5	4,21	1,17	3,40	0,78	0,014
13	5	4,23	0,72	3,29	0,71	0,001
14	5	4,34	0,87	3,15	0,64	0,001
15	5	4,18	0,69	2,85	0,52	0,000
16	5	3,78	1,23	2,47	0,93	0,008
17	5	3,80	0,98	2,56	0,73	0,009
18	5	3,84	0,67	2,50	0,50	0,003
19	5	3,59	0,89	2,52	0,45	0,042
20	5	3,66	0,44	2,07	0,52	0,001
21	5	3,92	0,74	2,29	0,32	0,021
22	5	3,66	0,59	2,52	0,18	0,012
23	5	3,75	0,61	2,93	0,50	0,034
24	5	4,03	0,99	3,23	0,68	0,033
25	4	3,54	0,26	3,12	0,43	0,258

Tab. 9. 18: i-Valeriansäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	0,78	0,13	0,74	0,11	0,106
3	5	1,30	0,19	1,26	0,20	0,286
4	5	1,93	0,27	1,93	0,28	0,893
5	5	2,55	0,38	2,66	0,46	0,081
6	5	3,10	0,62	3,19	0,66	0,139
7	5	3,44	0,85	3,42	0,83	0,476
8	5	3,73	0,92	3,64	0,94	0,405
9	5	3,82	0,95	3,83	0,99	0,938
10	5	3,73	0,90	3,68	0,92	0,583
11	5	3,68	0,77	3,55	0,58	0,382
12	5	3,74	0,63	3,10	0,43	0,012
13	5	3,65	0,65	2,81	0,40	0,004
14	5	3,61	0,43	2,52	0,30	0,000
15	5	3,54	0,28	2,30	0,21	0,001
16	5	3,32	0,32	2,23	0,25	0,001
17	5	3,16	0,46	1,95	0,47	0,003
18	5	3,10	0,18	1,93	0,35	0,001
19	5	3,09	0,23	2,13	0,67	0,051
20	5	3,28	0,52	1,98	0,20	0,004
21	5	3,28	0,42	1,92	0,25	0,004
22	5	3,28	0,37	2,03	0,32	0,006
23	5	3,32	0,37	2,33	0,51	0,016
24	5	3,35	0,31	2,57	0,66	0,029
25	4	3,17	0,33	2,68	0,74	0,153

Tab. 9. 19: n-Valeriansäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
1	5	0,77	0,24	0,55	0,16	0,004
2	5	1,22	0,16	1,18	0,21	0,599
3	5	1,80	0,17	1,63	0,27	0,029
4	5	2,26	0,29	2,21	0,26	0,443
5	5	2,63	0,32	2,53	0,27	0,508
6	5	2,83	0,33	2,70	0,36	0,114
7	5	3,01	0,38	3,00	0,51	0,864
8	5	3,07	0,39	2,95	0,56	0,261
9	5	3,13	0,64	2,98	0,65	0,098
10	5	3,14	0,73	3,21	0,80	0,627
11	5	3,10	0,56	3,20	0,66	0,413
12	5	2,91	0,60	3,07	0,70	0,230
13	5	3,00	0,58	3,38	0,86	0,096
14	5	2,94	0,67	3,53	1,03	0,033
15	5	2,92	0,55	3,65	1,03	0,033
16	5	2,70	0,53	3,59	1,59	0,139
17	5	2,95	0,35	3,90	1,13	0,067
18	5	3,04	0,61	4,15	0,84	0,008
19	5	2,84	0,28	4,08	0,73	0,008
20	5	2,95	0,49	4,05	0,85	0,011
21	5	3,05	0,55	4,00	0,84	0,050
22	5	2,87	0,36	3,92	0,45	0,003
23	5	2,86	0,48	3,69	0,42	0,000
24	5	2,97	0,55	3,53	0,56	0,000
25	4	2,85	0,59	3,20	0,47	0,134

Tab. 9. 20: n-Valeriansäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	1,00	0,19	0,90	0,15	0,027
3	5	1,50	0,15	1,42	0,19	0,133
4	5	2,03	0,24	1,96	0,22	0,136
5	5	2,38	0,24	2,36	0,27	0,852
6	5	2,59	0,13	2,64	0,24	0,546
7	5	2,85	0,23	2,75	0,31	0,184
8	5	3,01	0,33	2,88	0,32	0,136
9	5	2,92	0,52	2,94	0,52	0,863
10	5	2,90	0,62	2,80	0,47	0,453
11	5	2,76	0,49	2,83	0,38	0,655
12	5	2,78	0,48	2,79	0,55	0,971
13	5	2,74	0,59	2,91	0,62	0,120
14	5	2,72	0,55	3,00	0,73	0,143
15	5	2,65	0,44	3,22	0,89	0,073
16	5	2,59	0,54	3,50	1,20	0,054
17	5	2,66	0,49	3,59	1,05	0,060
18	5	2,70	0,48	3,93	0,87	0,012
19	5	2,64	0,28	3,66	0,58	0,008
20	5	2,75	0,22	3,97	0,59	0,013
21	5	2,76	0,25	4,07	0,68	0,012
22	5	2,69	0,29	3,99	0,60	0,010
23	5	2,68	0,31	4,03	0,61	0,007
24	5	2,63	0,29	3,54	0,24	0,000
25	4	2,62	0,36	3,22	0,37	0,014

Tab. 9. 21: Hexansäurekonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
1	2	0,92	0,33	0,20	0,13	0,397
2	4	0,87	0,81	0,27	0,06	0,337
3	5	0,96	0,59	0,42	0,15	0,129
4	5	1,08	0,73	0,67	0,25	0,155
5	5	1,14	1,02	0,74	0,21	0,390
6	5	1,47	0,56	0,95	0,17	0,144
7	5	1,94	0,60	1,23	0,49	0,032
8	5	1,61	1,07	1,24	0,36	0,345
9	5	1,68	0,50	1,26	0,18	0,201
10	5	2,06	0,48	1,36	0,32	0,045
11	5	1,84	0,55	1,28	0,18	0,086
12	5	1,63	0,61	1,16	0,27	0,201
13	5	2,18	0,86	1,46	0,43	0,038
14	5	2,02	0,87	1,61	0,56	0,426
15	5	2,01	0,35	1,69	0,58	0,446
16	5	2,24	0,50	1,73	1,07	0,226
17	5	1,78	1,01	1,64	1,00	0,721
18	5	1,81	0,79	1,69	1,16	0,817
19	5	1,77	0,66	1,58	1,10	0,434
20	5	1,78	0,79	1,72	1,28	0,912
21	5	1,99	1,05	1,80	1,25	0,732
22	5	2,03	1,04	1,83	1,37	0,733
23	5	2,01	0,64	1,76	1,00	0,554
24	5	1,71	0,99	1,84	1,00	0,597
25	4	2,45	0,50	1,95	0,95	0,167

