

Institut für Nutztierwissenschaften  
Universität Hohenheim  
Fachgebiet Tierernährung  
Prof. Dr. Markus Rodehutschord

**Untersuchungen zur Eignung von Mangoschalen (*Mangifera indica* L.) in der  
Tierernährung und deren Einfluss auf die zootecnische Leistung sowie  
verdauungsphysiologische und mikrobiologische Parameter bei Absetzferkeln**

**DISSERTATION**

zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Agrarwissenschaften

vorgelegt der  
Fakultät Agrarwissenschaften

von

Lisa Brucker  
aus Bad Saulgau

2016

Die vorliegende Arbeit wurde am 03. März 2016 von der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften“ angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung:

08. April 2016

Leiter der Prüfung:

Prof. Dr. J. Wünsche

Berichterstatter, 1. Prüfer:

Prof. Dr. J. Zentek

Mitberichterstatter, 2. Prüfer:

Prof. Dr. M. Rodehutschord

3. Prüfer:

Prof. Dr. Dr. R. Carle



## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Nicht-Stärke-Polysaccharide, Nahrungsfaser - Definition der Begriffe	3
2.2	<i>Mangifera indica</i> L.	4
2.2.1	Vorkommen, Produktion und Nutzung der Mango	4
2.2.2	Inhaltsstoffe der Mangofrucht und ihrer Nebenprodukte	5
2.2.3	Polyphenole im Fruchtfleisch und den Schalen der Mango	10
2.3	Pektine	12
2.3.1	Chemische Struktur und physikalisch-chemische Eigenschaften von Pektinen	12
2.3.2	Vorkommen und Gewinnung von Pektinen	15
2.3.3	Physiologische Wirkung von Pektinen und deren Einsatz in der Tierernährung	16
3	Material und Methoden	24
3.1	<i>In vitro</i> -Inkubationsmethoden	24
3.1.1	Kurzzeitinkubationen mit verschiedenen Kohlenhydraten	24
3.1.2	Semikontinuierliche Langzeitinkubationen	26
3.1.3	Analysen der Proben aus den <i>in vitro</i> -Inkubationen	29
3.2	Infektionsversuche mit der permanenten porcinen Darmzelllinie IPEC-J2	31
3.3	Fütterungsversuch	36
3.3.1	Versuchsaufbau und -durchführung	36
3.3.2	Erfassung der zotechnischen Parameter	37
3.3.3	Futtermittelanalytik	38
3.3.4	Probengewinnung zur Analyse intestinaler Parameter	40
3.3.5	pH-Wert Messung sowie Bestimmung des TS-Gehalts und der Verdaulichkeit	41
3.3.6	Mikrobiologische Untersuchungen	43
3.3.7	Statistische Auswertung	47
4	Ergebnisse	48
4.1	<i>In vitro</i> -Inkubationen	48

4.1.1	Ergebnisse der Kurzzeitinkubationen mit verschiedenen Kohlenhydraten	48
4.1.2	Ergebnisse der semikontinuierlichen Langzeitinkubationen von Caecumdigesta von Ferkeln mit Mangoschalen bzw. Apfelpektin	50
4.2	Ergebnisse der Infektionsversuche mit der permanenten Zelllinie IPEC-J2	52
4.3	<i>In vivo</i> -Versuch	54
4.3.1	Versuchsdiäten	54
4.3.2	Zootechnische Daten	54
4.3.3	Verdauungsphysiologische Parameter	58
4.3.4	Mikrobiologische Parameter	59
5	Diskussion	70
5.1	Hintergrund und Ziel der Arbeit	70
5.2	<i>In vitro</i> -Untersuchungen	70
5.2.1	Kritik der Methoden der <i>in vitro</i> -Inkubationen	70
5.2.2	Diskussion der Ergebnisse der Inkubationsmethoden	73
5.2.3	Kritik der Methode der Infektionsversuche mit der Zelllinie IPEC-J2	75
5.2.4	Diskussion der Ergebnisse der Infektionsversuche mit der Zelllinie IPEC-J2	77
5.3	Fütterungsversuch	78
5.3.1	Kritik der Versuchsbedingungen	78
5.3.2	Diskussion der Leistungsdaten	79
5.3.3	Diskussion der Ergebnisse der verdauungsphysiologischen Untersuchungen	81
5.3.4	Diskussion der Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen	82
5.4	Schlussfolgerungen und Ausblick	90
6	Zusammenfassung	92
7	Summary	94
8	Literatur	96
9	Anhang	115

## Abkürzungsverzeichnis

®	Eingetragenes Warenzeichen
bp	Basenpaare
CFDA-SE	Carboxyfluorescein Diacetat Succinimidylester
cv.	Cultivar
DNA	Deoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FACS	Fluorescence-activated cell sorting
GAE	Gallic acid equivalent, Gallussäureäquivalent
GalA	Galacturonic acid, Galakturonsäure
GC	Gaschromatografie
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
GIT	Gastrointestinaltrakt
HG	Homogalacturonan
HM	High methoxyl, hochverestert
HPLC	High-performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IDF	Insoluble dietary fibre, unlösliche Nahrungsfasern
KBE	Koloniebildende Einheit
LM	Low methoxyl, niedrigverestert
MOPS	3-(N-Morpholino)propansulfonsäure
n.n.	nicht nachweisbar
NaCl	Natriumchlorid
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat
NaOH	Natriumhydroxid
NSP	Nicht-Stärke-Polysaccharide
OM	Organische Masse
PBS	Phosphate buffered saline, phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion
PRAS	Prereduced anaerobe sterilized Medium
qPCR	Quantitative Echtzeit-Polymerasekettenreaktion
rpm	Rotations per minute, Umdrehungen pro Minute
RT	Raumtemperatur
spp.	Spezies (plural)
SDF	Soluble dietary fibre, lösliche Nahrungsfasern
TDF	Total dietary fibre, Gesamtnahrungsfasern
TNE	Tris-Natriumchlorid-EDTA
TS	Trockensubstanz
uS	Ursprüngliche Substanz
USDA	United States Department of Agriculture
UWL	Unstirred water layer
V	Verdünnung
VDLUFA	Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- & Forschungsanstalten
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein
x g	x-fache Erdbeschleunigung, $g = 9,81 \text{ m/s}^2$

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über Bezeichnungen und Definitionen verschiedener in der Analytik gebräuchlicher Begriffe.....	4
Tabelle 2: Übersicht über Gehalt an $\beta$ -Carotin im Fruchtfleisch verschiedener Mangosorten	6
Tabelle 3: Übersicht über den Nährstoffgehalt verschiedener Haupt- und Nebenprodukte der Mangofrucht .....	10
Tabelle 4: Phenolische Komponenten der Mangoschale [mg GAE/kg TS] (Berardini <i>et al.</i> 2005b).....	12
Tabelle 5: Pipettierschema für die Kurzzeitinkubation .....	25
Tabelle 6: Übersicht über die Zugabe der Substrate in die Fermenter des Inkubationssystems.....	29
Tabelle 7: Übersicht über die Versuchsgruppen .....	37
Tabelle 8: Definierung der Darmabschnitte zur Probenentnahme.....	41
Tabelle 9: pH-Werte und bakterielle Metaboliten nach 24 Stunden Inkubation von Sauenkotsuspensionen in Medien mit verschiedenen Testsubstanzen (0,2 %) (n = 5), Median (Minimum - Maximum) .....	49
Tabelle 10: pH-Werte, bakterielle Metaboliten und Redoxpotential nach Langzeitinkubationen von Caecuminhalt mit zwei Substratquellen (0,1 %) (n = 3).....	51
Tabelle 11: Einfluss pflanzlicher Substanzen auf die Fluoreszenz von IPEC-J2-Zellen als Parameter der Adhäsion eines fluoreszenzmarkierten enterotoxischen <i>E. coli</i> -Stamms, Median (Minimum - Maximum), (n = 4) .....	53
Tabelle 12: Nährstoffzusammensetzung der fünf Versuchsdiäten (Ferkelaufzuchtfutter I und II) sowie von Mangoschalen und Apfelpektin.....	55
Tabelle 13: Mittlere Lebendmasse [kg] der fünf Versuchsgruppen bei Versuchsbeginn und am Ende der einzelnen Versuchswochen (Median (Minimum - Maximum)).....	56
Tabelle 14: Mittlere tägliche Lebendmassezunahme [g/Tag] der fünf Versuchsgruppen in den einzelnen Versuchswochen sowie über die gesamte Versuchsdauer (Median (Minimum - Maximum)) .....	56
Tabelle 15: Mittlere tägliche Futteraufnahme [g/Tag] der fünf Versuchsgruppen in den einzelnen Versuchswochen sowie über die gesamte Versuchsdauer (Median (Minimum - Maximum)) .....	57

Tabelle 16: Mittlerer Futteraufwand der fünf Versuchsgruppen in den einzelnen Versuchswochen sowie über die gesamte Versuchsdauer (Median (Minimum - Maximum))	57
Tabelle 17: Trockensubstanzgehalt [% der uS] der Digesta von Ileum und Rectum sowie scheinbare praecaecale- und Gesamtverdaulichkeit [%] des Rohproteins und Rohfetts der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung).....	58
Tabelle 18: pH-Werte der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GIT der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung).....	59
Tabelle 19: Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren [ $\mu\text{mol/g uS}$ ] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum)).....	61
Tabelle 20: Relativer Anteil [mol. %] der kurzkettigen Fettsäuren an der Gesamtkonzentration in der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum)) .....	62
Tabelle 21: D- und L-Laktat Konzentrationen [ $\mu\text{mol/g uS}$ ] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum)) .....	63
Tabelle 22: Konzentration des Ammoniums [ $\mu\text{mol/g uS}$ ] der Digesta in den Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) .....	64
Tabelle 23: Konzentration biogener Amine [ $\mu\text{mol/g uS}$ ] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum)) .....	65
Tabelle 24: Konzentration der phenolischen Verbindungen [ $\mu\text{g/g uS}$ ] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum)).....	67
Tabelle 25: Kopienanzahl [ $\log_{10}/\text{g Digesta}$ ] von Bakterien bestimmter mikrobieller Gruppen in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum)).....	68
Tabelle 26: Substratverwertungs­kapazität von Faecesproben in BIOLOG MT2-Platten mit 0,17 % Mangoschalen bzw. Apfelpektin als einzige Kohlenhydratquelle (Optische Dichte $A_{590}$ ; Median (Minimum - Maximum)) .....	69
Tabelle 27: Zusammensetzung (g/L <i>aqua bidest.</i> ) des für die Kurzzeitinkubation verwendeten PRAS-Puffers.....	115
Tabelle 28: Analysergebnisse der Mangoschalen.....	115

Tabelle 29: Zusammensetzung (mmol/L <i>aqua bidest.</i> ) der für die Langzeitinkubation verwendeten Pufferlösung.....	116
Tabelle 30: Verdünnungsstufen der Testmaterialien für die Infektionsversuche .....	116
Tabelle 31: Pipettierschema der 24er Zellkulturplatte der mit pflanzlichem Extrakt behandelten und mit <i>E. coli</i> infizierten IPEC-J2-Zellen .....	116
Tabelle 32: Zusammensetzung der Versuchsdüäten (Ferkelaufzuchtfutter I).....	117
Tabelle 33: Zusammensetzung der Versuchsdüäten (Ferkelaufzuchtfutter II).....	118
Tabelle 34: Zusammensetzung des Saugferkelbeifutters (Tag 24-28).....	119
Tabelle 35: Bewertungsschema zur Gesundheitsbeurteilung .....	120
Tabelle 36: Beurteilung des Gesundheitszustands aller Ferkel der verschiedenen Gruppen anhand des Bewertungsschemas für jede Versuchswoche (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung) .....	120
Tabelle 37: Verwendete Primer für die qPCR .....	122
Tabelle 38: Reaktionsbedingungen für die qPCR .....	122
Tabelle 39: Mengenverhältnisse eines Reaktionsansatzes mit Brilliant II SYBR® Green Low ROX QPCR Master Mix für die qPCR.....	123

### **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Schematische Darstellung einer Fermentationseinheit für die semikontinuierliche Langzeitinkubation von Caecuminhalt mit Mangoschalen bzw. Apfelpektin, nach Kröger (2009).....	27
Abbildung 2: Beispiel für die durchflusszytometrische Darstellung von mit <i>E. coli</i> infizierten IPEC-J2 Zellen .....	35

## 1 Einleitung

Die Suche nach pflanzlichen Futtermittelzusatzstoffen zur Verbesserung der Tiergesundheit wurde seit dem Jahr 2006, durch das Verbot der antibiotisch wirksamen Leistungsförderer in der Europäischen Union, deutlich intensiviert. In der Schweineproduktion stellt dabei die Wirkung pflanzlicher Futtermittelzusatzstoffe oder auch Einzelfuttermittel vor allem in der kritischen Phase des Absetzens eine vielfach untersuchte Thematik dar. Die in dieser Phase häufig auftretenden Stressfaktoren wie Futterumstellung, Trennung von der Mutter und der gewohnten Umgebung sowie der Transport und die Zusammenstellung neuer Gruppen können zu Erkrankungen des Verdauungstrakts führen. Um die dadurch entstehenden Verluste zu verringern, wurde der Einsatz verschiedener pflanzlicher Futtermittelzusatzstoffe bei Schweinen bereits in zahlreichen Studien untersucht (Manzanilla *et al.* 2004; Namkung *et al.* 2004; Deng *et al.* 2007; Windisch *et al.* 2008; Deng *et al.* 2010; Bruins *et al.* 2011; Liu *et al.* 2013).

Darüber hinaus ist in der Tierernährung der Einsatz von Nebenprodukten aus der Lebensmittelindustrie angesichts der zunehmenden Futtermittelknappheit und der durchaus noch wertvollen Inhaltsstoffe dieser Produkte keine Neuheit. Traditionell zählen dazu zum Beispiel Nebenprodukte der Stärkeindustrie, der Bierbrauerei oder der Verarbeitung von Obst, wie Apfel- oder Traubentrester. Auch in der mangoverarbeitenden Industrie fallen viele Tonnen an Schalen als Nebenprodukt an. Im Jahr 2013 belief sich die weltweite Produktion von Mango, Mangostan und Guaven auf über 43 Millionen Tonnen, die überwiegend in Asien, Amerika und Afrika produziert wurden (FAOSTAT 2015). Dabei kann der Anteil der Schale an der Gesamtf Frucht bei Mangos je nach Sorte 15-20 % betragen (Beerh *et al.* 1976; Kim *et al.* 2012). Das Nebenprodukt Mangoschale weist noch wertvolle Inhaltsstoffe auf, wie zum Beispiel einen hohen Gehalt an löslicher Nahrungsfaser und Polyphenolen, was bereits in zahlreichen Studien belegt wurde (Sudhakar & Maini 2000; Rehman *et al.* 2004; Berardini *et al.* 2005b; Sirisakulwat *et al.* 2008). Aufgrund ihrer Inhaltsstoffe zeichnen sich Mangoschalen durch eine hohe antioxidative Kapazität aus (Larrauri *et al.* 1996a; Larrauri *et al.* 1996b; Larrauri *et al.* 1997).

Schlussfolgernd stellt sich die Frage, die auch die Hypothese dieser vorliegenden Studie ist: Eignen sich Mangoschalen als pflanzliches Einzelfuttermittel für Absatzferkel und können sie eventuell sogar zu einer Verbesserung der Tiergesundheit und Leistung der Ferkel führen?

Um diese Frage beantworten zu können, wurde in der vorliegenden Studie zunächst durch *in vitro*-Methoden versucht, das mögliche Wirkungsprofil von Mangoschalen genauer zu untersuchen. Dabei sollte anhand zweier Inkubationsmethoden die Auswirkung einer Zugabe von Mangoschalen in das jeweilige System mit anderen pflanzlichen Substanzen verglichen

werden. Ein Überblick über die generelle Fermentierbarkeit der Mangoschalen mit entsprechendem Einfluss auf die Bildung der bakteriellen Metaboliten sollte belegt werden.

Eine weitere *in vitro*-Methode stellt die Untersuchung möglicher positiver Effekte von Mangoschalen und deren Nebenprodukten durch Arbeiten mit einer Zellkultur dar. Durch Infektionsversuche mit einem enterotoxischen *Escherichia coli* Stamm und einer permanenten porcinen Darmzelllinie sollten dabei potentiell durchfallprophylaktische Effekte der Mangoschalen aufgezeigt werden.

Um die Hypothese der Studie abschließend klären zu können, erfolgte die Durchführung von Fütterungsversuchen mit Absetzferkeln. Dabei wurden die Auswirkungen einer ein- und zweiprozentigen Zulage von Mangoschalen gegenüber Apfelpektin in Ferkelaufzuchtfutter auf die zootecnische Leistung, sowie verdauungsphysiologische und mikrobiologische Parameter untersucht.

Im Fokus der gesamten Arbeit stand dabei, die mögliche Wirkung von Mangoschalen auf die Fermentationsvorgänge im Gastrointestinaltrakt von Ferkeln zu untersuchen.

## 2 Literaturübersicht

### 2.1 Nicht-Stärke-Polysaccharide, Nahrungsfaser - Definition der Begriffe

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

Die Gruppe der Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP) stellte einen mengenmäßig wesentlichen Anteil der Mangoschale dar, darunter dominieren die Pektine. Pektine werden den Nicht-Stärke-Polysacchariden zugeordnet, welche eine sehr heterogene Gruppe von Substanzen sind. Die NSP können im tierischen und menschlichen Verdauungstrakt nicht durch körpereigene Enzyme abgebaut werden. Aufgrund des häufigen Vorkommens in Zellwänden von Pflanzen werden sie unter dem Begriff „pflanzliche Gerüstsubstanzen“ zusammengefasst (Jeroch *et al.* 2008).

#### **Nahrungsfaser (*dietary fibre*)**

Der Begriff *dietary fibre* wurde bereits von Hipsley (1953) erwähnt, aber erst 20 Jahre später von Trowell (1974) definiert. Laut dieser ersten Definition ist *dietary fibre* der Rückstand von pflanzlichen Nahrungsmitteln, die nicht durch die menschlichen Verdauungsenzyme hydrolysiert werden können. Bereits zwei Jahre später erweiterte Trowell die Definition und fügte die chemischen Komponenten hinzu, die natürlicherweise mit den strukturellen Polymeren verbunden oder um diese herum konzentriert sind (Trowell 1976). Diese erweiterte Definition beinhaltet Cellulose, Hemicellulose, Lignin, Harze, Schleimstoffe, Oligosaccharide und Pektine und damit verbundene Stoffe wie Wachse, Cutin und Suberin. Im Jahr 1998 wurde von einem Komitee der „American Association of Cereal Chemists“ nachfolgende Definition festgelegt: *Dietary fibre* ist der essbare Anteil von Pflanzen oder entsprechenden Kohlenhydraten, die beständig gegenüber Verdauung oder Absorption im menschlichen Dünndarm sind, mit einer kompletten oder teilweisen Fermentation im Dickdarm. Sie beinhaltet Polysaccharide, Oligosaccharide, Lignin und damit verbundene pflanzliche Substanzen (DeVries 2003). Diese Definition wird auch beim Schwein und anderen Nicht-Wiederkäuer-Spezies genutzt (Bindelle *et al.* 2008). In der nachfolgenden Tabelle 1 sind die in der Tierernährung bzw. der Futtermittelanalytik im Zusammenhang mit Faserkomponenten gebräuchlichen Bezeichnungen und Analyseverfahren aufgeführt.

Im deutschen Sprachgebrauch besteht keine eindeutige Zuordnung von Pektinen in eine definierte Stoffgruppe. Sie werden den NSP zugeordnet (Bakker *et al.* 1998; Jeroch *et al.* 2008), als pflanzliche Strukturstoffe bezeichnet, jedoch ohne eine Faserstruktur zu haben (Drochner & Coenen 1986), oder als Ballaststoffe oder Nahrungsfaser beschrieben. In den nachfolgenden Abschnitten der vorliegenden Arbeit wird für *dietary fibre* der Begriff Nahrungsfaser verwendet.

**Tabelle 1: Übersicht über Bezeichnungen und Definitionen verschiedener in der Analytik gebräuchlicher Begriffe**

Bezeichnung	Autor	Analyse	Komponenten
Rohfaser (XF)	Henneberg & Stohmann 1860	Weender Verfahren XF = Organischer Rückstand nach definierter Säure- und Alkalibehandlung	Cellulose, Hemicellulose, teilweise $\beta$ -Glucane, Pentosane, Lignin, Suberin, Cutin
NfE (Stickstofffreie Extraktstoffe)		NfE wird rechnerisch ermittelt: NfE [g/kg] = 1000 g - Rohwasser - Rohasche - Rohprotein - Rohfett - Rohfaser	Leicht lösliche Kohlenhydrate wie Stärke, Glykogen und Zucker sowie lösliche Anteile pflanzlicher Gerüstsubstanzen wie Pektine, Pentosane, $\beta$ -Glucane
NDF (neutral detergent fibre)	van Soest (1963a)	Detergenzienmethode	NDF = Hemicellulosen, Cellulose, Lignin, (Asche)
ADF (acid detergent fibre)	van Soest (1963b)		ADF = Cellulose, Lignin, (Asche)
ADL (acid detergent lignin)	van Soest & Wine (1967)		ADL = Lignin
NSP	Englyst <i>et al.</i> (1982) Englyst & Cummings (1984)	Enzymatisch-kolorimetrische Methode: Stärke enzymatisch entfernt, drei parallele Hydrolyseverfahren, Messung der neutralen Zucker durch gasflüssigchromatografisches Verfahren & Uronsäure durch kolorimetrisches Verfahren	Summe der NSP, Nicht-Cellulose-Polysaccharide, unlösliche NSP
Dietary fibre (Nahrungsfaser)	Hipsley (1953) Trowell (1974)	Erste Nennung des Begriffs Physiologisch-biologische Definition: Nahrungsfasern sind der Rückstand von pflanzlichen Nahrungsmitteln, die nicht durch menschliche Verdauungsenzyme hydrolysiert werden können	Cellulose, Hemicellulose, Lignin, Harze, Schleimstoffe, Oligosaccharide und Pektine und damit verbundene Stoffe wie Wachse, Cutin und Suberin
TDF (total dietary fibre)	Prosky <i>et al.</i> (1987)	Enzymatisch-gravimetrische Methode:	
SDF (soluble dietary fibre)	Prosky <i>et al.</i> (1992) Lee <i>et al.</i> (1992)	AOAC Methode 991.43, 991.42, 993.19	
IDF (insoluble dietary fibre)			

## 2.2 *Mangifera indica* L.

### 2.2.1 Vorkommen, Produktion und Nutzung der Mango

Die Mango (*Mangifera indica* L.) ist eine Steinfrucht und gehört zu der Familie der Sumachgewächse, die hauptsächlich in den tropischen und subtropischen Klimazonen angebaut werden. Im Jahr 2013 belief sich die Produktion von Mango, Mangostan und Guaven auf über 43 Millionen Tonnen, die überwiegend in Asien, Amerika und Afrika

produziert wurden (FAOSTAT 2015). Die Mango wird aufgrund ihres süßen und exotischen Geschmacks weltweit konsumiert, bildet aber auch in einigen Regionen einen essentiellen Bestandteil einer bedarfsdeckenden Ernährung der Menschen (Ribeiro & Schieber 2010). Neben dem zunehmenden Export und Import der frischen Früchte steigt auch die Nachfrage nach verarbeiteten Mangoprodukten (Galán Saúco 2004). Eine Vielzahl von Produkten kann durch die Verarbeitung von Mangos entstehen, wie zum Beispiel Saft, Essig, Nektar, Konzentrate, Konfitüren, Fruchtriegel, Dosenfrüchte oder getrocknetes Fruchtfleisch (Loeillet 1994; Singh *et al.* 2000; Vasquez-Caicedo *et al.* 2004). Bei der Verarbeitung von Mangofrüchten entstehen Abfall- oder Nebenprodukte, zu welchen vorwiegend der Stein und die Schale zählen. Der Anteil der Schale an der Gesamtf Frucht kann je Sorte 15-20 % betragen (Beerh *et al.* 1976; Kim *et al.* 2012). Der Anteil des Steins variiert von 10-30 % (Larrauri *et al.* 1996b). Der bei der Verarbeitung entstehende Abfall kann, in Abhängigkeit der jeweiligen Mangosorte und des hergestellten Produkts, nach Larrauri *et al.* (1996b) 35-60 % der Ausgangsfrucht betragen, dabei ist die Entsorgung dieses Abfalls bei der steigenden Produktion ein zunehmendes Problem (Dorta *et al.* 2012). Die Nutzung dieser Abfall- oder Nebenprodukte ist daher aufgrund mehrerer Aspekte als sinnvoll zu betrachten.

Studien zur Nutzung der Schalen sind eher selten, bisher wurden vor allem der Einsatz in der Biogasproduktion (Mahadevaswamy & Venkataraman 1990; Viswanath *et al.* 1992; Madhukara *et al.* 1993) oder als Nahrungsfaser mit einer hohen antioxidativen Aktivität untersucht (Larrauri *et al.* 1996a; Larrauri *et al.* 1996b; Larrauri *et al.* 1997).

### **2.2.2 Inhaltsstoffe der Mangofrucht und ihrer Nebenprodukte**

#### **Fruchtfleisch**

Die nutritiven Inhaltsstoffe des Fruchtfleischs der Mango und deren Zusammensetzung variieren je nach Sorte, klimatischen Standortbedingungen und Reifegrad der Frucht (Masibo & He 2009). Das Fruchtfleisch weist jedoch generell einen geringen Protein- und Fettgehalt auf und einen Kohlenhydratgehalt von etwa 15 % (Ribeiro & Schieber 2010). Die Analyse des Fruchtfleischs vier verschiedener Mangosorten (Tommy Atkins, Keitt, Kent, Haden) ergab durchschnittlich nachfolgende Gehalte: 0,82 % Rohprotein, 0,38 % Rohfett und 1,60 % TDF. Bei den Mineralstoffen und Spurenelementen zeigte Kalium mit 168 mg/100 g den höchsten Anteil, wohingegen die Gehalte an Phosphor (14 mg/100 g), Calcium (11 mg/100 g) und Magnesium (10 mg/100 g) vergleichsweise geringer sind (USDA 2014).

Darüber hinaus enthält das Fruchtfleisch der Mango weitere wichtige Inhaltsstoffe. Das Fruchtfleisch ist nach Chen *et al.* (2004) besonders reichhaltig an  $\beta$ -Carotin, welches eine hohe Provitamin A Aktivität aufweist (Ribeiro & Schieber 2010). Es sind auch hierbei mehrere Faktoren entscheidend für den Gehalt, dazu gehören sowohl die sortenbedingte

Varianz als auch der jeweilige Reifegrad der Frucht. Die Werte für  $\beta$ -Carotin im Fruchtfleisch von Mangos zeigen in der Literatur daher eine große Spannweite von 0,40 mg/100 g bis zu 3,21 mg/100 g (siehe Tabelle 2).

**Tabelle 2: Übersicht über Gehalt an  $\beta$ -Carotin im Fruchtfleisch verschiedener Mangosorten**

$\beta$ -Carotin Gehalt [mg/100 g]	Sorte	Literatur
0,58	(cv. Tommy Atkins)	Mercadante & Rodriguez-Amaya (1998)
0,67	(cv. Keitt)	
0,40	(cv. Paraiso)	Ornelas-Paz <i>et al.</i> (2007)
2,80	(cv. Haden)	
0,55	(cv. Malgoa)	Veda <i>et al.</i> (2007)
1,83	(cv. Raspuri)	
1,27	(cv. Totapuri)	
3,21	(cv. Badami)	
0,66	(cv. Palmer)	Ribeiro <i>et al.</i> (2007)
2,22	(cv. Ubá)	
> 0,5	(cv. Ataulfo)	Corral-Aguayo <i>et al.</i> (2008)

Neben dem variierenden Gehalt an  $\beta$ -Carotin ist auch die Bioverfügbarkeit entscheidend für einen potentiellen positiven Effekt beim Verzehr von Mangos. Die Studie von Veda *et al.* (2007) zeigte, dass durch die Zugabe von Milch die Bioverfügbarkeit des  $\beta$ -Carotins der Mango deutlich von zwölf auf 56 % erhöht werden konnte. Die verbesserte Verfügbarkeit kann vermutlich auf den Fettgehalt der Milch zurückgeführt werden. Beim Verzehr von carotinhaltigen Lebensmitteln ist eine ausreichende Menge an Fett für eine optimale Absorption der unpolaren und somit fettlöslichen Carotinoide entscheidend (Thurnham 2007). Die Mangofrucht ist des Weiteren eine reichhaltige Vitamin C-Quelle. Der Gehalt an Vitamin C variiert jedoch ebenfalls je nach Sorte und Reifegrad von 9,79-77,7 mg/100 g (Nisperos-Carriedo *et al.* 1992; Vinci *et al.* 1995; Franke *et al.* 2004; Reyes & Cisneros-Zevallos 2007; Ribeiro *et al.* 2007; USDA 2014).

### **Mangokerne**

Der Mangokern liegt im Inneren einer Steinhülle, die ein bis zwei Millimeter dick sein kann. Der Stein der Mango ist ein einzelner flacher, länglicher Stein mit einer faserigen Oberfläche. Der Stein ist daher eine robuste Hülle, die den Kern umschließt (Kittiphoom 2012). In den folgenden hier aufgeführten Studien wurden ausschließlich Mangokerne untersucht.

In einer Studie von Arogba (1997) konnten bei gemahlene Mangokernen ein Rohaschegehalt von 1,20 %, ein Rohproteingehalt von 6,60 %, ein Rohfettgehalt von 9,40 % sowie ein Rohfasergehalt von 2,80 % nachgewiesen werden. Obwohl der Proteingehalt der

Kerne gering ist, weist das Aminosäurenprofil der essentiellen Aminosäuren auf eine gute Proteinqualität hin (Dhingra & Kapoor 1985; Abdalla *et al.* 2007). In einer Studie von Abdalla *et al.* (2007) wurden Mangokerne aus Ägypten unter anderem auf ihre chemische Zusammensetzung untersucht. Die Analyse der gemahlene Mangokerne ergab folgende Rohnährstoffgehalte: Rohasche 2,50 %, Rohprotein 6,70 %, Rohfett 12,3 %, Rohfaser 2,70 %. Die Analyse der essentiellen Aminosäuren ergab ein Gehalt (g Aminosäure/100 g Protein) an Leucin von 6,90, Valin 5,80, Isoleucin 4,40, Lysin 4,30, Threonin und Phenylalanin 3,40, Tyrosin 2,70 und Methionin 1,20. Der Aminosäuregehalt unterscheidet sich jedoch auch hierbei je nach Sorte (Elegbede *et al.* 1995; Arogba 1997).

In der Studie von Nzikou *et al.* (2010) zeigte die Analyse von Mangokernen vergleichbare Rohnährstoffgehalte. Die Autoren ermittelten einen Gehalt an Rohasche von 3,20 %, 6,36 % Rohprotein, 13,0 % Rohfett sowie 2,02 % Rohfaser. Die Analyse der Mineralstoffe und Spurenelemente (pro 100 g Trockensubstanz, TS) zeigt, dass Kalium mit 158 mg den höchsten Anteil aufweist, gefolgt von Magnesium (22,3 mg), Phosphor (20,0 mg), Calcium (10,2 mg) und Natrium (2,70 mg).

Darüber hinaus konnten in der Studie von Arogba (1997) in Mangokernen ein Stärkegehalt von 30,5 % belegt werden. Nach Diarra (2014) sind Mangokerne eine stärke- und fettreiche Nahrungsquelle. Das aus Mangokernen gewonnene Fett zählt aufgrund der Zusammensetzung zu den sechs in der Europäischen Union gesetzlich zugelassenen pflanzlichen Fetten, die als Ersatz von Kakaobutter in Schokoladenerzeugnissen eingesetzt werden dürfen (KakaoV 2003). Die Analyse der Fettsäuren im Mangokernöl zeigt im Vergleich mit pflanzlichen Ölen, dass Mangokerne erhebliche Mengen Stearin- (C18:0) und Ölsäure (C18:1) enthalten (Dhingra & Kapoor 1985; Abdalla *et al.* 2007; Nzikou *et al.* 2010).

### **Rindenextrakt**

Ein weiteres Nebenprodukt der Mangoproduktion ist der Rindenextrakt. Zu den bioaktiven Substanzen des Rindenextrakts zählen unter anderem die Polyphenole Mangiferin, Catechin, Epicatechin und Gallussäure (Núñez Sellés *et al.* 2002). Diese Polyphenole gehören zu den Hauptbestandteilen des Extrakts. Darüber hinaus enthält dieser Terpenoide und andere Komponenten wie Zucker, Polyalkohole, Phytosterole und ungesättigte Fettsäuren (Núñez Sellés *et al.* 2007). Der Markenname Vimang® stellt eine standardisierte Zusammensetzung aus dem wässrigen Extrakt der Baumrinde des Mangobaums dar. Dieser wird traditionell in Kuba aufgrund seiner anti-inflammatorischen, analgetischen, antioxidativen und immunmodulierenden Eigenschaften eingesetzt (Martínez *et al.* 2000; Garrido *et al.* 2001; García *et al.* 2002; García *et al.* 2003; Garrido *et al.* 2004). In einer Studie mit Mäusen konnte von Sánchez *et al.* (2000) belegt werden, dass dieser

standardisierte Extrakt im Vergleich zu Vitamin C, Vitamin E und  $\beta$ -Carotin effektiver als Radikalfänger wirkt und daher besser vor oxidativen Gewebeschäden schützen kann.

### **Mangoschalen**

Einige Studien ergaben, dass Mangoschalen vor allem einen hohen Gehalt an löslicher Nahrungsfaser und Polyphenolen aufweisen (Larrauri *et al.* 1996b; Sudhakar & Maini 2000; Rehman *et al.* 2004; Berardini *et al.* 2005b; Sirisakulwat *et al.* 2008).

In der Literatur finden sich kaum Studien über die Wirkung von Mangoschalen in der Tierernährung. Einer Studie von Rao *et al.* (2003) zufolge konnte bei einer Zulage von 10 % getrockneten Mangoschalen in der Versuchsdiät von Mastschweinen (Lebendmassebereich von 33-60 kg) kein Effekt der Mangoschalen auf die Futteraufnahme, tägliche Lebendmassezunahme oder Futtermittelverwertung ermittelt werden.

Die Angaben zum Gehalt der Rohnährstoffe von Mangoschalen in den verschiedenen Studien variieren je nach analysierter Mangosorte. Eine Studie, in der Mangoschalen der Sorte Zebda analysiert wurden, belegt einen Rohaschegehalt von 3,88 %, 3,60 % Rohprotein, 1,23 % Rohfett und 9,33 % Rohfaser (Ashoush & Gadallah 2011).

Die Analyse getrockneter Mangoschalen, welche aus der mangoverarbeitenden Industrie in Indien stammten, bei der jedoch keine genaueren Angaben über die Sorten vorlagen, ergab nachfolgende Gehalte: Rohasche 3,00 %, Rohprotein 3,60 %, Rohfett 2,20 %, TDF 51,2 %, SDF 19,0 % und 32,1 % IDF. In diesen Mangoschalen wurde ein Polyphenolgehalt von 96,2 mg Gallussäureäquivalenten (GAE) je Gramm Mangoschalenpulver ermittelt sowie ein Gehalt an Carotinoiden von 3092  $\mu\text{g/g}$  (Ajila *et al.* 2008). In einer weiteren Studie von Ajila *et al.* (2007) wurden Mangoschalen der beiden indischen Mangosorten Raspuri und Badami verglichen. Der Gehalt an Rohwasser variierte von 66-75 % und war in reifen Mangoschalen höher. Der Gehalt an Rohasche variierte von 1,16-3,00 %, der Rohproteingehalt von 1,76-2,05 %, der Rohfettgehalt von 2,16-2,66 % und der Rohfasergehalt von 3,28-7,40 %. Beim Vergleich der beiden Sorten variierten der Gehalt an Polyphenolen von 55 bis 110 mg GAE/g sowie der Nahrungsfasergehalt von 45-78 %. Ein charakteristisches Merkmal der Mangoschale ist der hohe Gehalt an löslicher Nahrungsfaser, die mit einer positiven gesundheitlichen Wirkung in Verbindung gebracht wird (Ajila *et al.* 2007). Studien, in denen das Pulver von Mangoschalen bis zu 5-20 % in Lebensmittel wie Gebäck oder Teigwaren integriert wurde, zeigen, dass ein höherer Gehalt an Nahrungsfasern erzielt wurde sowie verbesserte antioxidative Eigenschaften der Produkte (Ajila *et al.* 2008; Ajila *et al.* 2010; Ashoush & Gadallah 2011). Bereits Larrauri *et al.* (1996a) wiesen nach, dass die Nahrungsfasern von Mangoschalen der Sorte Hayden eine hohe antioxidative Kapazität haben. Die Ergebnisse belegten 3,4-fach höhere Werte für die antioxidative Kapazität der Nahrungsfasern der Mangoschalen im Vergleich zu  $\alpha$ -Tocopherol. In einer weiteren Studie

von Larrauri *et al.* (1996b) wurde festgestellt, dass Mangoschalen einen hohen Gehalt an löslicher Nahrungsfaser von 28 % aufweisen. Vergleichbare Gehalte wurden dabei in Zitrusfrüchten ermittelt. Darüber hinaus wurde in der Studie eine hohe Wasserbindungskapazität mit 11,4 g Wasser je g TS Mangoschalen nachgewiesen. Die Studie von Ashoush & Gadallah (2011) zeigte ebenfalls, dass gemahlene Mangoschalen mit 5,08 g Wasser/g Material eine hohe Wasserbindungskapazität aufweisen, jedoch sind auch hierbei wieder Sortenunterschiede zu finden. Die Studie von de Lourdes García-Magaña *et al.* (2013) dokumentiert, dass Schalen der Sorte Tommy Atkins 18,8 g Wasser je g Material binden konnten, Schalen der Sorte Ataulfo wiesen eine Wasserbindungskapazität von 17,8 g/g auf.

Mangoschalen wurden bereits in zahlreichen Studien hinsichtlich des Pektingehalts untersucht. Bereits Srirangarajan & Shrikhande (1977) belegten anhand der Analysen von Mangoschalen eine gute Pektinqualität mit einer Pektinausbeute von 13 % der TS mit einem Veresterungsgrad von 76 %. In einer Studie von Berardini *et al.* (2005a) wurde in lyophilisierten Mangoschalen ein Pektingehalt von 12,2 bis 21,2 % mit einem Veresterungsgrad von 56,3 bis 65,6 % ermittelt. Den Autoren zufolge deutet dies darauf hin, dass Mangoschalen eine potentielle Quelle für qualitativ hochwertiges Pektin darstellen. Dies kann durch weitere Studien bestätigt werden, welche je nach Extraktionsmethode einen Pektingehalt von bis zu 20 % auf Basis der TS in Mangoschalen nachweisen (Sudhakar & Maini 2000; Rehman *et al.* 2004). Darüber hinaus konnte in der Studie von Kratchanova *et al.* (1991) bei Mangoschalen eine Pektinausbeute von 18 bis 25 % nachgewiesen werden. Ausbeute und Qualität des Pektins sind jedoch größtenteils vom Ausgangsmaterial und der gewählten Extraktionsmethode abhängig (Rehman *et al.* 2004; Sirisakulwat *et al.* 2008).

Außerdem kann für die Pektinengewinnung aus Früchten auch der Reifegrad der Frucht entscheidend sein. Im Fruchtfleisch der Mango nimmt der Pektingehalt mit zunehmender Reife und weicher werdender Textur ab. Die strukturellen Veränderungen werden bedingt durch eine bessere Löslichkeit einiger Polysaccharidfraktionen und einer zunehmenden Aktivität der degradierenden Enzyme (Roe & Brümmer 1981; Prasanna *et al.* 2003; Yashoda *et al.* 2005). In der Mangoschale hingegen ist nach Sirisakulwat *et al.* (2008) der Pektingehalt unabhängig vom Reifegrad der Frucht. Nach der Ernte ist die Depolymerisation der Pektine in den Schalen während der Reifung und Lagerung eher unbedeutend. Den Autoren zufolge weisen Mangoschalen mit Apfeltrester vergleichbare Werte für die Pektinausbeute auf. Für Apfeltrester belegten Canteri-Schemin *et al.* (2005) einen Pektingehalt von 14 %. Nach Sirisakulwat *et al.* (2008) führt jedoch der geringere Gehalt an Galakturonsäure dazu, dass Mangoschalen hinsichtlich der Gelbildungskapazität schlechtere Verdickungseigenschaften aufzeigen als kommerzielles Apfelpektin.

In der nachfolgenden Tabelle ist eine Übersicht (Tabelle 3) über den Nährstoffgehalt der Mangofrucht und ihrer Nebenprodukte Mangokerne und -schalen aufgeführt.