Tab. 9. 22: Hexansäurekonzentrationen (mmol/l) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	0,57	0,34	0,17	0,02	0,141
3	5	0,57	0,27	0,31	0,11	0,127
4	5	0,72	0,50	0,50	0,21	0,202
5	5	0,76	0,34	0,59	0,27	0,281
6	5	0,95	0,32	0,76	0,24	0,188
7	5	1,28	0,44	0,89	0,26	0,043
8	5	1,15	0,54	0,96	0,25	0,264
9	5	1,23	0,29	1,05	0,24	0,162
10	5	1,41	0,15	1,00	0,12	0,012
11	5	1,27	0,31	1,03	0,15	0,169
12	5	1,27	0,29	0,97	0,24	0,127
13	5	1,48	0,58	0,99	0,29	0,035
14	5	1,42	0,34	1,10	0,38	0,175
15	5	1,50	0,15	1,21	0,49	0,315
16	5	1,59	0,49	1,34	0,70	0,292
17	5	1,32	0,57	1,25	0,68	0,753
18	5	1,33	0,43	1,33	0,79	0,996
19	5	1,34	0,46	1,20	0,81	0,463
20	5	1,35	0,43	1,29	0,92	0,881
21	5	1,53	0,73	1,40	1,00	0,748
22	5	1,53	0,71	1,57	1,18	0,926
23	5	1,51	0,45	1,57	0,23	0,872
24	5	1,34	0,71	1,59	0,88	0,286
25	4	1,66	0,56	1,72	0,83	0,788

Tab. 9. 23: Summe der im Pansensaft gemessenen flüchtigen Fettsäuren (mmol/l) der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
1	5	62,6	10,8	64,3	17,8	0,732
2	5	91,3	10,4	93,7	16,9	0,616
3	5	106	13,1	98,2	16,5	0,074
4	5	111	8,81	116	14,2	0,196
5	5	114	10,4	111	12,9	0,597
6	5	111	10,1	104	5,92	0,195
7	5	109	9,28	103	13,7	0,117
8	5	108	15,9	105	8,58	0,559
9	5	112	11,4	109	9,78	0,326
10	5	112	7,55	113	6,10	0,680
11	5	113	6,23	114	4,11	0,879
12	5	107	13,3	105	10,4	0,386
13	5	113	4,79	113	6,89	0,838
14	5	113	7,85	107	7,64	0,110
15	5	112	7,86	104	7,03	0,001
16	5	102	15,9	96,9	29,8	0,442
17	5	111	9,56	103	11,5	0,056
18	5	114	11,4	104	10,2	0,009
19	5	103	12,5	108	12,1	0,207
20	5	111	9,85	107	12,4	0,167
21	5	112	11,4	105	5,13	0,201
22	5	105	9,23	105	7,65	0,870
23	5	111	8,68	112	11,1	0,779
24	5	117	16,8	118	17,9	0,489
25	4	110	12,4	112	16,2	0,692

Tab. 9. 24: Summe der im Überstand gemessenen flüchtigen Fettsäuren (mmol/l) der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	79,9	13,0	76,6	7,43	0,305
3	5	97,5	8,32	92,4	9,06	0,186
4	5	97,0	8,75	98,1	6,12	0,636
5	5	102	5,87	101	5,67	0,521
6	5	104	3,93	103	2,38	0,664
7	5	105	2,63	102	3,38	0,112
8	5	109	5,40	104	5,59	0,064
9	5	108	4,69	104	3,92	0,014
10	5	104	3,60	99,8	7,64	0,125
11	5	101	10,0	102	8,21	0,668
12	5	104	6,92	94,6	14,1	0,287
13	5	103	8,03	101	4,76	0,543
14	5	104	6,29	99,2	4,45	0,012
15	5	104	2,61	97,3	4,07	0,007
16	5	101	9,63	97,8	10,1	0,011
17	5	100	12,7	90,4	14,2	0,061
18	5	102	5,89	97,2	4,27	0,014
19	5	101	2,38	94,2	3,65	0,004
20	5	106	7,53	101	8,07	0,056
21	5	107	4,59	102	10,0	0,147
22	5	105	3,19	102	7,6	0,505
23	5	106	4,85	106	6,83	0,934
24	5	105	3,99	107	8,53	0,705
25	4	103	2,41	103	5,98	0,922

Tab. 9. 25: Wasserstoffkonzentrationen (mm²E) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	1	40,0		48,5		
3	2	49,5	36,1	48,3	18,7	0,935
4	3	26,7	9,07	30,2	16,2	0,530
5	4	34,3	20,3	34,9	21,4	0,901
6	4	48,4	30,3	47,5	29,1	0,849
7	5	40,3	36,2	46,2	38,6	0,219
8	5	29,7	22,5	41,3	32,1	0,132
9	5	27,8	20,9	38,4	26,0	0,491
10	5	26,7	19,8	28,0	20,2	0,896
11	3	28,4	19,5	26,6	13,0	0,384
12	5	29,1	18,5	36,8	22,3	0,040
13	5	23,0	5,35	40,8	14,7	0,068
14	4	22,3	5,07	37,4	14,9	0,14
15	3	23,3	4,16	45,5	34,6	0,380
16	1	23,5		71,0		
17	4	21,8	2,26	46,3	28,0	0,289
18	3	16,5	7,64	62,3	28,6	0,236
19	1	12,0		15,0		
20	2	35,8	23,0	74,5	5,0	0,202
21	1	21,0		55,6		
22	1	13,5		35,0		
23	2	21,0	1,41	27,5	12,0	0,618
24	3	16,5	1,80	17,0	5,80	0,868
25	2	16,0	4,24	13,5	2,10	0,344

Tab. 9. 26: Proteinkonzentrationen (µg/ml) der Bakterienfraktion im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	425	123	428	80,3	0,936
3	5	382	47,1	387	76,2	0,767
4	5	364	47,1	331	37,4	0,181
5	5	306	44,3	292	40,2	0,076
6	5	308	54,0	284	41,6	0,077
7	5	298	58,2	273	45,7	0,273
8	5	299	44,3	261	31,9	0,133
9	5	277	48,5	230	65,1	0,117
10	5	288	29,1	270	19,4	0,365
11	5	283	26,3	292	15,2	0,233
12	5	247	45,7	267	62,3	0,137
13	5	279	15,2	302	2,8	0,024
14	5	280	22,2	344	15,2	0,004
15	5	287	30,5	385	62,3	0,012
16	5	273	45,7	378	108	0,051
17	5	317	55,4	439	102	0,032
18	5	305	65,1	475	163	0,040
19	5	301	73,4	442	159	0,048
20	5	327	76,2	485	140	0,051
21	5	333	69,3	460	145	0,152
22	5	335	48,5	409	92,8	0,125
23	5	323	40,2	382	84,5	0,110
24	5	294	67,9	338	107	0,244
25	4	324	20,8	334	76,2	0,846

Tab. 9.27: Cellulaseaktivitäten (U/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	74,6	20,7	66,0	23,3	0,509
3	5	21,4	10,5	20,3	11,2	0,886
4	5	25,1	6,71	40,2	27,6	0,235
5	5	26,0	17,6	21,1	12,7	0,180
6	5	35,1	15,0	34,1	16,0	0,837
7	5	25,0	10,6	18,3	6,67	0,225
8	5	54,2	33,5	35,0	17,8	0,119
9	5	40,7	33,6	42,2	21,5	0,936
10	5	33,7	10,1	42,5	31,5	0,456
11	5	40,0	29,5	38,8	17,0	0,895
12	5	23,8	13,2	21,0	10,6	0,622
13	5	48,2	35,5	22,5	12,3	0,258
14	5	34,7	22,8	13,9	6,96	0,141
15	5	35,4	21,4	19,5	9,42	0,041
16	5	27,7	14,5	32,5	19,0	0,710
17	5	38,6	36,3	20,9	6,59	0,292
18	5	25,9	9,81	21,5	14,0	0,553
19	5	27,1	9,14	37,0	31,6	0,049
20	5	27,7	13,4	28,5	23,4	0,880
21	5	38,6	20,7	21,2	13,4	0,148
22	5	45,7	29,0	32,4	21,9	0,288
23	5	41,6	18,0	33,8	11,6	0,149
24	5	25,5	6,98	26,8	19,2	0,859
25	4	31,6	12,9	31,0	18,3	0,945

Tab. 9. 28: Natriumkonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in Lauf 2

d	n	KF	FSA
		x	x
2	1	132	130
3	1	146	144
4	1	152	152
5	1	158	155
6	1	158	158
7	1	161	160
8	1	162	161
9	1	162	161
10	1	164	166
11	1	164	164
12	1	161	166
13	1	164	170
14	1	162	169
15	1	163	168
16	1	165	157
17	1	159	168
18	1	161	165
19	1	160	167
20	1	159	168
21	1	160	166
22	1	160	167
23	1	164	163
24	1	155	159
25	1	161	160

Tab. 9. 29: Kaliumkonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in Lauf 2

		KF	FSA
d	n	x	x
2	1	17,5	17,4
3	1	16,0	15,2
4	1	15,5	15,2
5	1	14,0	14,7
6	1	13,6	14,0
7	1	14,0	13,7
8	1	14,0	13,3
9	1	13,7	13,4
10	1	13,6	14,0
11	1	14,0	14,1
12	1	13,3	13,4
13	1	12,9	13,0
14	1	13,3	13,5
15	1	12,5	12,9
16	1	13,0	12,4
17	1	12,7	12,7
18	1	13,5	13,3
19	1	12,7	12,8
20	1	12,7	13,1
21	1	12,8	13,2
22	1	13,0	12,9
23	1	13,0	12,8
24	1	13,1	12,1
25	1	11,9	12,8

Tab. 9.30: Chloridkonzentrationen (mmol/l) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation in Lauf 2

		KF	FSA
d	n	x	x
2	1	21,0	22,5
3	1	22,5	20,5
4	1	21,5	21,5
5	1	22,0	21,0
6	1	21,5	21,0
7	1	22,0	21,5
8	1	22,5	21,5
9	1	22,5	22,0
10	1	22,0	19,5
11	1	21,5	23,0
12	1	22,5	23,5
13	1	22,5	24,0
14	1	21,0	21,0
15	1	20,0	20,0
16	1	20,0	20,0
17	1	20,0	20,5
18	1	19,5	20,0
19	1	20,0	20,5
20	1	19,5	21,0
21	1	21,0	19,0
22	1	18,5	20,0
23	1	20,0	20,5
24	1	20,5	20,0
25	1	21,0	19,5

Tab. 9. 31: TDP-Konzentrationen (ng/ml) im Pansen-
saft der KF- und FSA-Fermenter während 25-
tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
1	5	98,8	16,9	95,4	15,0	0,259
2	5	101	20,4	99,4	20,8	0,263
3	5	99,8	17,2	97,0	16,3	0,243
4	5	94,0	13,7	92,1	16,9	0,243
5	5	96,8	12,3	93,4	8,89	0,193
6	5	99,3	8,98	95,2	8,15	0,025
7	5	91,6	5,53	86,9	5,84	0,002
8	5	99,4	9,35	93,2	5,97	0,048
9	5	95,4	6,72	94,9	6,42	0,717
10	5	91,9	5,64	89,5	6,68	0,242
11	5	92,9	9,75	93,3	12,1	0,857
12	5	88,3	5,55	84,3	4,19	0,116
13	5	97,2	9,48	92,9	9,51	0,009
14	5	90,5	6,76	87,0	6,96	0,025
15	5	94,8	7,77	89,6	8,14	0,095
16	5	104	11,3	95,8	14,3	0,022
17	5	110	24,0	102	29,3	0,095
18	5	117	24,9	107	24,5	0,008
19	5	112	18,7	105	17,0	0,074
20	5	117	12,7	111	13,2	0,093
21	5	101	5,65	94,9	6,55	0,035
22	5	102	15,6	92,7	14,7	0,044
23	5	99,4	15,7	85,6	10,6	0,036
24	5	98,3	10,3	91,2	10,5	0,008
25	4	100	9,53	95,5	11,9	0,029