**Tabelle 3: Übersicht über den Nährstoffgehalt verschiedener Haupt- und Nebenprodukte der Mangofrucht**

	Fruchtfleisch <sup>1</sup>	Mangokerne <sup>5</sup>	Mangoschalen <sup>7</sup>
		[g/100 g]	
Rohasche	0,31 <sup>2</sup>	3,20	3,00
Rohprotein	0,82	6,36	3,60
Rohfett	0,38	13,0	2,20
Rohfaser	-	2,02	-
TDF	1,60	-	51,2
SDF	-	-	19,0
IDF	-	-	32,1
Zucker	13,7	-	37,8 <sup>8</sup>
Stärke	-	30,5 <sup>6</sup>	7,67 <sup>8</sup>
		[mg/100 g]	
Calcium	11,0	10,2	445 <sup>9</sup>
Phosphor	14,0	20,0	-
Kalium	168	158	291 <sup>9</sup>
Natrium	1,00	2,70	63,8 <sup>9</sup>
Magnesium	10,0	22,3	95,0 <sup>9</sup>
β-Carotin	0,40 - 3,21 <sup>3</sup>	-	-
Vitamin C	9,79 - 77,7 <sup>4</sup>	-	68,5 - 84,7 <sup>10</sup>

<sup>1</sup> = USDA (2014)                      <sup>5</sup> = Nzikou *et al.* (2010)                      <sup>7</sup> = Ajila *et al.* (2008)  
<sup>2</sup> = Ribeiro & Schieber (2010)      <sup>6</sup> = Arogba (1997)                      <sup>8</sup> = Geerkens *et al.* (2013)  
<sup>3</sup> = siehe Tabelle 2                      <sup>9</sup> = Larrauri *et al.* (1996b)  
<sup>4</sup> = siehe Seite 6                      <sup>10</sup> = Sogi *et al.* (2013)

### 2.2.3 Polyphenole im Fruchtfleisch und den Schalen der Mango

Polyphenole sind eine heterogene Gruppe aromatischer Verbindungen, zu denen die Gerb-, Farb- und Geschmacksstoffe zahlreicher Pflanzen zählen. Sie gehören zu den sekundären Pflanzeninhaltsstoffen und werden in zwei Hauptgruppen unterteilt: Flavonoide und nicht-flavonoide Phenole (Landete 2012).

Polyphenolische Verbindungen wurden bereits in verschiedenen Studien im Fruchtfleisch und in den Schalen von Mangos nachgewiesen, dazu zählen mehrere Flavonoide, Xanthone, Phenolsäuren und Gallotannine (Schieber *et al.* 2000; Berardini *et al.* 2004; Berardini *et al.* 2005a; Berardini *et al.* 2005b). Es bestehen jedoch auch hierbei sortenbedingte Unterschiede. Noratto *et al.* (2010) belegten im Fruchtfleisch der Sorte Tommy Atkins

15,3 mg GAE/100 g und im Fruchtfleisch der Sorte Ataulfo 56,7 mg GAE/100 g. Eine weitere Studie zeigte ebenfalls deutliche Unterschiede zwischen den Sorten Haden und Úba von 48,4 bis 209 mg GAE/100 g Frischgewicht (Ribeiro *et al.* 2007). In der Studie von Schieber *et al.* (2000) wurden in Mangomus sowohl Phenolsäuren als auch komplexere Glykoside und hydrolysierbare Tannine nachgewiesen, ebenso sieben verschiedene Quercetin- und fünf Kaempferolglykoside. Kim *et al.* (2007) identifizierten Gallussäure als Hauptkomponente der Polyphenole in Mangos, gefolgt von sechs hydrolysierbaren Tanninen, welche etwa 98 % der gesamten Polyphenole ausmachen.

Ein entscheidender Grund für die variablen Polyphenolgehalte in den Studien ist die Extraktionsmethode. Ein wichtiger Faktor ist das eingesetzte Lösungsmittel, denn Lösungsmittel mit verschiedenen Polaritäten können verschiedene Verbindungen und variierende Gehalte dieser Verbindungen extrahieren (Chen *et al.* 2011).

Mehrere Studien belegen zudem auch in den Nebenprodukten der Mangofrucht nennenswerte Gehalte an Polyphenolen. Kim *et al.* (2012) zeigten in einer Studie, dass der Gehalt der fünf Hauptkomponenten Quercetin-3-O-Galactosid, Mangiferingallat, Isomangiferingallat, Quercetin-3-O-Arabinopyranosid und Mangiferin im Extrakt der Schalen höher war als im Fruchtfleischextrakt. Mangoschalen zeichneten sich auch in anderen Studien als reichhaltige Quelle für phenolische Verbindungen aus (Schieber *et al.* 2003). Zu den polyphenolischen Bestandteilen der Mangoschale zählen Mangiferin, Quercetin, Rhamnetin, Ellagsäure, Kaempferol und deren dazugehörenden Konjugate (Masibo & He 2008). In der Literatur finden sich aber auch hier wieder verschiedene Angaben über den Polyphenolgehalt von Mangoschalen. Einerseits ist die Wahl der Extraktionsmethode entscheidend, andererseits ist wiederum auch hierbei die Sorte maßgeblich der Grund für variierende Angaben. Die Studie von Barreto *et al.* (2008) zeigte dies deutlich anhand der Analyse von 16 Mangosorten und fünf verschiedenen Nebenprodukten. In dieser Studie wurden im methanolischen Extrakt von Mangoschalen überwiegend Penta-O-Galloyl-Glukosid nachgewiesen mit einer sortenabhängigen Varianz von 3,51 bis 45,4 g/kg TS. Als zweite Hauptkomponente konnte Methylgallat mit 0,25 bis 45,8 g/kg TS nachgewiesen werden, gefolgt von Mangiferin mit 3,37 bis 21,5 g/kg TS.

In einer Studie von Berardini *et al.* (2005b) wurde der Polyphenolgehalt von Mangoschalen in verschiedenen Verarbeitungsprozessen untersucht. Die Autoren belegten für Mangoschalen, die für 1,5 Stunden bei 90 °C getrocknet wurden, einen Gehalt von 4066 mg GAE je kg TS. Dabei zählen zu den ermittelten Komponenten: Mangiferin, Isomangiferin, Mangiferingallat, Isomangiferingallat, Quercetin 3-O-Galaktosid, Quercetin 3-O-Glukosid, Quercetin 3-O-Xylosid, Quercetin 3-O-Arabinopyranosid, Quercetin 3-O-Arabinofuranosid, Quercetin 3-O-Rhamnosid, Kaempferol 3-O-Glucoside, Rhamnetin 3-O-Galaktosid/Glukosid und Quercetin.

Die nachfolgende Tabelle 4 zeigt, dass sich der Polyphenolgehalt der Mangoschalen je nach Verarbeitungsprozess deutlich unterscheidet.

**Tabelle 4: Phenolische Komponenten der Mangoschale [mg GAE/kg TS] (Berardini *et al.* 2005b)**

Komponente	Getrocknete Mangoschalen (90 °C, 1 h 30 min)	Mangoschalenextrakt (Extraktion H <sub>2</sub> O/H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )
Mangiferin	1690 ± 135	1191 ± 22,1
Isomangiferin	135 ± 1,90	51,9 ± 0,20
Mangiferin Gallat	322 ± 24,4	97,7 ± 0,80
Isomangiferin Gallat	82,0 ± 7,80	19,7 ± 0,20
Quercetin 3-O-Galaktosid	651 ± 44,1	n.n.
Quercetin 3-O-Glukosid	558 ± 39,7	31,0 ± 0,70
Quercetin 3-O-Xylosid	207 ± 14,3	n.n.
Quercetin 3-O-Arabinopyranosid	102 ± 10,0	n.n.
Quercetin 3-O-Arabinofuranosid	104 ± 8,00	n.n.
Quercetin 3-O-Rhamnosid	20,1 ± 1,50	n.n.
Kaempferol 3-O-Glukosid	36,0 ± 2,20	n.n.
Rhamnetin 3-O-Galaktosid/Glukosid	94,4 ± 6,30	4,30 ± 0,00
Quercetin	65,3 ± 7,10	23,4 ± 1,10
Ellagsäure	n.n.	Spuren
Gesamt	4066 ± 151	1419 ± 22

n.n. = nicht nachweisbar

Eine besondere phenolische Komponente der Mango stellt das Mangiferin dar. Mangiferin zählt zu den natürlich vorkommenden Xanthonen. Es ist ein im Pflanzenreich weit verbreitetes C-Glykosid mit der Struktur 2-C-β-D-Gluco-pyranosid-1,3,6,7-tetrahydroxyxanthon (Hostettmann & Wagner 1977). Es wurden bereits mehrere Studien veröffentlicht, in denen die biologischen Wirkungen des Mangiferins nachgewiesen wurden. Dabei belegen Studien für Mangiferin eine starke antioxidative Kapazität (Sato *et al.* 1992; Stoilova *et al.* 2008; Martínez *et al.* 2012), antivirale Eigenschaften (Yoosook *et al.* 2000) sowie antidiabetische Effekte (Miura *et al.* 2001; Muruganandan *et al.* 2005).

Darüber hinaus wurden auch für die phenolische Komponente Quercetin bereits in zahlreichen Studien hohe antioxidative Eigenschaften ermittelt (Terao *et al.* 1994; Pulido *et al.* 2000; Makris & Rossiter 2001).

## 2.3 Pektine

### 2.3.1 Chemische Struktur und physikalisch-chemische Eigenschaften von Pektinen

Pektine sind Polysaccharide, die in der Mittellamelle und der primären Zellwand pflanzlicher Zellen vorkommen und vor allem hydratisierende, festigende und stützende Funktionen im

zellulären Geflecht haben (Muralikrishna & Tharanathan 1994). Pektine sind chemisch betrachtet Polymere der D-Galakturonsäure, welche über  $\alpha$ -1,4-Verbindung miteinander verknüpft sind und deren Carboxylgruppen vorwiegend mit Methanol verestert sind (Bakker *et al.* 1998). Pektine werden je nach Veresterungsgrad in zwei Gruppen unterschieden: Pektine mit einem Veresterungsgrad  $> 50$  werden als hochveresterte Pektine (HM, *high methoxyl*) bezeichnet, während die mit einem Veresterungsgrad  $< 50$  als niederveresterte Pektine (LM, *low methoxyl*) bezeichnet werden (Rolin 1993). Die Seitenketten variieren durch die verknüpften Zuckermoleküle Arabinose, Xylose, Galaktose und am häufigsten Rhamnose und den Anteil der freien Carboxylgruppen (Drochner *et al.* 2004).

### **Löslichkeit, Quellfähigkeit und Wasserbindungskapazität von Polysacchariden und Pektinen**

Polysaccharide sind hydrophile Moleküle mit zahlreichen freien Hydroxylgruppen, welche Wasserstoffbrückenbindungen mit Wasser bilden können und dadurch die Fähigkeit haben, Wasser zu binden (Dreher 2001). Löslichkeit und Viskosität vieler Polysaccharide sind abhängig von der Salzkonzentration und dem pH-Wert (Eastwood *et al.* 1986). Die Abfolgen verschiedener Bedingungen entlang des Gastrointestinaltrakts (GIT), wie der Wechsel des pH-Werts oder der Mineralstoffkonzentrationen, können die Löslichkeitswerte beeinflussen. Für die Löslichkeit und Viskosität von Pektinen ist die Wasserbindungskapazität ein wichtiger Parameter. Bereits Stephen & Cummings (1979) konnten in einer *in vitro*-Studie zeigen, dass Pektine (Bulmer's Firmagel, Bulmer Pectin Ltd., Hereford, England) mit 56,2 g Wasser/g Material eine sehr hohe Wasserbindungskapazität aufweisen. Die Übertragung der *in vitro*-Ergebnisse auf die Wirkung im GIT ist jedoch nicht einfach ohne weiteres möglich. Die hohe Kapazität von Pektinen, Wasser zu binden, führt zu einer hohen Quellfähigkeit, welche wiederum zur Oberflächenvergrößerung der Pektine führt. Diese Oberflächenvergrößerung begünstigt die Fermentation durch Mikroben und den schnellen Abbau der Pektine (Noblet & Le Goff 2001).

### **Pufferkapazität und Fähigkeit zur Ionenbindung von Nahrungsfasern und Pektinen**

Verschiedene Nahrungsfaserkomponenten zeigten bereits *in vitro*, dass sie aufgrund ihrer hohen Bindungskapazität die Bioverfügbarkeit von für die Ernährung wichtigen Mineralien (Idouraine *et al.* 1996) sowie die Schwermetalltoxizität (Mata *et al.* 2009) beeinflussen. Nahrungsfasern werden im GIT von Bakterien in den hinteren Darmabschnitten, insbesondere im Colon mit unterschiedlicher Intensität abgebaut. Daher unterscheidet sich die Ionenaustauschkapazität unter den dynamischen Bedingungen im GIT deutlich von den erzielten *in vitro*-Ergebnissen (Thibault *et al.* 1992). Bei Pektinen entsteht die Kationenaustauschkapazität aufgrund der dreidimensionalen Struktur der Moleküle, die eine Chelatbindung von Ionen ermöglicht (Campos-Vega & Oomah 2013).

## **Gelbildung und Viskosität von Pektinen**

Eine entscheidende Eigenschaft der Pektine ist die Fähigkeit zur Bildung von Gelen in Anwesenheit von Calciumionen oder Zucker und Säuren (Thakur *et al.* 1997). Dabei beeinflussen die Carboxylgruppen in Abhängigkeit des Veresterungsgrads die Viskosität von Pektinlösungen (Saeed *et al.* 1975).

Ein Gel entsteht nach Sriamornsak (2003) durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den freien Carboxylgruppen des Pektinmoleküls und den Hydroxylgruppen benachbarter Moleküle. Dabei ist die Geschwindigkeit, in der sich das Gel bildet, unter anderem vom Veresterungsgrad abhängig. Ein hoher Veresterungsgrad begünstigt eine schnelle Ausbildung des Gels.

Ein Pektigel entsteht allgemein betrachtet durch Quervernetzung von Abschnitten des Homogalacturonans (HG), welche ein dreidimensionales, kristallines Netzwerk bilden, in dem Wasser und gelöste Substanzen eingeschlossen werden (Willats *et al.* 2006). Dabei muss jedoch zwischen den Pektinen unterschieden werden. In hochveresterten Pektinen entstehen die Verbindungsbereiche mittels Quervernetzungen des HGs, durch Wasserstoffbrückenbindungen und hydrophobe Kräfte zwischen den Methoxylgruppen, die durch eine hohe Zuckerkonzentration und einen niedrigen pH-Wert begünstigt werden (Willats *et al.* 2006). Bei niederveresterten Pektinen entsteht der Verbindungsbereich eines Gels durch die Anwesenheit von Calciumionen und freien Carboxylgruppen. Dabei erfolgt die Gelbildung durch Quervernetzungen über die Calciumbrücken zwischen zwei Carboxylgruppen, die zu zwei verschiedenen, nah beieinander liegenden Ketten gehören (Axelos & Thibault 1991). Die Wechselwirkungen zwischen Calciumionen und den Carboxylgruppen des Pektins werden nach Grant *et al.* (1973) aufgrund der dabei entstehenden Struktur auch als „Egg-Box-Modell“ beschrieben.

Bei der Betrachtung der Viskosität lassen sich jedoch auch hierbei die *in vitro* ermittelten Daten nicht direkt auf die Bedingungen im GIT übertragen. Beim Vergleich von Citruspektinen mit unterschiedlichen Veresterungsgraden (VG) von 5-80 % sowie eines calciumsensitiven Pektins belegten Laerke *et al.* (2001) deutliche Unterschiede der Pektine bezüglich der Viskosität in wässrigen Lösungen. Diese Unterschiede erklären sich den Autoren zufolge durch das Molekulargewicht und die chemische Struktur der verschiedenen Pektine. Die in wässrigen Lösungen gemessenen Viskositätswerte der Pektine und deren Reihenfolge sind jedoch nicht mit im Dünndarm von Ferkeln erzielten Viskositätswerten vergleichbar. So erzielte in wässriger Lösung das Citruspektin VG 60 % eine Viskosität von fünf Millipascalsekunden (mPa s), das Citruspektin VG 80 % 22 mPa s und das calciumsensitive Citruspektin 32 mPa s. In der Studie wurde darüber hinaus die Viskosität der gleichen Pektine im distalen Dünndarmdrittel von Schweinen nach dreiwöchiger

Fütterung einer Diät mit 3,2 % dieser Pektine untersucht. Hierbei erzielte das Citruspektin VG 60 % eine Viskosität von 31 mPa s, das VG 80 % 40 mPa s und das calciumsensitive Citruspektin 15 mPa s. Den Autoren zufolge weichen die funktionellen Eigenschaften von Pektinen im GIT vom rheologischen Verhalten in wässrigen Lösungen ab, da der Verdauungsprozess ein dynamischer Prozess ist mit wechselnden Bedingungen wie zum Beispiel dem pH-Wert sowie dem enzymatischen Abbau der Pektine durch die Mikrobiota.

### **2.3.2 Vorkommen und Gewinnung von Pektinen**

Pektine kommen in der unreifen Frucht in wasserunlöslicher Form als Protopektine vor (Kashyap *et al.* 2001). In den meisten Pflanzen befindet sich das Protopektin in einer interzellulären Schicht zwischen der primären Zellwand und den angrenzenden Zellen. Die höchste Konzentration an Pektinen in der Zelle befindet sich in der Mittellamelle mit einer graduellen Abnahme von der primären Zellwand zur Plasmamembran hin. Pektine sind vor allem in weichem Pflanzengewebe mit schnellen Wachstumsbedingungen und hohem Gehalt an Feuchtigkeit vorhanden (Thakur *et al.* 1997). Während der Reifung verändert sich die Struktur des Pektins durch natürlich vorkommende Enzyme in der Frucht, das Pektin wird vermehrt löslich (Kashyap *et al.* 2001). Das Weichwerden der Frucht während der Reifung ist mit einer hohen Ansammlung von wasserlöslichem Pektin verbunden (Jarvis 1984).

Nach Lindermayer *et al.* (2009) ist der Pektingehalt heimischer Getreidearten gering und liegt für Gerste bei 4 g/kg TS, Weizen bei 5 g/kg TS, Roggen bei 6 g/kg TS und Hafer bei 10 g/kg TS. Im Gegensatz dazu wurden in Obst und Gemüse hohe Pektingehalte nachgewiesen. Sie können bis zu 5-10 % natürlich vorkommendes Protopektin enthalten (National Research Council 2005). Vor allem aber einige Nebenprodukte der Lebensmittelindustrie stellen eine sehr gute Quelle für Pektine dar. Nach Thibault & Ralet (2001) enthalten Zuckerrübenschnitzel, Apfeltrester und Schalen von Zitrusfrüchten ca. 20-35 % Pektin. Die Extraktion der Pektine aus den Rohmaterialien erfolgt durch eine Säurebehandlung bei hohen Temperaturen (70-90 °C) und anschließender alkoholischer Fällung des Pektins (Lopes da Silva & Rao 2006).

Pektine sind heterogene, komplexe Polysaccharide, welche wie viele andere pflanzliche Polysaccharide in der Zusammensetzung je nach Quelle und Bedingungen bei der Gewinnung variieren (Rolin 1993). In mehreren Studien wurden verschiedene Strukturen aus der primären Zellwand von pflanzlichen Zellen isoliert und charakterisiert. Dazu zählen Homogalacturonan (HG) sowie Rhamnogalacturonan I und II (O'Neill *et al.* 1990). HG wird auch als glatte Region des Pektins bezeichnet, und die beiden Rhamnogalacturonan-Ketten als haarige Region (Pedrolli *et al.* 2009). HG ist ein lineares Polymer, das aus 1,4-verknüpften  $\alpha$ -D-Galakturonsäure-Einheiten (GalA) besteht. Rhamnogalacturonan I besteht

aus einem sich wiederholenden Disaccharid aus GalA und Rhamnoseeinheiten, an das eine Vielzahl von verschiedenen Glykanketten angeheftet ist. Rhamnogalacturonan II hat ein Rückgrat aus HG mit komplexen Seitenketten (Ridley *et al.* 2001; Willats *et al.* 2006). Das native Protopektin in Pflanzenzellen zeigt komplexe strukturelle Eigenschaften. Die kommerziell eingesetzten Pektine sind jedoch typischerweise weniger komplex in ihrem Aufbau aufgrund der strukturellen Veränderungen und der Aufgliederung, die während des industriellen Extraktionsprozesses stattfinden (Lopes da Silva & Rao 2006). In der Lebensmittelindustrie zählt Pektin aufgrund seiner Geliereigenschaften und dem Einsatz als Verdickungs- oder Stabilisierungsmittel zu einem wichtigen Bestandteil zahlreicher Produkte (Lopes da Silva & Rao 2006).

Die Anzahl der Quellen, die für eine kommerzielle Herstellung von Pektinen genutzt werden können, sind jedoch sehr begrenzt, obwohl Pektine üblicherweise in den meisten pflanzlichen Geweben als Bestandteil der Mittellamelle und Zellwand vorkommen. Die Fähigkeit der Pektine, ein Gel zu bilden, ist aber vor allem von der Länge der Polygalakturonsäurekette und dem Grad der Methoxylierung abhängig. Diese Faktoren variieren je nach Pektinquelle, und daher ist ein hoher Pektingehalt einer Frucht allein kein ausreichendes Merkmal, um für die Gewinnung kommerzieller Pektine geeignet zu sein (Simpson *et al.* 1984). Für die kommerzielle Herstellung von Pektinen werden derzeit die Nebenprodukte der Lebensmittelindustrie, Apfeltrester und Schalen von Zitrusfrüchten, verwendet. Apfeltrester als Nebenprodukt der Saft- oder Mostherstellung enthält 10 bis 15 % Pektin bezogen auf die TS, die Schalen von Zitrusfrüchten 20-30 % (Rolin 1993). Eine weitere Pektinquelle stellen Zuckerrübenschnitzel dar, welche als Nebenprodukt der Zuckergewinnung entstehen. Diese können rund 15 bis 20 % Pektin in der TS enthalten (Michel *et al.* 1985; Phatak *et al.* 1988; Yapo *et al.* 2007). Die daraus extrahierbaren Pektine weisen jedoch aufgrund des niedrigen Molekulargewichts und der Acetylesterguppen schlechtere Geliereigenschaften auf (Pippen *et al.* 1950).

### **2.3.3 Physiologische Wirkung von Pektinen und deren Einsatz in der Tierernährung**

#### **Einfluss von Pektinen auf die Lebendmassezunahme und Futteraufnahme von Tieren**

Die Futteraufnahme bei Schweinen kann durch Faserstoffe und Pektine sowohl gefördert als auch gemindert werden. Die gesteigerte Futteraufnahme stellt möglicherweise einen kompensatorischen Mechanismus für die geringere Energiekonzentration der jeweiligen Versuchsdät dar (Drochner *et al.* 2004).

In einer Studie mit Absetzferkeln wurden in der Versuchsdät 15 % des Getreides der Kontrolldiät (basierend auf Gerste, Weizen und Sojamehl) durch Zuckerrübenschnitzel ersetzt. Zwischen den Versuchsgruppen konnten keine Unterschiede in Futteraufnahme,

Lebendmassezunahme oder Futterverwertung festgestellt werden. Die Vermutung, dass junge Tiere eher negativ auf eine Erhöhung des Pektingehalts in der Versuchsdiet reagieren, konnte in dieser Studie nicht bestätigt werden (Longland *et al.* 1994). In einer weiteren Studie untersuchten Buraczewska *et al.* (2007) Zulagen von 4 und 8 % Apfelpektin (HM) in Versuchsdieten von Schweinen. Es wurden bezüglich der Lebendmasseentwicklung keine Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den beiden Pektindosierungen ermittelt. In einer Fütterungsstudie mit Ratten konnte durch eine Zulage von 6,5 % Citruspektin in der Versuchsdiet ebenfalls kein Einfluss auf die Futteraufnahme oder Lebendmassenzunahme der Tiere gezeigt werden (Dongowski *et al.* 2002).

### **Physiologische Veränderungen im Darmtrakt der Tiere durch Pektine**

Allgemein betrachtet entstehen nach Aufnahme von Futtermitteln mit unverdaulichen Nahrungsbestandteilen Veränderungen in Größe und Gewicht des GIT. Diese Veränderungen resultieren aus dem erhöhten Aufwand für das Vermischen, Bewegen und Entlassen großer Digestamengen. Eine Hypertrophie der Verdauungsorgane kann die Folge sein (Fischer 1957; Pluske *et al.* 1999).

In einer Studie von Jørgensen *et al.* (1996) wurde unter anderem der Einfluss von Nahrungsfasern auf die Entwicklung des GITs bei Schweinen untersucht. Hierbei wurden zwei Versuchsdieten mit unterschiedlichem Gehalt an Nahrungsfasern miteinander verglichen. Die Diät mit hohem Nahrungsfasergehalt (268 g/kg TS) wurde mit Pektinen (Mxpectin, Grindsted Products, Dänemark) und Faserkomponenten der Erbse (Nutrio P-Fibre, Danisco, Dänemark) konzipiert. Bei Schweinen, die diese Diät erhielten, wurden im Vergleich zur Diät mit niedrigem Nahrungsfasergehalt (59 g/kg TS) ein höheres Gewicht von Magen, Caecum und Colon sowie eine Zunahme der Länge des Colons ermittelt. In einer Studie von Freire *et al.* (2000) wurde unter anderem der Effekt einer Zulage von 20 % Zuckerrübenschnitzeln in die Versuchsdiet von Absetzferkeln untersucht. Hierbei wurden ein deutlich höheres Leergewicht von Magen ( $p < 0,05$ ) und Dickdarm ( $p < 0,01$ ) dieser Tiere ermittelt, als bei Schweinen, die eine Diät mit gleicher Menge Weizenkleie erhielten.

Fütterungsversuche mit Ratten erzielten ähnliche Ergebnisse. In der Studie von Pastuszewska *et al.* (2000) wurde eine erhebliche Hypertrophie des caecalen Gewebes der Tiere festgestellt, in deren Versuchsdiet 10 % der Maisstärke durch Pektine (66-68 % verestert, Pectovin, Polen) ersetzt wurde. In einer weiteren Studie mit Ratten wurde der Einfluss von 8 % Citruspektin auf den Verdauungstrakt der Tiere untersucht und ein höheres Gewicht des Dünndarms und des Caecums festgestellt (Pirman *et al.* 2007). Bereits Brown *et al.* (1979) ermittelten bei Ratten nach Zulage von 18 % Citruspektin eine Hypertrophie des Dünndarms und deuteten dies als Folge des erhöhten Aufwands, den viskösen Nahrungsbrei entlang des Darms zu bewegen. Die pektingefütterten Tiere zeigten dabei sowohl in der

Gesamtlänge und dem Gewicht der Abschnitte des Dünndarms als auch dem Gewicht von Caecum und Colon höhere Werte als die Kontrolltiere (Brown *et al.* 1979).

### **Abbau von Pektinen durch die intestinale Mikrobiota**

Pektine können im GIT von verschiedenen Bakterienspezies fermentiert und abgebaut werden. In einer Humanstudie von Jensen & Canale-Parola (1986) wurden die pektinophilen Bakterien *Bacteroides pectinophilus* und *Bacteroides galacturonicus* aus dem Darmtrakt isoliert. Des Weiteren belegen Macfarlane & Macfarlane (1993), dass neben den Bakterien der Gattung *Bacteroides* auch Bakterien aus den Gattungen *Bifidobacterium*, *Eubacterium* und *Clostridium* Pektine abbauen können. Die pektinophilen Bakterien, die aus Darminhalt von Schweinen isoliert werden konnten, weisen nach Cornick *et al.* (1994) im Colon eine Dichte von ca.  $10^7$  Koloniebildende Einheiten (KBE) je ml Chymus auf. Butine & Leedle (1989) ermittelten bei Schweinen  $8 \times 10^9$  bis  $17 \times 10^9$  KBE der pektinophilen Bakterien pro ml Coloninhalt. In der Studie von Cornick *et al.* (1994) konnten drei Stämme von pektinophilen Bakterien aus Coloninhalt von Schweinen isoliert werden, bei denen es sich um strikt anaerobe, motile, grampositive Stäbchen handelt. Diese wurden der zuvor unbeschriebenen Art *Lachnospira pectinoschiza* zugeordnet.

In einer Studie von Zhu *et al.* (2003) wurde anhand von *in vitro*-Fermentationen der Einfluss von Zuckerrübenschnitzeln auf die mikrobielle Zusammensetzung in Faecesproben von Schweinen untersucht. Dabei konnte durch die denaturierende Gradientengelelektrophorese (DGGE) der PCR Produkte (16S rDNA) gezeigt werden, dass im Vergleich zum Bandenprofil der Faecesproben vor der *in vitro*-Fermentation mit Zuckerrübenschnitzeln nach der Fermentation mehr Banden vorhanden waren. Vor allem drei Banden zeigten sich durch die Fermentation mit Zuckerrübenschnitzeln als dominant und konnten anhand der Sequenzierung der korrespondierenden 16S rDNA identifiziert werden. Dabei zeigte sich bei einer Bande eine Ähnlichkeit von 92 % mit *Eubacterium eligens* und bei den beiden anderen Banden eine Ähnlichkeit von 96 und 95 % mit *Lachnospira pectinoschiza*.

Der Abbau von Pektinen durch Bakterien ist dabei ein Prozess mit mehreren Schritten zu denen die Depolymerisation durch Enzyme, die Fermentation der entstehenden Monomeren und letztendlich die Bildung der kurzkettigen Fettsäuren und verschiedener Gase zählen (Dongowski *et al.* 2002). Die für den Pektinabbau nötigen Pektinasen sind eine heterogene Gruppen von Enzymen, welche den Abbau von Pektinen durch Depolymerisation (Hydrolasen und Lyasen) und Deesterifikation (Esterasen) katalysieren (Pedrolli *et al.* 2009).

Es gibt jedoch auch beim enzymatischen Abbau Unterschiede zwischen den Pektinen. In der Studie von Dongowski *et al.* (2002) wurde niederverestertes Pektin *in vivo* und *in vitro* schneller fermentiert als hochverestertes Pektin. Den Autoren zufolge deutet dies auf einen deutlichen Einfluss der strukturellen Parameter der Pektine auf den mikrobiellen Abbau hin.

### **Beeinflussung des mikrobiellen Fermentationsmusters im GIT durch Pektine**

Der Dickdarm von Monogastriern (Schwein, aber auch Mensch) ist im GIT der Abschnitt, der es ermöglicht, aus den bis dahin unverdauten Bestandteilen der Nahrung mittels mikrobieller Fermentation die darin noch enthaltenen Nährstoffe zu nutzen. Die Endprodukte der mikrobiellen Fermentation sind hauptsächlich die kurzkettigen Fettsäuren Essigsäure, Propionsäure und Buttersäure sowie die Gase Wasserstoff, Methan und Kohlenstoffdioxid (Bugaut & Bentéjac 1993). Mehr als 95 % der kurzkettigen Fettsäuren, die durch mikrobielle Fermentation entstehen, werden während der Passage durch den Dickdarm absorbiert (Rechkemmer *et al.* 1988) und können vom Wirtstier energetisch genutzt werden. Unter Berücksichtigung des durch die Fermentation entstehenden Energieverlustes können beim Schwein 5 bis 28 % des Energieerhaltungsbedarfs aus den Fermentationsprodukten des Dickdarms gedeckt werden (Friend *et al.* 1964; Imoto & Namioka 1978; Kass *et al.* 1980; Anguita *et al.* 2006). In einer Studie von Drochner (1984) konnten bei Schweinen 13 bis 24 % des Energieerhaltungsbedarfs aus den Fermentationsprodukten gedeckt werden. Die Steigerung auf 24 % wurde dabei aufgrund einer Zulage von 5 % Apfelpektin und dessen Fermentation im Dickdarm erzielt.

Des Weiteren kann die Bildung kurzkettiger Fettsäuren im proximalen Colon zu einer Senkung des pH-Werts im Darmlumen führen (Louis *et al.* 2007). Durch die pH-Wert-Senkung kann das Wachstum unerwünschter Bakterien, wie zum Beispiel Salmonellen, verringert sein (Prohászka *et al.* 1990) und dadurch die natürliche und wirtseigene Mikrobiota in ihrer Funktion der Kolonisationsresistenz gegenüber pathogenen Keimen (van der Waaij *et al.* 1971) unterstützt werden. Das Ausmaß der pH-Wert-Senkung ist abhängig von der puffernden Wirkung des sezernierten Bicarbonats und dem Gleichgewicht der Bildung kurzkettiger organischer Säuren sowie deren Absorption (Louis *et al.* 2007).

Darüber hinaus belegte Roediger (1980), dass vor allem Butyrat im Colon einen nutritiven Bestandteil für die Colonocyten darstellt. Die wichtige Bedeutung von Butyrat als Energiequelle für die Colonocyten konnte in Studien mit Kaninchen (Vernay & Marty 1984) und Schweinen (Darcy-Vrillon *et al.* 1993) bestätigt werden.

Die kurzkettigen Fettsäuren werden schnell aus dem Darmlumen absorbiert (Argenzio & Southworth 1975; Rechkemmer *et al.* 1988). Den Körperkreislauf erreicht in nennenswerten Mengen jedoch meist nur die Essigsäure. Die Buttersäure wird bereits größtenteils, bevor sie in den Blutkreislauf gelangen kann, in den Colonocyten metabolisiert, und die Propionsäure in der Leber (Cummings *et al.* 1987; Eastwood 1992). Demzufolge gelangen kurzkettige Fettsäuren, welche nicht bereits im Colon metabolisiert werden, über die Pfortader zur Leber, in der die Konzentration sehr variieren kann je nach intestinaler Produktionsrate und je nach Diät (Bugaut & Bentéjac 1993).

Die kurzkettigen Fettsäuren Essigsäure (C<sub>2</sub>), Propionsäure (C<sub>3</sub>) und Buttersäure (C<sub>4</sub>) zählen zu den Hauptprodukten der anaeroben Kohlenhydratfermentation durch die intestinale Mikrobiota. Zu den vorwiegenden Substraten zählen Pektine, Hemicellulosen und Cellulose, welche nicht durch Enzyme des Wirtstiers verdaut werden können (von Engelhardt *et al.* 1998). Darüber hinaus werden im GIT auch Valeriansäure (C<sub>5</sub>) und die verzweigt-kettigen Fettsäuren iso-Buttersäure und iso-Valeriansäure gebildet, jedoch in geringeren Mengen von etwa 5-10 % der gesamten kurzkettigen Fettsäuren (Mortensen & Clausen 1996). Die verzweigt-kettigen Fettsäuren resultieren aus der mikrobiellen Fermentation von verzweigt-kettigen Aminosäuren (Macfarlane *et al.* 1986; Mortensen & Clausen 1996), die nicht im Dünndarm absorbiert wurden (Jørgensen *et al.* 1997).

In einer Studie mit Ratten belegten Fukunaga *et al.* (2003), dass bei einer Zulage von 2,5 % Citruspektin in der Diät, der Gehalt der kurzkettigen Fettsäuren im Caecuminhalt erhöht wurde. Eine weitere Studie mit Ratten zeigte, dass bei 6,5 % Citruspektin in der Versuchsdiet ein erhöhter Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren im Darminhalt ermittelt wurde (Dongowski *et al.* 2002).

Bei der charakteristischen Fermentation von Pektinen wird unter anderem kaum Milchsäure nachgewiesen (Strobel & Russell 1986; van Soest *et al.* 1991) und vorwiegend ein höherer Anteil an Essigsäure gebildet (Englyst *et al.* 1987). Dieser die Bildung von Essigsäure fördernde Effekt konnte bereits durch zahlreiche Studien bei Ratten bestätigt werden (Berggren *et al.* 1993; Dongowski *et al.* 2002; Henningsson *et al.* 2002; Fukunaga *et al.* 2003; Pirman *et al.* 2007).

Des Weiteren konnten *in vitro*-Studien, in denen die Inkubation von Zuckerrübenschnitzeln mit Faeces oder Ileuminhalt von Schweinen erfolgte, ebenfalls einen Anstieg der Essigsäure ermitteln (Fardet *et al.* 1997; Le Goff *et al.* 2003). Darüber hinaus belegten auch Fütterungsstudien mit Schweinen, bei denen der Einfluss von Pektinzulagen untersucht wurde, vergleichbare Ergebnisse. Dies zeigt eine Studie von Hansen *et al.* (2007), in welcher unter anderem der Einfluss von 15 % Zuckerrübenschnitzel auf die chemische Zusammensetzung der Faeces von Schweinen untersucht wurde. Die Zulage der Zuckerrübenschnitzel erzielte eine höhere Gesamtkonzentration der kurzkettigen Fettsäuren von 151 mmol/kg Faeces im Vergleich zur Kontrollgruppe (120 mmol/kg). In den Faecesproben der Tiere mit Zulage von Zuckerrübenschnitzel lag der Essigsäuregehalt bei 102 mmol/kg, in der Kontrollgruppe hingegen bei 79,4 mmol/kg. Des Weiteren untersuchten Zacharias *et al.* (2004) in einer Studie den Einfluss einer Zulage von fünf und zehn Prozent Apfelpektin auf die Fermentationsparameter bei Absetzferkeln. Hierbei wurde ebenfalls eine erhöhte Gesamtkonzentration der kurzkettigen Fettsäuren, vor allem der Essigsäure,

ermittelt, wobei sich sowohl Unterschiede zwischen beiden Dosierungsstufen als auch im Vergleich zur Kontrollgruppe zeigten ( $p < 0,05$ ).

### **Fermentation der Pektine und deren Einfluss auf Verdauungsparameter im GIT**

Die Fermentation von Pektinen ist von der Pektinquelle abhängig und ist zum Beispiel für Pektin aus Zuckerrüben geringer als für Citrus- oder Apfelpektin (Drochner *et al.* 2004). Drochner (1984) belegte in einer Studie mit wachsenden Schweinen, dass eine Zulage von fünf Prozent Apfelpektin praecaecal kaum verdaut wurde, und dass im Dickdarm die scheinbare Verdaulichkeit von Pektinen aufgrund intensiver mikrobieller Fermentation bei nahezu 90 % liegt. Bereits Albers & Henkel (1979) führten an, dass die scheinbare Verdaulichkeit von Pektinen bei Untersuchungen bei Menschen, Ratten und Hunden mit über 90 % sehr hoch ist und diese im Wesentlichen durch den mikrobiellen Abbau im Dickdarm begründet ist. In einer weiteren Studie zeigte die Zulage von 12 % Zuckerrübenschnitzel bei Absetzferkeln keinen Effekt auf die scheinbare Gesamtverdaulichkeit der TS, der organischen Masse, der Energie sowie des Stickstoffs. Jedoch zeigte sich die praecaecale scheinbare Verdaulichkeit der TS, der organischen Masse und Energie sowie des Stickstoffs verringert ( $p < 0,001$ ) (Lizardo *et al.* 1997).

In einer Studie von den Hartog *et al.* (1988) konnte gezeigt werden, dass bei Schweinen die Zulage von 5 % Apfelpektin zur Versuchsdiät einen geringen, nicht signifikanten Effekt auf die praecaecale Verdaulichkeit der organischen Masse hat und dass kein Einfluss auf die faecale Verdaulichkeit der organischen Masse entsteht. Des Weiteren belegte diese Studie eine numerisch geringere praecaecale Verdaulichkeit von Kalium, Magnesium, Calcium und Phosphor. Durch die Eigenschaft der Pektine, Gele ausbilden zu können, kann gegebenenfalls die Bindung der Verdauungsenzyme an das jeweilige Substrat im Dünndarm verringert sein (Sauer & Ozimek 1986) und dadurch die praecaecale Verdaulichkeit der Nährstoffe beeinträchtigt werden. In einer Studie mit wachsenden Schweinen erwähnte Drochner (1984), dass durch die hohe Kationenbindungskapazität des Apfelpektins ein negativer Einfluss auf die Verdauungsabläufe im Magen und Dünndarm bestehen kann.

Die Studie von Buraczewska *et al.* (2007) belegt bei einer Pektinzulage von jeweils vier und acht Prozent zur Basisdiät bei Schweinen eine verringerte standardisierte praecaecale Aminosäurenverdaulichkeit. Darüber hinaus wiesen Mosenthin *et al.* (1994) bei einer Zulage von 7,5 % Citruspektin zu einer auf Maisstärke basierenden Diät eine signifikante Minderung der scheinbaren praecaecalen und faecalen Verdaulichkeit der organischen Masse sowie des Rohproteins und der essentiellen Aminosäuren nach.

Eine mögliche Erklärung für die reduzierte Effizienz der Verdauung im Bereich des Dünndarms könnte der Einfluss der NSP auf die Dicke des sogenannten *unstirred water layer* (UWL) sein. Bei monogastrischen Tieren ist die Dicke des UWL im Darm eine

geschwindigkeitsbegrenzende physiologische Barriere für die Absorption von Nährstoffen (Pluske *et al.* 2001). Die NSP aus dem Futter können die Dicke dieser physiologischen Barriere der Mukosa erhöhen, indem sie mit Mukopolysacchariden interagieren (Căpriță *et al.* 2010). Studien belegten bereits, dass durch die Zulage von Pektinen oder Guaran die Dicke des UWL signifikant erhöht wurde (Johnson & Gee 1981; Flourie *et al.* 1984).