Tab. 9. 32: TDP-Konzentrationen (ng/ml) im Überstand
der KF- und FSA-Fermenter während 25-
tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	95,2	30,1	91,4	29,0	0,257
3	5	80,8	16,0	79,8	14,5	0,682
4	5	79,8	9,27	79,2	10,4	0,559
5	5	79,2	16,0	75,2	14,2	0,097
6	5	81,9	19,5	83,1	20,5	0,438
7	5	87,4	10,6	87,2	10,6	0,916
8	5	89,1	8,82	83,7	5,04	0,175
9	5	89,6	7,19	86,8	6,16	0,372
10	5	80,5	9,86	79,6	10,5	0,253
11	5	83,1	7,49	83,0	8,96	0,990
12	5	80,6	7,16	74,4	8,36	0,173
13	5	90,4	8,36	81,8	5,14	0,130
14	5	85,0	8,08	80,9	8,78	0,042
15	5	84,2	5,23	83,0	10,1	0,762
16	5	101	8,31	89,4	11,3	0,031
17	5	106	29,0	97,1	29,8	0,016
18	5	115	24,6	101	28,1	0,047
19	5	120	19,7	105	25,5	0,048
20	5	118	20,1	103	26,4	0,072
21	5	104	14,7	89,4	13,4	0,070
22	5	95,5	15,8	86,7	9,47	0,099
23	5	90,0	13,6	83,7	13,3	0,018
24	5	95,0	13,5	90,3	14,3	0,158
25	4	85,9	11,7	85,2	8,84	0,902

Tab. 9. 33: TMP-Konzentrationen (ng/ml) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
1	5	21,0	14,4	21,1	15,3	0,889
2	5	6,73	4,8	7,23	4,93	0,099
3	5	13,5	5,67	13,6	8,06	0,988
4	5	8,49	3,74	8,55	3,99	0,918
5	5	9,82	3,42	9,67	2,67	0,723
6	5	10,3	4,52	10,6	4,11	0,691
7	5	8,34	5,93	7,42	4,31	0,318
8	5	9,08	4,83	9,65	3,50	0,729
9	5	6,95	3,92	7,7	3,68	0,068
10	5	9,85	5,97	10,0	5,12	0,784
11	5	7,22	2,73	9,06	3,26	0,025
12	5	6,49	4,83	6,80	4,51	0,719
13	5	8,03	4,06	8,39	4,33	0,526
14	5	9,41	5,83	9,58	5,04	0,83
15	5	11,3	4,34	10,9	3,67	0,753
16	5	17,2	5,66	20,3	7,67	0,17
17	5	22,3	7,99	24,0	7,47	0,276
18	5	22,7	6,82	24,6	5,70	0,403
19	5	32,9	13,5	32,0	14,1	0,397
20	5	25,9	15,8	27,5	14,5	0,504
21	5	17,7	6,82	18,5	7,03	0,758
22	5	11,9	3,86	13,2	1,95	0,369
23	5	11,0	3,64	10,1	3,19	0,414
24	5	7,89	3,35	8,99	3,07	0,434
25	4	9,14	5,79	11,4	5,99	0,151

Tab. 9. 34: TMP-Konzentrationen (ng/ml) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	27,0	15,0	29,2	18,6	0,353
3	5	29,0	14,8	31,7	16,4	0,061
4	5	22,4	7,86	22,2	7,98	0,793
5	5	25,7	6,68	25,9	7,59	0,757
6	5	27,6	7,79	27,8	7,42	0,906
7	5	23,4	6,87	23,2	6,45	0,838
8	5	30,4	3,31	26,6	3,24	0,012
9	5	27,5	6,78	27,6	8,28	0,995
10	5	27,1	11,6	29,8	9,53	0,178
11	5	31,2	6,51	33,2	5,55	0,131
12	5	26,4	5,50	25,9	7,63	0,770
13	5	30,0	7,90	28,2	9,85	0,304
14	5	28,3	7,93	33,1	13,8	0,497
15	5	30,1	12,1	27,4	10,7	0,291
16	5	42,3	4,45	34,3	2,91	0,025
17	5	69,2	8,51	54,1	15,5	0,040
18	5	67,4	8,56	53,9	15,5	0,089
19	5	70,8	12,5	50,1	7,3	0,021
20	5	68,2	9,28	49,9	13,6	0,024
21	5	48,5	17,8	45,4	8,33	0,637
22	5	39,0	10,6	32,7	8,01	0,063
23	5	33,0	11,7	33,0	8,98	0,984
24	5	32,9	5,16	28,9	6,75	0,196
25	4	39,5	12,5	36,6	12,0	0,058

Tab. 9. 35: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) im Pansen-
saft der KF- und FSA-Fermenter während
25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
1	5	5,78	3,95	6,24	4,98	0,502
2	5	4,04	1,82	4,09	2,07	0,836
3	5	4,39	1,23	4,33	1,84	0,874
4	5	6,60	4,60	5,42	3,14	0,224
5	5	3,48	1,69	3,76	1,72	0,139
6	5	4,90	4,06	5,08	3,55	0,791
7	5	5,56	2,15	5,29	1,72	0,807
8	5	4,38	1,66	4,58	1,68	0,623
9	5	5,03	2,31	3,89	1,21	0,214
10	5	3,95	1,71	3,71	1,26	0,502
11	5	4,00	1,57	5,14	2,28	0,165
12	5	3,95	1,37	4,46	2,10	0,450
13	5	3,93	0,80	3,79	0,87	0,609
14	5	5,23	1,63	5,14	1,41	0,834
15	5	5,47	2,80	6,53	2,74	0,535
16	5	53,4	12,1	67,2	31,3	0,461
17	5	80,2	13,7	81,4	27,1	0,938
18	5	104	16,8	88,0	40,5	0,409
19	5	107	9,82	94,0	41,0	0,527
20	5	102	13,2	92,0	48,0	0,632
21	5	42,2	14,6	41,4	30,6	0,969
22	5	18,4	8,43	23,0	16,6	0,466
23	5	12,6	6,62	12,0	6,84	0,870
24	5	7,38	5,08	8,94	4,11	0,359
25	4	6,24	3,69	6,05	4,92	0,907