Im Dickdarm führt die hohe Abbaubarkeit von Pektinen zu einem erhöhten Gehalt kurzkettiger Fettsäuren im Caecum und Colon und zu einer Reduktion des pH-Werts in der Digesta dieser Darmabschnitte (Brighenti *et al.* 1989; Drochner *et al.* 2004). Die Studie von Lupton *et al.* (1988) zeigte, dass bei Ratten durch die Zulage von zehn Prozent Citruspektinen der pH-Wert des Colonchymus reduziert und die Zellproliferation im Dickdarm stimuliert wurde. Eine Senkung des pH-Werts der Faeces konnte in der Studie von Hansen *et al.* (2007) bei Schweinen durch die Zulage von 15 % Zuckerrübenschnitzeln ebenfalls belegt werden. Im Gegensatz dazu konnte von Zacharias *et al.* (2004) in einer Studie mit Absetzferkeln, in den Faecesproben der Versuchsgruppen mit fünf und zehn Prozent Apfelpektin im Vergleich zur Kontrollgruppe, ein deutlich höherer pH-Wert ermittelt werden ( $p < 0,05$ ), trotz erhöhter Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren in den Faecesproben.

Die intensive Fermentation der Pektine im Dickdarm kann zu einer hohen mikrobiellen Bindung von Ammoniak führen (Drochner *et al.* 2004). In der Studie von Hansen *et al.* (2007) konnte bei Schweinen gezeigt werden, dass durch eine Versuchsdiät mit 15 % Zuckerrübenschnitzeln signifikant höhere Gehalte an Stickstoff in den Faeces im Vergleich zur Kontrolle gemessen wurden. Darüber hinaus konnte belegt werden, dass die Tiere weniger Stickstoff über den Urin ausgeschieden haben, und dieser den Autoren zufolge somit vermehrt aus dem Urin in Faeces verlagert wurde. Auch bei Ratten konnten Pastuszewska *et al.* (2000) bei einer zehnpromzentigen Pektinzulage zur Diät (66-68 % verestert, Pectovin, Polen) eine erhöhte faecale Stickstoffausscheidung und eine signifikant verringerte Ausscheidung des Stickstoffs im Urin nachweisen.

Des Weiteren wurde in Fütterungsstudien zur Untersuchung von Pektinzulagen zumeist auch der Einfluss von Pektinen auf die TS der Faeces ermittelt. Der Effekt von Pektinen auf den Wassergehalt der faecalen Ausscheidungen ist durch den hohen postilealen fermentativen Abbau jedoch eher als mäßig zu bewerten (Drochner *et al.* 2004). Es werden vor allem wasserlösliche Faserbestandteile mit einer hohen Wasserbindungskapazität, wie Pektine, im Colon intensiv mikrobiell abgebaut. Die Auswirkungen der prinzipiell hohen Wasserbindungskapazität vermindern sich dadurch (Stephen & Cummings 1979; Armstrong *et al.* 1993). In der Studie von den Hartog *et al.* (1988) konnte bei Schweinen kein Unterschied bezüglich der TS der Faeces zwischen der fünfprozentigen Apfelpektinzulage und der Kontrolldiät ermittelt werden. In einer Studie von Potkins *et al.* (1991) wurde unter

anderem der Effekt einer fünfprozentigen Pektinzulage (HM Pektin, Hercules Powder Company, London, England) auf die TS der Digesta von Schweinen untersucht. Eine Stunde nach der Fütterung war die TS des Mageninhalts bei Pektinzulage im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant reduziert. Der reduzierende Effekt der Pektinzulage auf die TS der Digesta konnte jedoch am terminalen Ileum sowie auf die TS der Faeces nicht mehr ermittelt werden. Die Autoren vermuten als Grund für die verringerte TS der Digesta im Magen eine Fixierung von Wasser durch die hohe Wasserbindungskapazität von Pektinen.

In der Studie von Zacharias *et al.* (2004) zeigte der Einfluss einer Zulage von fünf und zehn Prozent Apfelpektin in die Versuchsdiät von Absetzferkeln einen reduzierenden Effekt auf die TS der Faeces. Hierbei erzielten die fünf- und zehnprozentigen Zulagen mit 29,7 und 28,7 % TS im Vergleich zur Kontrolle (32,3 % TS) eine deutliche Reduktion ( $p < 0,05$ ). In der Studie von Hansen *et al.* (2007), in der unter anderem der Einfluss von Zuckerrübenschnitzeln bei Schweinen untersucht wurde, zeigte sich ebenfalls ein reduzierender Effekt auf die TS der Faeces. So konnte bei den Tieren der Kontrollgruppe die TS der Faeces mit 30,0 % ermittelt werden und bei Tieren der Versuchsgruppe mit Zulage von 15 % Zuckerrübenschnitzeln in die Versuchsdiät eine signifikant reduzierte TS der Faeces von 22,1 %.

### **Fazit und Begründung für die eigene Studie**

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollte der Einsatz von Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln zur nachhaltigen Nutzung dieses quantitativ bedeutsamen Nebenprodukts der Mangoproduktion ermittelt werden. Dabei sollte die Eignung der Mangoschalen als pflanzliches Einzelfuttermittel zur Verbesserung der Tiergesundheit und Leistung bei Ferkeln untersucht werden. Die Wirkung von Mangoschalen erschien aufgrund der Gehalte an Pektinen bzw. Nahrungsfasern und den zuvor aufgeführten potentiell positiven Auswirkungen von Pektinen auf die Fermentationsvorgänge im GIT des Schweins interessant. Hierbei wurde sowohl anhand von *in vitro*-Untersuchungen als auch durch einen Fütterungsversuch untersucht, ob sich Mangoschalen in der Tierernährung eignen und wie sie bei Absetzferkeln die zootecnische Leistung sowie verdauungsphysiologische und mikrobiologische Parameter beeinflussen.

### 3 Material und Methoden

Der Ablauf der vorliegenden Arbeit gliederte sich in drei Abschnitte, die in den nachfolgenden Kapiteln erläutert werden:

1. Kurzzeitinkubationen von Sauenkot mit verschiedenen Kohlenhydratquellen und semikontinuierliche Langzeitinkubationen von Caecumchymus von Absetzferkeln mit Mangoschalen bzw. Apfelpektin
2. Infektionsversuche mit der permanenten porcinen Darmzelllinie IPEC-J2
3. Fütterungsversuch mit Mangoschalen und Apfelpektin in zwei Dosierungsstufen mit Absetzferkeln

Die Experimente wurden am Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin durchgeführt.

#### 3.1 *In vitro*-Inkubationsmethoden

##### 3.1.1 Kurzzeitinkubationen mit verschiedenen Kohlenhydraten

Bei der gewählten Methode der Kurzzeitinkubation handelt es sich um eine modifizierte Variante der Hungatetechnik (Hungate 1950). Diese Methode ermöglicht bakterielles Wachstum und Metabolismus unter anaeroben Bedingungen in gasdichten Glasbehältern, wenn dem Medium bestimmte Substrate zugesetzt werden. Für den hier beschriebenen Versuchsansatz wurden Verdünnungen von Sauenkot als Inokulum verwendet. Diese Kotsuspensionen wurden mit fünf verschiedenen Substraten über 24 Stunden inkubiert.

##### Probenmaterial

Die für den Versuch gewählten Spendertiere wurden in institutseigenen Ställen gehalten und erhielten eine herkömmliche Diät ohne anderweitige zootechnische Futterzusatzstoffe oder Medikamente. Für die Kotsuspension wurde eine Sammelprobe aus rektal entnommenen Kotproben von jeweils drei Sauen hergestellt. Die Sammelprobe wurde mit PRAS-Puffer (*Prereduced Anaerobe Sterilized* Medium, nach Holdeman *et al.* (1977)) verdünnt (Zusammensetzung siehe Anhang, Tabelle 27). Der pH-Wert des Puffers betrug im Mittel der fünf Versuchsansätze  $6,46 \pm 0,18$ . Maximal 30 Minuten nach der Entnahme der Kotproben erfolgten die Inkubationen. In Vorversuchen wurden die Verdünnungsstufen 1:10, 1:100 und 1:1000 getestet. Anhand der Ergebnisse wurde für die Kotsuspension die Verdünnungsstufe 1:10 gewählt, sodass im Inkubationsgefäß eine Gesamtverdünnung von 1:100 vorlag.

Die pflanzlichen Testsubstanzen für die Versuchsansätze waren Apfelpektin (Classic AU, Herbstreith & Fox GmbH, Werder/Havel, Deutschland), Mangopektin (Pektin aus Mangoschalen der Sorte Kaew, Thailand), Mangoschalen (Sorte Kaew, Thailand,

Analysenergebnisse siehe Tabelle 28) und ein phenolischer Extrakt der Mangoschale (Sorte Kaew, Thailand). Als Positivkontrolle erfolgte die Inkubation mit Glukose (D-(+)-Glukose, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA).

Für die Substratlösungen wurden in Vorversuchen geeignete Konzentrationen untersucht. Dabei zeigte sich das Apfelpektin als limitierend, da aufgrund der hohen Viskosität eine Lösung mit einer höheren Konzentration als 2 % nicht möglich war. Um eine bessere Löslichkeit der pflanzlichen Testsubstanzen zu erzielen, wurden alle Substratlösungen für 30 Minuten in einem Ultraschallbad (Sonorex Typ RK 106, BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlin, Deutschland) behandelt.

### **Versuchsaufbau und -durchführung**

Vor Versuchsbeginn wurde die Pufferlösung in die jeweiligen Inkubationsgefäße gefüllt, mit einem Gummistopfen gasdicht verschlossen und bei 121 °C für 20 Minuten autoklaviert (Laboklav, SHP Steriltechnik AG, Detzel Schloss/Satuelle, Deutschland). Anschließend wurden die Inkubationsgefäße nach folgendem Pipettierschema (Tabelle 5) auf ein Gesamtvolumen von 10 ml gefüllt.

**Tabelle 5: Pipettierschema für die Kurzzeitinkubation**

	<b>Versuchsansatz</b>	<b>Kot Kontrolle</b>	<b>Substrat Kontrolle</b>	<b>Puffer Kontrolle</b>
PRAS-Puffer	8 ml	9 ml	9 ml	10 ml
Kotsuspension	1 ml	1 ml	-	-
Substratlösung	1 ml	-	1 ml	-

Die Kurzzeitinkubationen wurden an fünf verschiedenen Tagen wiederholt, dabei wurde pro Versuchsdurchgang jeder Versuchsansatz in einer Dreifachbestimmung inkubiert. Als Kontrollproben wurden die Kotsuspensionen, Substratlösungen sowie die Pufferlösung im Doppelansatz inkubiert. Alle Inkubationsgefäße wurden auf ein Gesamtvolumen von 10 ml gefüllt, wobei in den Versuchsansätzen die Substratlösung und die Kotsuspension mit jeweils 1 ml dazu pipettiert wurden (siehe Tabelle 5). Anschließend wurden alle Inkubationsgefäße bei 39 °C und 180 Umdrehungen pro Minute (Upm) in einem Schüttelinkubator (MaxQ 6000, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) inkubiert. Nach 24 Stunden wurde die Inkubation beendet und der pH-Wert direkt gemessen. Proben des Überstands wurden in 2 ml Eppendorfgefäße überführt und bei -20 °C tiefgefroren.

### **pH-Wert Messung**

Der pH-Wert wurde mit einem pH-Meter mit Einstabmesskette (InLab Routine Pro, Mettler-Toledo International Inc., Columbus, OH, USA) gemessen. Das pH-Meter wurden zuvor mit

einer Zwei-Punktkalibrierung mit Standardlösungen pH 4 und pH 7 (pH-Pufferlösung pH 4, pH 7, Mettler-Toledo International Inc., Columbus, OH, USA) kalibriert.

### **3.1.2 Semikontinuierliche Langzeitinkubationen**

Bei der angewandten Langzeitinkubation handelt es sich um ein geschlossenes, semikontinuierliches Durchflusssystem. Es wurde in Anlehnung an das Rusitec-System (Rumen-Simulations-Technik), welches von Czerkawski & Breckenridge (1977) entwickelt wurde, für die Inkubation mit Dickdarminhalt von Dreyer (1990) modifiziert („Cositec“) und im Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin in ähnlicher Weise eingesetzt.

#### **Probenmaterial**

Bei den Spendertieren für die Langzeitinkubationen handelte es sich um  $65 \pm 1$  Tage alte Ferkel gemischten Geschlechts mit einer durchschnittlichen Lebendmasse von 23 kg, die im Rahmen eines anderen Projekts in den institutseigenen Ställen gehalten wurden. Für die Probennahme wurden die Ferkel zu Versuchsende euthanasiert. Nach der Öffnung der Bauchdecke wurde der GIT entfernt, das Caecum abgetrennt, der Caecuminhalt in Glasflaschen (Duran® Glasflaschen, 1000 ml, Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) gesammelt und bis zum Start der Inkubation auf Eis gelagert.

Für den täglichen Austausch der gesamten Versuchsdauer wurde ein Anteil des Caecuminhalts lyophilisiert (Gefriertrocknung, Alpha 1-4 LSC, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode/Harz, Deutschland), mittels Mörser zerkleinert und homogenisiert. Die zu testenden Substanzen waren getrocknete Mangoschalen der Sorte Totapuri (Jain Irrigation Systems Ltd., Jalgaon, Maharashtra, Indien) und Apfelpektin (Classic AU, Herbstreith & Fox GmbH, Werder/Havel, Deutschland).

#### **Pufferlösung für die Langzeitinkubation**

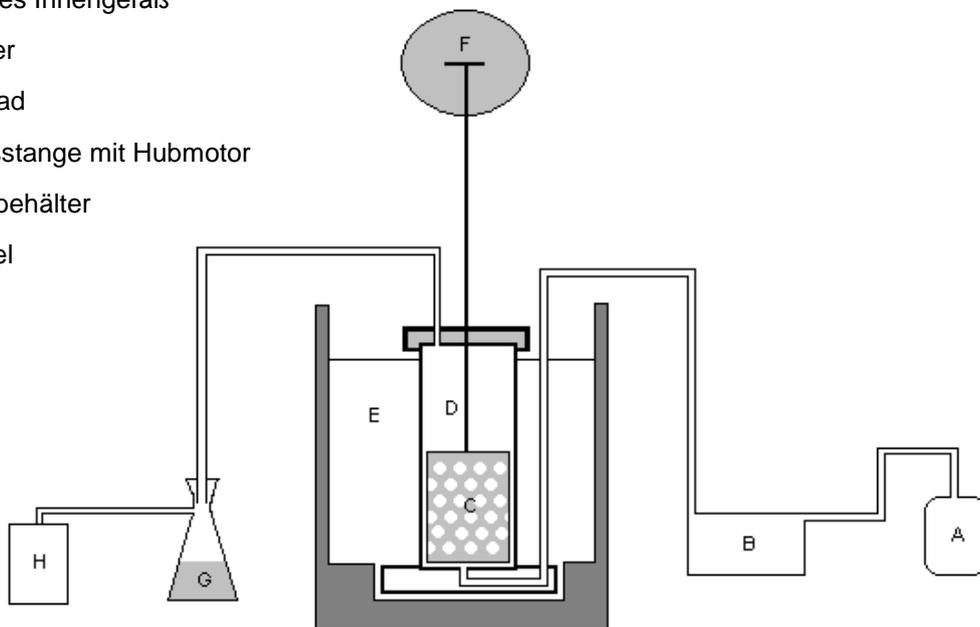
Für die Langzeitinkubationen wurde ein Puffer (Dreyer 1990; Meister 2004; Cermak *et al.* 2006) eingesetzt (Zusammensetzung siehe Anhang, Tabelle 29), dessen pH-Wert im Mittel bei  $7,39 \pm 0,04$  lag.

#### **Versuchsaufbau und -durchführung**

Das Inkubationssystem bestand aus sechs gasdichten Fermentationseinheiten, welche in der institutseigenen Werkstatt angefertigt worden sind. Jeder Fermenter bestand dabei aus einem Plexiglaszylinder mit einem Gesamtvolumen von 125 ml, der gasdicht verschlossen werden konnte (siehe Abbildung 1). In den Fermentern befand sich ein kleineres Innengefäß, welches sowohl am Deckel als auch am Boden perforiert war, sodass eine vollständige Durchspülung gewährleistet werden konnte. In dieses Innengefäß konnten zwei ca. 35 x 60 mm große Nylonbeutel mit einer Porengröße von 50 µm eingebracht werden. Über

eine Führungsstange wurde das Innengefäß mit einem Hubmotor verbunden, welcher mit sechs Hüben pro Minute eine kontinuierliche Auf- und Abwärtsbewegung erzeugte. Durch eine Zulauföffnung am Fermenterboden wurde über einen Schlauch (Silikon-Schlauch, 4 mm Innendurchmesser, 1,5 mm Wanddurchmesser) kontinuierlich die Pufferlösung in die Fermenter gepumpt. Die Sechs-Kanal-Schlauchpumpe (Typ104, Ole Dich Instrumentmakers, Hvidovre, Dänemark) wurde so eingestellt, dass die Perfusionsrate in jedem Fermenter in etwa 5,2 ml Pufferlösung pro Stunde betrug. Für die Schlauchpumpe wurden Schläuche mit integrierten Stoppfern (PVC-Präzisions-Pumpenschlauch mit zwei Stoppfern quer-vernetzt, RCT Reichelt Chemietechnik GmbH & Co., Heidelberg, Deutschland) gewählt. Im Fermenterdeckel befand sich eine Ablauföffnung, die über einen Tygon-Schlauch (Tygon® R-3603, 6,4 mm Innendurchmesser, 1,6 mm Wanddurchmesser) mit dem jeweiligen Überlaufgefäß verbunden wurde. In diesem Überlaufgefäß wurde der täglich verdrängte Fermenterinhalt gesammelt und mithilfe der daran angeschlossenen Gasbeutel (Gasbeutel Plastigas®-Beutel, Linde AG, München, Deutschland) die entstehenden Gase aufgefangen. Alle sechs Fermenter wurden nebeneinander in einem Wasserbad fixiert.

- A: Pufferbehältnis
- B: Schlauchpumpe
- C: perforiertes Innengefäß
- D: Fermenter
- E: Wasserbad
- F: Führungsstange mit Hubmotor
- G: Überlaufbehälter
- H: Gasbeutel



**Abbildung 1: Schematische Darstellung einer Fermentationseinheit für die semikontinuierliche Langzeitinkubation von Caecuminhalt mit Mangoschalen bzw. Apfelpektin, nach Kröger (2009)**

Vor Versuchsbeginn wurden alle Einzelteile für 24 Stunden in ein alkalisches Reinigungsmittel (neodisher® LM 3, Chemische Fabrik Dr. Weigert GmbH & Co. KG, Hamburg, Deutschland) gelegt und anschließend mit *aqua bidest.* gespült und bei 65 °C im Trockenschrank (Trockenschrank U, Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) getrocknet. Nach erfolgter Reinigung wurde das gesamte System zusammengebaut, das

Wasserbad gefüllt und auf 39 °C temperiert. Die Sechs-Kanal-Schlauchpumpe wurde eingeschaltet, bis sämtliche Luft aus den Fermentern und den Schläuchen verdrängt wurde.

Durch Gazefiltration (SEFAR NITEX Porengröße 50 µm, Sefar GmbH, Edling, Deutschland) wurde der frische Caecuminhalt in die flüssige Phase und die Partikelphase getrennt. Zum Starten des Systems wurden die zuvor autoklavierten Nylonbeutel mit jeweils 5 g der Partikelphase des frischen Caecuminhalts pro Fermenter befüllt und in das Innengefäß eingefügt. Jeder Fermenter wurde bis zum Rand mit etwa 120 ml der flüssigen Phase des Caecuminhalts aufgefüllt. Das Innengefäß wurde zusammengeschraubt und in den Fermenter eingesetzt. Der Fermenter wurde gasdicht verschlossen, im Wasserbad fixiert und mit dem jeweiligen Pufferschlauch, dem Überlaufschlauch sowie über die Führungsstange mit dem Hubmotor verbunden. Diese Vorgehensweise wurde bei den übrigen Fermentern wiederholt. Nach dem Aufbau des Systems wurden der Hubmotor und die Schlauchpumpe gestartet. Anschließend wurden alle Überlaufgefäße mit Stickstoff begast, um die Luft aus dem System zu verdrängen. Der Versuchsablauf gliederte sich in drei Abschnitte: eine Äquilibrationsphase (7 Tage), in der das System gestartet wurde, eine Kontrollphase (3 Tage), in der die Bedingungen in den Fermentern konstant bleiben sollten, sowie eine Versuchsphase (7 Tage), in der die beiden Substrate Mangoschalen bzw. Apfelpektin getestet wurden.

Die Bedingungen in den Fermentern wurden täglich kontrolliert, Proben wurden entnommen und die Nylonbeutel nach einer Verweildauer von 24 Stunden ausgetauscht. Dafür wurde nacheinander jeder Fermenter einzeln aus dem System ausgebaut und in ein separates Wasserbad gestellt. Das Innengefäß wurde aus dem Fermenter entnommen und die Beutel mit vorgewärmtem Puffer ausgewaschen. Der pH-Wert und das Redoxpotential wurden währenddessen direkt im Fermenter gemessen und es wurden 4 ml Probenmaterial entnommen. Die zu analysierenden Proben wurden in 2 ml Eppendorfgefäßen bei -20 °C tiefgefroren. Die Flüssigkeit der ausgewaschenen Beutel wurde wieder hinzugegeben und das Innengefäß mit den ausgetauschten Nylonbeuteln wieder in den Fermenter eingesetzt. Jedes Überlaufgefäß wurde geleert und die Überlaufmenge gemessen, um die tägliche Perfusionsrate der Pumpe zu kontrollieren.

Während der Äquilibrations- und der Kontrollphase wurden jedem Fermenter 1 g gefriergetrockneter Caecuminhalt in den Nylonbeuteln hinzugefügt. Dieser sollte entsprechend vorverdautes Substrat simulieren. In der Versuchsphase erhielten vier der sechs Fermenter jeweils das zu testende Substrat Mangoschalen bzw. Apfelpektin (100 mg). In die verbleibenden zwei Fermenter wurde als Kontrolle nur Caecuminhalt hinzugegeben. Eine Übersicht über die tägliche Zugabe der verschiedenen Substrate in die Fermenter ist in Tabelle 6 aufgeführt.

Nach jeder Versuchsphase folgte erneut eine Kontrollphase bis zur Stabilisierung des Systems. In der anschließenden Versuchsphase wurden die Substrate randomisiert den Fermentern zugeordnet.

**Tabelle 6: Übersicht über die Zugabe der Substrate in die Fermenter des Inkubationssystems**

Fermenter	Äquilibriumierung	Kontrollphase	Versuchsphase I	Versuchsphase II	Versuchsphase III
1	C (1 g)	C (1 g)	C (900 mg) + A (100 mg)	C (900 mg) + M (100 mg)	C (1 g)
2	C (1 g)	C (1 g)	C (900 mg) + M (100 mg)	C (900 mg) + A (100 mg)	C (1 g)
3	C (1 g)	C (1 g)	C (1 g)	C (900 mg) + M (100 mg)	C (900 mg) + A (100 mg)
4	C (1 g)	C (1 g)	C (900 mg) + M (100 mg)	C (1 g)	C (900 mg) + A (100 mg)
5	C (1 g)	C (1 g)	C (900 mg) + A (100 mg)	C (1 g)	C (900 mg) + M (100 mg)
6	C (1 g)	C (1 g)	C (1 g)	C (900 mg) + A (100 mg)	C (900 mg) + M (100 mg)

C = Caecuminhalt, A = Apfelpektin, M = Mangoschale

### pH-Wert Messung

Der pH-Wert der Fermenter wurde mithilfe eines pH-Meters WTW (series inoLab 730, WTW GmbH, Weilheim, Deutschland) und einer pH-Einstabmesskette (Sen Tix 81, WTW GmbH, Weilheim, Deutschland) gemessen. Das pH-Meter wurden zuvor mit einer Zwei-Punkt-kalibrierung mit Standardlösungen pH 4 und pH 7 (pH-Pufferlösung pH 4, pH 7, Mettler-Toledo International Inc., Columbus, OH, USA) kalibriert.

### Messung des Redoxpotentials

Das Redoxpotential der einzelnen Fermenter wurde mithilfe des pH-Meters WTW (series inoLab 730, WTW GmbH, Weilheim, Deutschland) und einer WTW Messkette (SenTix ORP; WTW GmbH, Weilheim, Deutschland) über drei Minuten standardisiert gemessen.

### 3.1.3 Analysen der Proben aus den *in vitro*-Inkubationen

#### Bestimmung der kurzkettigen Fettsäuren

Die Bestimmung kurzkettiger Fettsäuren erfolgte mittels gaschromatografischem Verfahren. Zur Probenaufarbeitung wurden die Proben aus den *in vitro*-Inkubationen nach dem Auftauen für zwei Minuten bei 13.000 x g und Raumtemperatur (RT) zentrifugiert (Centrifuge 5415 C, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Anschließend wurde der Überstand mit der Probenverdünnungslösung (Zusammensetzung siehe Anhang), die 0,5 mM Capronsäure (C:6) als internen Standard enthielt, in einem Glasgefäß (Screw cap vials, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) 1:2,5 verdünnt. Diese Verdünnungen wurden über den Probengeber dem Gaschromatografen (GC 6890N, Agilent Technologies Inc., Santa

Clara, CA, USA) zugeführt. Die chromatografische Trennung erfolgte dabei mit der HP-INNOWAX Säule (19095N-123 HP-INNOWAX, Polyethylen Glycol, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). Als Trägergas diente Wasserstoff, welcher über einen Gasgenerator (Parker ChromGas 9150, Parker Hannifin Corp., Cleveland OH, USA) generiert wurde. Der Detektor war ein Flammenionisationsdetektor. Die Injektionsspritze (FN 23-26/42/HP, konisch) hatte ein Fassungsvermögen von 10 µl und das Probenvolumen von 1 µl wurde dabei mit einer Flussrate von 30 ml/min auf die Säule aufgebracht. Die Auswertung der einzelnen kurzketigen Fettsäuren erfolgte durch die Flächenintegration des jeweils dazugehörigen Peaks mit der HP ChemStation Software (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA).

### **Laktatbestimmung**

Die Bestimmung der D- und L-Laktatgehalte erfolgte durch ein Flüssigchromatografie-Verfahren. Für die Aufarbeitung der Proben aus den Inkubationsansätzen wurden 200 µl der Probe mit 800 µl Isopropanol versetzt, gründlich gemischt und für 30 Minuten bei 19.000 x g bei RT zentrifugiert (Heraeus Fresco 21 Microcentrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Der Überstand wurde durch einen Cellulose-Acetatfilter (Cellulose-Acetat-Spritzenvorsatzfilter, 0,45 µm, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) direkt in das zu messende Glasgefäß (Screw cap vials, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) überführt. Die Glasgefäße wurden über einen Probengeber der HPLC-Anlage (HPLC Agilent 1100, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) zugeführt. Die HPLC-Anlage enthielt zwei Säulen: die Vorsäule (Phenomenex C18 4.0 L mm x 2,0 ID mm, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA) und eine chirale Hauptsäule (Phenomenex Chirex 3126 (D)-penicillamine 150 x 4,6 mm, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA). Die Säulenofentemperatur betrug 35 °C. Die Eluenten Kupfer-II-sulfat-Lösung 2,5 mM und Kupfer-II-sulfat-Lösung 0,5 mM passierten mit einer Flussrate von 1,0 ml/min die Säule. Das Injektionsvolumen betrug 20 µl, und die Proben wurden mittels UV Detektor bei 253 nm für 24 Minuten gemessen. Die Retentionszeit von D-Laktat betrug dabei 12-12,5 Minuten und von L-Laktat 15-15,5 Minuten. Die Auswertung der Daten erfolgte mithilfe der Chromeleon-Software (Chromeleon® Software version 6.80, Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, USA).

### **Ammoniumbestimmung**

Die Ammoniumbestimmung erfolgte mittels Berthelot-Reaktion. Die Berthelot-Reaktion dient dem quantitativen Nachweis von Ammoniak bzw. Ammonium. Die Reaktion findet im alkalischen Medium statt, in welchem Ammoniak zum blaugefärbten Indophenol-Ion reagiert. Die Konzentration wurde photometrisch bei 620 nm anhand einer Kalibrierreihe bestimmt.

Für die Probenaufarbeitung wurden die Proben für 15 Minuten bei RT und anschließend auf Eis aufgetaut. Die Proben wurden dann bei 17.000 x g, 4 °C für zehn Minuten zentrifugiert

(Heraeus Fresco 17 Centrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Mit dem Verdünnungsmedium MOPS (MOPS Pufferan®, 3-(N-Morpholino)propansulfonsäure  $\geq 98\%$ , Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) wurden die Proben jeweils 1:20 verdünnt (bei einzelnen Proben 1:50, aufgrund zu hoher Extinktionswerte).

In einer Mikrotiterplatte (Mikrotiterplatte, PS-Microplate, 96 well, F-bottom, Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich) wurden jeweils die verdünnten Proben mit den nachfolgenden Reagenzien für die Berthelot-Reaktion gemischt: Phenol-Nitroprussid-Lösung (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) und 0,2 % Na-Hypochloritlösung (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) in einmolarer NaOH. Die Inkubation beider Reagenzien erfolgte bei RT für 15 Minuten und anschließend die Messung mit dem Mikrotiterplatten-Lesegerät (SUNRISE-BASIC TECAN, Tecan Group Ltd., Männedorf, Schweiz). Nach weiteren fünf Minuten erfolgte die zweite Messung der Extinktion. Die Ergebnisse wurden mithilfe der XFluor™ Software (XFluor™, Tecan Group Ltd., Männedorf, Schweiz) ausgewertet.

### **3.2 Infektionsversuche mit der permanenten porcinen Darmzelllinie IPEC-J2**

Die Studien mit der permanenten porcinen Darmzelllinie IPEC-J2 dienen der Überprüfung möglicher Interaktionen der pflanzlichen Testsubstanzen mit den Zellen. Anhand eines durchflusszytometrischen Verfahrens sollte dabei untersucht werden, ob die Bindung pathogener Bakterien an jejunale epitheliale Zellen reduziert werden kann.

#### **Epithelzelllinie IPEC-J2**

Bei der für die Infektionsversuche gewählten Zelllinie handelt es sich um die permanente Darmzelllinie IPEC-J2 (*Intestinal Porcine Epithelial Cells - Jejunal 2*). Dies ist eine nicht-transformierte jejunale Epithelzelllinie neugeborener, nicht gesäugter Ferkel (Berschneider 1989). Die Zellen wurden nach Lagerung bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufgetaut und in Zellkulturflaschen (Cellstar® Cell Culture Flasks, Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich) überführt. Das Zellnährmedium (Zellnährmedium DMEM/Ham's F-12 (1:1), Biochrom Ltd., Cambridge, UK) enthielt 10 % Schweineserum (Porcine Serum, Biochrom Ltd., Cambridge, UK). Die Zellen wurden bei  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  in 5 %iger  $\text{CO}_2$ -Atmosphäre ( $\text{CO}_2$ -Brutschrank INCO153med, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland) inkubiert und mehrfach passagiert. Für die Infektionsversuche wurden die Passagen 57-71 verwendet.

Am ersten Tag der Infektionsversuche wurden die Zellen aus den Zellkulturflaschen in eine 24er Zellkulturplatte (CELLSTAR® 24 Well Cell Culture Plate sterile, Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich) überführt (Pipettierschema siehe Anhang,

Tabelle 31). Die Zellen wurden zunächst zweimal mit PBS (PBS Dulbecco, Biochrom Ltd., Cambridge, UK) gewaschen und der Monolayer durch Trypsin-EDTA-Lösung (Biochrom Ltd., Cambridge, UK) vom Boden der Zellkulturflasche gelöst. Die gelösten Zellen wurden mit neuem Zellnährmedium mithilfe serologischer Pipetten (Serologische Pipette CELLSTAR®, Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich) in ein Zentrifugationsgefäß überführt. Die Zellen wurden für fünf Minuten bei RT und 200 x g zentrifugiert (Heraeus MEGAFUGE 16R Centrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Anschließend wurde der Überstand verworfen und das Zentrifugat mit 10 ml Zellnährmedium resuspendiert. Für die Zellzählung wurde die Zellsuspension 1:10 mit Trypanblau (Trypanblau 0,5 %, Biochrom Ltd., Cambridge, UK) in einem Eppendorfgefäß verdünnt und 10 µl davon auf eine Einheit einer Neubauer-Zählkammer (Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) aufgetragen. Für die Bestimmung der Zellzahlen wurden bei 40-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop (Mikroskop Axiostar plus, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) viermal 16 Einzelquadrate gezählt und mit folgender Formel berechnet:

Gesamtzellzahl [in 10 ml] = Mittelwert der gezählten Zellen x 10 x 10 x 10.000

10 = Verdünnungsfaktor

10 = Volumen (Medium)

10.000 = Neubauer-Kammerfaktor

Nach Ermittlung der Gesamtzellzahl in 10 ml wurde die benötigte Menge der Zellsuspension berechnet, um für die Infektionsversuche eine Zelldichte von  $10^5$  je ml zu erreichen. Die Zellsuspension wurde mit der jeweiligen Menge Zellnährmedium verdünnt und je 1 ml pro Kavität einer 24er Zellkulturplatte gefüllt. Die Zellen wurden anschließend für 24 Stunden bei 37 °C in 5 %iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubiert.

### **Pflanzliches Testmaterial und Herstellung der Pflanzenextrakte**

Die nachfolgenden pflanzlichen Testsubstanzen wurden untersucht:

- Apfelpektin, in Pulverform (Classic AU, Herbstreith & Fox GmbH, Werder/Havel, Deutschland)
- Mangopektin, in Pulverform (Pektin aus Mangoschalen der Sorte Kaew, Thailand)
- Mangoschalen, getrocknet und auf 0,5 mm gemahlen (Sorte Totapuri (Jain Irrigation Systems Ltd., Jalgaon, Maharashtra, Indien))
- phenolischer Extrakt der Mangoschale, flüssig (hergestellt von West African Extracts GmbH, Flensburg, Deutschland; Sorte Totapuri (Jain Irrigation Systems Ltd., Jalgaon, Maharashtra, Indien))

Für die Behandlung der Zellen wurde jeweils ein Extrakt der pflanzlichen Testsubstanzen hergestellt. Dabei wurden 0,5 g des Testmaterials in 49,5 ml antibiotikafreiem Zellnährmedium gelöst und für 30 Minuten mithilfe eines Magnetrührers (IKAMAG® RH, IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland) vermischt. Alle Lösungen wurden bei 15 °C und 10.000 x g für 15 Minuten zentrifugiert (Avanti J-26 XP, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, USA). Der Überstand wurde mithilfe serologischer Pipetten auf den Filter eines Vakuum-Filtersystems (Steril Filter TPP®, PES Membran 0,22 µm, TPP Techno Plastic Products, Trasadingen, Schweiz) aufgetragen und mithilfe einer Vakuumpumpe (KNF Neuberger GmbH, Freiburg, Deutschland) steril filtriert. Diese 1 %igen Stammlösungen wurden jeweils viermal dekadisch verdünnt, sodass pro Testsubstanz fünf Verdünnungsstufen getestet wurden (siehe Anhang, Tabelle 30). Aufgrund der hohen Viskosität des Apfelpektins konnte nur eine 0,1 %ige Stammlösung erstellt werden.

Am zweiten Tag der Infektionsversuche wurde das Zellnährmedium mit zuvor autoklavierten Pasteurpipetten abgesaugt und die Zellen wurden mit je 1 ml PBS gewaschen. Danach wurden die Zellen mit je 500 µl des Pflanzenextrakts beschichtet. Die behandelten Zellen wurden dann für 24 Stunden bei 37 °C in 5 %iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubiert.

### **Kultivierung des pathogenen *Escherichia coli* Stamms**

Für die Infektionsversuche wurde der Bakterienstamm *E. coli* Abbotstown, ein enterotoxischer *E. coli* Stamm der Serogruppe O149:K91:K88ac, aus dem Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin verwendet. Der Stamm wurde jeweils zwei Tage vor der Infektion in LB(*lysogeny broth*)-Medium angezüchtet und für 12 Stunden bei 37 °C und 180 Schüttelbewegungen pro Minute inkubiert (Schüttelinkubator MaxQ 6000, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Diese Vorkulturen wurden täglich in frisches LB-Medium überimpft und inkubiert, um ein kontinuierliches Bakterienwachstum zu gewährleisten.

Für die Infektion wurden die Bakterien mit dem Fluoreszenzfarbstoff CFDA-SE (Carboxyfluorescein-Diacetat-Succinimidyl-Ester, (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) angefärbt. Dazu wurde der Fluoreszenzfarbstoff zunächst 1:20 in DMSO (DMSO (Dimethylsulfoxid) HYBRI-MAX®, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) verdünnt. Die Bakterienkulturen wurden bei RT und 16.000 x g für drei Minuten zentrifugiert (Heraeus MEGAFUGE 16R Centrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Nach Aspiration des Überstands wurden die Zentrifugate mit PBS gewaschen und erneut bei RT, 16.000 x g für drei Minuten abzentrifugiert. Das Zentrifugat wurde in 1 ml PBS resuspendiert und mit 50 µl der Fluoreszenzfarbstofflösung versetzt und für zwei Stunden bei 37 °C inkubiert. Nach der Inkubation wurde die gefärbte Bakteriensuspension erneut in 2 ml Eppendorfgefäße aufgeteilt und bei RT und 16.000 x g für drei Minuten zentrifugiert. Das

Sediment wurde in 1 ml PBS resuspendiert. Dieser Waschschrift erfolgte insgesamt dreimal. Nach dem letzten Zentrifugationsschritt wurde das Zentrifugat in 1 ml PBS resuspendiert und für die Berechnung der Bakteriendichte verwendet. Für die Bestimmung der Bakteriendichte wurden 10 µl der Bakteriensuspension in eine Thomazählkammer (Carl Roth GmbH & Co.KG, Karlsruhe, Deutschland) gegeben und bei 40-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop fünf Quadrate mit jeweils 16 Kammern gezählt.

Die Berechnung der Bakteriendichte erfolgte anhand der nachfolgenden Formel:

$$\text{Mittelwert [in 1:100]} = \left[ \frac{\text{Summe aller gezählten Bakterien} \times 1000}{0,02} \right]$$

1000 = Verdünnungsstufe der Bakteriensuspension

0,02 = Kammerfaktor der Thomazählkammer

Nach der Bestimmung der Bakteriendichte wurde die benötigte Menge für eine Zelldichte von  $10^7$ /ml für die Infektion berechnet.

### **Infektion der IPEC-J2 Zellen**

Die Bakteriensuspensionen wurden mit jeweils 50 µl pro Kavität nach dem in Tabelle 31 (siehe Anhang) aufgeführten Schema den Zellen hinzugegeben. Dies entspricht einer *multiplicity of infection* (MOI) von 100. Die Zellkulturplatten wurden dann für 90 Minuten bei 37 °C in 5 %iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubiert. Nach der Inkubation wurde das Medium mit der Vakuumpumpe abgesaugt und jede Kavität mit 1 ml PBS gewaschen. Der Waschschrift erfolgte insgesamt dreimal. Nach dem letzten Absaugen des PBS wurde pro Kavität 20 µl Trypsin-EDTA-Lösung hinzugegeben und für etwa 5-10 Minuten bei 37 °C in 5 %iger CO<sub>2</sub>-Atmosphäre inkubiert.

Nach erfolgter Ablösung der Zellen von der Zellkulturplatte wurde pro Kavität 1 ml antibiotikafreies Zellnährmedium hinzu pipettiert. Die Zellklumpen wurden durch leichtes Auf- und Abziehen der Pipette voneinander getrennt. Anschließend wurden die Zellen jeweils in ein Probengefäß (FACS Röhrchen FALCON® 5ml Polystyrene Round Bottom Tube, non-sterile, Becton Dickinson Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) überführt und bei 200 x g und 4 °C für fünf Minuten abzentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die Zellen wurden im Zentrifugat mit 200 µl antibiotikafreiem Zellnährmedium resuspendiert.