Tab. 9. 36: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) im Überstand
der KF- und FSA-Fermenter während 25-
tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	7,58	9,84	10,9	17,4	0,390
3	5	9,98	14,8	12,1	19,8	0,400
4	5	3,36	1,04	2,76	0,66	0,037
5	5	3,69	0,95	3,42	1,01	0,247
6	5	4,19	2,22	3,80	1,99	0,219
7	5	4,20	1,58	3,99	1,30	0,418
8	5	4,70	2,32	4,26	1,37	0,406
9	5	4,29	1,97	3,53	1,45	0,253
10	5	3,84	1,05	3,38	0,96	0,110
11	5	3,79	1,18	3,53	1,04	0,559
12	5	3,31	0,78	3,02	0,66	0,268
13	5	4,04	1,16	3,84	1,11	0,397
14	5	4,28	1,43	3,73	1,04	0,061
15	5	4,05	1,66	3,87	1,22	0,660
16	5	70,1	31,5	71,7	38,2	0,805
17	5	85,1	14,0	94,7	17,7	0,516
18	5	107	21,8	112	11,9	0,678
19	5	113	18,0	111	18,5	0,892
20	5	114	9,19	120	21,4	0,629
21	5	43,2	22,8	50,1	41,2	0,742
22	5	12,5	6,66	18,0	15,2	0,520
23	5	7,33	2,20	7,89	3,04	0,769
24	5	6,37	1,91	5,75	1,75	0,556
25	4	4,69	2,23	3,64	0,48	0,207

Tab. 9. 37: Gesamthiaminkonzentration (ng/ml) im Pansensaft der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
1	5	126	18,7	123	18,8	0,504
2	5	112	24,5	111	25,2	0,509
3	5	118	24,5	111	25,2	0,509
4	5	109	21,3	106	27,8	0,167
5	5	110	14,3	107	10,5	0,331
6	5	115	15,0	111	13,8	0,129
7	5	106	12,5	99,6	9,81	0,030
8	5	113	13,1	107	9,40	0,137
9	5	107	11,4	107	9,09	0,663
10	5	106	9,00	103	5,53	0,330
11	5	104	9,33	108	12,3	0,127
12	5	98,8	6,02	95,6	6,34	0,387
13	5	109	11,3	105	11,6	0,029
14	5	105	10,0	102	8,04	0,109
15	5	112	13,4	107	10,0	0,392
16	5	174	20,4	183	19,8	0,612
17	5	212	32,0	208	14,9	0,722
18	5	244	28,4	219	17,8	0,234
19	5	252	28,4	231	22,5	0,346
20	5	245	29,0	230	44,4	0,537
21	5	160	17,7	155	34,1	0,805
22	5	133	23,1	129	22,4	0,538
23	5	123	20,0	108	10,2	0,102
24	5	114	14,1	109	10,1	0,204
25	4	116	16,2	113	20,4	0,432

Tab. 9. 38: Gesamthiaminkonzentration (ng/ml) im Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	130	38,7	131	41,2	0,656
3	5	120	27,1	124	32,1	0,414
4	5	106	16,8	104	17,5	0,346
5	5	109	19,7	105	19,3	0,134
6	5	114	18,7	115	18,0	0,562
7	5	115	5,26	114	8,27	0,562
8	5	124	6,37	114	6,02	0,018
9	5	122	8,91	118	13,1	0,191
10	5	112	9,98	112	12,2	0,793
11	5	118	10,5	120	12,3	0,307
12	5	110	4,39	103	9,66	0,244
13	5	124	10,1	114	12,6	0,102
14	5	118	12,5	118	20,9	1,00
15	5	118	18,4	114	17,4	0,477
16	5	214	33,5	196	38,7	0,034
17	5	260	43,9	246	43,3	0,196
18	5	289	36,8	266	35,7	0,037
19	5	304	26,0	266	25,8	0,030
20	5	300	29,1	274	30,7	0,124
21	5	196	24,3	185	41,7	0,599
22	5	152	8,95	137	10,3	0,130
23	5	130	18,2	124	15,3	0,071
24	5	134	12,7	125	12,3	0,124
25	4	130	23,8	124	13,7	0,394

Tab. 9. 39: TDP-Konzentrationen (ng/ml) in der Pflanzen- und Protozoenfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	22,6	4,43	29,9	4,64	0,001
3	5	25,0	8,22	28,6	8,76	0,002
4	5	25,3	11,8	27,5	10,6	0,024
5	5	27,1	11,6	29,6	11,5	0,192
6	5	35,0	20,1	36,7	16,7	0,532
7	5	41,0	21,3	41,1	19,8	0,869
8	5	42,4	17,9	44,3	18,5	0,233
9	5	45,1	21,3	49,3	21,9	0,160
10	5	43,6	19,6	43,2	22,0	0,796
11	5	39,3	14,7	39,3	17,5	0,971
12	5	41,1	12,2	33,0	10,2	0,062
13	5	41,4	11,0	32,8	9,65	0,141
14	5	44,2	7,52	31,9	7,98	0,007
15	5	41,2	12,8	27,0	10,5	0,044
16	5	80,7	18,1	45,3	26,9	0,026
17	5	81,3	17,5	45,2	31,6	0,024
18	5	81,1	14,2	41,3	28,3	0,027
19	5	85,6	19,2	47,7	37,8	0,039
20	5	85,7	16,3	47,9	37,9	0,032
21	5	70,3	27,5	37,8	25,6	0,014
22	5	64,1	21,7	31,7	23,3	0,009
23	5	58,6	26,8	26,3	19,1	0,004
24	5	53,7	18,1	28,1	16,9	0,008
25	4	51,8	11,5	29,0	9,93	0,004