### **Durchflusszytometrie**

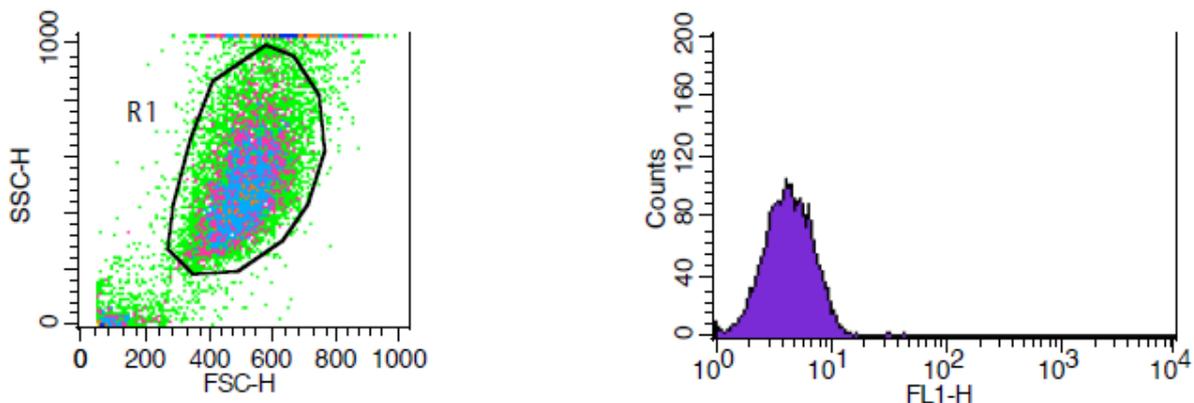
Die Durchflusszytometrie ist ein Verfahren zur Analyse von Zellen, bei dem diese nach Größe, Form und/oder Farbe unterschieden werden können. Die Zellen werden dafür an einem Laserstrahl vorbeigeführt, das entstehende Vorwärts- und Seitwärtsstreulicht wird von einem Detektor erfasst. Dabei ist das Vorwärtsstreulicht (*Forward Scatter*, FSC) proportional von der Größe der Zelle abhängig, das Seitwärtsstreulicht (*Sideward Scatter*, SSC)

proportional von der Granularität der Zelle. Dadurch können die Zellen nach Größe und Granularität sortiert und als verschiedene Populationen dargestellt werden. Darüber hinaus kann die Fluoreszenz als weitere Messgröße analysiert werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden im Infektionsversuch die *E. coli*-Bakterien mittels Fluoreszenzfarbstoff (CFDA-SE) markiert, um den Infektionsstatus jeder Zelle analysieren zu können. Die Messung der Anzahl infizierter Zellen im Zentrifugat erfolgte mithilfe eines Durchflusszytometers (FACS Calibur®, Becton Dickinson Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA). Die Auswertung der Daten der Infektionsversuche erfolgte mithilfe der BD CellQuest™ Pro Software (Becton Dickinson Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA).

Die Granularität und Größe der Zellen wurde dabei in einem Streudiagramm dargestellt (siehe Abbildung 2). Als weiterer Parameter wurde die mittlere Fluoreszenzintensität *mean fluorescence intensity* (MFI) ermittelt. Diese ist ein Maß für die Menge an gebundenem Fluoreszenzfarbstoff pro Partikel. Sie wird in Form eines Histogramms dargestellt (siehe Abbildung 2).

Um Effekte der Inkubation der Zellen mit pflanzlichen Testsubstanzen aufzeigen zu können, wurde in jeder Zellkulturplatte eine Positivkontrolle gemessen. In dieser Positivkontrolle wurde den Zellen keine Testsubstanz hinzugefügt, sie wurden vor der Infektion nur mit Zellnährmedium behandelt. Zusätzlich wurde eine Negativkontrolle bestimmt. Diese Negativkontrolle enthielt die nicht infizierten IPEC-J2 Zellen. Zur Kompensation der Eigenfluoreszenz der Zellen wurde der Wert der jeweiligen Negativkontrolle vom Messwert subtrahiert.



**Abbildung 2: Beispiel für die durchflusszytometrische Darstellung von mit *E. coli* infizierten IPEC-J2 Zellen**

Links: umrandet die Population der Zellen im Streudiagramm nach Größe und Granularität bestimmt  
Rechts: Histogramm der mittleren Fluoreszenzintensität

### **3.3 Fütterungsversuch**

Der Fütterungsversuch zur Analyse intestinaler Parameter bei Ferkeln erfolgte unter der Genehmigungsnummer G 0319/12 und wurde durch das Landesamt für Gesundheit und Soziales in Berlin genehmigt. Der Fütterungsversuch zur Erhebung der Leistungsdaten erfolgte im Rahmen der Genehmigungsnummer A 0100/13. Die gesamte Fütterungsstudie erfolgte am Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin.

#### **3.3.1 Versuchsaufbau und -durchführung**

Im Rahmen der Studie zur Eignung von Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln wurden in den Fütterungsversuchen insgesamt 150 Tiere eingesetzt. Der Fütterungsversuch zur Analyse intestinaler Parameter erfolgte mit 50 Tieren über einen Zeitraum von vier Wochen. Die Studie zur Erhebung der Leistungsdaten erfolgte mit 100 Tieren über einen Versuchszeitraum von sechs Wochen mit anschließender Abgabe der Tiere an einen Mastbetrieb.

#### **Versuchstiere und Haltung**

Im Fütterungsversuch zur Analyse intestinaler Parameter wurden in zwei Durchgängen insgesamt 50 Absetzferkel (Deutsche Landrasse) eingesetzt. Die Tiere wurden im Alter von  $24 \pm 1$  Tagen abgesetzt und den fünf Versuchsgruppen zugeteilt. Die Daten zur Erhebung der Leistungsparameter basieren auf insgesamt 100 Ferkeln (Danzucht x Piétrain) in zwei separaten Leistungsdurchgängen. Die Ferkel wurden jeweils anhand ihrer Lebendmasse zu Versuchsbeginn gleichmäßig auf die Gruppen verteilt, sodass ein vergleichbares Durchschnittsgewicht der Gruppen erzielt wurde. Pro Flatdeck wurden je ein weibliches und ein männliches Tier gehalten, die eine Einheit zur Datenerhebung bildeten. Alle Ferkel wurden in einem voll klimatisierten Stall in Flatdecks auf mit Kunststoff ummanteltem Vollspaltenboden gehalten (Abmessungen 1,22 m x 1,65 m). Die Temperatur im Stall betrug durchschnittlich 26 °C. Ein Lichtprogramm sorgte für jeweils eine zwölfstündige Licht- und Dunkelphase. Während der gesamten Versuchsdauer hatten die Tiere die Möglichkeit, Wasser *ad libitum* über Nippeltränken aufzunehmen. Die Futtermischungen wurden den Ferkeln in Schrotform ebenfalls *ad libitum* vorgelegt. Den Tieren wurden in jedem Flatdeck ein Plastikball und ein Beißring mit Kette als Beschäftigungsmaterial angeboten.

#### **Versuchsfutter und Fütterung**

Die Kalkulation der Versuchsdiäten sowie deren Mischung erfolgten am Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin. Die gesamte Versuchsdauer wurde dabei in zwei Phasen unterteilt, die Nährstoffzusammensetzung der Diäten wurde entsprechend angepasst. Das Ferkelaufzuchtfutter I wurde dabei von Lebenstag 25-42 gefüttert und

Ferkelaufzuchtfutter II ab dem 43. Lebenstag. Die Berechnung der Nährstoffzusammensetzung basierte auf den Empfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE 2006). Eine Übersicht über die genaue Zusammensetzung beider Versuchsdiäten ist im Anhang in Tabelle 32 und Tabelle 33 aufgeführt.

Die Ferkel des Fütterungsversuchs zur Analyse intestinaler Parameter hatten bis zu Versuchsbeginn Zugang zu Saugferkelbeifutter (Zusammensetzung siehe Anhang, Tabelle 34) welches diesen Tieren bereits vor dem Absetzen angeboten wurde.

In den Versuchsdiäten wurde die ergänzte Menge der Mangoschalen bzw. des Apfelpektins von der Menge des Rationsbestandteils Optigrain® subtrahiert. Die Versuchsgruppe A entsprach der Kontrollgruppe. Den Gruppen B und C wurden Mangoschalen (cv. Alphonso, Jain Irrigation Systems Ltd., Jalgaon, Maharashtra, Indien) jeweils in ein- und zweiprozentiger Dosierung zugefügt, den Gruppen D und E entsprechend Apfelpektin (Classic AU, Herbstreith & Fox GmbH, Werder/Havel, Deutschland) in ein- und zweiprozentiger Dosierung.

**Tabelle 7: Übersicht über die Versuchsgruppen**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>
Mangoschalen [g/kg]	-	10	20	-	-
Apfelpektin [g/kg]	-	-	-	10	20

Im Ferkelaufzuchtfutter II wurde in allen Versuchsdiäten zur Bestimmung der verdauungsphysiologischen Parameter 0,5 % Titanium(IV)-oxid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) als unverdaulicher Marker zugesetzt.

### **3.3.2 Erfassung der zootecnischen Parameter**

#### **Beurteilung des Gesundheitszustandes**

Der Gesundheitszustand der einzelnen Ferkel wurde routinemäßig täglich und einmal wöchentlich anhand eines Bewertungssystems (siehe Anhang, Tabelle 35) erfasst.

#### **Lebendmasseentwicklung und -zunahme**

Jedes Ferkel wurde beim Einstellen und während der Versuchsdauer einmal pro Woche gewogen (Tierwaage, AGRETO electronics GmbH, Raabs/Thaya, Österreich). Die Lebendmassezunahme wurde rechnerisch mithilfe der Lebendmassedaten ermittelt.

#### **Futteraufnahme und Futteraufwand**

Die Futteraufnahme wurde, bedingt durch die Haltungsbedingungen, pro Flatdeck ermittelt. Die tägliche Futteraufnahme wurde durch die Differenz der Futtereinwaage und der

Rückwaage des verbliebenen Futters berechnet. Die Futtermittelverluste unterhalb der Futtertröge wurden dabei anhand von Schätzwerten berücksichtigt.

Der Futteraufwand wurde ebenfalls rechnerisch ermittelt. In der Berechnung wurden dabei die mittlere Futteraufnahme sowie die mittlere Lebendmassezunahme für ein Flatdeck zu je zwei Tieren berücksichtigt.

Futteraufwand = (mittlere Futteraufnahme [kg]) / (mittlere Lebendmassezunahme [kg])

### **3.3.3 Futtermittelanalytik**

Die im Fütterungsversuch eingesetzten Versuchsdüden wurden nach der Weender-Futtermittelanalyse nach Empfehlungen der VDLUFA, Methodenbuch III (Naumann & Bassler 2004) bestimmt. Die Versuchsdüden wurden zuvor auf eine Größe von 0,5 mm gemahlen (Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200, Retsch GmbH, Haan, Deutschland). Die Analysen der Versuchsdüden erfolgten für jeden Durchgang separat und jeweils anhand von Doppelbestimmungen.

#### **Rohnährstoffe**

##### Trockensubstanz (TS)

Für die Bestimmung der TS wurden jeweils 1-2 g der Versuchsdüden in Porzellantiegel eingewogen (Analysewaage Typ Genius, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) und bei 103 °C getrocknet (Heraeus® Trockenschrank T5042, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland). Nach erfolgter Trocknung und Abkühlung im Exsikkator (DURAN®, DN 300, Exsikkator-Deckel, mit Tubus NS 24/29 Novus, Duran Produktions GmbH & Co. KG, Mainz, Deutschland) wurden die Porzellantiegel erneut gewogen. Durch die Berechnung der Differenz wurde der TS-Gehalt ermittelt.

##### Rohasche (XA)

Der Gehalt an Rohasche wurde durch Veraschen der Versuchsdüden für sechs Stunden bei 600 °C im Muffelofen (Heraeus® M 110, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland) und anschließendem Abkühlen im Exsikkator und Rückwiegen ermittelt.

##### Rohprotein (XP)

Die Analyse des Rohproteins erfolgte über die Messung des Stickstoffgehalts der Versuchsdüden nach der Dumas-Methode mithilfe eines Makro-Elementaranalysators (Makro-Elementaranalysator vario max CN, Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Deutschland).

### Rohfett (XL)

Nach der Einwaage von etwa 1 g der Versuchsdüäten in Filterbeutel (XT4 Filter Bags, ANKOM Technology Macedon, NY, USA) erfolgte die Extraktion des Fetts mit Petrolether (Petroleumbenzin, reinst, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) nach dem Soxhlet-Verfahren (Extraktionssystem B-811, Büchi Labortechnik GmbH, Essen, Deutschland). Nach anschließender Trocknung bei 103 °C im Trockenschrank (Lackrockenschrank LUT 6050 F, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA), um das Lösungsmittel vollständig abdampfen zu lassen, konnte der Rohfettgehalt durch die Differenz des Probengefäßes vor und nach der Extraktion ermittelt werden.

### Rohfaser (XF)

Der Rohfasergehalt wurde mittels Rohfaseranalysator (Ankom2000 Fibre Analyser, ANKOM Technology Macedon, NY, USA) bestimmt. Dazu wurden 0,5 g der Versuchsdüät in Filterbeutel (F57 Filter Bags, ANKOM Technology, Macedon, NY, USA) eingewogen und erst in 1,25 %iger Schwefelsäure (J.T. Baker, Griesheim, Deutschland) und anschließend in 1,25 %iger Natronlauge (Natriumhydroxid  $\geq$  99 %, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) gekocht. Nach anschließender Trocknung bei 105 °C (Lackrockenschrank LUT 6050 F, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) und Rückwaage wurden die Proben für sechs Stunden bei 600 °C im Muffelofen verascht (Heraeus® M 110, Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland). Der Rohfasergehalt wurde durch die Subtraktion des Gewichts der Rohasche vom Gewicht des getrockneten Inhalts des Filterbeutels berechnet.

### **Stärke**

Die Bestimmung des Stärkegehalts erfolgte mittels eines enzymatischen Tests. Dabei wurde Stärke durch das Enzym Amyloglukosidase hydrolytisch in D-Glukose umgewandelt, aus welcher durch eine weitere enzymatische Reaktion durch Hexokinase und Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase NADPH entstand. Die Menge an NADPH, die während der Reaktion gebildet wurde, ist der durch Hydrolyse der Stärke gebildeten Menge an D-Glukose proportional und konnte photometrisch bei einer Wellenlänge von 340 nm gemessen werden (Photometer: Ultrospec 2100 pro, Amersham Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ, USA).

### **Mengen- und Spurenelemente**

#### Probenaufarbeitung

Im Anschluss an die Veraschung wurden die Proben mit 20 ml *aqua bidest.* und 6 ml Salzsäure (36-38 %; J.T. Baker, Griesheim, Deutschland) versetzt. Anschließend wurden sie im vorgeheizten Sandbad (Harry Gestigkeit GmbH, Düsseldorf, Deutschland) bei 210-220 °C für 50 min erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Proben mit *aqua bidest.* über einen

Faltenfilter (Faltenfilter Whatman 595 ½, 125 mm, GE Healthcare, Little Chalfont, UK) in ein 50 ml Messkolben überführt.

### Messung von Calcium, Natrium, Magnesium, Kalium, Kupfer, Zink und Eisen

Der Gehalt an Calcium, Natrium, Magnesium, Kalium, Kupfer, Zink und Eisen wurde in der Aschelösung mittels Atomabsorptionsspektrometer (Atomabsorptionsspektrometer vario 6, Analytik Jena AG, Jena, Deutschland) bestimmt.

### Phosphorbestimmung

Der Phosphorgehalt in den Versuchsdiäten wurde durch colorimetrische Bestimmung von Vanadat-Molybdat ermittelt. Für die Bestimmung wurden 500 µl der vorbereiteten Aschelösung mit 5 ml einer Lösung versetzt, die aus Salpetersäure (134 ml; 65 %ig, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) sowie den Phosphor-Komplexbildnern Ammoniumvanadat (200 ml; Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) und Ammoniummolybdat (200 ml; Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) bestand. Der in der Probe enthaltene Phosphor reagiert im sauren Milieu zu einem gelben Farbkomplex, der bei einer Wellenlänge von 436 nm photometrisch gemessen wurde (Photometer: Ultrospec 2100 pro, Amersham Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ, USA).

### **3.3.4 Probengewinnung zur Analyse intestinaler Parameter**

Die Tiere des Fütterungsversuchs zur Analyse intestinaler Parameter wurden jeweils am Versuchsende der beiden Durchgänge an zwei aufeinanderfolgenden Tagen im Alter von 56 und 57 Tagen zur Probenentnahme euthanasiert. Die letzte Fütterung fand vier Stunden zuvor statt, um eine ausreichende Füllung des GIT zu gewährleisten. Die Ferkel wurden zunächst mit Ketaminhydrochlorid (Ursotamin®, 10 %ig; Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) und Azaperon (Stresnil®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) intramuskulär (0,2 ml/0,1 ml pro kg Lebendmasse) narkotisiert. Nach Eintritt einer tiefen Anästhesie erfolgte die intrakardiale Applikation eines Kombinationspräparats bestehend aus Tetracainhydrochlorid, Mebezoniumiodid und Embutramid (T61®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland). Nach erfolgter Euthanasie der Tiere wurde die Bauchhöhle durch einen Schnitt entlang der *Linea alba* sowie durch zwei Entlastungsschnitten entlang des Rippenbogens eröffnet. Zur besseren Orientierung und um zu verhindern, dass sich der Darminhalt vermischt, wurden jeweils Klemmen am Magenausgang, am Caecum sowie am rektalen Ende des Darmes gesetzt. Das Darmkonvolut wurde dann nach Abtrennen des Magens als Ganzes entnommen und die Abschnitte für die Probenentnahme definiert (siehe Tabelle 8).

**Tabelle 8: Definierung der Darmabschnitte zur Probenentnahme**

<b>Darmabschnitt</b>	<b>In dieser Studie definierter Bereich</b>
Duodenum	75-80 cm nach dem Magen
Jejunum	terminaler Abschnitt
Ileum	100 cm praecaecal
Colon ascendens	20-35 cm nach dem Caecum
Colon descendens	30-40 cm vor dem Anus
Rectum	15-20 cm vor dem Anus

Anschließend wurden der Mageninhalt und der Urin aus der Blase entnommen. Die Digesta aus Magen, Duodenum, Jejunum, Ileum, Caecum, Colon ascendens, Colon descendens und Rectum wurden in 15 und 50 ml Plastikgefäße (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich) überführt. Der pH-Wert der Digestaprobe wurde direkt bestimmt und bis zur weiteren Analyse wurden die Proben bei -20 °C gelagert. Für die molekularbiologischen Untersuchungen wurden Digestaprobe aus Magen, Ileum, Caecum und Colon ascendens jeweils in ein 2 ml Eppendorfgefäß überführt und bis zur weiteren Analyse bei -80 °C gelagert.

### **3.3.5 pH-Wert Messung sowie Bestimmung des TS-Gehalts und der Verdaulichkeit**

#### **pH-Wert Messung der Digesta und des Urins**

Der pH-Wert wurde direkt nach Überführen der Digesta und des Urins in die 15 und 50 ml Plastikgefäße (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich) mit einer pH-Einstich-Elektrode (SG2, SevenGo, Mettler-Toledo International Inc., Columbus, OH, USA) gemessen. Diese wurde zuvor mit einer Zwei-Punktkalibrierung mit Standardlösungen pH 4 und pH 7 kalibriert (pH-Pufferlösungen pH 4, pH 7, Mettler-Toledo International Inc., Columbus, OH, USA).

#### **Bestimmung der TS der Digesta**

Die Digestaprobe aus Ileum und Rectum wurden in zuvor abgewogene 50 ml Plastikgefäße (Greiner Bio-One International GmbH, Kremsmünster, Österreich) eingewogen und anschließend bei -20 °C eingefroren. Die Proben wurden mittels Vakuumgefrierdrying (Gefrierdrying, Alpha 1-4 LSC, Martin Christ Gefrierdryinganlagen GmbH, Osterode/Harz, Deutschland) für drei Tage getrocknet. Die Plastikgefäße mit den gefriergetrockneten Proben wurden erneut gewogen und nach Abzug der Leergewichte der Plastikgefäße wurde die prozentuale TS mit nachfolgender Formel berechnet:

$$TS [\%] = [(Gefriergetrocknete\ Auswaage) / (Frische\ Einwaage)] \times 100$$

Für die weiteren Analysen wurden die gefriergetrockneten Proben auf eine Partikelgröße von 0,5 mm gemahlen (Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200, Retsch GmbH, Haan, Deutschland).

### **Bestimmung des Titangehalts in den Versuchsdiäten und Digestaprobe sowie Berechnung der praecaecalen Verdaulichkeit und Gesamtverdaulichkeit von Rohprotein und Rohfett**

Die verdauungsphysiologischen Untersuchungen erfolgten anhand der Indikatormethode. Den Versuchsdiäten wurde dafür 0,5 % Titanium(IV)-oxid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) als unverdaulicher Marker zugesetzt und der jeweilige Titangehalt in den Versuchsdiäten sowie in den Digestaprobe ermittelt.

#### Titanbestimmung

Für die Bestimmung des Titangehalts der Versuchsdiäten wurden etwa 200 mg in ein Glasaufschlussgefäß (SCP Science, Courtaboeuf, Frankreich) eingewogen. Die Bestimmung in den Digestaprobe erfolgte durch Einwaage von jeweils ca. 100 mg Digesta in Glasaufschlussgefäße. Die zu analysierenden Proben wurden mit konzentrierter Schwefelsäure (95-97 %; J.T. Baker, Griesheim, Deutschland) und Kjeldahlkatalysator (Kjeldahl Tabletten 3,5 g/Tablette, AppliChem GmbH, Darmstadt, Deutschland) versetzt und für 95 Minuten bei 400 °C aufgeschlossen (Heizblock: SCP Science DigiPREP HAT, S-prep GmbH, Überlingen, Deutschland). Nach erfolgtem Aufschluss der Proben wurden diese mit *aqua bidest.* überführt und filtriert. Danach wurden jeweils 2 ml der Probe mit 200 µl Wasserstoffperoxid (Pedrogen® 30 %, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) versetzt und die Extinktion bei 410 nm photometrisch (Ultrospec 2100 pro, Amersham Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ, USA) bestimmt.

#### Bestimmung des Rohproteingehalts in Digesta

Die Analyse des Rohproteingehalts der Digestaprobe erfolgte nach Einwaage von 150-200 mg der Proben und analog der Weender-Futtermittelanalyse mittels Dumas-Verfahren (siehe Kapitel 3.3.3).

#### Bestimmung des Rohfettgehalts in Digesta

Die Bestimmung des Rohfettgehalts der Digestaprobe erfolgte analog der Weender-Futtermittelanalyse mittels Soxhlet-Extraktion (siehe Kapitel 3.3.3).

#### Berechnung des Verdaulichkeitsquotienten der einzelnen Nährstoffe

Die Berechnung der praecaecalen Verdaulichkeit sowie der Gesamtverdaulichkeit von Rohfett und Rohprotein erfolgte mittels Markermethode anhand nachfolgender Formel:

$$\text{Verdaulichkeit [\%]} = 100 - \frac{\text{Titandioxidgehalt Futter [g/kg]}}{\text{Titandioxidgehalt Digesta [g/kg]}} \times \frac{\text{Nährstoffgehalt Digesta [g/kg]}}{\text{Nährstoffgehalt Futter [g/kg]}} \times 100$$

### **3.3.6 Mikrobiologische Untersuchungen**

Die mikrobiologischen Analysen der Digesta gliederten sich methodisch in drei Abschnitte. Zunächst erfolgte die Bestimmung der bakteriellen Metaboliten: kurzkettige Fettsäuren, Laktat, Ammonium, biogene Amine, Phenole und Indole. Des Weiteren erfolgten die Quantifizierung ausgewählter Bakteriengruppen sowie der Nachweis der metabolischen Aktivität der Mikrobiota anhand der Bestimmung der Substratverwertung von Faecesproben.

#### **Bestimmung der bakteriellen Metaboliten in Digestaprobe**

Für die Analyse bakterieller Metaboliten wurden Digestaprobe aus den Abschnitten Magen, Jejunum, Caecum, Colon ascendens und Colon descendens untersucht.

##### Kurzkettige Fettsäuren

Für die Aufarbeitung der Proben wurde etwa 300 mg Probenmaterial in ein 2 ml Eppendorfgefäß eingewogen und in 1 ml Verdünnungslösung (Zusammensetzung siehe Anhang) aufgenommen, die 0,5 mM Capronsäure (C:6) als internen Standard enthielt. Nach einstündigem Vermischen und Inkubieren auf einem Rüttler (Rüttler VV 3, VWR International GmbH Darmstadt, Deutschland) wurden die Proben bei 14.800 x g für acht Minuten bei RT zentrifugiert (Centrifuge 5415 C, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Bei Digestaprobe aus Magen und Jejunum wurden je 500 µl des Überstands mit 500 µl der Verdünnungslösung versetzt. Bei Digestaprobe aus Caecum, Colon ascendens und Colon descendens wurden je 100 µl des Überstands mit 900 µl der Verdünnungslösung versetzt. Die Messung erfolgte analog zu den Proben aus den Inkubationsmethoden (Kapitel 3.1.3).

##### D- und L-Laktat

Für die Aufarbeitung wurden die Digestaprobe zunächst mit Kupfer-II-sulfat-Lösung (0,5 mM) extrahiert und anschließend durch eine Carrez-Klärung aufgearbeitet (Zusammensetzung siehe Anhang). Danach wurden die Proben für zehn Minuten bei 13.000 x g zentrifugiert (Heraeus Fresco 21 Microcentrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) und analog den Proben aus den Inkubationsmethoden filtriert und in die Glasgefäße verdünnt. Dabei wurden die Digestaprobe aus dem Magen 1:10 verdünnt, die Proben aus dem Jejunum 1:5 und aus Caecum, Colon ascendens und Colon descendens jeweils 1:2,5. Die Messung erfolgt analog zu den Proben aus den Inkubationsmethoden (Kapitel 3.1.3).

##### Ammonium

Bei der Probenaufarbeitung für die Ammoniumbestimmung wurden die Proben zunächst für maximal 15 Minuten bei RT und anschließend auf Eis aufgetaut. Für die Bestimmung wurden etwa 0,5 g Digesta in ein 2 ml Eppendorfgefäß eingewogen und in zwei Volumina MOPS-

Puffer (MOPS Pufferan®, ≥ 98 %, 4 °C, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) aufgenommen. Nach erfolgter Homogenisierung und Inkubation für zehn Minuten wurden die Proben bei 17.000 x g und 4 °C für zehn Minuten zentrifugiert (Heraeus Fresco 17 Centrifuge, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Die Proben aus Magen und Jejunum wurden überwiegend 1:10 vorverdünnt, die Proben aus Caecum, Colon ascendens und Colon descendens jeweils 1:20. Die Messung erfolgt analog zu den Proben aus den Inkubationsmethoden (Kapitel 3.1.3).

### Biogene Amine Putrescin, Histamin, Cadaverin, Spermidin und Spermin

Die Gehalte biogener Amine im Chymus wurden mittels ionenchromatografischem Verfahren und anschließender Nachsäulenderivatisierung mit Ninhydrin bestimmt. Die Ionenaustauschchromatografie erfolgte durch einen Aminosäureanalysator (Biochrom 20 Plus, Biochrom Ltd., Cambridge, UK) mithilfe einer Polyamin-Ionenaustauschersäule (Laborservice Onken GmbH, Gründau, Deutschland). Für die Bestimmung wurden etwa 0,5 g der Digestaprobe in 2 ml Eppendorfgefäße eingewogen und mit 1 ml der Extraktionslösung (wässrige Trichloressigsäure (10 %), 0,2 % Thiodipropionsäure) versetzt. Nach 30 Minuten Inkubation auf einem Rüttler (Rüttler VV 3, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) wurden die Proben für zehn Minuten bei 13.000 x g zentrifugiert (Centrifuge 5415 C, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland). Der Überstand wurde anschließend 1:1 mit der Extraktionslösung verdünnt und durch einen Spritzenvorsatzfilter (Cellulose-Acetat-Spritzenvorsatzfilter, 0,45 µm, VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland) filtriert. Die Proben wurden über den Probengeber injiziert (25 µl) und mittels Citratpuffer (pH 6,45) eluiert.

### Phenolische Verbindungen Phenol, 4-Methylphenol (p-Cresol), 4-Ethylphenol und indolische Verbindungen Indol, 3-Methylindol (Skatol)

Die Bestimmung der in den Digestaprobe enthaltenen Phenole und Indole erfolgte mittels GC (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA). Für die Probenaufarbeitung wurden etwa 2 g der Digestaprobe in Zentrifugengefäße (Oak Ridge Zentrifugenröhrchen, PPCO, Nalgene™, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) eingewogen und mit 9 ml Methanol sowie 1 ml frisch hergestelltem 5-Methylindol als internem Standard versetzt. Danach wurden die Proben für zwei Stunden bei 4 °C und kontinuierlichem Durchmischen inkubiert und anschließend bei 29.000 x g und 4 °C für 15 Minuten zentrifugiert (Avanti J-26 XP, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, USA). Der Überstand wurde für die Analyse unverdünnt über den Probengeber dem GC zugeführt. Die phenolischen und indolischen Verbindungen wurden über eine Polysiloxan-Polymersäule mit hoher Polarität (HP-88, 88% Cyanopropyl 12% Arylpolydimethylsiloxan, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) getrennt. Als Trägergas diente Wasserstoff, welcher über einen Gasgenerator (Parker ChromGas 9150, Parker Hannifin Corp., Cleveland OH, USA) generiert wurde. Das

Analysenprogramm hatte einen Fluss von 0,7 ml/min bei konstantem Druck. Die Initialtemperatur des Ofens betrug 130 °C und die Endtemperatur 220 °C für zwei Minuten.

### **Molekularbiologische Quantifizierung ausgewählter Bakteriengruppen in der Digesta**

Die Quantifizierung ausgewählter Vertreter der Mikrobiota erfolgte aus DNA-Extrakten der Digestaprobe aus Magen, Ileum, Caecum und Colon ascendens. Die bakteriellen Gruppen wurden anhand von sechs Gruppenprimern untersucht: *E. coli/Hafnia/Shigella* Gruppe, *Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas* Gruppe, *Lactobacillus* Gruppe, Clostridien-Cluster I, *C. coccoides*-Cluster XIVa und *C. leptum*-Cluster IV (Cluster nach Collins *et al.* (1994).

### DNA-Extraktion

Die Extraktion der bakteriellen DNA aus den Digestaprobe (200mg) erfolgte nach Herstellerangaben mit dem QIAamp® DNASTool Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Deutschland) mit Ausnahme des ersten Lyseschritts, welcher bei 90 °C (laut Herstelleranleitung: 70 °C) durchgeführt wurde. Die DNA-Extrakte wurden bis zur weiteren Analyse bei -30 °C gelagert.

### Bestimmung der DNA-Konzentration der Extrakte

Die Bestimmung der DNA-Konzentration in den Extrakten erfolgte mithilfe eines Fluorospektrometers (NanoDrop™ 3300, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Für den Nachweis wurden die Stammlösung des Fluoreszenzfarbstoffs Hoechst Dye 33258 (10 mg/ml; Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) mit TNE-Puffer (20 ml Tris 1 M, 10 ml EDTA 0,2 M, 70 ml NaCl 5 M, auf 200 ml aufgefüllt, pH 7,4 (alle Pufferbestandteile: Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland)) zu einer Arbeitslösung mit einer Konzentration von 200 mg/ml verdünnt. Die DNA-Extrakte, welche gegebenenfalls je nach DNA-Konzentration zuvor mit TNE-Puffer verdünnt werden mussten, wurden für die Messung 1:1 mit der Arbeitslösung verdünnt und je 2 µl auf das Fluorospektrometer aufgetragen. Anhand einer zuvor mittels Kalbsthymus DNA (Type XV, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) erstellten Kalibrierreihe wurde der DNA-Gehalt der Extrakte berechnet.

### Prinzip und Durchführung der quantitativen Polymerase-Kettenreaktion (qPCR)

Der quantitative Nachweis erfolgt bei der qPCR durch den Fluoreszenzfarbstoff SYBR®Green, welcher sich interkalierend in die doppelsträngige DNA des jeweiligen Abschnitts einlagert und dadurch die Fluoreszenz erhöht. Anhand der Auswahl der für den zu untersuchenden DNA-Abschnitt spezifischen Primer (siehe Anhang, Tabelle 37) werden die jeweiligen Nukleotidsequenzen nachgewiesen. Die jeweils für die Primer spezifischen Reaktionsbedingungen sind im Anhang in Tabelle 38 aufgeführt. Als Kalibrierreihe dienen PCR-Produkte (hergestellt im Institut für Tierernährung, Freie Universität Berlin) mit bekannter Kopienanzahl. Zur Überprüfung der korrekten Amplifikation erfolgte eine

Schmelzkurvenanalytik der PCR-Produkte. Vor der Durchführung der qPCR wurde zunächst die DNA-Konzentration der Extrakte mit RNase-freiem Wasser auf die Probe mit der geringsten Konzentration äquimolar eingestellt. Für die qPCR wurde je 1 µl der äquimolar eingestellten DNA mit 24 µl der Reaktionslösung (siehe Anhang, Tabelle 39) in einem PCR-Gefäß vermischt und mittels Real-Time-Thermo-Cycler (Stratagene Mx3000P Thermo Cycler, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) analysiert. Die Auswertung der Ergebnisse der qPCR erfolgte mit dem Softwareprogramm MxPro QPCR Software (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA).

### Berechnung der Kopienanzahl pro Gramm Probe

Die Kopienanzahl pro Gramm Probe (Feuchtgewicht) wurde wie folgt ermittelt: Die Kopienanzahl in den verdünnten Probenextrakten wurde zunächst anhand der mitgeführten Kalibrierreihen bestimmt, dann wurde der Verdünnungsfaktor einbezogen, mit dem Gesamt-DNA Gehalt der Probe multipliziert und durch die Probeneinwaage dividiert.

### **Bestimmung der Kapazität der Substratverwertung von Faecesproben durch Zugabe von Kohlenhydratquellen in BIOLOG MT2-Platten**

In einer weiteren Methode zur Charakterisierung der Mikrobiota wurde die mögliche Substratverwertung von Bakterien durch Zugabe von Kohlenhydratquellen in BIOLOG MT2-Platten bestimmt (Biolog Inc., Hayward, CA, USA). Die in einer Kotsuspension vorhandenen Bakterien nutzen bzw. oxidieren dabei die zugesetzten Kohlenhydratquellen. Durch Reaktion mit dem in BIOLOG MT2-Platten enthaltenen Redoxfarbstoff kann, durch Messung der optischen Dichte, die Substratverwertung ermittelt werden.

In der vorliegenden Studie erfolgte die Bestimmung der Substratverwertung der Mikrobiota anhand von frischen Faecesproben der Tiere aus dem Fütterungsversuch zur Leistungsdatenerhebung zu Versuchsende. Die dabei genutzten BIOLOG MT2-Platten enthielten pro Kavität neben einem kohlenhydratfreien Medium den Redoxfarbstoff Tetrazolium Violet, welcher kolorimetrisch den Verbrauch einer Kohlenhydratquelle durch den Nachweis der Bildung von NADH belegt (Garland & Mills 1991). Die Kohlenhydratquellen können je nach Versuchsansatz den BIOLOG MT2-Platten hinzugefügt werden. In dieser Studie wurden frische Faecesproben dekadisch bis 1:1000 in 0,85 % Natriumchlorid (Natriumchlorid  $\geq$  99,5 %, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) verdünnt und durch Mischen homogenisiert. Nach erfolgter Sedimentation für fünf Minuten wurden die Suspensionen zu je 50 µl in die Kavitäten der BIOLOG MT2-Platten überführt. Die BIOLOG MT2-Platten wurden zuvor mit 100 µl einer 0,17 %igen Lösung aus autoklaviertem Mangoschalenpulver bzw. Apfelpektin als Kohlenhydratquelle versetzt (Laboklav, SHP Steriltechnik AG, Detzel Schloss/Satuelle, Deutschland). Anschließend wurden die Platten unter anaerober Atmosphäre bei 37 °C inkubiert. Die optische Dichte

wurde bei 590 nm zum Zeitpunkt Null und nach 24 Stunden mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät (SUNRISE-BASIC TECAN, Tecan Group Ltd., Männedorf, Schweiz) analysiert.

Die erzielten Rohdaten wurden abschließend nach Garland & Mills (1991) transformiert. Um eine eindeutig positive/negative Antwort über die Substratverwertung zu ermöglichen, wurde ein mittlerer Absorptionswert (mAW) errechnet. Dieser Wert errechnet sich aus der Summe aller Signale einer Mikrotiterplatte nach Korrektur der Hintergrundabsorption der Kontrolle (Wasser):  $mAW = [\sum (\text{Kontrolle-Signal})]/95$ . Die erzielten Signale pro Kavität wurden nach Korrektur der Hintergrundabsorption anschließend durch den mAW dividiert, und somit Abweichungen verschiedener Platten reduziert.

### 3.3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mithilfe des Statistikprogramms IBM SPSS Statistics 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Dabei wurden alle Daten zunächst auf ihre Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test überprüft. Bei überwiegend normalverteilten Daten erfolgte die Darstellung der Daten in Form des Mittelwerts und Standardabweichung. Bei nicht-normalverteilten Daten wurden der Median sowie Minimum und Maximum der Daten aufgeführt. Nach Überprüfung der Varianzhomogenität mittels Levene-Test erfolgte bei vorliegender Normalverteilung eine einfaktorielle Varianzanalyse (*analysis of variance* (ANOVA)). Da bei der Auswertung der Ergebnisse der Langzeitinkubation die verbundenen Stichproben berücksichtigt werden konnten, erfolgte bei diesen Daten eine einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen.

Das Signifikanzniveau wurde bei allen Daten mit einem p-Wert von  $p \leq 0,05$  festgelegt. Dabei wurden Ergebnisse mit  $p \leq 0,05$  als signifikant und  $p \leq 0,10$  als tendenziell festgelegt. Bei entsprechenden Ergebnissen der Varianzanalysen erfolgte im Anschluss der Tukey-Test als Post-Hoc-Signifikanztest, um vorliegende Gruppenunterschiede nachzuweisen.

Die nicht-normalverteilten Daten wurden mittels Kruskal-Wallis-Test ausgewertet. Auch hierbei wurde das Signifikanzniveau mit einem p-Wert von  $p \leq 0,05$  festgelegt. Bei signifikanten Unterschieden zwischen den Gruppen, wurden einzelne Gruppenunterschiede mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests ermittelt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 *In vitro*-Inkubationen

#### 4.1.1 Ergebnisse der Kurzzeitinkubationen mit verschiedenen Kohlenhydraten

Die Ergebnisse der Kurzzeitinkubationen von Sauenkot mit verschiedenen Kohlenhydratquellen zeigen, dass durch die Zugabe der pflanzlichen Testsubstanzen der Gehalt der bakteriellen Metaboliten und somit das Fermentationsmuster zum Teil beeinflusst wurden. In Tabelle 9 sind die nach 24 Stunden gemessenen pH-Werte und die analysierten Gehalte der bakteriellen Metaboliten der Versuchsansätze aufgeführt. Die Ergebnisse der Kontrollansätze der Kotsuspensionen wurden nicht von den erzielten Ergebnissen der Testsubstanzen subtrahiert, sondern in der Tabelle 9 als Kontrolle aufgeführt.

Vergleicht man die in den Ansätzen der verschiedenen Testsubstanzen erzielten pH-Werte mit dem pH-Wert der Negativkontrolle, zeigt sich, dass durch die Zugabe der Substanzen der pH-Wert in allen Ansätzen gesenkt wurde ( $p < 0,001$ ). Die stärkste pH-Wert-Absenkung erfolgte nach Zugabe von Glukose (pH 6,02), gefolgt von der Zugabe von Mangopektin (pH 6,37), Apfelpektin (pH 6,52) und Mangoschalen (pH 6,52) sowie dem phenolischen Extrakt der Mangoschalen (pH 6,59). Neben der pH-Wert-Absenkung zeigte die Zugabe aller Substanzen einen abgesicherten Anstieg des Gesamtgehalts kurzkettiger Fettsäuren ( $p < 0,001$ ). Im Vergleich zur Negativkontrolle erzielte hierbei die Zugabe von Mangopektin den höchsten Gesamtgehalt kurzkettiger Fettsäuren von 15,2 mmol/l ( $p < 0,001$ ), gefolgt von Apfelpektin mit 13,3 mmol/l ( $p < 0,001$ ) und Glukose mit 11,2 mmol/l ( $p < 0,001$ ) sowie dem phenolischen Extrakt mit 9,07 mmol/l ( $p = 0,006$ ) und den Mangoschalen mit 8,46 mmol/l ( $p = 0,007$ ).

Beim Vergleich der Essigsäuregehalte ergaben sich durch Zugabe der Testsubstanzen Unterschiede ( $p < 0,001$ ) zwischen den Versuchsansätzen. Im Vergleich zur Negativkontrolle wurden durch die Zugabe von Mangopektin mit 11,6 mmol/l ( $p < 0,001$ ) und Apfelpektin mit 9,77 mmol/l ( $p < 0,001$ ) die höchsten Essigsäuregehalte ermittelt. Die Zugabe der Glukose erzielte mit 7,94 mmol/l ebenfalls höhere Gehalte ( $p < 0,001$ ). Die Inkubation der Mangoschalen ergab mit 6,36 mmol/l nur tendenziell höhere Essigsäuregehalte ( $p = 0,080$ ) im Vergleich zur Negativkontrolle. Beim Vergleich der Propionsäuregehalte wurden gegenüber der Negativkontrolle durch Zugabe von Mangopektin ( $p < 0,001$ ) und Apfelpektin ( $p < 0,001$ ) sowie Glukose ( $p < 0,001$ ) mit 2,36 mmol/l, 2,03 mmol/l und 1,90 mmol/l die höchsten Gehalte ermittelt.

## Ergebnisse

**Tabelle 9: pH-Werte und bakterielle Metaboliten nach 24 Stunden Inkubation von Sauenkotsuspensionen in Medien mit verschiedenen Testsubstanzen (0,2 %) (n = 5) (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe	Kontrolle	Glukose	Apfelpektin	Mangopektin	Mangoschale	Phen. Extrakt <sup>1</sup>	p
pH-Wert	6,81 (6,78 - 6,95) <sup>e</sup>	6,02 (5,88 - 6,26) <sup>a</sup>	6,52 (6,36 - 6,61) <sup>c</sup>	6,37 (6,16 - 6,51) <sup>b</sup>	6,52 (6,42 - 6,67) <sup>c</sup>	6,59 (6,49 - 6,71) <sup>d</sup>	< 0,001
Kurzkettige FS [mmol/l]							
Essigsäure	4,01 (0,86 - 7,86) <sup>a</sup>	7,94 (7,23 - 9,23) <sup>c</sup>	9,77 (5,40 - 11,9) <sup>d</sup>	11,6 (4,57 - 13,6) <sup>d</sup>	6,36 (2,51 - 7,56) <sup>ab</sup>	6,48 (3,14 - 8,38) <sup>b</sup>	< 0,001
Propionsäure	0,41 (0,17 - 0,79) <sup>a</sup>	1,90 (0,86 - 3,36) <sup>c</sup>	2,03 (1,11 - 2,21) <sup>c</sup>	2,36 (1,16 - 3,05) <sup>c</sup>	1,07 (0,30 - 1,81) <sup>b</sup>	1,35 (0,65 - 1,71) <sup>b</sup>	< 0,001
i-Buttersäure	0,09 (0,02 - 0,30)	0,08 (0,02 - 1,60)	0,11 (0,02 - 0,26)	0,11 (0,03 - 0,30)	0,09 (0,02 - 0,24)	0,46 (0,06 - 0,99)	0,199
n-Buttersäure	0,12 (0,09 - 0,17) <sup>a</sup>	0,57 (0,34 - 0,82) <sup>c</sup>	0,29 (0,04 - 0,41) <sup>b</sup>	0,32 (0,16 - 0,49) <sup>b</sup>	0,42 (0,17 - 0,93) <sup>bc</sup>	0,24 (0,22 - 0,27) <sup>b</sup>	< 0,001
i-Valeriansäure	0,15 (0,05 - 0,44)	0,12 (0,04 - 0,56)	0,12 (0,03 - 0,25)	0,12 (0,04 - 0,17)	0,15 (0,05 - 0,41)	0,38 (0,08 - 0,58)	0,246
n-Valeriansäure	0,03 (0,02 - 0,06)	0,07 (0,02 - 0,16)	0,05 (0,03 - 0,07)	0,05 (0,03 - 0,07)	0,04 (0,02 - 0,06)	0,05 (0,03 - 0,08)	0,141
Gesamtfettsäuren	5,23 (1,83 - 9,53) <sup>a</sup>	11,2 (9,07 - 13,3) <sup>c</sup>	13,3 (6,83 - 14,6) <sup>cd</sup>	15,2 (8,31 - 17,6) <sup>d</sup>	8,46 (4,44 - 14,2) <sup>ab</sup>	9,07 (5,16 - 10,5) <sup>b</sup>	< 0,001
Relativer Anteil [mol. %]							
Essigsäure	82,6 (72,7 - 87,1) <sup>c</sup>	68,2 (53,7 - 82,8) <sup>a</sup>	78,4 (69,5 - 81,7) <sup>bc</sup>	76,1 (64,3 - 83,5) <sup>ab</sup>	75,8 (56,7 - 85,4) <sup>abc</sup>	71,9 (59,3 - 84,4) <sup>ab</sup>	0,027
Propionsäure	8,53 (7,12 - 10,8) <sup>a</sup>	17,4 (7,74 - 25,2) <sup>c</sup>	15,2 (14,0 - 17,1) <sup>c</sup>	16,4 (13,0 - 20,1) <sup>c</sup>	13,7 (12,2 - 16,5) <sup>b</sup>	15,4 (14,7 - 17,0) <sup>c</sup>	< 0,001
i-Buttersäure	1,00 (0,77 - 5,22) <sup>bc</sup>	0,72 (0,19 - 12,7) <sup>ac</sup>	0,74 (0,24 - 1,65) <sup>a</sup>	0,68 (0,20 - 2,71) <sup>a</sup>	0,87 (0,18 - 3,33) <sup>ab</sup>	5,21 (0,70 - 14,7) <sup>c</sup>	0,030
n-Buttersäure	4,52 (2,32 - 6,78) <sup>b</sup>	5,49 (2,99 - 8,70) <sup>b</sup>	2,58 (1,93 - 3,37) <sup>a</sup>	2,62 (1,86 - 3,20) <sup>a</sup>	3,78 (2,66 - 10,9) <sup>b</sup>	2,52 (1,79 - 3,45) <sup>a</sup>	< 0,001
i-Valeriansäure	2,03 (1,22 - 18,2) <sup>b</sup>	1,00 (0,40 - 3,99) <sup>a</sup>	0,78 (0,45 - 1,49) <sup>a</sup>	0,80 (0,24 - 1,87) <sup>a</sup>	1,41 (0,33 - 2,86) <sup>a</sup>	3,93 (0,80 - 8,03) <sup>b</sup>	0,001
n-Valeriansäure	1,03 (0,48 - 1,57) <sup>c</sup>	0,46 (0,15 - 1,16) <sup>a</sup>	0,48 (0,23 - 0,76) <sup>ab</sup>	0,40 (0,20 - 0,60) <sup>a</sup>	0,87 (0,23 - 1,88) <sup>abc</sup>	0,77 (0,34 - 0,81) <sup>b</sup>	0,001
L-Laktat [mmol/l]	0,02 (0,01 - 0,03) <sup>a</sup>	2,99 (1,27 - 4,44) <sup>e</sup>	0,02 (0,01 - 0,05) <sup>a</sup>	0,33 (0,17 - 0,65) <sup>c</sup>	1,01 (0,46 - 2,73) <sup>d</sup>	0,15 (0,13 - 0,18) <sup>b</sup>	< 0,001
D-Laktat [mmol/l]	0,18 (0,05 - 0,84) <sup>a</sup>	2,52 (0,87 - 9,16) <sup>c</sup>	0,49 (0,07 - 0,75) <sup>ab</sup>	0,33 (0,02 - 0,70) <sup>ab</sup>	0,55 (0,12 - 3,31) <sup>b</sup>	0,25 (0,03 - 0,28) <sup>a</sup>	< 0,001
Gesamtlaktat [mmol/l]	0,06 (0,01 - 0,32) <sup>a</sup>	9,33 (5,30 - 11,0) <sup>e</sup>	0,50 (0,07 - 0,76) <sup>b</sup>	0,79 (0,25 - 1,10) <sup>c</sup>	2,78 (0,74 - 3,92) <sup>d</sup>	0,32 (0,15 - 0,51) <sup>b</sup>	< 0,001
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -Gehalt [mmol/l]	6,26 (4,33 - 8,06) <sup>bd</sup>	4,67 (3,91 - 6,05) <sup>a</sup>	5,04 (4,62 - 6,99) <sup>ab</sup>	5,09 (3,71 - 6,67) <sup>ac</sup>	5,57 (4,46 - 7,70) <sup>bc</sup>	7,20 (6,40 - 8,66) <sup>d</sup>	< 0,001

<sup>abc</sup> = unterschiedliche Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile geben signifikante Unterschiede an (p < 0,05; Mann-Whitney-U)

<sup>1</sup> = Phenolischer Extrakt der Mangoschale; n = 3

Des Weiteren zeigten sich auch beim Vergleich der Buttersäuregehalte Unterschiede zwischen den Testsubstanzen ( $p < 0,001$ ). Hierbei erzielte im Vergleich zur Negativkontrolle die Inkubation von Mangoschalen mit 0,42 mmol/l ( $p < 0,001$ ) nach der Zugabe von Glukose mit 0,57 mmol/l ( $p < 0,001$ ) die höchsten Gehalte. Die Zugabe der Substanzen hatte in Bezug auf die Valeriansäure in allen Versuchsansätzen vergleichbare Gehalte ( $p = 0,141$ ) zur Folge. Der Gehalt verzweigtkettiger Fettsäuren war insgesamt in allen Versuchsansätzen gering, und es zeigten sich bei der iso-Buttersäure ( $p = 0,199$ ) sowie der iso-Valeriansäure ( $p = 0,246$ ) keine Unterschiede zwischen der Zugabe der verschiedenen Substanzen. Beim Vergleich der Substanzen in Bezug auf den Gesamtlaktatgehalt ergaben sich erwartungsgemäß Unterschiede ( $p < 0,001$ ). Dabei wurde im Vergleich zur Negativkontrolle in den Ansätzen mit Glukose der höchste Gesamtlaktatgehalt mit 9,33 mmol/l ( $p < 0,001$ ) erzielt sowie der zweithöchste Gesamtlaktatgehalt von 2,78 mmol/l durch die Zugabe von Mangoschalen ( $p < 0,001$ ).

Betrachtet man die gemessenen Ammoniumgehalte, zeigten sich auch hier Einflüsse seitens der verschiedenen Substanzen. Die geringsten Gehalte im Vergleich zur Negativkontrolle erreichten die Inkubationsansätze mit Zugabe von Glukose ( $p = 0,012$ ) und Mangopektin ( $p = 0,031$ ) mit 4,67 mmol/l und 5,09 mmol/l. Die Zugabe von Apfelpektin erzielte im Vergleich zur Negativkontrolle numerisch geringere Werte von 5,04 mmol/l ( $p = 0,129$ ). Der Ammoniumgehalt in den Inkubationen mit Mangoschalen unterschied sich nicht von der Negativkontrolle ( $p = 0,546$ ). Der phenolische Extrakt hingegen kam in der Inkubation mit 7,20 mmol/l auf die höchsten Ammoniumgehalte im Vergleich aller Substanzen, und es zeigte sich ein tendenzieller Unterschied ( $p = 0,079$ ) zur Negativkontrolle.

### **4.1.2 Ergebnisse der semikontinuierlichen Langzeitinkubationen von Caecumdigesta von Ferkeln mit Mangoschalen bzw. Apfelpektin**

Die Ergebnisse der semikontinuierlichen Langzeitinkubationen zeigen, dass sich durch die Zugabe von Mangoschalen bzw. Apfelpektin die Gehalte einzelner kurzkettiger Fettsäuren verändert haben. In Tabelle 10 sind die Parameter pH-Wert und Redoxpotential sowie die analysierten Gehalte der bakteriellen Metaboliten aufgeführt. In den Proben der Langzeitinkubationen lagen die Laktatgehalte unterhalb der Nachweisgrenze.

Vergleicht man die erzielten pH-Werte beider Substrate, erfolgte bei der Inkubation von Apfelpektin eine Senkung des pH-Werts im Vergleich zur Kontrolle ( $p = 0,026$ ). Durch die Zugabe von Mangoschalen konnte im Vergleich zur Kontrolle kein Unterschied ermittelt werden ( $p = 0,231$ ). Betrachtet man den Gesamtgehalt kurzkettiger Fettsäuren, unterscheiden sich die beiden Substratquellen nicht von der Kontrolle ( $p = 0,970$ ). Bei der Zugabe von Apfelpektin in das System wurde der höchste Essigsäuregehalt erzielt, welcher

## Ergebnisse

sich im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $p = 0,003$ ) und den Ansätzen mit Zugabe von Mangoschalen ( $p = 0,044$ ) absichern ließ. Die Gehalte der Propionsäure ( $p = 0,639$ ) sowie der iso-Buttersäure ( $p = 0,528$ ) und iso-Valeriansäure ( $p = 0,251$ ) unterschieden sich in keinem der Versuchsansätze. Beim Vergleich der ermittelten Buttersäuregehalte ergab die Langzeitinkubation der Substanzen Unterschiede zwischen den Versuchsansätzen ( $p = 0,003$ ). So erzielte die Zugabe der Mangoschalen mit 2,65 mmol/l im Vergleich zum Apfelpektin höhere Buttersäuregehalte ( $p = 0,002$ ). Im Vergleich zur Kontrolle zeigten sich durch Zulage von Mangoschalen tendenziell höhere Gehalte der Buttersäure ( $p = 0,079$ ). Die Inkubation mit Apfelpektin hatte im Vergleich zur Kontrolle keine erhöhten ( $p = 0,165$ ) Buttersäuregehalte zur Folge. Die Gehalte der Valeriansäure zeigten bei der Inkubation mit Apfelpektin gegenüber der Kontrolle ( $p = 0,024$ ) sowie der Zugabe von Mangoschalen ( $p = 0,002$ ) mit 1,25 mmol/l die geringsten Werte. Die Zugabe der Mangoschalen erreichte im Vergleich zur Kontrolle vergleichbare Valeriansäuregehalte ( $p = 0,482$ ). Die in den Versuchsansätzen der Langzeitinkubationen ermittelten Ammoniumgehalte zeigten keine Unterschiede zwischen den Testsubstanzen und der Kontrolle ( $p = 0,203$ ).

**Tabelle 10: pH-Werte und bakterielle Metaboliten nach Langzeitinkubationen von Caecuminhalt von Ferkeln mit zwei Substratquellen (0,1 %) (n = 3) (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)**

Gruppe	Kontrolle	Apfelpektin	Mangoschale	p
pH-Wert	6,40 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	6,31 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	6,36 $\pm$ 0,07 <sup>ab</sup>	0,031
Kurzkettige FS [mmol/l]				
Essigsäure	3,13 $\pm$ 0,37 <sup>a</sup>	3,71 $\pm$ 0,53 <sup>b</sup>	3,30 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	0,004
Propionsäure	4,06 $\pm$ 0,49	3,81 $\pm$ 0,66	3,75 $\pm$ 0,57	0,639
i-Buttersäure	2,51 $\pm$ 0,75	2,14 $\pm$ 0,78	2,26 $\pm$ 0,97	0,528
n-Buttersäure	2,43 $\pm$ 0,16 <sup>ab</sup>	2,33 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	2,65 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	0,003
i-Valeriansäure	0,60 $\pm$ 0,08	0,53 $\pm$ 0,09	0,58 $\pm$ 0,08	0,251
n-Valeriansäure	1,36 $\pm$ 0,12 <sup>b</sup>	1,25 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,47 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	0,002
Gesamtfettsäuren	14,2 $\pm$ 1,19	13,9 $\pm$ 2,04	14,1 $\pm$ 1,70	0,970
Relativer Anteil [mol. %]				
Essigsäure	22,2 $\pm$ 2,27 <sup>a</sup>	27,1 $\pm$ 2,43 <sup>b</sup>	23,4 $\pm$ 2,03 <sup>a</sup>	0,001
Propionsäure	28,7 $\pm$ 2,44	27,9 $\pm$ 2,31	26,5 $\pm$ 1,81	0,407
i-Buttersäure	17,7 $\pm$ 4,78	15,6 $\pm$ 3,87	16,5 $\pm$ 4,79	0,806
n-Buttersäure	17,2 $\pm$ 1,11	16,7 $\pm$ 1,86	18,7 $\pm$ 2,00	0,218
i-Valeriansäure	4,33 $\pm$ 0,33 <sup>b</sup>	3,80 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	4,16 $\pm$ 0,29 <sup>ab</sup>	0,006
n-Valeriansäure	9,63 $\pm$ 0,83	8,98 $\pm$ 0,99	10,4 $\pm$ 1,19	0,159
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -Gehalt [mmol/l]	7,87 $\pm$ 0,99	7,17 $\pm$ 0,90	7,65 $\pm$ 0,89	0,203

<sup>ab</sup> = unterschiedliche Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile geben signifikante Unterschiede an ( $p < 0,05$ ; Tukey-HSD)

## 4.2 Ergebnisse der Infektionsversuche mit der permanenten Zelllinie IPEC-J2

Für die Auswertung der Studien mit IPEC-J2 Zellen wurde mittels durchflusszytometrischen Messungen, der zuvor fluoreszenzmarkierten *E. coli* Bakterien, die Anzahl der infizierten Zellen bestimmt. Die Ergebnisse der Infektionsversuche mit den IPEC-J2 Zellen sind in Tabelle 11 dargestellt. Darin ist die jeweilige Anzahl infizierter Zellen in Prozent aufgeführt. Darüber hinaus wurde die Anzahl der infizierten Zellen als relativer Anteil der Positivkontrolle berechnet. Dafür wurde die Anzahl der infizierten Zellen in der Positivkontrolle als 100 % gesetzt und die in den Verdünnungsstufen erzielte Anzahl infizierter Zellen als jeweiliger relativer Anteil berechnet. Diese Werte sind ebenfalls in der Tabelle aufgeführt. Ein weiterer in der Tabelle gelisteter Parameter ist die gemessene mittlere Fluoreszenzintensität als Maß für die Menge an gebundenem Fluoreszenzfarbstoff pro Zelle.

Vergleicht man die pflanzlichen Testsubstanzen in ihrer ersten Verdünnungsstufe mit der jeweiligen Positivkontrolle, so konnte durch die Inkubation der Zellen mit Mangopektin eine Reduktion der Anzahl infizierter Zellen sowie der mittleren Fluoreszenzintensität erzielt werden. Durch die Inkubation mit Mangopektin wurde die Zahl der infizierten Zellen im Vergleich zur Positivkontrolle um 56,1 % reduziert ( $p = 0,029$ ). Im Vergleich zur jeweiligen Positivkontrolle reduzierte der Pflanzenextrakt aus Mangoschalen die Zahl der infizierten Zellen um 25,1 % ( $p = 0,029$ ), der phenolische Extrakt der Mangoschale erzielte eine Reduktion um 16,7 % ( $p = 0,343$ ). Die Ergebnisse zeigen keine lineare, konzentrationsabhängige Reduktion der Infektionsrate, jedoch konnte jeweils durch die höher konzentrierten Pflanzenextrakte eine stärkere Reduktion der Anzahl infizierter Zellen erzielt werden.

Vergleicht man die Verdünnungsstufe 1:1000, in der alle Substanzen getestet wurden, so konnte im Vergleich zur Positivkontrolle die Inkubation mit Apfelpektin die Zahl der infizierten Zellen um 13,0 % ( $p = 0,029$ ) reduzieren, das Mangopektin um 4,10 % ( $p = 0,029$ ) und die beiden anderen Substanzen führten eher zu einer Erhöhung der Fluoreszenz bzw. zeigten keinen Effekt ( $p = 1,000$ ). Beim Vergleich der Substanzen untereinander zeichnete sich in der Verdünnungsstufe 1:1000 ein deutlicher Unterschied ab zwischen der Inkubation mit Mangopektin und dem phenolischen Extrakt der Mangoschale in der Anzahl der infizierten Zellen sowie in der mittleren Fluoreszenzintensität ( $p = 0,029$ ). Vergleicht man jedoch diese beiden Substanzen in Bezug auf den relativen Anteil infizierter Zellen, so zeigte sich hier kein Unterschied ( $p = 0,343$ ). Beim Vergleich der Substanzen in der Verdünnungsstufe 1:100 und dem relativen Anteil infizierter Zellen zeigte sich dieser vor allem beim Mangopektin deutlich geringer gegenüber Mangoschalen und dem phenolischen Extrakt ( $p = 0,029$ ).

## Ergebnisse

**Tabelle 11: Einfluss pflanzlicher Substanzen auf die Fluoreszenz von IPEC-J2-Zellen als Parameter der Adhäsion eines fluoreszenzmarkierten enterotoxischen *E. coli*-Stamms (n = 4) (Median (Minimum - Maximum))**

Substrat	Verdünnung	Anzahl infizierter Zellen [%]	p <sup>1</sup>	Mittlere Fluoreszenzintensität	p <sup>1</sup>	Relativer Anteil infizierter Zellen	p <sup>1</sup>	Reduktion der Infektion [%]
Apfelpektin	Medium	83,0 (61,6 - 92,2)		20,8 (14,4 - 28,5)		100 <sup>b</sup>		
	1:1000	74,5 (41,3 - 82,7)	0,486	17,5 (10,1 - 23,1)	0,486	87,0 (67,1 - 95,0) <sup>a</sup>	0,029	13,0
	1:10000	78,7 (47,9 - 88,3)	0,686	18,9 (11,0 - 24,7)	0,114	93,0 (77,8 - 99,2) <sup>a</sup>	0,029	7,00
	1:100000	79,2 (52,1 - 88,5)	0,686	18,3 (11,2 - 25,5)	0,686	95,3 (84,7 - 96,3) <sup>a</sup>	0,029	4,70
	1:1000000	80,5 (55,3 - 88,3)	0,686	19,2 (11,7 - 24,9)	0,686	95,5 (89,9 - 98,7) <sup>a</sup>	0,029	4,50
	1:10000000	83,2 (66,2 - 89,8)	1,000	20,5 (13,7 - 25,4)	0,886	100 (97,5 - 108) <sup>b</sup>	1,000	-
Mangopektin	Medium	89,5 (82,8 - 97,8) <sup>b</sup>		29,9 (21,7 - 45,5) <sup>b</sup>		100 <sup>b</sup>		
	1:100	39,9 (26,6 - 61,1) <sup>a</sup>	0,029	11,2 (7,37 - 16,4) <sup>a</sup>	0,029	43,9 (32,1 - 62,5) <sup>abA</sup>	0,029	56,1
	1:1000	86,0 (73,9 - 97,1)	0,486	28,5 (18,8 - 44,0)	0,486	95,9 (88,7 - 99,9) <sup>a</sup>	0,029	4,10
	1:10000	85,5 (75,7 - 97,0)	0,486	27,7 (18,4 - 43,1)	0,486	95,3 (91,0 - 99,5) <sup>a</sup>	0,029	4,70
	1:100000	85,8 (75,4 - 97,2)	0,486	28,3 (18,7 - 42,8)	0,486	95,7 (91,1 - 99,4) <sup>a</sup>	0,029	4,30
	1:1000000	86,4 (76,2 - 96,9)	0,486	26,9 (18,4 - 43,1)	0,486	96,4 (91,5 - 99,5) <sup>a</sup>	0,029	3,60
Mangoschale	Medium	74,5 (55,2 - 89,6)		17,5 (11,4 - 23,6)		100 <sup>b</sup>		
	1:100	58,8 (37,2 - 66,1)	0,343	9,89 (6,11 - 16,3)	0,343	74,9 (67,4 - 82,7) <sup>abB</sup>	0,029	25,1
	1:1000	74,9 (59,0 - 86,5)	0,886	16,9 (12,4 - 22,7)	1,000	102 (94,6 - 107) <sup>b</sup>	1,000	-
	1:10000	74,5 (57,4 - 86,7)	1,000	17,4 (12,1 - 23,0)	1,000	101 (96,7 - 104) <sup>b</sup>	1,000	-
	1:100000	72,8 (55,2 - 83,4)	0,686	15,9 (11,7 - 21,5)	1,000	98,0 (93,0 - 100) <sup>b</sup>	0,343	2,00
	1:1000000	75,0 (54,9 - 85,7)	0,686	16,7 (11,6 - 21,8)	1,000	98,2 (95,6 - 106) <sup>b</sup>	0,343	1,80
Phenolischer Extrakt der Mangoschale	Medium	47,9 (37,1 - 54,8)		10,0 (8,78 - 12,2)		100 <sup>b</sup>		
	1:100	40,2 (29,9 - 61,5)	0,686	5,90 (4,70 - 9,77)	0,114	83,8 (80,3 - 112) <sup>bbB</sup>	0,343	16,7
	1:1000	45,6 (39,5 - 62,5)	1,000	9,31 (8,53 - 13,8)	0,886	102 (93,1 - 114) <sup>b</sup>	1,000	-
	1:10000	46,5 (34,4 - 51,2)	0,486	9,44 (8,17 - 10,7)	0,486	94,4 (92,6 - 99,9) <sup>a</sup>	0,029	5,60
	1:100000	42,4 (34,6 - 48,3)	0,343	9,07 (8,12 - 10,5)	0,343	89,0 (87,2 - 93,3) <sup>a</sup>	0,029	11,0
1:1000000	44,8 (36,9 - 50,9)	0,486	9,83 (9,27 - 10,5)	0,886	93,9 (91,9 - 99,5) <sup>a</sup>	0,029	6,10	

<sup>ab,AB</sup> = unterschiedliche Hochbuchstaben innerhalb einer Spalte geben signifikante Unterschiede an (p < 0,05; Mann-Whitney-U); <sup>1</sup> = im Vergleich zur Positivkontrolle

### **4.3 *In vivo*-Versuch**

In den folgenden Abschnitten werden zunächst die Ergebnisse der Futtermitteluntersuchungen (Tabelle 12) dargestellt. Des Weiteren werden Ergebnisse der Beurteilung des Gesundheitszustands und die Leistungsdaten aufgeführt. Anschließend werden die Analysenergebnisse der entnommenen Digestaprobe dargestellt. Die Entnahme der Digestaprobe beim Fütterungsversuch zur Analyse intestinaler Parameter wurde zu Versuchsende mit insgesamt zehn Tieren pro Gruppe durchgeführt, wobei jeweils zwei Tiere als Replikat innerhalb des Flatdecks bei der Datenerhebung eine statistische Einheit ergaben ( $n = 5$ ).

#### **4.3.1 Versuchsdiäten**

Die in den fünf Versuchsdiäten ermittelten Nährstoffgehalte sind in Tabelle 12 dargestellt. Dabei ersetzen getrocknete Mangoschalen oder Apfelpektin jeweils ein oder zwei Prozent einer Basisdiät. Die gesamte Versuchsdauer wurde jeweils in zwei Phasen unterteilt (Ferkelaufzuchtfutter I von Lebenstag 25-42 und Ferkelaufzuchtfutter II ab Lebenstag 43). Dargestellt sind die Mittelwerte der Versuchsdiäten, die für jeden Versuchsdurchgang separat gemischt und analysiert wurden. Zusätzlich sind die Ergebnisse der Weender-Analyse der getesteten Mangoschalen sowie des Apfelpektins aufgeführt.

#### **4.3.2 Zootechnische Daten**

##### **Gesundheitszustand**

In keinem der Versuchsdurchgänge mussten Tiere wegen Durchfall oder Atemwegserkrankungen medikamentös behandelt werden. Eine in allen Versuchsdurchgängen teils vereinzelt auftretende weichere Kotkonsistenz verbesserte sich unbehandelt nach ein bis zwei Tagen und zeigte keinen Unterschied zwischen den Futtergruppen. Die Kotkonsistenz entsprach in allen Versuchsdurchgängen und Gruppen im Mittel  $3,40 \pm 0,06$  (Bewertungsschema siehe Anhang, Tabelle 35). Die detaillierten Ergebnisse der Gesundheitsbeurteilung der Tiere sind im Anhang in Tabelle 36 aufgeführt.

##### **Daten zur Erhebung der Leistung**

Die Erhebung der Leistungsparameter (Tabelle 13 bis Tabelle 16) erfolgte pro Flatdeck als statistische Einheit und basiert auf Daten von insgesamt 100 Ferkeln in zwei separaten Leistungsdurchgängen ( $n = 10$  pro Versuchsgruppe). In Tabelle 13 sind die Daten der Lebendmasse der Ferkel zu Versuchsbeginn und in den einzelnen Versuchswochen dargestellt. Die Ergebnisse der mittleren täglichen Lebendmassezunahmen sind in Tabelle 14 aufgeführt.

## Ergebnisse

**Tabelle 12: Nährstoffzusammensetzung der fünf Versuchsdiäten (Ferkelaufzuchtfutter I und II) sowie von Mangoschalen und Apfelpektin**

		A		B		C		D		E		MS	AP
		FA I	FA II										
Trockensubstanz, TS	g/kg uS	901	893	903	892	900	893	899	895	899	892	954	918
Rohasche	g/kg TS	60,1	60,9	59,9	60,6	63,7	58,6	61,7	59,4	62,1	59,8	49,9	49,5
Rohprotein	g/kg TS	225	217	221	210	228	208	229	211	228	207	68,1	26,4
Rohfett	g/kg TS	28,2	41,4	31,1	40,5	32,8	42,5	31,5	39,6	31,9	42,1	29,2	3,98
Rohfaser	g/kg TS	36,5	40,7	37,4	44,2	36,9	43,3	36,1	41,8	35,6	41,8	158	-
Stärke	g/kg TS	392	430	394	432	371	402	385	423	391	414	82,1	7,13
Phosphor	g/kg TS	6,55	6,31	6,37	6,25	6,36	6,6	6,66	6,4	6,51	6,59	1,22	0,41
Calcium	g/kg TS	9,09	9,32	9,33	8,71	9,43	8,67	9,57	8,88	9,75	8,71	3,54	3,44
Natrium	g/kg TS	2,15	1,93	2,28	1,87	2,29	1,78	2,31	1,83	2,42	1,90	0,34	9,31
Kalium	g/kg TS	8,21	7,46	8,14	7,02	8,74	7,24	8,03	7,34	8,15	7,22	12,4	4,26
Magnesium	g/kg TS	2,31	2,25	2,19	1,96	2,29	1,76	2,13	2,16	2,16	2,07	1,77	0,24
Zink	mg/kg TS	87,2	109	72,8	88,8	90,2	94,5	92,7	91,8	92,5	89,0	9,65	7,08
Mangan	mg/kg TS	100	104	97,9	85,0	115	83,6	94,8	94,6	88,6	96,3	29,1	5,40
Kupfer	mg/kg TS	18,1	13,9	15,7	14,4	15,8	13,1	17,8	12,7	15,8	16,7	6,92	5,18
Eisen	mg/kg TS	302	255	263	254	297	262	261	279	268	272	452	109

MS = Mangoschale, getrocknet; AP = Apfelpektin, Pulverform; TiO<sub>2</sub> = Titandioxid, Verdaulichkeitsmarker; uS = ursprüngliche Substanz

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %

FA I = Ferkelaufzuchtfutter I von Tag 28-42; FA II = Ferkelaufzuchtfutter II ab Tag 43

## Ergebnisse

**Tabelle 13: Mittlere Lebendmasse [kg] der Ferkel in den fünf Versuchsgruppen bei Versuchsbeginn und am Ende der einzelnen Versuchswochen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe	A (n = 10)	B (n = 10)	C (n = 10)	D (n = 10)	E (n = 10)	p
Versuchsbeginn	6,25 (5,75 - 6,75)	6,25 (5,50 - 7,00)	6,25 (5,50 - 7,00)	6,25 (5,25 - 7,25)	6,13 (5,50 - 7,50)	0,979
5. Lebenswoche	6,88 (6,00 - 7,50)	7,13 (6,25 - 7,75)	6,75 (6,25 - 8,00)	7,50 (6,25 - 8,25)	7,25 (6,25 - 9,25)	0,346
6. Lebenswoche	9,13 (7,75 - 10,5)	9,13 (8,00 - 10,8)	9,50 (8,50 - 10,5)	9,63 (8,25 - 11,3)	9,88 (8,75 - 11,8)	0,157
7. Lebenswoche	12,4 (10,3 - 14,3)	12,3 (11,0 - 15,5)	12,4 (11,0 - 13,8)	12,4 (11,3 - 14,8)	13,4 (11,8 - 15,0)	0,168
8. Lebenswoche	15,8 (13,3 - 18,5)	16,4 (14,3 - 19,5)	16,0 (14,0 - 17,8)	16,0 (15,0 - 18,8)	16,9 (15,3 - 18,8)	0,221
9. Lebenswoche	20,3 (17,8 - 23,3)	21,1 (18,8 - 25,0)	20,3 (16,5 - 21,8)	20,4 (19,0 - 23,8)	21,8 (19,3 - 23,3)	0,307
10. Lebenswoche	25,0 (21,5 - 28,8)	25,8 (22,5 - 30,5)	25,1 (20,0 - 27,0)	25,4 (22,8 - 29,5)	26,4 (22,8 - 28,8)	0,713

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; n = Anzahl gültiger Fälle; (p < 0,05; Kruskal-Wallis)

**Tabelle 14: Mittlere tägliche Lebendmassezunahme [g/Tag] der Ferkel in den fünf Versuchsgruppen in den einzelnen Versuchswochen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe	A (n = 10)	B (n = 10)	C (n = 10)	D (n = 10)	E (n = 10)	p
5. Lebenswoche	89,3 (0,00 - 107)	125 (0,00 - 214)	125 (0,00 - 143)	143 (0,00 - 250)	179 (71,4 - 286)	0,080
6. Lebenswoche	321 (250 - 429)	321 (179 - 429)	357 (250 - 464)	304 (250 - 429)	375 (286 - 429)	0,088
7. Lebenswoche	464 (250 - 571)	464 (179 - 679)	411 (357 - 536)	464 (321 - 571)	482 (357 - 571)	0,803
8. Lebenswoche	518 (393 - 679)	536 (429 - 821)	500 (429 - 571)	554 (393 - 643)	554 (393 - 607)	0,427
9. Lebenswoche	643 (536 - 714)	696 (500 - 786)	607 (357 - 714)	679 (429 - 750)	625 (571 - 750)	0,477
10. Lebenswoche	679 (536 - 821)	696 (536 - 786)	661 (500 - 821)	696 (536 - 857)	643 (500 - 786)	0,557

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; n = Anzahl gültiger Fälle; (p < 0,05; Kruskal-Wallis)

## Ergebnisse

**Tabelle 15: Mittlere tägliche Futtermittelaufnahme [g/Tag] der Ferkel in den fünf Versuchsgruppen in den einzelnen Versuchswochen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe	A (n = 10)	B (n = 10)	C (n = 10)	D (n = 10)	E (n = 10)	p
5. Lebenswoche	210 (80,0 - 429)	235 (106 - 335)	248 (104 - 363)	263 (65,7 - 324)	256 (134 - 360)	0,658
6. Lebenswoche	373 (94,3 - 500)	359 (124 - 567)	309 (157 - 595)	338 (159 - 589)	418 (259 - 687)	0,738
7. Lebenswoche	546 (393 - 652)	585 (353 - 769)	615 (350 - 711)	567 (468 - 1039)	645 (509 - 774)	0,183
8. Lebenswoche	593 (345 - 936)	700 (384 - 964)	703 (395 - 820)	730 (481 - 939)	757 (616 - 874)	0,717
9. Lebenswoche	784 (556 - 1066)	875 (466 - 1088)	880 (243 - 1106)	898 (538 - 1039)	903 (652 - 1017)	0,651
10. Lebenswoche	986 (780 - 1250)	1125 (859 - 1242)	1084 (693 - 1320)	1054 (852 - 1253)	1074 (787 - 1339)	0,852

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; n = Anzahl gültiger Fälle; (p < 0,05; Kruskal-Wallis)

**Tabelle 16: Mittlerer Futteraufwand der Ferkel in den fünf Versuchsgruppen in den einzelnen Versuchswochen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe	A (n = 10)	B (n = 10)	C (n = 10)	D (n = 10)	E (n = 10)	p
5. Lebenswoche	2,21 (0,75 - 9,40)	1,58 (0,88 - 4,22)	2,43 (1,37 - 3,56)	2,01 (1,04 - 2,56)	1,54 (0,66 - 3,82)	0,771
6. Lebenswoche	1,26 (0,29 - 1,56)	1,14 (0,58 - 1,63)	0,93 (0,63 - 1,44)	0,95 (0,56 - 1,52)	1,20 (0,60 - 1,60)	0,679
7. Lebenswoche	1,16 (1,00 - 1,57)	1,23 (0,99 - 4,20)	1,28 (0,98 - 1,75)	1,33 (1,06 - 1,82)	1,34 (1,11 - 1,60)	0,270
8. Lebenswoche	1,18 (0,74 - 2,06)	1,23 (0,78 - 1,63)	1,35 (0,92 - 1,64)	1,37 (0,92 - 1,64)	1,38 (1,23 - 1,73)	0,283
9. Lebenswoche	1,19 (1,04 - 1,68)	1,32 (0,87 - 1,61)	1,34 (0,68 - 1,94)	1,35 (1,23 - 1,63)	1,37 (1,14 - 1,63)	0,529
10. Lebenswoche	1,46 (1,39 - 1,76)	1,58 (1,29 - 1,80)	1,56 (1,37 - 1,80)	1,50 (1,39 - 1,91)	1,58 (1,46 - 1,92)	0,111

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; n = Anzahl gültiger Fälle; (p < 0,05; Kruskal-Wallis)

Am Ende des Versuchszeitraums betrug die mittlere Lebendmasse der Tiere in der Kontrolle 25,0 kg (21,5-28,8), in Gruppe B 25,8 kg (22,5-30,5), in Gruppe C 25,1 kg (20,0-27,0), in Gruppe D 25,4 kg (22,8-29,5) und in Gruppe E 26,4 kg (22,8-28,8). In Tabelle 15 und Tabelle 16 sind die tägliche Futtermittelaufnahme sowie der Futteraufwand der fünf Versuchsgruppen dargestellt. Hinsichtlich der ermittelten Leistungsparameter konnten in den einzelnen Versuchswochen und über den Gesamtverlauf des Versuchs keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ermittelt werden.

### 4.3.3 Verdauungsphysiologische Parameter

Für die Bestimmung der verdauungsphysiologischen Parameter wurden Digestaprobe der Tiere des Fütterungsversuchs zur Analyse intestinaler Parameter untersucht. Zunächst erfolgte die Berechnung der scheinbaren praecaecalen und Gesamtverdaulichkeit sowie des Trockensubstanzgehalts der Darmabschnitte Ileum und Rectum. Des Weiteren wurde der pH-Wert der Digesta in verschiedenen Darmabschnitten und im Urin gemessen.

#### Praecaecale und Gesamtverdaulichkeit von Rohprotein und Rohfett

In Tabelle 17 sind die Werte der scheinbaren praecaecalen und Gesamtverdaulichkeit von Rohprotein und Rohfett als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung dargestellt. Beim Vergleich der scheinbaren praecaecalen Verdaulichkeit des Rohfetts zeigten sich Unterschiede ( $p = 0,024$ ) zwischen den Versuchsgruppen. Hierbei konnten in der Versuchsgruppe C im Vergleich zur Gruppe D höhere Werte ( $p = 0,004$ ) ermittelt werden, während sich beim Vergleich mit den anderen Versuchsgruppen keine Unterschiede zeigten. Betrachtet man die Ergebnisse der scheinbaren Gesamtverdaulichkeit beider Nährstoffe, wurden keine Gruppenunterschiede ermittelt (Rohprotein  $p = 0,775$ , Rohfett  $p = 0,271$ ).

**Tabelle 17: Trockensubstanzgehalt [% der uS] der Digesta von Ileum und Rectum sowie scheinbare praecaecale- und Gesamtverdaulichkeit [%] des Rohproteins und Rohfetts der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)**

Gruppe		A (n = 5) <sup>1</sup>	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Ileum	TS [%]	12,4 $\pm$ 0,64	11,4 $\pm$ 1,86	13,0 $\pm$ 1,8	12,3 $\pm$ 1,96	14,9 $\pm$ 2,52	0,142
Praecaecale	Rohprotein	75,6 $\pm$ 3,12	72,3 $\pm$ 9,67	78,6 $\pm$ 1,57	70,4 $\pm$ 4,67	73,5 $\pm$ 5,46 <sup>1</sup>	0,248
Verdaulichkeit	Rohfett	83,2 $\pm$ 4,46 <sup>ab</sup>	85,7 $\pm$ 4,17 <sup>ab</sup>	89,2 $\pm$ 2,67 <sup>a</sup>	76,7 $\pm$ 7,51 <sup>b</sup>	81,8 $\pm$ 3,34 <sup>ab</sup>	0,024
Rectum	TS [%]	27,0 $\pm$ 1,81	26,7 $\pm$ 1,68	26,3 $\pm$ 1,13	26,2 $\pm$ 2,08	26,3 $\pm$ 1,23	0,966
Gesamt-	Rohprotein	79,1 $\pm$ 2,64	77,0 $\pm$ 2,28	78,4 $\pm$ 1,52	77,3 $\pm$ 3,80	77,7 $\pm$ 2,60	0,775
verdaulichkeit	Rohfett	80,5 $\pm$ 3,00	84,1 $\pm$ 4,80	86,5 $\pm$ 5,65	78,6 $\pm$ 8,52	82,2 $\pm$ 5,23	0,271

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; uS = ursprüngliche Substanz; n = Anzahl gültiger Fälle; <sup>1</sup> = n = 4 im Ileum; <sup>ab</sup> = unterschiedliche Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile geben signifikante Unterschiede an ( $p < 0,05$ ; Tukey-HSD)

### Trockensubstanzgehalt der Digestproben aus Ileum und Rectum

Die Ergebnisse der Trockensubstanzgehalte der Digestproben aus den Darmabschnitten Ileum und Rectum sind ebenfalls in Tabelle 17 aufgeführt. Beim Vergleich der fünf Versuchsgruppen wurden hinsichtlich des Trockensubstanzgehalts der Digestproben aus Ileum ( $p = 0,142$ ) sowie Rectum ( $p = 0,966$ ) keine Unterschiede ermittelt.