Tab. 9. 40: TMP-Konzentrationen (ng/ml) in der Pflanzen- und Protozoenfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	3,76	2,59	5,63	3,55	0,031
3	5	5,01	1,14	6,58	1,93	0,034
4	5	3,72	1,11	4,91	1,46	0,012
5	5	3,81	0,96	4,21	1,68	0,412
6	5	5,64	2,25	6,08	1,82	0,498
7	5	2,71	1,25	3,27	1,60	0,071
8	5	3,81	3,19	4,52	3,74	0,104
9	5	4,56	1,12	5,32	1,20	0,169
10	5	4,31	3,42	4,69	3,48	0,099
11	5	5,02	1,25	5,48	2,82	0,597
12	5	4,51	2,42	4,50	2,13	0,993
13	5	5,41	2,23	4,31	1,77	0,166
14	5	4,56	2,77	3,55	1,18	0,375
15	5	6,54	3,7	4,51	0,50	0,251
16	5	9,47	5,62	6,12	3,65	0,216
17	5	13,5	9,08	8,32	5,34	0,161
18	5	15,2	11,2	8,47	5,78	0,103
19	5	13,5	9,59	5,86	4,07	0,111
20	5	13,9	9,83	7,28	6,95	0,214
21	5	11,6	8,37	4,65	3,12	0,085
22	5	7,57	4,77	4,21	3,49	0,063
23	5	6,94	4,51	4,84	4,36	0,049
24	5	5,87	2,64	4,82	2,60	0,350
25	4	4,92	3,77	4,65	3,36	0,322

Tab. 9. 41: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Pflanzen- und Protozoenfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	4,59	6,79	5,57	8,730	0,334
3	5	2,02	0,530	2,18	0,430	0,136
4	5	2,03	0,580	2,14	0,670	0,357
5	5	1,72	0,530	1,79	0,310	0,726
6	5	2,42	0,830	2,52	0,990	0,700
7	5	2,80	0,900	2,52	0,830	0,423
8	5	2,84	0,850	3,25	1,18	0,090
9	5	3,13	0,830	2,97	0,940	0,573
10	5	2,64	0,730	2,75	1,10	0,688
11	5	2,96	0,730	3,52	1,11	0,510
12	5	2,86	0,810	2,42	0,910	0,409
13	5	2,84	0,310	2,27	0,770	0,157
14	5	3,75	0,970	2,46	0,550	0,127
15	5	3,43	1,31	2,72	1,04	0,443
16	5	28,6	13,5	12,6	12,7	0,116
17	5	33,8	12,3	13,0	9,93	0,018
18	5	40,6	16,7	13,8	9,83	0,027
19	5	38,0	17,2	13,6	8,14	0,034
20	5	42,4	20,0	13,0	10,9	0,031
21	5	21,6	10,5	5,71	3,41	0,016
22	5	11,7	6,39	3,89	3,61	0,004
23	5	6,15	2,03	2,47	1,60	0,002
24	5	4,76	2,59	3,69	2,24	0,557
25	4	3,68	0,450	3,40	1,94	0,776

Tab. 9. 42: Gesamthiaminkonzentration (ng/ml) in der Pflanzen- und Protozoenfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	31,0	9,91	41,1	13,6	0,008
3	5	32,0	8,67	37,3	10,1	0,004
4	5	31,0	12,7	34,6	12,2	0,001
5	5	32,6	10,9	35,6	11,0	0,217
6	5	43,1	21,9	45,3	18,1	0,483
7	5	46,5	22,8	46,9	21,6	0,636
8	5	49,0	21,0	52,1	22,3	0,118
9	5	52,8	21,5	57,6	23,1	0,174
10	5	50,6	21,0	50,6	23,9	0,986
11	5	47,2	16,4	47,6	21,9	0,911
12	5	48,4	12,0	39,9	11,4	0,082
13	5	49,7	12,1	39,3	10,4	0,142
14	5	52,5	9,21	37,9	8,47	0,021
15	5	51,2	14,9	34,2	10,2	0,065
16	5	119	34,7	64,1	40,6	0,044
17	5	129	35,4	66,5	43,1	0,013
18	5	137	41,1	63,6	41,7	0,014
19	5	137	43,3	67,2	48,6	0,021
20	5	143	42,7	70,6	54,5	0,011
21	5	104	45,0	48,1	31,1	0,014
22	5	83,4	28,8	39,8	29,4	0,004
23	5	71,7	31,7	33,7	24,0	0,002
24	5	58,1	32,8	33,1	23,3	0,049
25	4	50,0	31,0	32,1	18,9	0,088

Tab. 9. 43: TDP-Konzentrationen (ng/ml) im bakterien-freien Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	28,7	5,70	30,3	5,36	0,255
3	5	31,2	6,35	30,4	7,34	0,426
4	5	32,0	8,21	30,4	9,06	0,047
5	5	30,4	3,89	30,3	4,81	0,872
6	5	30,9	4,81	30,6	6,49	0,829
7	5	31,2	6,39	29,7	5,56	0,220
8	5	30,6	5,10	29,1	5,50	0,189
9	5	30,1	6,14	29,3	7,17	0,218
10	5	30,8	6,44	29,9	4,23	0,455
11	5	29,1	9,44	27,5	7,61	0,156
12	5	29,9	6,39	29,4	6,65	0,463
13	5	27,8	4,31	26,2	2,36	0,380
14	5	32,2	6,46	29,9	6,62	0,060
15	5	32,4	8,53	32,6	8,53	0,888
16	5	29,0	6,29	28,8	7,08	0,930
17	5	32,5	8,18	29,3	6,08	0,162
18	5	35,7	10,8	31,5	5,60	0,175
19	5	37,0	10,2	29,4	6,21	0,020
20	4	36,0	14,3	29,1	8,86	0,111
21	5	31,1	7,98	29,3	7,00	0,431
22	5	30,3	9,68	29,4	8,90	0,474
23	5	31,0	7,56	31,1	7,18	0,762
24	5	30,2	7,94	31,2	7,65	0,464
25	4	36,2	7,54	33,9	4,83	0,186