### pH-Wert der Digestproben

Die Ergebnisse der pH-Wert-Messungen der Digesta aus den untersuchten Abschnitten sowie des Urins sind in Tabelle 18 dargestellt. Dabei konnte in keinem der Abschnitte zwischen den Versuchsgruppen ein Unterschied ermittelt werden.

**Tabelle 18: pH-Werte der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GIT der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)**

Gruppe	A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	4,20 $\pm$ 0,73	4,13 $\pm$ 0,54	4,38 $\pm$ 0,19	4,41 $\pm$ 0,65	4,07 $\pm$ 0,82	0,884
Duodenum	6,08 $\pm$ 0,20	6,01 $\pm$ 0,30	6,16 $\pm$ 0,23	6,13 $\pm$ 0,19	6,18 $\pm$ 0,27	0,801
Jejunum	6,24 $\pm$ 0,15	6,08 $\pm$ 0,23	6,01 $\pm$ 0,21	5,97 $\pm$ 0,23	5,95 $\pm$ 0,37	0,385
Ileum	5,95 $\pm$ 0,23	5,96 $\pm$ 0,28	5,88 $\pm$ 0,26	5,93 $\pm$ 0,23	6,11 $\pm$ 0,17	0,611
Caecum	5,47 $\pm$ 0,08	5,46 $\pm$ 0,04	5,47 $\pm$ 0,05	5,43 $\pm$ 0,08	5,60 $\pm$ 0,20	0,610
Colon ascendens	5,64 $\pm$ 0,14	5,55 $\pm$ 0,15	5,59 $\pm$ 0,15	5,50 $\pm$ 0,13	5,48 $\pm$ 0,12	0,383
Colon descendens	6,28 $\pm$ 0,33	6,45 $\pm$ 0,25	6,31 $\pm$ 0,10	6,42 $\pm$ 0,28	6,26 $\pm$ 0,16	0,641
Rectum	6,24 $\pm$ 0,23	6,32 $\pm$ 0,26	6,21 $\pm$ 0,19	6,34 $\pm$ 0,32	6,11 $\pm$ 0,33	0,679
Urin	6,55 $\pm$ 0,46	6,02 $\pm$ 0,24	6,62 $\pm$ 0,81	5,87 $\pm$ 0,57	6,43 $\pm$ 0,32	0,139

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %  
n = Anzahl gültiger Fälle; ( $p < 0,05$ ; ANOVA)

### 4.3.4 Mikrobiologische Parameter

#### Bakterielle Metaboliten

##### Gehalt kurzkettiger Fettsäuren der Digestproben

Die Ergebnisse der Analyse kurzkettiger Fettsäuren in den untersuchten Abschnitten des GIT sind in den nachfolgenden Tabellen dargestellt. Dabei ist zunächst die Konzentration der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren sowie deren Gesamtkonzentration in Tabelle 19 zusammengefasst. In den Abschnitten Magen und Jejunum sowie in den Dickdarmabschnitten Caecum, Colon ascendens und Colon descendens konnten dabei keine abgesicherten Gruppenunterschiede ermittelt werden. Beim Vergleich der Versuchsgruppen in Bezug auf die Gesamtkonzentration der kurzkettigen Fettsäuren im Magen zeigten sich numerisch höhere Gehalte in den Gruppen B und D.

Im Jejunum zeigten sich im Vergleich zur Kontrollgruppe in allen Versuchsgruppen numerisch höhere Gehalte an Essigsäure. Betrachtet man die im Caecum erzielten Essigsäuregehalte, werden bei zweiprozentiger Zulage von Mangoschalen bzw. Apfelpektin in den Versuchsgruppen C und E numerisch höhere Gehalte deutlich im Vergleich zu den Gruppen B und D.

Zusätzlich zur Darstellung der Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren ist in Tabelle 20 der relative Anteil der einzelnen kurzkettigen Fettsäuren an der Gesamtkonzentration in den Digestapuben aufgeführt. Bei der Darstellung der Daten konnten in den Abschnitten Magen, Jejunum sowie Caecum und Colon ascendens keine Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ermittelt werden. Im Colon descendens zeichneten sich bezüglich der Essigsäure tendenzielle ( $p = 0,096$ ) Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ab, hierbei wurde in der Kontrollgruppe der höchste relative Anteil an der Gesamtkonzentration ermittelt.

### Laktatgehalt der Digestapuben

In Tabelle 21 sind die Gehalte an D- und L-Laktat der Digestapuben aus den Abschnitten Magen und Jejunum sowie den Dickdarmabschnitten Caecum, Colon ascendens und Colon descendens zusammengefasst. Darüber hinaus erfolgte rechnerisch die Ermittlung des Gesamtlaktatgehalts, welcher ebenfalls in der Tabelle aufgeführt ist. Beim Vergleich der Laktatgehalte zwischen den Versuchsgruppen konnten im Magen, Jejunum und Colon ascendens keine Unterschiede nachgewiesen werden. Im Caecum zeigten sich tendenzielle Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen bezüglich des D-Laktatgehalts ( $p = 0,053$ ), dabei wurde in den Versuchsgruppen B und D ein erhöhter D-Laktatgehalt im Vergleich zur Kontrolle sowie zu den anderen beiden Versuchsgruppen ermittelt. Im Caecum zeigte auch der Gesamtlaktatgehalt numerisch höhere Werte in den Versuchsgruppen B und D gegenüber den anderen Gruppen ( $p = 0,178$ ). In Bezug auf den D-Laktatgehalt zeigten sich im Colon descendens ebenfalls tendenzielle Gruppenunterschiede ( $p = 0,099$ ), wobei vor allem in den Versuchsgruppen B und C mit der Zulage von Mangoschalen ein erhöhter Gehalt ermittelt werden konnte im Vergleich zu den Versuchsgruppen D und E.

## Ergebnisse

**Tabelle 19: Konzentration der kurzkettigen Fettsäuren [ $\mu\text{mol/g uS}$ ] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe		A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	Essigsäure	6,22 (2,20 - 9,76)	9,11 (1,32 - 13,8)	4,71 (3,44 - 9,18)	10,1 (3,89 - 13,8)	4,28 (1,18 - 19,2)	0,757
	Propionsäure	3,01 (0,64 - 5,52)	2,92 (0,10 - 8,63)	0,44 (0,27 - 3,22)	3,36 (0,99 - 5,30)	0,67 (0,04 - 12,6)	0,416
	Buttersäure	0,18 (0,10 - 1,91)	0,41 (0,00 - 1,68)	0,10 (0,03 - 0,77)	0,30 (0,08 - 3,96)	0,07 (0,00 - 3,15)	0,704
	Valeriansäure	0,39 (0,00 - 1,30)	0,38 (0,34 - 0,95)	0,44 (0,00 - 0,94)	0,39 (0,24 - 1,17)	0,73 (0,00 - 0,92)	0,988
	Verzweigtkettige FS*	0,03 (0,00 - 0,05)	0,02 (0,02 - 0,04)	0,03 (0,00 - 0,06)	0,05 (0,00 - 0,19)	0,03 (0,00 - 0,05)	0,892
	Gesamfettsäuren	9,85 (2,95 - 17,6)	13,0 (2,58 - 23,2)	5,26 (4,30 - 13,8)	14,0 (5,68 - 24,4)	5,57 (1,22 - 35,8)	0,623
Jejunum	Essigsäure	0,96 (0,52 - 23,0)	2,26 (1,78 - 19,6)	3,25 (0,79 - 9,07)	3,28 (1,27 - 11,9)	5,72 (0,44 - 19,3)	0,964
	Propionsäure	0,09 (0,00 - 0,16)	0,59 (0,00 - 1,01)	0,05 (0,03 - 0,10)	0,60 (0,11 - 2,16)	0,07 (0,00 - 6,1)	0,117
	Buttersäure	0,00 (0,00 - 3,44)	0,05 (0,02 - 2,14)	0,00 (0,00 - 0,65)	0,11 (0,06 - 1,07)	0,13 (0,00 - 1,99)	0,695
	Valeriansäure	0,00 (0,00 - 0,06)	0,02 (0,00 - 0,11)	0,00 (0,00 - 0,03)	0,02 (0,00 - 0,17)	0,02 (0,00 - 0,18)	0,489
	Verzweigtkettige FS*	0,22 (0,12 - 0,27)	0,11 (0,00 - 0,27)	0,18 (0,11 - 0,22)	0,09 (0,02 - 0,35)	0,17 (0,03 - 0,26)	0,508
	Gesamfettsäuren	1,17 (0,79 - 26,6)	3,07 (2,96 - 22,0)	3,46 (1,04 - 9,92)	5,86 (1,83 - 13,3)	6,19 (0,61 - 21,4)	0,932
Caecum	Essigsäure	60,7 (54,8 - 65,5)	58,3 (52,1 - 68,1)	62,0 (60,6 - 69,3)	58,7 (55,0 - 63,3)	64,1 (54,6 - 65,2)	0,496
	Propionsäure	33,1 (30,6 - 36,0)	29,2 (26,7 - 32,5)	35,5 (26,9 - 37,3)	31,7 (29,0 - 34,2)	31,1 (24,3 - 36,4)	0,352
	Buttersäure	14,1 (10,8 - 14,4)	12,5 (10,8 - 13,6)	14,6 (8,55 - 16,1)	14,0 (11,4 - 16,0)	12,6 (8,86 - 18,5)	0,539
	Valeriansäure	2,22 (1,47 - 4,07)	1,70 (0,67 - 4,39)	2,14 (1,07 - 3,02)	2,31 (1,98 - 3,33)	1,93 (0,92 - 3,35)	0,708
	Verzweigtkettige FS*	0,68 (0,21 - 0,99)	0,35 (0,20 - 0,60)	0,52 (0,23 - 0,80)	0,53 (0,31 - 0,70)	0,59 (0,54 - 0,61)	0,468
	Gesamfettsäuren	113 (100 - 114)	102 (101 - 108)	115 (97,3 - 126)	110 (98,6 - 111)	107 (93,6 - 123)	0,366
Colon ascendens	Essigsäure	61,6 (43,8 - 68,5)	65,4 (56,4 - 73,3)	66,1 (63,9 - 68,2)	63,5 (56,0 - 64,6)	66,5 (64,3 - 74,0)	0,112
	Propionsäure	34,2 (27,5 - 35,4)	28,7 (28,3 - 34,7)	34,0 (29,1 - 38,6)	32,1 (28,8 - 34,2)	33,3 (28,5 - 36,9)	0,671
	Buttersäure	12,9 (11,0 - 16,9)	13,5 (10,7 - 16,4)	15,7 (10,6 - 17,4)	14,4 (11,0 - 18,4)	14,0 (9,39 - 18,9)	0,935
	Valeriansäure	2,19 (2,12 - 3,21)	2,30 (1,15 - 6,15)	2,60 (1,76 - 4,28)	2,79 (2,37 - 4,24)	2,49 (1,09 - 4,38)	0,775
	Verzweigtkettige FS*	0,62 (0,38 - 3,52)	0,81 (0,41 - 1,34)	0,81 (0,59 - 1,06)	0,96 (0,43 - 1,08)	0,88 (0,43 - 0,93)	0,923
	Gesamfettsäuren	115 (85,9 - 119)	115 (97,7 - 116,8)	117 (111 - 127)	114 (99,4 - 117)	115 (112 - 129)	0,803
Colon descendens	Essigsäure	48,3 (46,6 - 58,9)	47,9 (46,6 - 51,3)	47,1 (44,6 - 51,4)	51,1 (38,1 - 57,9)	49,8 (44,3 - 51,8)	0,960
	Propionsäure	20,6 (19,3 - 29,7)	20,2 (16,8 - 24,2)	22,2 (21,5 - 25,5)	20,7 (17,3 - 27,0)	21,7 (19,9 - 25,1)	0,623
	Buttersäure	12,1 (6,00 - 17,1)	12,2 (9,34 - 14,4)	12,6 (10,9 - 13,1)	13,8 (9,91 - 16,3)	13,2 (9,55 - 14,2)	0,886
	Valeriansäure	2,07 (1,62 - 3,24)	2,46 (1,80 - 4,14)	2,36 (1,85 - 2,94)	2,88 (1,58 - 3,47)	2,41 (1,89 - 3,56)	0,846
	Verzweigtkettige FS*	3,66 (2,65 - 5,46)	5,64 (3,27 - 6,44)	3,78 (2,89 - 16,7)	5,59 (3,01 - 7,04)	5,38 (3,48 - 6,74)	0,493
	Gesamfettsäuren	84,8 (81,3 - 113)	85,4 (81,6 - 98,3)	91,4 (84,6 - 99,3)	97,0 (69,9 - 110)	93,4 (82,9 - 100)	0,968

A = Kontrollgruppe; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; uS = ursprüngliche Substanz; n = Anzahl gültiger Fälle (p < 0,05; Kruskal-Wallis); \* = Summe aus iso-Buttersäure und iso-Valeriansäure

## Ergebnisse

**Tabelle 20: Relativer Anteil [mol. %] der kurzkettigen Fettsäuren an der Gesamtkonzentration in der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe		A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	Essigsäure	63,3 (58,3 - 79,0)	63,7 (50,0 - 70,9)	72,7 (65,9 - 90,2)	66,5 (60,6 - 71,8)	73,0 (61,3 - 97,1)	0,133
	Propionsäure	18,9 (15,1 - 29,2)	16,5 (3,26 - 27,9)	9,19 (4,50 - 23,5)	22,0 (15,8 - 25,2)	10,9 (2,91 - 28,8)	0,303
	Buttersäure	3,33 (2,03 - 8,66)	2,09 (0,00 - 10,3)	1,79 (0,66 - 4,98)	1,69 (1,57 - 13,0)	1,22 (0,00 - 7,73)	0,638
	Valeriansäure	8,53 (0,00 - 23,0)	6,25 (2,28 - 35,9)	7,58 (0,00 - 20,9)	4,04 (1,44 - 15,5)	7,35 (0,00 - 16,3)	0,932
	Verzweigtkettige FS*	0,12 (0,00 - 1,25)	0,17 (0,05 - 1,20)	0,26 (0,00 - 1,54)	0,30 (0,00 - 0,46)	0,05 (0,00 - 0,81)	0,966
Jejunum	Essigsäure	79,2 (65,9 - 87,0)	74,8 (67,9 - 96,6)	85,5 (76,6 - 94,3)	73,7 (61,8 - 89,2)	90,5 (61,2 - 92,2)	0,405
	Propionsäure	4,82 (0,00 - 9,11)	18,1 (0,00 - 19,3)	0,75 (0,40 - 3,99)	17,9 (1,40 - 27,7)	0,52 (0,00 - 29,6)	0,194
	Buttersäure	0,00 (0,00 - 12,4)	0,95 (0,72 - 9,47)	0,00 (0,00 - 6,31)	2,05 (1,18 - 7,20)	1,76 (0,00 - 8,63)	0,668
	Valeriansäure	0,00 (0,00 - 0,82)	0,28 (0,00 - 0,47)	0,00 (0,00 - 0,43)	0,58 (0,00 - 2,13)	0,23 (0,00 - 0,69)	0,418
	Verzweigtkettige FS*	16,0 (0,54 - 34,1)	5,22 (0,00 - 11,9)	10,5 (0,92 - 19,4)	4,77 (0,09 - 16,7)	6,67 (0,12 - 26,4)	0,502
Caecum	Essigsäure	54,1 (51,1 - 58,0)	57,5 (51,1 - 64,0)	55,2 (52,8 - 62,5)	55,4 (51,8 - 57,4)	57,2 (53,1 - 60,0)	0,516
	Propionsäure	30,8 (27,6 - 31,6)	28,4 (24,9 - 31,9)	29,7 (27,0 - 30,8)	29,3 (28,4 - 31,0)	29,1 (25,9 - 30,0)	0,363
	Buttersäure	12,4 (10,5 - 13,4)	11,5 (10,1 - 13,3)	12,8 (8,67 - 13,8)	12,9 (11,6 - 15,0)	11,3 (9,58 - 15,1)	0,765
	Valeriansäure	2,08 (1,30 - 3,79)	1,66 (0,65 - 4,31)	1,91 (1,06 - 2,61)	2,34 (1,87 - 3,11)	1,62 (0,85 - 3,33)	0,515
	Verzweigtkettige FS*	0,60 (0,21 - 0,92)	0,34 (0,20 - 0,52)	0,41 (0,23 - 0,71)	0,48 (0,30 - 0,72)	0,52 (0,49 - 0,64)	0,399
Colon ascendens	Essigsäure	54,0 (50,7 - 57,6)	57,7 (50,1 - 63,5)	55,4 (51,9 - 61,8)	55,5 (50,4 - 56,4)	57,6 (53,2 - 60,7)	0,331
	Propionsäure	30,7 (23,5 - 32,1)	27,9 (24,4 - 29,8)	28,2 (26,1 - 30,4)	29,1 (28,0 - 29,6)	28,7 (25,1 - 29,6)	0,340
	Buttersäure	12,6 (11,1 - 14,2)	11,8 (10,5 - 14,0)	13,3 (9,26 - 13,7)	12,7 (11,0 - 15,9)	10,9 (8,40 - 15,4)	0,864
	Valeriansäure	2,08 (1,78 - 4,11)	2,00 (1,01 - 5,22)	2,23 (1,48 - 3,37)	2,61 (2,14 - 3,67)	2,08 (0,98 - 3,85)	0,605
	Verzweigtkettige FS*	0,71 (0,32 - 2,94)	0,72 (0,41 - 1,13)	0,64 (0,49 - 0,91)	0,86 (0,38 - 0,95)	0,70 (0,39 - 0,77)	0,836
Colon descendens	Essigsäure	57,1 (53,1 - 57,3)	55,0 (52,2 - 57,2)	53,6 (47,1 - 54,7)	52,8 (50,9 - 54,3)	52,9 (51,8 - 56,9)	0,096
	Propionsäure	23,7 (23,0 - 26,3)	22,6 (20,4 - 25,7)	25,4 (22,2 - 26,7)	23,8 (20,4 - 24,9)	24,8 (22,9 - 25,3)	0,350
	Buttersäure	14,3 (7,49 - 15,0)	14,6 (11,4 - 15,2)	13,1 (12,0 - 14,9)	14,8 (14,2 - 16,0)	13,9 (11,5 - 14,7)	0,290
	Valeriansäure	2,37 (1,68 - 3,96)	2,57 (2,17 - 4,22)	2,48 (2,13 - 3,19)	2,98 (2,26 - 3,42)	2,84 (2,04 - 3,58)	0,614
	Verzweigtkettige FS*	4,35 (2,93 - 6,22)	5,84 (3,74 - 7,61)	4,05 (3,35 - 16,2)	6,24 (4,32 - 7,24)	5,37 (4,14 - 7,12)	0,478

A = Kontrollgruppe; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; n = Anzahl gültiger Fälle; (p < 0,05; Kruskal-Wallis)

\* = Summe aus iso-Buttersäure und iso-Valeriansäure

## Ergebnisse

**Tabelle 21: D- und L-Laktat Konzentrationen [ $\mu\text{mol/g}$  uS] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe		A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	D-Laktat	3,73 (1,48 - 11,8)	11,5 (0,31 - 14,3)	4,62 (2,80 - 9,20)	6,54 (3,50 - 15,7)	6,23 (0,26 - 15,8)	0,803
	L-Laktat	9,19 (3,08 - 11,4)	11,2 (1,05 - 14,2)	7,02 (4,14 - 17,2)	5,70 (4,11 - 13,2)	8,01 (0,41 - 15,7)	0,999
	Gesamtlaktat	12,4 (4,55 - 23,2)	22,6 (1,36 - 27,2)	11,7 (8,88 - 21,8)	12,2 (7,61 - 29,0)	13,4 (0,67 - 31,5)	0,974
Jejunum	D-Laktat	2,87 (0,03 - 4,13)	2,38 (0,08 - 7,75)	0,61 (0,19 - 7,52)	4,03 (2,80 - 7,77)	0,71 (0,08 - 15,1)	0,424
	L-Laktat	12,1 (9,76 - 30,7)	25,9 (18,0 - 37,8)	19,3 (14,7 - 65,0)	19,2 (13,7 - 52,3)	27,4 (5,89 - 40,1)	0,659
	Gesamtlaktat	15,7 (9,91 - 30,7)	28,3 (21,3 - 38,3)	22,0 (16,2 - 65,4)	23,2 (18,8 - 60,1)	33,6 (6,60 - 42,4)	0,587
Caecum	D-Laktat	0,35 (0,02 - 2,30)	3,08 (0,22 - 6,11)	0,07 (0,03 - 7,19)	3,40 (1,63 - 8,70)	0,06 (0,03 - 1,08)	0,053
	L-Laktat	0,35 (0,02 - 2,25)	3,45 (0,27 - 6,38)	0,26 (0,01 - 7,94)	1,59 (0,04 - 8,98)	0,12 (0,04 - 1,16)	0,174
	Gesamtlaktat	0,70 (0,03 - 4,50)	6,52 (0,49 - 12,2)	0,30 (0,03 - 15,1)	3,22 (0,04 - 17,7)	0,10 (0,07 - 2,24)	0,178
Colon ascendens	D-Laktat	1,07 (0,12 - 5,74)	1,09 (0,07 - 4,02)	0,11 (0,09 - 6,92)	1,05 (0,09 - 7,56)	0,36 (0,10 - 2,95)	0,965
	L-Laktat	0,87 (0,09 - 5,97)	1,43 (0,59 - 3,61)	0,03 (0,01 - 7,01)	2,46 (0,19 - 15,1)	0,16 (0,01 - 3,01)	0,527
	Gesamtlaktat	1,40 (0,18 - 11,7)	1,79 (0,07 - 7,63)	0,12 (0,10 - 13,9)	1,90 (0,09 - 15,1)	0,34 (0,13 - 5,96)	0,925
Colon descendens	D-Laktat	0,15 (0,11 - 0,53)	0,31 (0,05 - 0,67)	0,24 (0,18 - 0,41)	0,07 (0,01 - 0,15)	0,09 (0,04 - 0,92)	0,099
	L-Laktat	0,10 (0,02 - 1,89)	1,23 (0,12 - 2,61)	0,10 (0,03 - 1,26)	0,50 (0,03 - 0,53)	0,10 (0,03 - 2,29)	0,476
	Gesamtlaktat	0,35 (0,16 - 2,42)	1,13 (0,18 - 3,28)	0,30 (0,16 - 1,67)	0,17 (0,01 - 0,61)	0,25 (0,06 - 3,20)	0,379

A = Kontrollgruppe; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; uS = ursprüngliche Substanz; n = Anzahl gültiger Fälle (p < 0,05; Kruskal-Wallis)

Ammoniumgehalt der Digestaproben

Die Ammoniumgehalte der Digestaproben der verschiedenen Abschnitte des GITs sind in Tabelle 22 dargestellt. Beim Vergleich der Ammoniumgehalte zeigten sich im Magen ( $p = 0,683$ ) sowie im Jejunum ( $p = 0,957$ ) keine Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen. Der Vergleich der Ammoniumgehalte in Caecum ( $p = 0,113$ ), Colon ascendens ( $p = 0,165$ ) und Colon descendens ( $p = 0,277$ ) ergab ebenfalls keine Gruppenunterschiede. Betrachtet man jedoch in den Abschnitten Caecum und Colon ascendens die Versuchsgruppen C und E, zeigten sich im Vergleich zur Kontrollgruppe und den Gruppen B und D numerisch geringere Gehalte an Ammonium.

**Tabelle 22: Konzentration des Ammoniums [ $\mu\text{mol/g uS}$ ] der Digesta in den Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)**

Gruppe	A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	2,54 $\pm$ 0,28	3,28 $\pm$ 1,27	2,84 $\pm$ 0,76	3,39 $\pm$ 0,93	2,88 $\pm$ 1,46	0,683
Jejunum	11,5 $\pm$ 4,68	10,3 $\pm$ 4,12	10,5 $\pm$ 4,12	12,1 $\pm$ 3,19	11,0 $\pm$ 4,56	0,957
Caecum	6,71 $\pm$ 3,02	5,84 $\pm$ 2,16	3,90 $\pm$ 1,41	6,90 $\pm$ 2,20	4,37 $\pm$ 0,99	0,113
Colon ascendens	9,15 $\pm$ 3,30	8,98 $\pm$ 1,52	7,19 $\pm$ 1,05	9,44 $\pm$ 1,66	7,06 $\pm$ 1,00	0,165
Colon descendens	12,6 $\pm$ 1,37	14,3 $\pm$ 2,73	14,4 $\pm$ 1,91	17,2 $\pm$ 5,25	15,2 $\pm$ 3,59	0,277

A = Kontrolle; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %  
 uS = ursprüngliche Substanz; n = Anzahl gültiger Fälle; ( $p < 0,05$ ; ANOVA)

Gehalt biogener Amine der Digestaproben

Die Gehalte der biogenen Amine der Abschnitte Magen und Jejunum sowie der Dickdarmabschnitte Caecum, Colon ascendens und Colon descendens sind in Tabelle 23 aufgeführt. Dabei wurde neben den einzelnen Aminen Putrescin, Histamin, Cadaverin, Spermidin und Spermin auch der rechnerisch ermittelte Gesamtgehalt an biogenen Aminen aufgeführt. In den analysierten Abschnitten Magen, Jejunum, Caecum und Colon descendens konnten keine abgesicherten Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen ermittelt werden. Im Colon ascendens zeigten sich tendenzielle Gruppenunterschiede ( $p = 0,077$ ) im Vergleich der gemessenen Histamingehalte. Dabei wurden in den Versuchsgruppen B, D und E höhere Gehalte ermittelt als in der Versuchsgruppe C und der Kontrolle.

Betrachtet man die im Magen gemessenen Cadaveringehalte der Versuchsgruppen B und D im Vergleich zur Kontrollgruppe, so wurden dabei numerisch höhere Konzentrationen ermittelt. Und auch im Caecum zeigten sich die gemessenen Cadaveringehalte sowie der Gesamtgehalt der biogenen Amine in den Versuchsgruppen B und D im Vergleich zur Kontrollgruppe numerisch erhöht.

## Ergebnisse

**Tabelle 23: Konzentration biogener Amine [ $\mu\text{mol/g uS}$ ] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe		A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	Putrescin	0,09 (0,01 - 0,25)	0,25 (0,03 - 0,38)	0,05 (0,02 - 0,28)	0,17 (0,05 - 0,29)	0,06 (0,02 - 0,41)	0,641
	Histamin	u. N.	0,04 (0,00 - 0,06)	u. N.	0,04 (0,00 - 0,05)	u. N.	0,631
	Cadaverin	0,33 (0,03 - 8,06)	0,77 (0,01 - 8,92)	0,30 (0,04 - 0,82)	0,64 (0,12 - 11,5)	0,38 (0,00 - 18,4)	0,937
	Spermidin	0,05 (0,00 - 0,07)	0,05 (0,02 - 0,06)	0,05 (0,02 - 0,08)	0,06 (0,01 - 0,07)	0,05 (0,01 - 0,07)	0,947
	Spermin	u. N.					
	Gesamt	0,50 (0,05 - 8,41)	1,08 (0,11 - 9,31)	0,40 (0,14 - 1,16)	0,84 (0,24 - 11,8)	0,55 (0,03 - 19,0)	0,887
Jejunum	Putrescin	0,05 (0,04 - 0,14)	0,05 (0,02 - 0,28)	0,04 (0,03 - 0,39)	0,10 (0,04 - 0,27)	0,05 (0,03 - 0,52)	0,815
	Histamin	0,00 (0,00 - 0,07)	0,00 (0,00 - 0,17)	u. N.	0,04 (0,00 - 0,27)	u. N.	0,357
	Cadaverin	0,11 (0,00 - 0,51)	0,03 (0,00 - 0,63)	0,04 (0,00 - 0,07)	0,04 (0,00 - 0,89)	u. N.	0,760
	Spermidin	0,09 (0,06 - 0,17)	0,07 (0,06 - 0,20)	0,08 (0,02 - 0,16)	0,08 (0,04 - 0,16)	0,07 (0,04 - 0,17)	0,938
	Spermin	0,04 (0,02 - 0,18)	0,03 (0,01 - 0,15)	0,03 (0,01 - 0,15)	0,06 (0,01 - 0,18)	0,02 (0,00 - 0,24)	0,919
	Gesamt	0,43 (0,17 - 0,73)	0,44 (0,11 - 0,85)	0,34 (0,10 - 0,51)	0,49 (0,24 - 1,42)	0,35 (0,08 - 0,91)	0,663
Caecum	Putrescin	0,27 (0,11 - 0,34)	0,29 (0,17 - 0,31)	0,29 (0,11 - 0,44)	0,31 (0,18 - 0,36)	0,21 (0,14 - 0,39)	0,771
	Histamin	0,08 (0,02 - 0,13)	0,07 (0,06 - 0,11)	0,03 (0,00 - 0,15)	0,10 (0,07 - 0,19)	0,08 (0,00 - 0,10)	0,449
	Cadaverin	0,08 (0,00 - 0,81)	0,37 (0,02 - 0,42)	0,04 (0,01 - 0,66)	0,21 (0,11 - 0,94)	0,11 (0,00 - 0,75)	0,552
	Spermidin	0,22 (0,14 - 0,29)	0,25 (0,11 - 0,27)	0,25 (0,15 - 0,35)	0,23 (0,13 - 0,29)	0,28 (0,10 - 0,30)	0,960
	Spermin	u. N.	0,02 (0,00 - 0,03)	u. N.	u. N.	u. N.	0,557
	Gesamt	0,68 (0,46 - 1,34)	0,95 (0,54 - 1,01)	0,67 (0,31 - 1,54)	0,95 (0,74 - 1,52)	0,69 (0,45 - 1,28)	0,691
Colon ascendens	Putrescin	0,18 (0,17 - 0,46)	0,29 (0,21 - 0,34)	0,29 (0,21 - 0,40)	0,32 (0,29 - 0,44)	0,32 (0,19 - 0,38)	0,481
	Histamin	0,08 (0,02 - 0,20)	0,17 (0,07 - 0,20)	0,04 (0,00 - 0,13)	0,18 (0,07 - 0,28)	0,12 (0,00 - 0,13)	0,077
	Cadaverin	0,44 (0,04 - 0,97)	0,36 (0,07 - 1,25)	0,16 (0,06 - 0,51)	0,58 (0,18 - 1,21)	0,12 (0,00 - 1,09)	0,564
	Spermidin	0,32 (0,19 - 0,39)	0,36 (0,30 - 0,41)	0,36 (0,32 - 0,38)	0,28 (0,26 - 0,44)	0,34 (0,23 - 0,37)	0,561
	Spermin	0,01 (0,00 - 0,04)	0,03 (0,00 - 0,04)	u. N.	u. N.	u. N.	0,880
	Gesamt	0,85 (0,67 - 1,72)	1,19 (0,87 - 2,03)	0,85 (0,77 - 1,30)	1,30 (0,96 - 2,20)	0,96 (0,53 - 1,76)	0,282
Colon descendens	Putrescin	0,27 (0,22 - 0,39)	0,34 (0,12 - 0,44)	0,24 (0,20 - 0,32)	0,34 (0,18 - 0,40)	0,17 (0,11 - 0,36)	0,269
	Histamin	0,06 (0,00 - 0,21)	0,16 (0,04 - 0,76)	0,02 (0,00 - 0,11)	0,12 (0,04 - 0,16)	0,04 (0,00 - 0,11)	0,130
	Cadaverin	0,20 (0,15 - 0,58)	0,56 (0,03 - 1,60)	0,36 (0,02 - 0,54)	0,54 (0,05 - 0,60)	0,20 (0,03 - 1,74)	0,822
	Spermidin	0,51 (0,43 - 0,59)	0,53 (0,45 - 0,61)	0,51 (0,41 - 0,51)	0,43 (0,27 - 0,59)	0,38 (0,14 - 0,54)	0,127
	Spermin	0,02 (0,00 - 0,04)	0,03 (0,00 - 0,05)	u. N.	u. N.	u. N.	0,416
	Gesamt	1,12 (0,90 - 1,65)	1,77 (0,82 - 3,29)	1,14 (0,68 - 1,41)	1,44 (0,63 - 1,76)	0,70 (0,61 - 2,40)	0,490

A = Kontrollgruppe; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; uS = ursprüngliche Substanz; n = Anzahl gültiger Fälle (p < 0,05; Kruskal-Wallis); u.N. = unter der Nachweisgrenze

### Gehalt an Phenolen und Indolen der Digestproben

In Tabelle 24 sind die Gehalte der untersuchten Phenole und Indole der Digestproben aufgeführt. In den untersuchten Abschnitten Magen, Jejunum und Colon ascendens konnten keine abgesicherten Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen im Vergleich der gemessenen phenolischen und indolischen Verbindungen ermittelt werden. Im Caecum zeigten sich in Bezug auf den Phenolgehalt tendenzielle ( $p = 0,067$ ) Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Hierbei erzielte die Versuchsgruppe B die geringsten Phenolgehalte im Caecum. Betrachtet man die *p*-Cresolgehalte im Caecum, zeichneten sich in allen Versuchsgruppen geringere Werte im Vergleich zur Kontrolle ( $p = 0,101$ ) ab. Im Colon descendens zeigten sich tendenzielle Gruppenunterschiede ( $p = 0,098$ ) beim Vergleich des Gehalts an 4-Ethylphenol, dabei wies die Versuchsgruppe B die geringsten Gehalte auf. Darüber hinaus wurden in den Versuchsgruppen C und E im Vergleich zur Kontrolle numerisch geringere Gehalte an 3-Methylindol (Skatol) im Colon descendens ermittelt.

### **Quantifizierung von Vertretern bestimmter bakterieller Gruppen in den Digestproben**

Die Ergebnisse der analysierten DNA-Extrakte der Digestproben aus den Abschnitten Magen, Ileum, Caecum und Colon ascendens sind in Tabelle 25 zusammengefasst. In diesen vier untersuchten Abschnitten wurden die nachfolgenden bakteriellen Gruppen untersucht: *E. coli/Hafnia/Shigella* Gruppe, die *Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas* Gruppe, die *Lactobacillus* Gruppe, das Clostridien-Cluster I, das *C. coccoides*-Cluster XIVa und das *C. leptum*-Cluster IV. Bei der Quantifizierung dieser Bakteriengruppen zeigten sich Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen vorwiegend im Magen und Ileum, weniger in den Abschnitten des Dickdarms. Betrachtet man die Kopienanzahl der *Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas* Gruppe im Magen, so zeigen sich in den Versuchsgruppen C und E tendenziell geringere Werte beim Vergleich der Versuchsgruppen untereinander ( $p = 0,086$ ). Dies zeigt sich nahezu tendenziell auch im Ileum ( $p = 0,105$ ). Des Weiteren wurden im Ileum beim Vergleich des *C. coccoides*-Cluster XIVa Gruppenunterschiede ermittelt ( $p = 0,020$ ). Dabei zeigte sich eine abgesicherte Erhöhung der *C. coccoides* Gruppe in allen Versuchsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe. Beim Vergleich des *C. leptum*-Clusters IV im Ileum konnten tendenzielle Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen ermittelt werden ( $p = 0,095$ ). Hierbei zeigte sich ebenfalls in allen Versuchsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe eine Erhöhung der *C. leptum* Gruppe.

## Ergebnisse

**Tabelle 24: Konzentration der phenolischen Verbindungen [ $\mu\text{g/g uS}$ ] der Digesta in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe		A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	Phenol	6,71 (4,76 - 11,0)	6,78 (5,10 - 9,44)	6,84 (4,49 - 10,6)	6,11 (4,28 - 14,8)	5,97 (3,98 - 11,1)	0,999
	<i>p</i> -Cresol	1,93 (1,66 - 2,47)	2,15 (1,62 - 4,68)	2,16 (1,83 - 3,39)	2,96 (1,70 - 5,71)	2,17 (1,83 - 4,51)	0,594
Jejunum	Phenol	7,81 (3,28 - 15,0)	10,6 (9,66 - 13,6)	11,8 (8,11 - 18,6)	13,1 (6,60 - 13,4)	9,50 (8,11 - 20,7)	0,727
Caecum	Phenol	4,48 (4,27 - 4,69)	2,67 (2,54 - 2,99)	4,74 (4,35 - 5,35)	5,22 (4,67 - 6,67)	3,82 (3,04 - 5,74)	0,067
	<i>p</i> -Cresol	7,97 (5,91 - 8,55)	3,60 (3,31 - 10,4)	3,99 (3,47 - 4,91)	4,00 (2,67 - 5,87)	4,35 (3,59 - 6,24)	0,101
	4-Ethylphenol	3,39 (2,46 - 4,61)	3,99 (2,03 - 4,51)	4,39 (2,66 - 8,72)	4,47 (3,49 - 6,44)	4,22 (3,65 - 6,37)	0,270
	Indol	3,94 (3,77 - 4,10)	5,40 (2,40 - 8,40)	3,40 (2,65 - 4,14)	4,04 (2,79 - 5,29)	3,97 (3,97 - 3,97)	0,998
	3-Methylindol	9,03 (8,28 - 17,8)	6,32 (3,90 - 8,59)	8,94 (5,01 - 13,5)	7,43 (6,13 - 8,71)	5,79 (4,66 - 11,5)	0,210
Colon ascendens	Phenol	3,68 (2,53 - 6,16)	4,20 (3,86 - 6,26)	4,97 (4,70 - 5,60)	4,89 (3,79 - 5,49)	4,40 (4,17 - 4,89)	0,222
	<i>p</i> -Cresol	6,49 (3,09 - 72,4)	10,0 (5,23 - 20,8)	9,21 (3,82 - 18,3)	7,69 (6,25 - 13,0)	7,86 (4,13 - 7,99)	0,748
	4-Ethylphenol	4,92 (2,45 - 5,53)	5,40 (4,59 - 6,79)	5,71 (4,18 - 8,37)	4,84 (4,60 - 6,23)	4,93 (4,06 - 8,63)	0,628
	Indol	4,59 (3,08 - 10,6)	5,97 (3,24 - 9,15)	4,25 (3,24 - 6,21)	4,87 (2,60 - 6,81)	3,31 (3,24 - 5,78)	0,648
	3-Methylindol	10,4 (7,40 - 17,7)	9,42 (7,92 - 18,5)	8,33 (5,27 - 19,4)	9,12 (6,13 - 9,99)	8,55 (4,72 - 11,2)	0,877
Colon descendens	Phenol	7,00 (5,32 - 10,5)	7,25 (5,82 - 8,38)	6,25 (5,32 - 7,75)	6,90 (4,85 - 15,6)	6,75 (5,55 - 8,70)	0,960
	<i>p</i> -Cresol	52,3 (43,9 - 93,5)	84,1 (55,0 - 93,3)	47,6 (28,7 - 105)	86,0 (40,2 - 129)	68,8 (52,6 - 108)	0,343
	4-Ethylphenol	7,88 (6,57 - 13,9)	4,44 (3,06 - 9,55)	5,58 (4,78 - 6,10)	6,96 (3,95 - 8,93)	5,79 (3,02 - 7,71)	0,098
	Indol	7,64 (3,03 - 13,8)	10,9 (6,37 - 13,3)	5,42 (4,98 - 13,5)	10,3 (6,77 - 18,8)	8,61 (7,55 - 43,2)	0,400
	3-Methylindol	23,6 (16,5 - 33,3)	20,8 (18,8 - 33,1)	12,4 (9,49 - 39,5)	27,5 (14,9 - 46,6)	16,4 (12,0 - 31,6)	0,640

A = Kontrollgruppe; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; uS = ursprüngliche Substanz; n = Anzahl gültiger Fälle (p < 0,05; Kruskal-Wallis)

## Ergebnisse

**Tabelle 25: Kopienanzahl [log<sub>10</sub>/g Digesta] von Bakterien bestimmter mikrobieller Gruppen in den untersuchten Abschnitten des GITs der Ferkel der fünf Versuchsgruppen (Median (Minimum - Maximum))**

Gruppe		A (n = 5)	B (n = 5)	C (n = 5)	D (n = 5)	E (n = 5)	p
Magen	<i>E. coli/Hafnia/Shigella</i>	5,73 (5,00 - 6,37)	5,30 (5,05 - 5,60)	6,04 (4,64 - 6,41)	5,58 (5,33 - 6,06)	5,85 (4,83 - 6,41)	0,495
	<i>Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas</i>	8,63 (8,14 - 8,98)	8,61 (7,55 - 8,85)	8,29 (7,69 - 8,42)	8,75 (8,65 - 9,36)	8,00 (7,80 - 9,19)	0,086
	<i>Lactobacillus</i> Gruppe	8,52 (8,22 - 8,61)	8,84 (7,33 - 8,92)	8,48 (8,02 - 8,81)	8,76 (8,16 - 8,98)	8,38 (7,39 - 9,13)	0,829
	Clostridien-Cluster I	5,92 (4,30 - 6,15)	5,56 (4,70 - 5,95)	6,01 (4,69 - 6,67)	5,83 (5,81 - 6,34)	5,34 (5,19 - 6,01)	0,323
	<i>C. coccoides</i> -Cluster XIVa	8,46 (7,89 - 8,77)	8,16 (7,68 - 8,56)	8,12 (7,97 - 8,26)	8,32 (8,26 - 9,16)	8,05 (7,70 - 8,49)	0,155
	<i>C. leptum</i> -Cluster IV	7,47 (6,02 - 8,07)	6,69 (6,52 - 7,77)	7,23 (6,88 - 7,65)	7,27 (6,69 - 8,66)	7,03 (6,63 - 7,43)	0,683
Ileum	<i>E. coli/Hafnia/Shigella</i>	7,38 (6,70 - 7,55)	7,34 (6,45 - 7,90)	7,91 (6,62 - 8,11)	7,48 (5,80 - 8,81)	7,39 (6,48 - 8,45)	0,703
	<i>Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas</i>	7,90 (7,24 - 8,23)	8,48 (7,26 - 8,60)	7,94 (7,33 - 8,29)	8,41 (8,06 - 9,02)	7,92 (7,40 - 9,55)	0,105
	<i>Lactobacillus</i> Gruppe	7,63 (6,48 - 9,00)	7,29 (6,48 - 8,56)	8,07 (6,86 - 9,61)	7,68 (7,11 - 9,14)	8,07 (6,73 - 8,77)	0,784
	Clostridien-Cluster I	7,61 (7,54 - 8,61)	8,22 (7,41 - 8,64)	8,10 (7,88 - 9,05)	8,22 (6,90 - 8,75)	8,44 (8,03 - 8,84)	0,304
	<i>C. coccoides</i> -Cluster XIVa	7,39 (6,45 - 7,52) <sup>a</sup>	7,72 (7,32 - 7,79) <sup>b</sup>	7,66 (7,48 - 7,95) <sup>b</sup>	7,80 (7,66 - 8,09) <sup>b</sup>	7,67 (7,55 - 8,16) <sup>b</sup>	0,020
	<i>C. leptum</i> -Cluster IV	7,01 (6,52 - 7,34)	7,28 (6,93 - 7,52)	7,25 (7,08 - 7,81)	7,20 (6,88 - 7,57)	7,47 (7,35 - 8,15)	0,095
Caecum	<i>E. coli/Hafnia/Shigella</i>	8,07 (7,22 - 8,28)	7,74 (6,64 - 8,41)	8,11 (7,16 - 8,30)	8,29 (7,48 - 8,58)	8,13 (7,41 - 8,53)	0,668
	<i>Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas</i>	10,8 (10,6 - 10,9)	10,7 (10,7 - 10,9)	10,9 (10,8 - 11,1)	10,8 (10,7 - 10,8)	11,0 (10,6 - 11,1)	0,245
	<i>Lactobacillus</i> Gruppe	8,85 (7,99 - 9,02)	8,37 (7,50 - 8,74)	8,37 (7,97 - 8,83)	8,61 (8,18 - 8,99)	8,56 (7,91 - 9,06)	0,649
	Clostridien-Cluster I	7,60 (6,86 - 8,56)	8,25 (6,78 - 8,75)	8,35 (7,80 - 8,46)	8,11 (6,60 - 8,37)	8,16 (7,25 - 8,69)	0,554
	<i>C. coccoides</i> -Cluster XIVa	10,2 (10,0 - 10,4)	10,1 (9,83 - 10,4)	10,2 (10,2 - 10,4)	10,2 (10,1 - 10,3)	10,2 (10,0 - 10,4)	0,795
	<i>C. leptum</i> -Cluster IV	9,54 (9,41 - 9,71)	9,50 (9,34 - 9,64)	9,56 (9,35 - 9,78)	9,48 (9,34 - 9,76)	9,66 (9,55 - 9,80)	0,180
Colon asc.	<i>E. coli/Hafnia/Shigella</i>	7,61 (6,67 - 7,75)	7,42 (6,05 - 7,78)	7,71 (6,67 - 7,88)	7,89 (6,83 - 7,97)	7,88 (7,15 - 8,14)	0,327
	<i>Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas</i>	11,2 (11,2 - 11,3)	11,3 (11,1 - 11,3)	11,4 (11,3 - 11,4)	11,2 (11,2 - 11,3)	11,4 (11,0 - 11,5)	0,059
	<i>Lactobacillus</i> Gruppe	9,18 (8,69 - 9,60)	9,05 (8,12 - 9,20)	9,03 (8,70 - 9,22)	9,17 (8,95 - 9,48)	8,94 (8,35 - 9,42)	0,378
	Clostridien-Cluster I	7,40 (6,70 - 8,67)	8,22 (6,25 - 8,69)	8,33 (7,54 - 8,47)	7,96 (6,29 - 8,34)	8,03 (7,37 - 8,56)	0,569
	<i>C. coccoides</i> -Cluster XIVa	9,97 (9,78 - 10,2)	10,0 (9,69 - 10,1)	9,95 (9,91 - 10,1)	9,98 (9,90 - 10,0)	9,85 (9,66 - 9,97)	0,339
	<i>C. leptum</i> -Cluster IV	9,44 (9,24 - 9,58)	9,43 (9,19 - 9,58)	9,51 (9,40 - 9,57)	9,35 (9,27 - 9,56)	9,48 (9,25 - 9,70)	0,738

A = Kontrollgruppe; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %; n = Anzahl gültiger Fälle

<sup>ab</sup> = unterschiedliche Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile geben signifikante Unterschiede an (p < 0,05; Mann-Whitney-U)

### Bestimmung der Kapazität der Substratverwertung von Faecesproben durch Zugabe von Kohlenhydratquellen in BIOLOG MT2-Platten

In Tabelle 26 sind die Ergebnisse der Untersuchungen zur Kapazität der Substratverwertung der Mikrobiota dargestellt. Hierbei erfolgte der Nachweis der möglichen Substratverwertung anhand der Oxidation von Mangoschalen bzw. Apfelpektin als einzige Kohlenhydratquelle durch die in der Kotsuspension vorhandenen Bakterien. Die Anwendung von BIOLOG MT2-Platten ermöglichte dabei die photometrische Bestimmung der Oxidation der zugesetzten Kohlenstoffquellen. Die optische Dichte des in den Kavitäten der BIOLOG MT2-Platten enthaltenen Redoxfarbstoffs wurde gemessen und somit die Substratverwertung ermittelt.

Bei der Zugabe von Mangoschalen als einzige Kohlenhydratquelle zeigte sich ein abgesicherter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen ( $p < 0,001$ ). Im Vergleich zur Kontrollgruppe wiesen alle Versuchsgruppen eine deutlich höhere Substratverwertung der Mangoschalen als Kohlenhydratquelle auf. Zwischen den vier Versuchsgruppen, in denen die Tiere die Futtermittelnvarianten mit Zulage von Mangoschalen (B und C) bzw. Apfelpektin (D und E) erhielten, ergaben sich keine Unterschiede.

Bei der Zugabe von Apfelpektin als einzige Kohlenhydratquelle zeigte sich ein abgesicherter Unterschied zwischen den Versuchsgruppen ( $p < 0,001$ ), dabei war eine erhöhte Substratverwertung vor allem in den Versuchsgruppen C ( $p < 0,001$ ) und E ( $p < 0,001$ ) im Vergleich zur Kontrollgruppe festzustellen. Die Versuchsgruppe D zeigte ebenfalls eine höhere Substratverwertung ( $p = 0,001$ ) im Vergleich zur Kontrollgruppe, die Versuchsgruppe B unterschied sich hingegen nur tendenziell ( $p = 0,058$ ).

**Tabelle 26: Substratverwertungskapazität von Faecesproben in BIOLOG MT2-Platten mit 0,17 % Mangoschalen bzw. Apfelpektin als einzige Kohlenhydratquelle (Optische Dichte  $A_{590}$ ) (Median (Minimum - Maximum))**

	A (n = 8)	B (n = 8)	C (n = 8)	D (n = 8)	E (n = 8)	p
Mango- schalen	0,75 <sup>a</sup> (0,24 - 1,10)	0,88 <sup>b</sup> (0,46 - 1,14)	0,92 <sup>b</sup> (0,16 - 1,30)	0,85 <sup>b</sup> (0,47 - 1,54)	0,95 <sup>b</sup> (0,23 - 1,52)	< 0,001
Apfel- pektin	0,49 <sup>a</sup> (0,23 - 0,85)	0,57 <sup>ab</sup> (0,33 - 0,86)	0,66 <sup>c</sup> (0,32 - 0,89)	0,59 <sup>b</sup> (0,09 - 0,94)	0,67 <sup>c</sup> (0,38 - 1,02)	< 0,001

A = Kontrollgruppe; B = Mangoschale 1 %; C = Mangoschale 2 %; D = Apfelpektin 1 %; E = Apfelpektin 2 %  
n = Anzahl gültiger Fälle; <sup>ab</sup> = unterschiedliche Hochbuchstaben innerhalb einer Zeile geben signifikante Unterschiede an ( $p < 0,05$ ; Mann-Whitney-U)

## **5 Diskussion**

### **5.1 Hintergrund und Ziel der Arbeit**

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, den Einsatz von Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln zu untersuchen. Hintergrund dieser Arbeit war dabei einerseits, eine nachhaltige Nutzungsmöglichkeit des Nebenprodukts Mangoschale aufzuzeigen sowie die mögliche Eignung als pflanzliches Einzelfuttermittel zur Verbesserung der Tiergesundheit und Leistung in der kritischen Phase des Absetzens zu untersuchen. Die in dieser Phase auftretenden Stressfaktoren wie Futterumstellung, Trennung von der Mutter und der gewohnten Umgebung sowie der Transport und die Zusammenstellung neuer Gruppen können vermehrt zu Erkrankungen des Verdauungstrakts führen.

Um den Einsatz von getrockneten Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln prüfen zu können, erfolgten zunächst *in vitro*-Untersuchungen zur Wirkung der Mangoschalen auf die Fermentationsbedingungen im GIT. Des Weiteren wurden in der Zellkultur IPEC-J2 potentiell protektive Effekte von Mangoschalen gegenüber einer Infektion mit enterotoxischen *E. coli* Bakterien untersucht. Abschließend erfolgte die Untersuchung, inwieweit sich eine Zulage von getrockneten Mangoschalen im Vergleich zu Apfelpektin in Versuchsdiäten von Absetzferkeln auf verdauungsphysiologische und mikrobiologische Parameter auswirkt.

### **5.2 *In vitro*-Untersuchungen**

#### **5.2.1 Kritik der Methoden der *in vitro*-Inkubationen**

Um einen ersten Überblick über die Fermentabilität von Mangoschalen und deren Nebenprodukten zu erlangen, wurde für die Kurzzeitinkubationen eine nicht invasive Methode der Gewinnung des Inokulums gewählt. Die rektale Entnahme des Kots von Sauen bedurfte dabei keinerlei Fixierung der Tiere und stellte daher eine stressfreie Methode dar.

#### **Wahl des Inokulums**

In der Studie von Bauer *et al.* (2004) wurden bei *in vitro*-Untersuchungen sowohl die mikrobielle Aktivität verschiedener Darmabschnitte bei ausgewachsenen Schweinen verglichen als auch die Aktivität der Mikrobiota einzelner Tiere und zum Teil deutliche Schwankungen ermittelt. In der vorliegenden Arbeit wurde daher eine homogenisierte Sammelprobe von drei Tieren erstellt, um tierindividuelle Schwankungen zu reduzieren. Die Nutzung von Kotproben als Inokulum anstelle von Caecum- oder Colondigesta für *in vitro*-Untersuchungen erfolgte bereits in anderen Studien. So zeigte die Studie von Holtug *et al.* (1992), dass für die molaren Verhältnisse der produzierten kurzkettigen Fettsäuren die

Herkunft der Digesta aus verschiedenen Abschnitten weniger entscheidend ist als die Wahl des Substrats. Ähnliche Ergebnisse berichteten Barry *et al.* (1995) in einer Studie, in der das Fermentationsmuster humaner Faecesproben mit Caecumdigesta von Ratten verglichen wurden. Auch in der zuvor genannten Studie von Bauer *et al.* (2004) wird die Nutzung von Faecesproben als Inokulum für *in vitro*-Studien als berechtigt betrachtet, auch wenn die Faecesproben nach Meinung der Autoren zu einer Überschätzung der caecalen Fermentation führen könnten. Ferner bietet die Nutzung von Faecesproben als Inokulum die Möglichkeit, Ansätze mehrfach untersuchen zu können bzw. Wiederholungen nach Fütterung verschiedener Diäten durchführen zu können. Bei den Langzeitinkubationen wurde basierend auf den Angaben von Dreyer (1990) Caecumdigesta von Schweinen als Inokulum eingesetzt.

Des Weiteren sollte bei der Wahl des Inokulums für die Kurzzeitinkubationen berücksichtigt werden, dass es sich dabei um Faecesproben von adulten Tieren handelte. Adulte Sauen weisen im Vergleich zu wachsenden Tieren einen deutlich entwickelteren GIT auf und haben dadurch eine höhere Kapazität Faserkomponenten verdauen zu können (Jørgensen *et al.* 2007; Lindberg 2014). Der Hauptaspekt der Kurzzeitinkubationen war jedoch den Zusatz der verschiedenen Testsubstanzen zu vergleichen und einen generellen Überblick zu geben. Für die Langzeitinkubationen wurde dann, um den Einfluss von Mangoschalen bzw. Apfelpektin auf die Fermentationsvorgänge bei Absetzferkeln simulieren zu können, als Inokulum Caecuminhalt von Ferkeln gewählt.

In der vorliegenden Studie wurde durch Nutzung von Faecesproben bzw. Caecumdigesta in den Inkubationsmethoden ein erster Überblick über den Einfluss der Substanzen auf die Bildung bakterieller Metaboliten ermittelt. Es konnte jedoch nur die Bildung und keine Absorption der bakteriellen Metaboliten simuliert werden.

### **Kurzzeitinkubationen von Sauenkot mit verschiedenen Kohlenhydratquellen**

Das Verfahren der Kurzzeitinkubation sollte zunächst einen generellen Überblick über die Fermentierbarkeit von Mangoschalen ermöglichen. Anhand der Bestimmung des pH-Werts und der durch bakterielle Fermentation entstandenen Metaboliten (kurzkettige Fettsäuren, Laktat und Ammonium) sollte ein erster Vergleich der verschiedenen Substrate ermöglicht werden.

In Voruntersuchungen wurde zunächst die geeignete Verdünnung des Inokulums ermittelt. Die Inkubationsdauer von 24 Stunden sowie die 1:10 Verdünnung der Faecesproben mit der Pufferlösung, welche zu einer 1:100 Verdünnung im Inkubationsgefäß führte, erzielten reproduzierbare Ergebnisse. Nach Wilfart *et al.* (2007) beträgt die mittlere Verweilzeit der Digesta im Dickdarm bei Schweinen ca. 35 Stunden. Bei einer *in vitro*-Inkubation mit Faeces von Schweinen belegten Christensen *et al.* (1999), dass nach 24 Stunden die Konzentration

der kurzkettigen Fettsäuren ein Plateau erreicht. Die Studie von Barry *et al.* (1995) zeigte, dass Pektine nach 24 Stunden bei einer *in vitro*-Fermentation zu 97,4 % abgebaut sind. Das deutet darauf hin, dass die Inkubationsdauer der vorliegenden Studie von 24 Stunden ausreicht.

Um den Effekt der Inkubationen der verschiedenen Substrate miteinander vergleichen zu können, wurden alle Substrate in der gleichen Konzentration gelöst. Die Löslichkeit des Apfelpektins stellte sich dabei bei der Wahl der Substratkonzentration als limitierend heraus. Der Veresterungsgrad des untersuchten Apfelpektins lag bei 74 % (Analysezertifikat des Herstellers). Aufgrund der hohen Viskosität des Apfelpektins konnte nur eine maximal 2 %ige Lösung erstellt und untersucht werden. Nach Rolin (1993) können Pektinlösungen, welche nicht mithilfe eines Hochgeschwindigkeits-Mixers erstellt werden, mit einer maximalen Konzentration von 4 % hergestellt werden. Des Weiteren weist der Autor daraufhin, dass durch die Zugabe von Pektinpulver in Wasser schlecht lösliche Klumpen entstehen können. In der vorliegenden Studie wurden daher alle Substratlösungen in einem Ultraschallbad behandelt.

Während der Durchführung der Kurzzeitinkubation wurde auf eine CO<sub>2</sub>-Begasung zur Erzeugung von anaeroben Bedingungen verzichtet. Als Nachweis anaerober Bedingungen wurde der Pufferlösung Resazurin hinzugefügt, welches als Sauerstoffindikator vorhandenen Sauerstoff mittels Farbumschlag anzeigt. Da es sich darüber hinaus um eine vorreduzierte Pufferlösung handelte und sich zu keiner Zeit der Inkubation ein Farbumschlag des Indikators zeigte, kann demzufolge das Vorliegen anaerober Bedingungen angenommen werden.

Bei der Bestimmung des Ammoniumgehalts könnten Bestandteile der Pufferlösung der Kurzzeitinkubation aufgrund ihrer chemischen Struktur zu falsch positiven Werten geführt haben. Bei der Bestimmung des Ammoniumgehalts der Kontrollprobe der Pufferlösung wurden mit 4,24 mmol/l deutlich messbare Gehalte ermittelt. Ob es sich dabei um eine Reaktion des Resazurins (C<sub>12</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>4</sub>) oder des Cysteinhydrochlorids (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>CINO<sub>2</sub>S) handelt, wurde jedoch nicht weiter untersucht. Des Weiteren enthielt die Pufferlösung weder eine Protein- noch Kohlenhydratquelle, sodass die in der Kotsuspension vorhandenen Bakterien nur das jeweils zugesetzte Substrat als Kohlenhydratquelle nutzen konnten.

Um die in der vorliegenden Studie erzielten Ergebnisse einordnen zu können, wurden eine Positiv- und eine Negativkontrolle analysiert. Als Positivkontrolle wurde der Kotsuspension Glukose als Substrat hinzugefügt. Die Negativkontrolle bildete dabei die Inkubation der Kotsuspension ohne Substratzusatz. Die Ergebnisse der einzelnen Parameter dieser Negativkontrolle wurden nicht von den erzielten Ergebnissen der Substrate subtrahiert,

sondern deren Werte als Kontrolle erfasst. Es ist anzunehmen, dass die Bakterien der Kotsuspensionen die bis dahin unverdauten Bestandteile im Kot noch fermentieren konnten.

Die Ergebnisse der Kurzzeitinkubationen belegten die grundsätzliche Fermentation von Mangoschalen durch die Mikrobiota vom Schwein, mit einer entsprechenden Veränderung des Fermentationsmusters.

### **Semikontinuierliche Langzeitinkubationen**

Das System der Langzeitinkubation wurde in Anlehnung an das RUSITEC-System (Rumen-Simulations-Technik, Czerkawski & Breckenridge (1977)) von Dreyer (1990) für die Simulation des mikrobiellen Stoffwechsels im Dickdarm von Schweinen modifiziert. Das semikontinuierliche System ermöglichte, die entstehenden Fermentationsprodukte über einen längeren Zeitraum zu analysieren. Aufgrund der gerätebedingten Anzahl an Fermentern konnte zeitgleich nur der Einfluss von zwei verschiedenen Substraten (als Doppelansatz) gegenüber einer Kontrolle untersucht werden. Um einen Einfluss der Fermenter ausschließen zu können, wurden die Substrate jeweils in den aufeinander folgenden drei Versuchsphasen den Fermentern randomisiert zugeordnet.

Das Redoxpotential betrug in den semikontinuierlichen Langzeitinkubationen im Mittel über die gesamte Versuchsphase  $-275 \pm 20,9$  mV, sodass das Vorliegen eines anaeroben Milieus in den Fermentern als gegeben betrachtet werden kann (von Engelhardt & Breves 2005).

Die Ergebnisse der Langzeitinkubationen ermöglichten, den Einfluss von Mangoschalen auf die Mikrobiota und deren Fermentationsprodukte mit einer entsprechenden Veränderung des Fermentationsmusters über einen längeren Zeitraum zu analysieren.

### **5.2.2 Diskussion der Ergebnisse der Inkubationsmethoden**

Die Zugabe der Substrate führte in den Kurzzeitinkubationen zu einer abgesicherten Absenkung des pH-Werts gegenüber der Kontrolle ( $p < 0,001$ ). Die pH-Wert-Senkung erfolgte dabei analog zum Anstieg kurzkettiger Fettsäuren und Laktat. Die stärkste pH-Wert-Senkung erfolgte bei Zugabe von Glukose (pH 6,02). Glukose wird von den meisten Darmbakterien leicht fermentiert. Daher ist anzunehmen, dass bei Zugabe von Glukose sowohl die Entstehung kurzkettiger Fettsäuren als auch die Bildung des Laktats zum starken Abfall des pH-Werts führten. Vor allem die höhere Säurestärke der Milchsäure mit einem  $pK_S$ -Wert von 3,73 im Vergleich zu Essig- ( $pK_S$ -Wert 4,76), Propion- ( $pK_S$ -Wert 4,87) und Buttersäure ( $pK_S$ -Wert 4,82) (Leijdekkers *et al.* 2014) sollte hierbei als möglicher Grund für die stärkere pH-Wert-Senkung betrachtet werden.

Die Inkubation der beiden Pektine führte ebenfalls zu einer Senkung des pH-Werts sowie zu einem abgesicherten Anstieg von Essig- und Propionsäure im Vergleich zur Kontrolle. Eine

höhere Konzentration kurzkettiger Fettsäuren, vorwiegend der Essigsäure, konnte bereits in zahlreichen Studien durch *in vitro*-Fermentation von Pektinen belegt werden (Englyst *et al.* 1987; Marounek *et al.* 2000; Dongowski *et al.* 2002; Poulsen *et al.* 2012; Geerkens *et al.* 2013). Bei der *in vitro*-Fermentation mit Faecesproben von Schweinen und der Zugabe von Zuckerrübenschnitzeln, einem pektinhaltigen Nebenprodukt der Zuckergewinnung (Michel *et al.* 1985; Phatak *et al.* 1988), konnte ebenfalls eine Erhöhung des Gehalts kurzkettiger Fettsäuren ermittelt werden (Wang *et al.* 2004).

Bei der Inkubation von Mangoschalen über 24 Stunden zeigte sich die pH-Wert-Senkung vergleichbar mit der des Apfelpektins, jedoch zeichneten sich Unterschiede in der Konzentration der bakteriellen Metaboliten ab. So wurde bei der Zugabe von Mangoschalen eine geringere Konzentration kurzkettiger Fettsäuren im Vergleich zum Apfelpektin festgestellt, allerdings wurden deutlich höhere Laktatgehalte gemessen. Das liegt vermutlich am in Mangoschalen enthaltenen Restzucker, der durch nicht vollständiges Ablösen des Fruchtfleischs beim Schälen und Trocknen entstand. In einer Studie von Geerkens *et al.* (2013) wurde bei getrockneten Mangoschalen ein Zuckergehalt von 37,8 % der TS, ermittelt als Saccharoseäquivalente, nachgewiesen.

Betrachtet man die Konzentration verzweigt-kettiger Fettsäuren in den Kurzzeitinkubationen, wird deutlich, dass sich zwischen den Gruppen keine Unterschiede zeigten und die ermittelten Konzentrationen gering sind. Verzweigt-kettige Fettsäuren wie iso-Butter- und iso-Valeriansäure resultieren aus der mikrobiellen Fermentation von verzweigt-kettigen Aminosäuren (Macfarlane *et al.* 1986; Mortensen & Clausen 1996). Die geringe Konzentration in den vorliegenden Kurzzeitinkubationen deutet darauf hin, dass aufgrund der fehlenden Proteinquelle im Puffer dieser Proteinabbau nur im geringen Maße erfolgen konnte.

Vergleicht man die in den Kurzzeitinkubationen erzielten Ammoniumgehalte in den Gruppen, zeigt sich durch die Zugabe von Glukose, Apfel- oder Mangopektin eine deutlich geringere Konzentration im Vergleich zur Kontrolle. Eine Begründung dafür könnte, zusätzlich zur vorhandenen Energie durch den Abbau der Kohlenhydrate, die Nutzung des Ammoniums als Stickstoffquelle für die mikrobielle Proteinsynthese sein. Nach Okorie *et al.* (1977) sollte für eine maximale Proteinsyntheserate der Bakterien Ammonium in einem Mindestgehalt von 5 mmol/l vorliegen. Vergleicht man die erzielten Konzentrationen beider Inkubationsmethoden (Kurzzeitinkubation: 4,67-7,20 mmol/l; Langzeitinkubation: 7,17-7,87 mmol/l), können diese für die Mikrobenproteinsynthese als ausreichend betrachtet werden.

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Langzeitinkubationen erzielte die Zugabe von Mangoschalen oder Apfelpektin eine Veränderung des Fermentationsmusters. Eine pH-Wert-Senkung durch die Zugabe von Apfelpektin dürfte sich hierbei erneut durch die erhöhte

Konzentration der Essigsäure erklären lassen. Im Gegensatz zur Kurzzeitinkubation zeigte sich bei einer längeren Inkubationsdauer eine höhere Konzentration verzweigtkettiger Fettsäuren. Der Gehalt der verzweigtkettigen Fettsäuren betrug im Mittel über beide Substrate  $2,85 \pm 0,94$  mmol/l mit zunehmendem Anstieg im zeitlichen Verlauf der Inkubation (Beginn Versuchsphase  $1,89 \pm 0,58$  mmol/l; Ende Versuchsphase  $3,48 \pm 0,69$  mmol/l). Dies kann vermutlich auf eine im Zeitverlauf zunehmende proteolytische Aktivität in einem geschlossenen System und den damit verbundenen Abbau des mikrobiellen Proteins zurückgeführt werden (Macfarlane & Macfarlane 2003; Bauer *et al.* 2010).

Die Laktatgehalte der Proben aus den Langzeitinkubationen lagen im Gegensatz zu den Kurzzeitinkubationen unterhalb der Nachweisgrenze. Ob dies durch eine weitere Fermentation des gebildeten Laktats durch laktatverwertende Bakterien oder durch einen geringeren Anteil an laktatproduzierenden Bakterien bedingt wurde, konnte aufgrund der fehlenden Bestimmung der Zusammensetzung der Mikrobiota nicht näher untersucht werden.

In den Langzeitinkubationen erzeugte die Zugabe von Mangoschalen in die Fermenter kaum abgesicherte Veränderungen des Fermentationsmusters. Im Vergleich zum Apfelpektin ( $p = 0,002$ ) und zur Kontrolle ( $p = 0,079$ ) wurde ein höherer Gehalt an Buttersäure festgestellt. Darüber hinaus konnte ein höherer Gehalt an Valeriansäure im Vergleich zur Substratquelle Apfelpektin ( $p = 0,002$ ) belegt werden. Das gesamte System zeigte sich über die Versuchsdauer von 41 Tagen stabil, so dass die Fermentation von Mangoschalen über einen längeren Zeitraum nachgewiesen werden konnte. Larrauri *et al.* (1996a) wiesen nach, dass Mangoschalen in Caecuminhalt von Ratten fermentiert werden können. Darüber hinaus zeigten Geerkens *et al.* (2013), dass die Zugabe von Mangoschalen im Hohenheimer Futterwerttest (HFT) zu einer signifikant erhöhten Gasproduktion führte und dabei die Konzentration des Methans und der kurzkettigen Fettsäuren gesteigert wurde. Den Autoren zufolge können Mangoschalen aufgrund der analysierten chemischen Zusammensetzung, der *in vitro*-Verdaulichkeit sowie dem fördernden Effekt der Bildung kurzkettiger Fettsäuren als potentiell Einzel Futtermittel für Rinder betrachtet werden.

Die Ergebnisse beider Inkubationsmethoden zeigen, dass anhand der untersuchten Parameter ein Einfluss des Substrats auf die mikrobielle Fermentation ermittelt wurde. Demzufolge war es den im Inokulum enthaltenen Bakterien möglich, die hinzugefügten Substrate zu fermentieren und entsprechend messbare Metaboliten zu bilden.

### **5.2.3 Kritik der Methode der Infektionsversuche mit der Zelllinie IPEC-J2**

Ein weiterer Teil der vorliegenden Arbeit umfasste die Untersuchung möglicher antiadhäsiver Effekte verschiedener Pflanzenextrakte zum Schutz intestinaler Epithelzellen vor einer

Infektion mit *E. coli* Bakterien. Der Nachweis erfolgte anhand der Fluoreszenzsignalstärke der Epithelzellen mittels einer durchflusszytometrischen Methode. Die dabei untersuchte permanente Zelllinie IPEC-J2 (*Intestinal Porcine Epithelial Cells - Jejunal 2*) ist eine nicht-transformierte jejunale Epithelzelllinie neugeborener, nicht gesäugter Ferkel (Berschneider 1989).

Diese Zelllinie wurde bereits in mehreren Studien eingesetzt, um mögliche Interaktionen verschiedener pathogener Erreger mit porcinen Epithelzellen nachweisen zu können (Schierack *et al.* 2006; Skjolaas *et al.* 2006; Schmidt *et al.* 2008). Der in der vorliegenden Studie für die Infektion eingesetzte Bakterienstamm *E. coli* Abbotstown ist ein enterotoxischer *E. coli* Stamm (O149:K91:K88ac). Untersuchungen nach dieser Methode wurden im Institut für Tierernährung der Freien Universität Berlin bereits etabliert (Spitzer *et al.* 2015). Zu *E. coli* assoziierten Durchfallerkrankungen bei Saug- und Absetzferkeln führen häufig Stämme mit F4 (K88) oder F18 Adhäsinen (Grange *et al.* 2002; Fairbrother *et al.* 2005; Heo *et al.* 2013). Durch den Einsatz dieses Bakterienstamms in Kombination mit porcinen Epithelzellen wurden daher potentiell protektive Eigenschaften der pflanzlichen Extrakte gegenüber pathogenen Durchfallerregern untersucht.

Um die Adhäsion der Bakterien an Epithelzellen durchflusszytometrisch zu ermitteln, müssen die Bakterien zuvor mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert werden, welcher anschließend detektiert werden kann. Der gemessene Anstieg der Fluoreszenzintensität wurde demzufolge durch die Adhäsion der Bakterien an die Epithelzellen verursacht. Dieser Zusammenhang wird durch die Studie von Logan *et al.* (1998) bestätigt, in der zusätzlich fluoreszenzmikroskopische Methoden durchgeführt wurden. Dabei konnte eine hohe Korrelation ( $r = 0,8$ ) zwischen der Anzahl gebundener Bakterien pro Zelle und der im Mikroskop erfassten Daten ermittelt werden. Die Anzahl mit *E. coli* infizierten Zellen wurde daher in der vorliegenden Arbeit als Anzahl fluoreszierender IPEC-J2 Zellen definiert, Angaben über die genaue Zahl der gebundenen Bakterien pro Zelle konnten allerdings nicht gemacht werden, da zusätzlich die Durchführung einer fluoreszenzmikroskopischen Methode hätte erfolgen müssen. Darüber hinaus konnten keine detaillierten Angaben über qualitative Adhäsionsmechanismen gemacht werden, da anhand dieser Methode nur die Bildung eines messbaren Bakterien-Zell-Komplexes untersucht werden konnte.

Die Durchführung der Infektionsversuche erfolgte konsekutiv. Die Aktivität der *E. coli* und somit auch die Infektionsintensität unterschieden sich jedoch an den verschiedenen Tagen. Diese tagesabhängigen Schwankungen wurden bereits in anderen am Institut für Tierernährung durchgeführten Arbeiten ermittelt (Mader 2011; Krämer 2014; Spitzer *et al.* 2015). In der Studie von Logan *et al.* (1998), in der die Adhäsion von *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) an Epithelzellen durchflusszytometrisch bestimmt wurde, führte die

Inkubationsdauer von 90 Minuten zu einer ausreichenden Infektion der Zellen mit *H. pylori*. Ein Einfluss des Färbens mit dem Fluoreszenzfarbstoff CFDA-SE auf die Adhäsionskapazität von *H. pylori* konnte in der Studie ausgeschlossen werden. In der vorliegenden Studie wurden daher tagesabhängige Schwankungen der Infektionsintensität für die Auswertung berücksichtigt, indem die Anzahl infizierter Zellen zusätzlich als relativer Anteil der Positivkontrolle berechnet wurde.

Aufgrund der hohen Viskosität des Apfelpektins konnte eine 1 %ige Lösung nicht steril filtriert werden. Da steriles Arbeiten jedoch Voraussetzung für Versuche mit einer Zellkultur ist, wurde als erste Konzentration des Apfelpektins die 0,1 %ige Lösung untersucht. Im Gegensatz dazu konnte die 1 %ige Lösung des Mangopektins steril filtriert werden. Dies deutet darauf hin, dass physikalisch-chemische Unterschiede zwischen den Pektinen bestehen, welche die Löslichkeit und Viskosität entsprechend beeinflussen. Weiterführende Untersuchungen der physikalisch-chemischen Eigenschaften und der Struktur der Pektine wurden in der vorliegenden Arbeit jedoch nicht durchgeführt.

### **5.2.4 Diskussion der Ergebnisse der Infektionsversuche mit der Zelllinie IPEC-J2**

Die Ergebnisse der Infektionsversuche mit der IPEC-J2 Zelllinie zeigen zum Teil abgesicherte Effekte der verschiedenen pflanzlichen Substanzen. Vergleicht man die 0,1 %ige Konzentration, in der alle pflanzlichen Extrakte untersucht wurden, konnte bei der Zugabe des Apfelpektins numerisch die stärkste Reduktion der Anzahl infizierter Zellen (13 %) erzielt werden.

Beim Vergleich der Konzentrationen, unabhängig vom jeweiligen pflanzlichen Extrakt, wird keine lineare Konzentrationsabhängigkeit deutlich, obwohl jeweils die höchste Konzentration des Pflanzenextrakts die stärkste Reduktion der Infektion erzielte. Des Weiteren bestand keine Korrelation zwischen der untersuchten Konzentration und der Anzahl infizierter Zellen sowie der mittleren Fluoreszenzintensität.

Die Inkubation der Zellen mit Mangopektin in der 1 %igen Konzentration erzeugte eine abgesicherte Reduktion der Anzahl mit *E. coli* infizierten IPEC-J2 Zellen ( $p = 0,029$ ). Dabei wurde die Infektion im Vergleich zur Positivkontrolle um 56,1 % gesenkt. Da man nach 90 Minuten von einer ausreichenden Infektion der Zellen (Logan *et al.* 1998) mit *E. coli* Bakterien ausgehen kann, deuten die geringeren Werte der mittleren Fluoreszenzintensität darauf hin, dass die Bakterien an das Mangopektin gebunden und ausgewaschen wurden. Eine mögliche Erklärung hierfür stellt das Wirkprinzip im Sinne eines Rezeptoranalogs dar. Hintergrund ist, dass pathogene Bakterien über die Ausbildung lektinartiger Oberflächenstrukturen in Form von Fimbrien an die Rezeptoren der Epithelzellen binden (Neeser *et al.* 1986; Sharon 1987; Karlsson 1995; Araneo *et al.* 1996). Dabei erfolgt bei

*E. coli* die Bindung über Typ1-Fimbrien an mannose- und galaktosehaltige Rezeptoren (Ofek *et al.* 1977; Neeser *et al.* 1986; Kukkonen *et al.* 1993). Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit pflanzlicher Oligosaccharide mit den Rezeptoren der Zellen könnte dies zu einer verminderten Adhäsion der Bakterien oder deren Toxine an die Zellen führen (Neeser *et al.* 1986; Sharon 1987; Olano-Martin *et al.* 2003; Shoaf *et al.* 2006), indem diese vermehrt an das Rezeptoranalogen binden.

Eine genaue Erklärung über die qualitativen Adhäsionsmechanismen kann jedoch, wie bereits in Absatz 5.2.3 erwähnt, anhand der durchflusszytometrischen Bestimmung nicht gegeben werden. Ob es sich bei dem Wirkmechanismus, vor allem der Pektine, eventuell auch um die Ausbildung eines Gels als eine Art Schutzschicht gegenüber der Adhäsion der Bakterien handeln könnte, bleibt unklar. In der Studie von Schmidgall & Hensel (2002) wurden dazu verschiedene Komponenten auf ihre adhäsiven Eigenschaften hin untersucht. Die Studie untersuchte die Eigenschaften der Adhäsion im Zusammenhang als mögliche Behandlung von Erkrankungen des GITs durch das Ausbilden einer künstlichen Mukusschicht auf Colonepithelzellen. Eine Pektinkomponente aus Zuckerrübenschnitzeln sowie die Polygalakturonsäure zeigten dabei starke adhäsive Eigenschaften. Beiden Komponenten gemein war dabei der überwiegend lineare Anteil der Galakturonsäurekette (Homogalacturonanteil).

Die Ergebnisse der Infektionsversuche mit der IPEC-J2 Zelllinie zeigten zum Teil protektive Effekte der getesteten Substanzen gegenüber einer Infektion mit *E. coli* Bakterien. Vor allem aber die Inkubation der Zellen mit Mangopektin erzeugte eine abgesicherte Reduktion der Anzahl mit *E. coli* infizierten IPEC-J2 Zellen.

## 5.3 Fütterungsversuch

### 5.3.1 Kritik der Versuchsbedingungen

Die gesamte Fütterungsstudie erfolgte konsekutiv in einem Versuchsstall des Instituts für Tierernährung der Freien Universität Berlin. Im Versuchsstall waren insgesamt 28 identisch ausgestattete Boxen vorhanden. Aufgrund der Stallgegebenheiten und der fünf Futtergruppen wurden sowohl der Fütterungsversuch zur Analyse intestinaler Parameter als auch die Studie zur Erhebung der Leistungsdaten jeweils in zwei Durchgänge aufgeteilt. Der Fütterungsversuch zur Analyse intestinaler Parameter wurde mit 50 Ferkeln von insgesamt elf Sauen aus institutseigener Zucht durchgeführt. Für die Erhebung der Leistungsdaten erfolgte der Fütterungsversuch mit zugekauften Ferkeln eines regionalen Ferkelerzeugers. Die Tiere der gesamten Fütterungsstudie wurden im Alter von  $24 \pm 1$  Tag abgesetzt.

Die Tiere der beiden Durchgänge des Fütterungsversuchs zur Leistungsdatenerhebung wurden direkt nach dem Absetzen vom Erzeugerbetrieb in den Versuchsstall transportiert und eingestallt. Im Anschluss an die sechswöchige Fütterungsphase wurden diese Tiere an einen Mastbetrieb verkauft.

In der gesamten Fütterungsstudie wurde versucht, externe Einflüsse, wie zum Beispiel äußere klimatische Bedingungen, möglichst gering zu halten. Dennoch sollte der mögliche Einfluss der mehrfachen Versuchsdurchgänge und der unterschiedlichen genetischen Abstammung der Tiere bei der Diskussion der Ergebnisse berücksichtigt werden. Aufgrund der Stallgegebenheiten konnte die Durchführung eines gesamten Versuchsdurchgangs mit einer Gesamtzahl von 150 Tieren nicht erfolgen. Des Weiteren konnte eine statistische Betrachtung der einzelnen Durchgänge aufgrund der jeweils zu geringen Anzahl an Tieren pro Durchgang nicht durchgeführt werden. Es erfolgte daher eine zusammenfassende Betrachtung der Ergebnisse der Analyse der intestinalen Parameter beider Durchgänge zur Erhöhung der Anzahl gültiger Fälle (fünf pro Futtergruppe). Die Daten zur Erhebung der Leistungsparameter basieren auf zwei weiteren Durchgängen mit insgesamt zehn Replikaten pro Gruppe, die ebenfalls zusammen betrachtet wurden.

Zu keinem Zeitpunkt der Fütterungsstudie gab es bei den Ferkeln Gesundheitsbeeinträchtigungen in Form von Durchfallgeschehen, Atemwegserkrankungen oder Mangelerscheinungen.

### **5.3.2 Diskussion der Leistungsdaten**

Betrachtet man die Daten der Lebendmassezunahmen der vorliegenden Fütterungsstudie, zeigen sich über den gesamten Versuchszeitraum keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Versuchsdiäten. In den ersten beiden Versuchswochen erzielte die Gruppe mit zweiprozentiger Zulage des Apfelpektins in der Diät tendenziell höhere Werte bei den Lebendmassezunahmen. Dies konnte jedoch zu Versuchsende sowie bei der Betrachtung des gesamten Versuchszeitraums nicht mehr belegt werden.

Vergleicht man die Ergebnisse der Leistungsparameter mit durchschnittlichen Lebendmasseentwicklungsdaten nach Kirchgeßner (2014), zeigt sich eine verminderte Leistung der Tiere in der ersten Versuchswoche. Die geringere Futteraufnahme und Lebendmassezunahmen in den ersten Tagen deuten darauf hin, dass sich der durch das Absetzen und den Transport bedingte Stress negativ auf die Leistungsparameter ausgewirkt hatte (Le Dividich & Sève 2000). Die geringere Lebendmassezunahme der ersten Woche konnte in der vorliegenden Studie jedoch im Verlauf der sechswöchigen Versuchsphase von den Tieren kompensiert werden.