Tab. 9. 44: TMP-Konzentrationen (ng/ml) im bakterien-freien Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	2,43	2,27	2,41	2,36	0,966
3	4	1,66	0,36	1,64	0,58	0,889
4	5	1,30	0,63	1,43	0,74	0,560
5	5	2,01	0,43	1,91	0,84	0,753
6	5	1,77	0,99	1,28	0,54	0,103
7	5	1,88	1,49	1,81	1,46	0,604
8	5	1,38	0,57	1,17	0,58	0,068
9	5	1,81	0,78	1,40	0,71	0,065
10	5	1,59	0,55	1,36	0,56	0,038
11	5	1,91	1,58	1,51	1,34	0,020
12	5	1,70	0,67	1,57	0,43	0,423
13	5	2,09	0,86	2,15	1,00	0,784
14	5	2,11	0,60	1,79	0,79	0,059
15	5	2,39	1,04	2,49	0,76	0,632
16	5	2,79	1,94	3,07	1,97	0,558
17	5	3,33	1,32	3,21	1,09	0,884
18	5	4,75	3,10	4,82	2,80	0,976
19	5	3,92	1,42	2,74	0,82	0,233
20	5	5,42	3,15	4,14	1,59	0,476
21	5	2,30	0,79	3,74	3,12	0,352
22	5	1,59	0,56	3,18	1,95	0,136
23	5	1,93	0,34	1,73	0,10	0,250
24	5	2,03	0,66	1,67	0,44	0,317
25	4	2,76	1,74	3,01	2,65	0,661

Tab. 9. 45: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) im bakterienfreien Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	5,07	7,94	7,04	11,8	0,315
3	5	1,87	1,73	2,23	1,96	0,284
4	5	1,29	0,70	1,01	0,64	0,058
5	5	1,91	0,79	1,89	0,97	0,903
6	5	1,35	0,96	1,30	0,54	0,899
7	5	1,83	1,59	1,71	1,36	0,581
8	5	1,34	0,29	1,58	0,55	0,375
9	5	1,37	0,55	1,43	0,60	0,812
10	5	1,89	0,72	1,57	0,75	0,355
11	5	1,42	0,63	1,52	0,60	0,435
12	5	1,08	0,43	1,12	0,47	0,850
13	5	1,55	0,94	1,37	0,85	0,202
14	5	1,44	0,77	1,43	0,50	0,978
15	5	1,65	0,48	1,98	1,13	0,642
16	5	25,9	18,9	52,2	42,3	0,250
17	5	42,9	19,3	66,7	46,0	0,219
18	5	70,0	33,3	71,6	49,9	0,924
19	5	81,5	31,6	70,8	45,8	0,443
20	5	83,7	18,9	76,2	47,4	0,698
21	5	19,8	7,68	35,2	36,0	0,437
22	5	7,59	5,46	17,1	17,8	0,293
23	5	3,62	4,30	7,40	8,55	0,392
24	5	2,31	2,65	5,32	6,27	0,337
25	4	2,43	1,26	3,21	3,13	0,570

Tab. 9. 46: Gesamthiaminkonzentration (ng/ml) im bakterienfreien Überstand der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

		KF		FSA		
d	n	x	s	x	s	p-KSA
2	5	36,2	9,05	39,8	11,30	0,159
3	5	34,4	7,12	33,9	7,95	0,653
4	5	34,6	8,75	32,8	9,55	0,022
5	5	34,4	3,43	34,1	4,03	0,766
6	5	34,0	4,24	33,2	6,69	0,580
7	5	34,9	7,07	33,2	6,10	0,228
8	5	33,3	5,66	31,9	6,37	0,292
9	5	33,3	6,92	32,1	7,65	0,136
10	5	34,0	6,47	32,8	4,43	0,305
11	5	32,5	10,2	30,5	8,55	0,094
12	5	32,7	6,45	32,1	6,21	0,281
13	5	31,4	4,35	29,7	2,61	0,378
14	5	35,8	6,20	33,1	6,93	0,088
15	5	36,5	9,24	37,1	8,05	0,727
16	5	57,8	18,3	84,1	42,2	0,221
17	5	78,8	23,4	99,2	44,0	0,266
18	5	110	40,9	108	49,3	0,897
19	5	122	39,7	103	47,1	0,229
20	5	128	33,0	112	47,5	0,471
21	5	53,3	13,9	68,3	38,5	0,498
22	5	39,4	12,0	49,7	19,0	0,319
23	5	36,5	7,91	40,2	2,50	0,423
24	5	34,6	8,83	38,2	5,75	0,260
25	4	41,4	10,3	40,1	9,17	0,164

Tab. 9. 47: TDP-Konzentrationen (ng/ml) in der Bakterienfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	28,0	1,91	28,6	6,15	0,864
3	5	30,4	8,12	28,4	6,99	0,108
4	5	30,5	8,85	29,7	8,06	0,503
5	5	31,8	8,14	29,0	7,19	0,008
6	5	28,1	6,61	27,3	7,03	0,113
7	5	31,0	8,26	29,1	7,59	0,189
8	5	31,8	11,6	28,7	8,81	0,237
9	5	30,0	10,0	27,1	8,29	0,048
10	5	33,2	12,2	30,3	8,54	0,211
11	5	27,5	6,84	29,8	4,90	0,151
12	5	27,3	8,99	27,5	8,30	0,897
13	5	29,5	4,58	27,9	4,56	0,238
14	5	32,7	5,95	35,9	3,19	0,430
15	5	30,0	3,86	36,1	12,1	0,350
16	5	50,7	4,44	55,9	14,1	0,540
17	5	52,1	8,85	66,6	25,9	0,321
18	5	61,9	6,69	69,2	19,0	0,479
19	5	61,1	7,93	72,5	20,7	0,147
20	5	57,2	4,65	68,0	17,4	0,199
21	5	56,1	9,36	62,5	13,5	0,198
22	5	43,5	6,86	49,9	7,24	0,235
23	5	37,4	5,5	45,3	11,7	0,123
24	5	37,0	6,37	43,7	10,6	0,142
25	4	34,8	6,21	36,7	8,68	0,687

Tab. 9. 48: TMP-Konzentrationen (ng/ml) in der Bakterienfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation

d	n	KF		FSA		p-KSA
		x	s	x	s	
2	5	9,26	7,48	9,14	6,08	0,939
3	5	4,92	2,59	4,84	2,72	0,738
4	5	9,11	3,86	9,64	4,50	0,437
5	5	5,52	2,83	5,69	2,43	0,551
6	5	5,39	2,39	5,84	2,08	0,444
7	5	5,23	1,59	5,40	1,28	0,646
8	5	5,69	0,45	5,94	1,24	0,682
9	5	6,54	2,52	6,67	2,57	0,808
10	5	5,87	2,93	6,08	2,45	0,482
11	5	6,11	2,39	6,43	2,51	0,414
12	5	6,39	3,66	7,02	3,69	0,013
13	5	5,39	2,26	5,97	2,16	0,226
14	5	5,87	2,85	7,50	1,56	0,157
15	5	7,02	3,29	9,10	2,70	0,123
16	5	11,0	3,71	15,2	3,21	0,084
17	5	11,7	7,17	18,9	2,88	0,060
18	5	15,6	6,71	26,5	6,50	0,024
19	5	11,4	3,84	19,9	4,90	0,001
20	5	14,5	6,81	26,9	11,5	0,035
21	5	11,2	4,96	17,4	4,64	0,002
22	5	7,87	3,66	11,3	4,41	0,328
23	5	8,01	4,26	12,2	3,23	0,037
24	5	6,65	3,08	9,70	1,16	0,047
25	4	6,98	3,38	10,9	3,42	0,059

Tab. 9. 49: Thiaminkonzentrationen (ng/ml) in der Bakterienfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation							Tab. 9. 50: Gesamthiaminkonzentration (ng/ ml) in der Bakterienfraktion der KF- und FSA-Fermenter während 25-tägiger in-vitro-Inkubation						
d	n	KF x	s	FSA x	s	p-KSA	d	n	KF x	s	FSA x	s	p-KSA
2	4	3,29	0,81	3,32	0,77	0,935	2	5	39,9	8,65	40,4	11,0	0,921
3	5	2,27	1,17	2,06	1,09	0,375	3	5	37,6	11,4	35,3	10,5	0,091
4	5	2,88	0,48	2,82	0,73	0,753	4	5	42,5	7,00	42,2	7,54	0,855
5	5	2,43	1,00	2,39	0,85	0,664	5	5	39,7	9,20	37,1	7,83	0,024
6	5	2,38	0,96	2,38	0,87	0,970	6	5	35,9	7,71	35,5	8,80	0,653
7	5	3,13	1,20	2,67	1,16	0,042	7	5	39,3	10,2	37,2	9,55	0,213
8	5	3,00	0,63	2,47	0,69	0,020	8	5	40,5	11,7	37,1	10,1	0,131
9	5	2,76	1,13	2,52	1,16	0,088	9	5	39,3	12,9	36,2	11,5	0,052
10	5	2,89	0,71	2,67	5,88	0,397	10	5	41,9	14,4	39,1	10,4	0,234
11	5	2,18	0,88	2,19	1,32	0,985	11	5	35,8	9,67	38,4	8,27	0,211
12	5	2,92	0,96	2,50	1,58	0,437	12	5	36,6	7,10	37,0	7,46	0,804
13	5	2,67	1,28	2,27	1,14	0,122	13	5	37,6	7,03	36,2	5,70	0,302
14	5	3,00	0,91	2,85	0,66	0,616	14	5	41,6	9,26	46,3	3,27	0,381
15	5	3,95	2,19	3,51	1,22	0,396	15	5	41,0	7,10	48,7	12,5	0,338
16	5	7,84	3,27	9,18	3,89	0,070	16	5	69,6	11,1	80,2	13,4	0,299
17	5	8,94	3,34	9,25	2,80	0,826	17	5	72,7	13,5	94,7	27,7	0,250
18	5	8,07	1,74	9,27	2,04	0,046	18	5	85,5	13,0	105	24,7	0,197
19	5	7,53	1,66	8,39	3,54	0,408	19	5	80,1	11,0	101	25,0	0,048
20	5	8,67	3,00	8,43	3,30	0,416	20	5	84,0	16,2	103	28,2	0,045
21	5	6,19	1,28	6,21	1,56	0,973	21	5	73,5	14,5	86,2	16,8	0,050
22	5	4,21	1,37	4,64	0,57	0,434	22	5	55,6	10,2	65,8	8,52	0,266
23	5	3,14	1,28	3,55	1,85	0,494	23	5	48,5	9,51	60,0	15,7	0,122
24	5	2,92	1,21	3,37	1,35	0,590	24	5	46,5	8,98	56,8	10,2	0,112
25	4	3,39	1,61	4,66	2,30	0,128	25	4	45,2	9,75	52,3	10,9	0,259

9.4 Zusammensetzung des RUSITEC-Puffers

Tab. 9.51: Zusammensetzung des RUSITEC-Puffers (näheres s. MAIWORM 1994):

Lösung A	9,0 g NaHCO ₃ 6,5 g Na ₂ HPO ₄ d 4950 ml A. bidest.
Lösung B	7,0 g NaCl 7,0 g KCl 2,8 g MgCl ₂ % 6 H ₂ O 5,3 g CaCl ₂ % 2 H ₂ O d 1000 ml A. bidest.
Zusatz	376 mg Harnstoff pro 1000 ml Puffer

Danksagung

Herrn Univ.- Prof. Dr. H. Scholz danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung und wissenschaftliche Beratung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Besonders möchte ich mich bei Herrn Dr. Höltershinken bedanken, der mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand und dessen unermüdlicher und selbstloser Einsatz die Fertigstellung der Arbeit ermöglichte.

Einen ganz besonderen Dank möchte ich Herrn J. Senkpiel aussprechen, für die immer geduldige, freundliche und prompte Hilfe bei der Lösung labortechnischer Probleme.

Weiterhin danke ich allen Mitarbeitern der Klinik für Rinderkrankheiten der Tierärztlichen Hochschule für die stets geleistete, freundliche Unterstützung.

Den Mitarbeitern des Instituts für Tierernährung der Tierärztlichen Hochschule Hannover, insbesondere Frau Dr. P. Wolf und Herrn Rust möchte ich für die Erstellung der Futtermittelanalysen und die immer sehr freundliche Beantwortung zahlreicher Fragen danken.

Ein ganz großer Dank gebührt meinen Schwiegereltern, ohne deren Hilfe vor allem im letzten halben Jahr, diese Arbeit nicht hätte vollendet werden können.

Meinen Freunden Axel und Ralf möchte ich aufrichtig für die Hilfestellung bei der Bewältigung meiner computertechnischen Probleme danken.

Bei allen meinen Freunden und denjenigen, die mich immer wieder bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt, aufgemuntert und begleitet haben, möchte ich mich ganz herzlich bedanken.

Meinem Mann Martin danke ich von Herzen für seine endlose Geduld und für die tolle Unterstützung in allen Phasen dieser Arbeit.