Bei der Betrachtung des Leistungsparameters Futteraufwand wurden bei der wöchentlichen Erfassung große Schwankungen ermittelt, diese sind vermutlich auf die Ungenauigkeit bei der Erfassung der Futterraufnahme und Futterverluste sowie der Lebendmasseentwicklung zurückzuführen.

Des Weiteren sollten beim Vergleich der erzielten Werte der Lebendmassezunahme der Futtergruppen berücksichtigt werden, dass die hohe Wasserbindungskapazität der Pektine zu einer Hypertrophie des GITs führen kann. Die Studie von Jørgensen *et al.* (1996) zeigte bei einer Diät mit hohem Nahrungsfasergehalt (268 g/kg TS), dass das relative Gewicht von Magen, Caecum, Colon und die Länge des Colons signifikant erhöht war. Die Autoren belegten, dass der Füllungsgrad des GIT einen entscheidenden Teil des Lebendgewichts ausmachen kann und von der Versuchsdiät abhängig ist. In einer Studie von Pirman *et al.* (2007) konnte durch eine Zulage von 8 % Citruspektin in die Versuchsdiät der Ratten eine deutliche Erhöhung der relativen Organgewichte - vor allem des Dünndarms sowie des Caecums - ermittelt werden ( $p < 0,0001$ ). Den Autoren zufolge kann durch Zulage von Pektinen in die Versuchsdiät im Darm ein viskoses Gel entstehen, welches durch den erhöhten Transportaufwand entlang des GITs zu einer möglichen Hypertrophie führen kann. Dieser Zusammenhang konnte bereits in weiteren Studien mit Ratten belegt werden (Ikegami *et al.* 1990; Pastuszewska *et al.* 2000). In der vorliegenden Fütterungsstudie erfolgte bei den Tieren jedoch keine Erfassung des Schlachtkörpergewichts und der Schlachtkörperzusammensetzung, sodass eine mögliche Hypertrophie des GITs nicht untersucht werden konnte.

Der Einfluss der Dosierung von Mangoschalen oder Apfelpektin auf die mögliche Veränderung der Leistungsparameter sollte ebenfalls diskutiert werden. Da keine Gruppenunterschiede ermittelt werden konnten, deuten die Befunde darauf hin, dass die gewählten Dosierungsstufen mit ein und zwei Prozent eventuell zu gering gewählt wurden oder dass die geprüften Substanzen keine entsprechende Wirkung haben. Vergleicht man die Befunde mit Ergebnissen anderer Studien, in denen höhere Dosierungen von Pektinen eingesetzt wurden, zeigten diese ebenfalls keine abgesicherte Veränderung der Futterraufnahme oder Gewichtszunahme bei Schweinen oder Ratten. Bei Ratten konnten Dongowski *et al.* (2002) bei einer Zulage von 6,5 % Citruspektin keine Gruppenunterschiede in den Leistungsdaten ermitteln. Auch in der Studie von Buraczewska *et al.* (2007) wurde kein Effekt auf die Leistung von Schweinen bei einer Zulage von vier oder acht Prozent Apfelpektin ermittelt. Weitere Studien, in welcher der Einfluss von pektinreichen Produkten wie Zuckerrübenschnitzeln auf Leistungsparameter von Schweinen untersucht wurden, erzielten bei Zulagen von 15 % Zuckerrübenschnitzel ebenfalls keine Auswirkungen auf Futterraufnahme, Gewichtszunahme oder den Futteraufwand (Longland *et al.* 1994; Hansen *et al.* 2006).

Lösliche NSPs können sich jedoch auch negativ auf die Lebendmasseentwicklung von Schweinen auswirken. So konnte in einer Studie von McDonald *et al.* (1999) bei einer Zulage von 10 % Guar in die Versuchsdät von Absetzferkeln eine deutliche Reduktion der täglichen Lebendmassezunahmen ( $p < 0,05$ ) im Vergleich zur Kontrolle ermittelt werden. Diese negativen Effekte der NSPs können durch Reduktion der Passagerate, der Energie- und Proteinverdaulichkeit sowie der Futterraufnahme entstehen (Owusu-Asiedu *et al.* 2006).

In der vorliegenden Studie konnten jedoch keine negativen Effekte der Zulage von Mangoschalen oder Apfelpektin in einer Versuchsdät von Absetzferkeln auf die untersuchten Leistungsparameter ermittelt werden, sodass im gewählten Dosierungsrahmen von einer guten Verträglichkeit auszugehen ist. Andererseits ergaben sich auch keine Hinweise auf positive Effekte auf die Tiergesundheit, da der gesundheitliche Status der Tiere in der gesamten Studie unbeeinträchtigt war.

### **5.3.3 Diskussion der Ergebnisse der verdauungsphysiologischen Untersuchungen**

Ein fütterungsbedingter Einfluss der getesteten pflanzlichen Substanzen auf die pH-Werte entlang des GITs konnte in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden. Die gemessenen pH-Werte zeigten sich vergleichbar mit denen in der Studie von Jensen & Jørgensen (1994) ermittelten Daten, bei welcher eine Zulage von 2,5 % Pektinen in der Diät von wachsenden Schweinen untersucht wurde. Des Weiteren untersuchten Zacharias *et al.* (2004) in einer Studie den Einfluss einer Zulage von fünf und zehn Prozent Apfelpektin auf verschiedene Fermentationsparameter bei Absetzferkeln. Die Autoren belegten dabei einen pH-Wert der Faeces in der Kontrollgruppe von 6,7 und in den beiden Versuchsgruppen mit Apfelpektin einen deutlich höheren pH-Wert von 7,2 ( $p < 0,05$ ). Im Gegensatz dazu konnte in der vorliegenden Studie die Zulage von Mangoschalen bzw. Apfelpektin in den Versuchsgruppen keinen Effekt auf die pH-Werte der untersuchten Abschnitte des GITs erzielen.

Des Weiteren konnte ein fütterungsbedingter Einfluss von Mangoschalen bzw. Apfelpektin auf die TS der Digesta in der vorliegenden Studie nicht belegt werden. Die TS-Gehalte der Digestaprobe des Ileums variierten von 11,4-14,9 %. In der Studie von Mair *et al.* (2010), in der unter anderem der Einfluss von Inulin auf die Leistung und Mikrobiota von Absetzferkeln untersucht wurde, konnten mit 11,2-12,2 % TS im Ileum vergleichbare Daten ermittelt werden. Die in der vorliegenden Studie erzielten TS-Gehalte der Digestaprobe des Rectums waren im Vergleich zu anderen Studien tendenziell etwas geringer. So zeigten Studien, in denen der Einfluss von Pektinen unter anderem auf den TS-Gehalt der Faeces untersucht wurde, in den Kontrollgruppen ein TS-Gehalt der Faeces von 30-32,8 % (den Hartog *et al.* 1988; Potkins *et al.* 1991; Zacharias *et al.* 2004; Hansen *et al.* 2007). In der

Studie von Gärtner (2011) hingegen wurde in Digestaprobe der Kontrollgruppe aus dem Rectum ein mit den Daten der vorliegenden Studie vergleichbarer TS-Gehalt von 23,1 % ermittelt. Die in der vorliegenden Studie erzielten Ergebnisse deuten darauf hin, dass die festgelegten Dosierungen (ein und zwei Prozent) zu gering waren, um Auswirkungen auf den TS-Gehalt der Digesta zu haben. Weitere Studien, in denen bei Schweinen ein Zusatz von 1-5 % Pektinen in den Versuchsdiäten untersucht wurde, zeigten gegenüber der Kontrollgruppe keinen Unterschied beim Vergleich der TS der Faeces (den Hartog *et al.* 1988; Potkins *et al.* 1991). Zumeist konnten Studien reduzierende Effekte auf den TS-Gehalt der Faeces bei Dosierungen von 5-15 % Pektin in der Diät von Schweinen, Hunden und Ratten belegen (Zentek 1996; Pastuszewska *et al.* 2000; Zacharias *et al.* 2004; Hansen *et al.* 2007). Bei Studien mit Geflügel zeigten sich bereits bei Dosierungen von 2-6 % deutlich reduzierende Effekte auf die TS der Exkreme (Drochner *et al.* 1990; Langhout *et al.* 1999).

Darüber hinaus konnte in der vorliegenden Studie kein fütterungsbedingter Einfluss auf die Gesamtverdaulichkeit von Rohprotein oder Rohfett ermittelt werden. Im Gegensatz dazu beschrieben Mosenthin *et al.* (1994) in einer Studie bei Schweinen durch Zulage von 7,5 % Citruspektin in die Versuchsdiät, eine deutliche Minderung der scheinbaren praecaecalen und faecalen Rohprotein- und Aminosäureverdaulichkeit ( $p < 0,05$ ). Bei der Betrachtung der praecaecalen Verdaulichkeit des Rohfetts zeigt sich in der vorliegenden Studie ein Unterschied zwischen der Versuchsgruppe C im Vergleich zur Gruppe D ( $p = 0,004$ ). Im Vergleich zur Kontrollgruppe führte dabei die Zulage von 2 % Mangoschalen zu einer numerischen Erhöhung der praecaecalen Verdaulichkeit des Rohfetts ( $p = 0,358$ ), die einprozentige Zulage des Apfelpektins hingegen zu numerisch verringerten Werten ( $p = 0,293$ ). Dieser Effekt könnte möglicherweise durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Pektine erklärt werden. Durch die hohe Kationenaustauschkapazität von Pektinen (McBurney *et al.* 1983; Campos-Vega & Oomah 2013) besitzen diese die Fähigkeit, Gallensäuren zu binden, welche für die Entstehung von Mizellen und daher für die Fettverdaulichkeit essentiell sind (Drochner *et al.* 2004).

### **5.3.4 Diskussion der Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen**

In der vorliegenden Arbeit wurden die gebildeten Stoffwechselmetaboliten der Mikrobiota und das entstehende Fermentationsmuster als Hinweis für mögliche Effekte der Futtermittellvarianten untersucht. Die mikrobiologischen Parameter umfassten den Gehalt kurzkettiger Fettsäuren, Laktat und Ammonium sowie der biogenen Amine und phenolischer und indolischer Verbindungen in der Digesta. Zusätzlich erfolgte der Nachweis der metabolischen Aktivität der Mikrobiota in Faecesproben sowie die Quantifizierung bakterieller Gruppen in vier Abschnitten des GITs mittels molekularbiologischer Untersuchungen.

Der Dickdarm ist der Bereich des GITs, in welchem der Großteil der mikrobiellen Fermentation stattfindet (Piva *et al.* 2006). Eine mikrobielle Besiedlung der proximalen Abschnitte des GITs und der daraus resultierende Nachweis bakterieller Metaboliten bei Schweinen wurde bereits in zahlreichen Studien belegt (Nyachoti *et al.* 2006; Pieper *et al.* 2008; Mair *et al.* 2010; Zentek *et al.* 2013; Pieper *et al.* 2014). In der vorliegenden Arbeit wurden daher jeweils die gebildeten bakteriellen Metaboliten der Abschnitte Magen, Jejunum, Caecum, Colon ascendens sowie Colon descendens ermittelt.

### **Ergebnisse der Bestimmung kurzkettiger Fettsäuren und der Laktatkonzentration**

Die kurzkettigen Fettsäuren Essig-, Propion- und Buttersäure zählen neben anderen Metaboliten zu den Endprodukten des anaeroben Stoffwechsels von Kohlenhydraten der Mikrobiota. Durch die Bildung kurzkettiger Fettsäuren im Colon kann eine Senkung des pH-Werts im Darmlumen erfolgen (Louis *et al.* 2007). Die pH-Wert-Senkung kann zur Verringerung des Wachstums unerwünschter Bakterien führen (Prohászka *et al.* 1990) und dadurch die endogene Mikrobiota in ihrer Kolonisationsresistenz (van der Waaij *et al.* 1971) unterstützen. Zur charakteristischen Fermentation von Pektinen zählt die geringfügige Bildung von Laktat (Strobel & Russell 1986; van Soest *et al.* 1991) sowie eine bevorzugte Produktion kurzkettiger Fettsäuren, vorwiegend der Essigsäure. (Englyst *et al.* 1987; Berggren *et al.* 1993; Piattoni *et al.* 1997; Marounek *et al.* 2000; Henningsson *et al.* 2002; Hansen *et al.* 2007; Pirman *et al.* 2007).

Ein fütterungsbedingter Einfluss auf die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren konnte in der vorliegenden Studie in keinem der Abschnitte des GITs ermittelt werden. Die in den verschiedenen Abschnitten erzielten Konzentrationen kurzkettiger Fettsäuren zeigten sich jedoch vergleichbar mit in der Studie von Pieper *et al.* (2014) gemessenen Werten. Dabei wurde in der genannten Studie die Interaktion zwischen dem Proteingehalt der Diät und einer fermentierbaren Kohlenhydratquelle bei Absetzferkeln untersucht. In der Studie wurde die Zulage von 12 % Zuckerrübenschnitzeln und deren Einfluss auf die mikrobiologischen Parameter entlang des GITs ermittelt.

In der vorliegenden Studie zeigten sich im Jejunum in allen Versuchsgruppen numerisch deutlich höhere Gehalte an Essigsäure im Vergleich zur Kontrollgruppe. Dies lässt sich aber aufgrund hoher tierindividueller Schwankungen nicht statistisch belegen. In Chymusproben des Magens zeigte sich kein eindeutiger Effekt der Diäten auf die Konzentration kurzkettiger Fettsäuren. Betrachtet man die Werte in den Versuchsgruppen mit einprozentiger Dosierung von Mangoschalen bzw. Apfelpektin, so zeigen diese jedoch numerisch einen höheren Gehalt an Essigsäure und der Gesamtkonzentration kurzkettiger Fettsäuren im Vergleich zur Kontrolle. Dies zeichnet sich jedoch nicht in den Versuchsgruppen mit zweiprozentiger Dosierung von Mangoschalen bzw. Apfelpektin ab. In diesen Proben wurden geringere

Werte sowohl der Essigsäure als auch der Gesamtkonzentration kurzkettiger Fettsäuren im Vergleich zu allen anderen Versuchsdiäten erzielt. Ob dies durch eine Verlängerung der Retentionszeit im Magen-Dünndarmbereich bei Pektinzulage erklärt werden kann, bleibt aufgrund der in der vorliegenden Studie nicht erfolgten Bestimmung der Retentionszeiten im GIT unklar. In den Studien von Drochner (1984) und Potkins *et al.* (1991) konnten bei Schweinen durch Zulagen von 1-5 % Pektin eine Verlängerung der Magenentleerungszeit sowie der Transitzeit bis zum terminalen Ileum ermittelt werden.

Betrachtet man des Weiteren die Konzentrationen der Essigsäure, zeigt sich in den Abschnitten Caecum und Colon ascendens numerisch eine höhere Konzentration in den Versuchsgruppen C und E. Ein möglicher Grund für nicht vorhandene Gruppenunterschiede im Dickdarmbereich könnten die gewählte Dosierungen von Mangoschalen und Apfelpektin darstellen. In der Studie von Hansen *et al.* (2007) wurde in Faeces von Schweinen bei einer Zulage von jeweils 15 % Zuckerrübenschnitzeln ein abgesicherter Anstieg der Gesamtkonzentration kurzkettiger Fettsäuren ( $p = 0,006$ ) sowie der Essigsäure ( $p = 0,001$ ) belegt. Des Weiteren konnte in der Studie von Zacharias *et al.* (2004) bei einer Apfelpektinzulage von 5 % eine Erhöhung der Essigsäurekonzentration im Caecum ( $p < 0,05$ ) nachgewiesen werden.

Ein weiteres Zwischenprodukt der Fermentation von Kohlenhydraten ist Laktat, das durch zahlreiche Bakterien des GITs weiter verstoffwechselt werden kann (Macfarlane & Macfarlane 2003). Allgemein bekannt ist, dass im Pansen und im GIT von Schweinen Spezies der Gattungen *Megasphaera*, *Selenomonas* und *Veillonella* Laktat verwerten und größtenteils in Essigsäure, Propionsäure und im Fall von *Megasphaera* in Buttersäure umwandeln können (Duncan *et al.* 2004). Ferner konnte im Zusammenhang mit der Laktatkonzentration im GIT in Studien eine gewisse pH-Wert Abhängigkeit nachgewiesen werden. In einer Studie belegten Belenguer *et al.* (2007), dass Laktat bei einem pH-Wert von 5,2 akkumuliert, da die Laktatbildung aufrechterhalten wird, aber dessen Verwertung durch Bakterien deutlich reduziert wird.

Betrachtet man die in der vorliegenden Studie gemessenen Laktatgehalte der untersuchten Abschnitte des GIT, zeigte sich kein fütterungsbedingter Einfluss. Im Vergleich zur Kontrolle erreichte die Versuchsgruppe B im Magen chymus eine numerisch erhöhte Laktatkonzentration. In der Digesta von Caecum und Colon ascendens der Tiere der Versuchsgruppen B und D zeigten sich im Vergleich zu den Gruppe C und E numerisch höhere Laktatgehalte. Ob dies durch einen geringeren Anteil laktatverwertender Bakterien oder durch einen höheren Anteil laktatproduzierender Bakterien begründet werden kann, bleibt aufgrund der nicht erfolgten Analyse entsprechender bakterieller Gruppen der Mikrobiota sowie Bakterien der Gattungen *Megasphaera*, *Selenomonas* und *Veillonella* unklar.

### **Einfluss der Versuchsdiäten auf die Entstehung potentiell toxischer Metaboliten**

Proteine bzw. stickstoffhaltige Substanzen sind entlang des GITs stets verfügbar, entweder als unverdauter Futterbestandteil oder aus endogenen Quellen. Wenn Kohlenhydrate in Relation zum Bedarf unzureichend vorhanden sind, können auch Proteine von vielen Mikroorganismen als Energiequelle fermentiert werden (Williams *et al.* 2001). Zu den Stoffwechselprodukten der Fermentation von Proteinen zählen verzweigtkettige Fettsäuren, Ammonium und Verbindungen wie Phenole, Indole und Amine (Yokoyama *et al.* 1982; Russell *et al.* 1983; Williams *et al.* 2005).

Ammoniak zählt zu den Endprodukten des Abbaus von Proteinen und anderer Stickstoffverbindungen (Harnstoff) durch die Mikrobiota, kann aber für die Synthese mikrobiellen Proteins genutzt werden. Bei pH-Werten im physiologischen Bereich liegt Ammoniak vor allem als Ammonium vor ( $\text{NH}_4^+$ , pK-Wert = 9,25) (von Engelhardt & Breves 2005).

In der vorliegenden Studie zeigte sich bei Tieren der Versuchsgruppen C und E im Vergleich zur Kontrollgruppe der Ammoniumgehalt in Caecum und Colon ascendens numerisch reduziert. Eine möglicherweise erhöhte Syntheserate der Mikrobiota mit Nutzung des Ammoniums als Stickstoffquelle für die mikrobielle Proteinsynthese (Bryant & Robinson 1962) wurde in der vorliegenden Studie jedoch nicht untersucht. Darüber hinaus könnte die Reduktion des Ammoniumgehalts durch eine verringerte Bildung von Ammonium aufgrund einer verminderten proteolytischen Aktivität der Mikrobiota entstehen. Bei den Tieren der Versuchsgruppen C und E, die eine zweiprozentige Dosierung der Mangoschalen bzw. des Apfelppektins erhielten, könnte die verminderte proteolytische Aktivität in den vorderen Abschnitten des Dickdarms durch die noch ausreichende Versorgung der Bakterien mit fermentierbaren Kohlenhydraten begründet sein. In der Studie von Pieper *et al.* (2014) konnte durch eine multivariate Analyse des Fermentationsmusters belegt werden, dass im proximalen Abschnitt des Colons vor allem die vorhandenen Kohlenhydratquellen die Fermentationsbedingungen bestimmen. Im distalen Bereich des Colons hingegen ist für die gebildeten Fermentationsprodukte und das dadurch entstehende Fermentationsprofil der Anteil der proteolytischen Aktivität der Mikrobiota entscheidend.

Eine weitere mögliche Erklärung für die reduzierten Ammoniumgehalte in den Versuchsgruppen C und E könnte eine Verschiebung der Stickstoffexkretion sein, von der renalen Ausscheidung hin zu einer vermehrten Ausscheidung über die Faeces. Mosenthin *et al.* (1994) zeigten in einer Studie, dass Pektine als Energiequelle für die Mikroben im Dickdarm zu einem gesteigerten Eintrag des Stickstoffs in bakterielles Protein führen und dieses über die Faeces ausgeschieden wird. Die Verschiebung der Stickstoffexkretion hin zu einer vermehrten Ausscheidung über die Faeces konnte in weiteren Studien zur Wirkung von Pektinen oder pektinhaltigen Nebenprodukten bei Schweinen und Ratten belegt werden

(Shah *et al.* 1982; Canh *et al.* 1997; Pastuszewska *et al.* 2000; Zervas & Zijlstra 2002; Hansen *et al.* 2007). Diese Verschiebung könnte zu einer Reduktion der Ammoniakemissionen in der Schweineproduktion beitragen, da faecal ausgeschiedener Stickstoff weniger flüchtig ist als Stickstoff im Urin (Kreuzer *et al.* 1998; Nahm 2003). In der vorliegenden Studie wurden die Stickstoffgehalte im Urin jedoch nicht untersucht, sodass die mögliche Verschiebung der Stickstoffexkretion als Grund für die reduzierten Ammoniumgehalte in den Versuchsgruppen C und E nicht belegt werden kann.

Weitere Stoffwechselprodukte der Fermentation von Proteinen sind biogene Amine. Amine sind organische Basen mit einem niedrigen Molekulargewicht und einer aliphatischen (Putrescin, Cadaverin, Spermin, Spermidin), aromatischen (Tyramin, Phenylethylamin) oder heterozyklischen (Histamin, Tryptamin) Struktur. Sie werden im regulären Stoffwechsel von Tieren, Pflanzen und Mikroben gebildet und abgebaut (Ladero *et al.* 2010). Viele Bakterien des GITs decarboxylieren eine Vielzahl von Aminosäuren in biogene Amine, wie zum Beispiel Histidin in Histamin, Ornithin in Putrescin und Lysin in Cadaverin (Teti *et al.* 2002). Dabei erfolgt die Decarboxylierung von Ornithin zu Putrescin durch das Enzym Ornithindecarboxylase. Putrescin kann durch die Spermidinsynthese weiter zu Spermidin verstoffwechselt und dieses wiederum durch die Sperminsynthese zu Spermin umgewandelt werden (Pegg 1986). Für gewöhnlich werden Amine im Colon schnell absorbiert und entweder durch die Darmmukosa oder die Leber entgiftet (Gaskins 2001). Amine wie Spermidin, Spermin und Putrescin werden für das Wachstum und die Differenzierung von Zellen benötigt (Pegg & McCann 1982; Bardócz *et al.* 1995).

In der vorliegenden Studie konnte kein fütterungsbedingter Einfluss auf die Konzentration der Amine Putrescin, Histamin, Cadaverin, Spermidin und Spermin in Digestaprobe der untersuchten Abschnitte des GITs ermittelt werden. Beim Vergleich der Gruppen zeigt sich in den Versuchsgruppen B und D ein numerisch erhöhter Gehalt an Cadaverin in Magen und Caecum. Zwischen der Kontrolle und den Versuchsgruppen C und E hingegen wurde in keinem der beiden Abschnitte Unterschiede nachgewiesen.

Des Weiteren sind Phenole und Indole im Darm Metaboliten, die aufgrund der proteolytischen Aktivität der Mikrobiota entstehen. Phenolische und indolische Verbindungen entstehen durch die Desaminierung der aromatischen Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan. Diese Verbindungen werden über eine Glucuronid- oder Sulfatkonjugation bereits in der Mukosa oder in der Leber entgiftet und dann über den Urin ausgeschieden (Ramakrishna *et al.* 1989; Cummings & Macfarlane 1991; Ramakrishna *et al.* 1991; Hughes *et al.* 2000). Die am häufigsten analysierten Verbindungen sind Phenol, 4-Methylphenol (*p*-Cresol), 4-Ethylphenol, Indol und 3-Methylindol (Skatol) (Yokoyama *et al.* 1982).

Ein fütterungsbedingter Einfluss auf den intestinalen Gehalt an Phenol, 4-Methylphenol (*p*-Cresol), 4-Ethylphenol, Indol und 3-Methylindol (Skatol) in Magen, Jejunum und Colon ascendens konnte in der vorliegenden Studie nicht belegt werden. In Caecum und Colon descendens zeigten sich zum Teil Gruppenunterschiede zwischen den Gehalten an Phenol, *p*-Cresol, 4-Ethylphenol und Skatol. Hierbei zeigte sich beim Vergleich der Versuchsgruppen hinsichtlich des Gehalts an Skatol im Colon descendens, numerisch eine Reduktion des Skatolgehalts in den Gruppen C und E gegenüber der Kontrollgruppe.

Die Studie von Jensen *et al.* (1995) belegte, dass die Skatolbildung von der im Dickdarm angefluteten Proteinmenge und der proteolytischen Aktivität der intestinalen Mikrobiota abhängig ist. Über den Einfluss von Nahrungsfaserzulagen auf den Skatolgehalt gibt es verschiedene Hypothesen, die von Jensen (2006) in einer Übersicht über die Möglichkeiten zur Prävention von Ebergeruch aufgeführt werden. Zu einer dieser Hypothesen zählt die reduzierte proteolytische Aktivität der Mikrobiota im Dickdarm durch eine gesteigerte Verfügbarkeit von fermentierbaren Kohlenhydraten. Des Weiteren konnte eine Reduktion der Skatolgehalte ( $p < 0,05$ ) auch bei Zulagen von Zuckerrübenschnitzeln in Versuchsdiäten von Schweinen ermittelt werden (Jensen *et al.* 1995; Whittington *et al.* 2004). Die in der vorliegenden Studie ermittelten geringeren Skatolgehalte im Colon descendens in den Versuchsgruppen C und E deuten erneut darauf hin, dass in diesen Gruppen die proteolytische Aktivität der Mikrobiota verringert wurde.

In Urin und Faeces von Schweinen zählt *p*-Cresol zur vorherrschenden phenolischen Verbindung, welche eine negative Korrelation mit der Lebendmasseentwicklung der Tiere aufweist (Yokoyama *et al.* 1982). In der vorliegenden Fütterungsstudie konnte in allen Versuchsdiäten im Vergleich zur Kontrolle ein geringerer Gehalt an *p*-Cresol im Caecum ermittelt werden, die Gruppenunterschiede zeigten nahezu eine Tendenz ( $p = 0,101$ ). In den Digestaprobe aus Magen wurden nur Phenol und *p*-Cresol nachgewiesen, weitere Verbindungen konnten nicht detektiert werden. Dies wurde in der bereits erwähnten Studie von Pieper *et al.* (2014) ebenfalls belegt. In der vorliegenden Arbeit wurden des Weiteren in Magen und Jejunum keinerlei Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ermittelt.

Darüber hinaus sollte bei der Betrachtung der Ergebnisse der mikrobiellen Parameter berücksichtigt werden, dass sich in den beiden Durchgängen der Fütterungsstudie tierindividuelle Schwankungen zeigten. Bereits in anderen Studien konnten bei Schweinen Schwankungen zwischen einzelnen Tieren sowohl beim Vergleich der mikrobiellen Aktivität als auch der bakteriellen Zusammensetzung der Mikrobiota ermittelt werden (Bauer *et al.* 2004; Metzler *et al.* 2008).

### **Einfluss der Versuchsdiäten auf die bakterielle Zusammensetzung der Mikrobiota**

In der vorliegenden Studie sollte bei Betrachtung der bakteriellen Zusammensetzung der Mikrobiota berücksichtigt werden, dass nur ein Teil der Bakterien anhand der ausgewählten Gruppenprimer untersucht wurde und keine spezifischen Bakterienarten analysiert wurden. Aufgrund der Fragestellung der Arbeit bildete der thematische und methodische Schwerpunkt die Fermentation von Mangoschalen und deren Einfluss auf das Fermentationsmuster und nicht primär die Beeinflussung der Zusammensetzung der Mikrobiota.

Eine mikrobielle Besiedlung der proximalen Abschnitte des GITs und der daraus resultierende Nachweis bakterieller Metaboliten bei Schweinen wurde bereits in zahlreichen Studien belegt (Nyachoti *et al.* 2006; Pieper *et al.* 2008; Mair *et al.* 2010; Zentek *et al.* 2013; Pieper *et al.* 2014). In der vorliegenden Studie erfolgte daher die Quantifizierung der bakteriellen Gruppen in den Abschnitten Magen, Ileum, Caecum und Colon ascendens. Ein fütterungsbedingter Einfluss auf die Anzahl der Kopien der 16S rDNA Gene der untersuchten Bakteriengruppen konnte im Magen und den Dickdarmabschnitten Caecum und Colon ascendens nicht ermittelt werden.

Im Ileum waren vor allem bei den untersuchten Clostridien-Clustern Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen feststellbar. So zeigten sich in allen Versuchsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe ein abgesicherter Anstieg der *C. coccoides* Gruppe ( $p = 0,020$ ) sowie tendenziell ( $p = 0,095$ ) der *C. leptum* Gruppe. Einen Anstieg dieser beiden Gruppen im Colon von Ferkeln bei Zulage von fermentierbaren Kohlenhydraten stellten auch Pieper *et al.* (2012) in ihrer Studie fest.

Bakterien der *C. leptum* Cluster IV und *C. coccoides* Cluster XIVa gehören nach Louis *et al.* (2007) zu denen im Dickdarm am häufigsten vorkommenden Vertreter der *Firmicutes*. Das *C. coccoides* Cluster XIVa enthält Vertreter der Gattungen *Clostridium*, *Coprococcus*, *Eubacterium*, *Lachnospira* und *Ruminococcus*, wie zum Beispiel *Clostridium clostridioforme*, *C. coccoides*, *Ruminococcus gnavus* oder *Eubacterium rectale* (Matsuki *et al.* 2002). Vertreter der Gattungen *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* und *Faecalibacterium* werden dem *C. leptum* Cluster IV zugeordnet (Matsuki *et al.* 2004).

Nach Leser *et al.* (2002) dominieren die Gram-positiven Bakterien mit einem geringen Gehalt an Guanin und Cytosin im GIT von Schweinen. Den Autoren zufolge steht eine große Fraktion dieser Bakterien mit der *C. coccoides* und der *C. leptum* Gruppe in Verbindung. Außerdem wurde in dieser Studie belegt, dass die Gattungen *Bacteroides* und *Prevotella* die größte Fraktion der Gram-negativen Bakterien des GITs von Schweinen darstellen. Die Gruppe der *Bacteroides-Prevotella-Porphyrromonas*-Gruppe sind nach Ivarsson *et al.* (2014) von großer Bedeutung für den Abbau von Faserstoffen. Darüber hinaus konnte in Fütterungsstudien bei Schweinen und Ratten bei Zulage von Pektinen unter anderem eine

Erhöhung der Anzahl der *Bacteroides* Gruppe belegt werden (Dongowski *et al.* 2002; Metzler *et al.* 2009). Neben *Bacteroides* sind jedoch auch Eubakterien und Clostridien in der Lage, Pektine abzubauen (Salyers *et al.* 1977; Jensen & Canale-Parola 1986; Macfarlane & Macfarlane 1993).

In der vorliegenden Studie konnte die Zulage von Mangoschalen bzw. Apfelpektin in die Versuchsdäten keinen fördernden Effekt auf die *Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas* Gruppe belegen. Im Magen zeigten sich tendenziell Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen ( $p = 0,086$ ). Dabei wurde eine Verringerung der *Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas* Gruppe in den Versuchsgruppen C und E im Vergleich zur Kontrolle sowie den Versuchsgruppen B und D ermittelt.

Durch die enzymatische Aktivität der Mikrobiota werden Pektine zunächst zu ungesättigten Pektin-Oligosacchariden abgebaut (Olano-Martin *et al.* 2002). In der Studie von Dongowski *et al.* (2002) konnten bei der *in vitro*-Fermentation von Citruspektin mit Faecesproben von Ratten die ungesättigten, oligomeren Galakturonsäuren als Zwischenprodukt nachgewiesen werden. Diese Pektin-Oligosaccharide zeigten gegenüber Bifidobakterien zum Teil einen fördernden Effekt (Olano-Martin *et al.* 2002; Chen *et al.* 2013). Jedoch wurde in weiteren Studien nachgewiesen, dass Bifidobakterien Rhamno- und Galacturon-Oligosaccharide nicht verwerten können (van Laere *et al.* 2000; Gullón *et al.* 2011). In der vorliegenden Studie wurde jedoch der Einfluss von Apfelpektin oder Mangoschalen auf die Gruppe der Bifidobakterien im GIT von Absetzferkeln nicht untersucht.

Die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung einiger bakterieller Gruppen der Mikrobiota zeigten zum Teil einen Einfluss von Mangoschalen bzw. Apfelpektin in den Versuchsdäten auf die mikrobielle Zusammensetzung im GIT, vorwiegend im Ileum.

### **Einfluss der Versuchsdäten auf die metabolische Aktivität der intestinalen Mikrobiota**

Ein deutlicher Einfluss der Versuchsdäten auf die metabolische Aktivität der Mikrobiota wurde anhand der Bestimmung der Substratverwertung von Faecesproben der Tiere ermittelt. Dabei wurden Hinweise auf eine Adaptation der Mikrobiota an das jeweilige Substrat gefunden. Im Vergleich zur Kontrollgruppe konnte dies durch eine in allen Gruppen erhöhte Substratverwertung gegenüber Mangoschalen oder Apfelpektin als Kohlenhydratquellen belegt werden. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die in Faecesproben enthaltenen Bakterien sich jeweils an das in den Versuchsdäten ergänzte Substrat adaptieren konnten. Die Bakteriengruppen in Faeces von Schweinen können teils repräsentativ für die Mikrobiota im Dickdarm gesehen werden (Bauer *et al.* 2004; Zhang *et al.* 2013). Dies deutet darauf hin, dass auch in diesen Abschnitten von einer Adaptation ausgegangen werden kann. Um dies zu bestätigen, wären weitere Untersuchungen mit Proben aus anderen Abschnitten des GITs nötig.

Im Allgemeinen zeigten sich die Ergebnisse der Substratverwertung bei Verwendung von Mangoschalen als Kohlenhydratquelle deutlich höher im Vergleich zum Substrat Apfelpektin. Mangoschalen enthalten neben ca. 12-21 % Pektinen (Berardini *et al.* 2005a) weitere Kohlenhydrate wie 37,8 % Zucker und 7,7 % Stärke (Geerkens *et al.* 2013), sodass diese im Vergleich zum Apfelpektin vermutlich schneller abgebaut wurden. Mangoschalen konnten als Kohlenhydratquelle sowohl in Faecesproben aus den Versuchsgruppen B und C (Mangoschalen) als auch in den Gruppen D und E (Apfelpektin) fermentiert werden. Der Anstieg der Substratverwertung in den Versuchsdiäten D und E (Apfelpektin) bei Mangoschalen als Kohlenhydratquelle deutet darauf hin, dass eine generelle Adaptation der Mikrobiota an den Kohlenhydratabbau stattgefunden hat.

### 5.4 Schlussfolgerungen und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand verschiedener Methoden die mögliche Eignung von Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln untersucht. Die Ergebnisse der *in vitro*-Inkubationen belegten die Fermentierbarkeit von Mangoschalen durch die Mikrobiota vom Schwein mit einer entsprechenden Veränderung des mikrobiellen Metabolitenmusters. Dabei konnte die Senkung des pH-Werts und eine deutlich erhöhte Konzentration von Essig- und Propionsäure bei Zulage von Apfelpektin bzw. Mangopektin nachgewiesen werden sowie ebenfalls eine pH-Wert-Senkung bei der Zulage von Mangoschalen.

Durch die Infektionsversuche mit der Zellkultur IPEC-J2 konnte für Mangopektin ein die IPEC-J2 Zellen schützender Effekt gegenüber einer *E. coli*-Infektion belegt werden. Der genaue Wirkmechanismus dieser Reduktion der Infektion konnte jedoch anhand des Versuchsaufbaus nicht ermittelt werden. Durch die in der Studie genutzten *in vitro*-Methoden konnte ein genereller Überblick über die Fermentation von Mangoschalen und deren Nebenprodukten erzielt werden.

Die im Fütterungsversuch gewählten Dosierungen von ein und zwei Prozent waren eventuell zu gering, um deutlichere Veränderungen *in vivo* nachweisen zu können. In Bezug auf die Bildung der bakteriellen Metaboliten zeigten sich numerische Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen eher in den praecaecalen Darmabschnitten und weniger in den Dickdarmabschnitten. Dies deutet darauf hin, dass ein Großteil der Mangoschale bzw. des Apfelpektins bereits praecaecal mikrobiell verstoffwechselt wurde und im Dickdarm weniger Veränderungen der bakteriellen Gruppen der Mikrobiota und deren Stoffwechselprodukten erzielt wurden. Im Gegensatz dazu zeigte sich eine verringerte proteolytische Aktivität der Mikrobiota des Dickdarms in den Versuchsgruppen mit einer zweiprozentigen Dosierung von Mangoschalen bzw. Apfelpektin, sodass bei diesen Gruppen vermutlich noch ein gewisser Teil der bis dahin unverdauten Kohlenhydrate als Energiequelle genutzt worden waren.

In der vorliegenden Studie wurden keine negativen Effekte der Zulage von Mangoschalen oder Apfelpektin in einer Versuchsdiät von Absetzferkeln auf die analysierten Parameter ermittelt, sodass man im untersuchten Dosierungsrahmen von einer guten Verträglichkeit ausgehen kann. Dies deutet darauf hin, dass der Einsatz von getrockneten Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln möglich ist und nach den Ergebnissen der *in vitro*-Untersuchungen zur positiven Beeinflussung der Darmgesundheit führen kann.

Um die Nutzung von Mangoschalen in der Tierernährung und deren Effekt auf den GIT von Tieren genauer zu untersuchen, stellen weiterführenden *in vitro*-Studien zur antiadhäsiven Wirkung von Mangopektin eine sinnvolle Ergänzung der vorliegenden Studie dar. Darüber hinaus könnten weitere Fütterungsstudien bei Absetzferkeln mit höheren Dosierungsstufen bzw. unter Einbeziehung von Dosis-Wirkungsstudien eventuell deutlichere Gruppenunterschiede darstellen. Die Durchführung einer Feldstudie unter praxisüblichen Bedingungen wäre interessant, um gegebenenfalls positive Effekte der Mangoschalen in der Durchfallprophylaxe bei Absetzferkeln aufzeigen zu können.

## 6 Zusammenfassung

Brucker, Lisa:

### **Untersuchungen zur Eignung von Mangoschalen (*Mangifera indica* L.) in der Tierernährung und deren Einfluss auf die zootecnische Leistung sowie verdauungsphysiologische und mikrobiologische Parameter bei Absetzferkeln**

Das Ziel der Studie war es, den Einsatz von Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln zur nachhaltigen Nutzung dieses Nebenprodukts der Lebensmittelindustrie zu untersuchen. Dabei sollte die Eignung der Mangoschalen als pflanzliches Einzelfuttermittel zur Verbesserung der Tiergesundheit und Leistung bei Ferkeln ermittelt werden.

Im Rahmen dieser Studie wurde die Eignung von Mangoschalen anhand verschiedener Untersuchungen getestet. Die methodische Arbeit gliederte sich dabei in drei Abschnitte. Zu Beginn erfolgte die Durchführung von Kurzzeitinkubationen von Sauenkot mit verschiedenen Kohlenhydraten. Nach 24-stündiger Inkubationsdauer unter anaeroben Bedingungen wurde das Fermentationsmuster anhand der gebildeten bakteriellen Metaboliten analysiert. Darüber hinaus wurde durch semikontinuierliche Langzeitinkubationen mit Caecuminhalt von Absetzferkeln der Einfluss von Mangoschalen bzw. Apfelpektin auf das Fermentationsmuster über einen längeren Zeitraum untersucht. Die Ergebnisse beider Inkubationsmethoden zeigten, dass ein Einfluss des Substrats auf den jeweiligen Gehalt der bakteriellen Metaboliten ermittelt werden konnte. Die Ergebnisse der Kurzzeitinkubationen zeigten, dass durch die Zugabe der verschiedenen Substrate im Vergleich zur Negativkontrolle bei nahezu allen gemessenen Parametern Unterschiede erzielt wurden. Die Senkung des pH-Werts resultierte bei Zugabe von Apfel- und Mangopektin aus einem Anstieg der Essigsäurekonzentration. Die Inkubation von Mangoschalen über 24 Stunden zeigte eine mit der Zugabe von Apfelpektin vergleichbare pH-Wert-Senkung ( $p = 0,579$ ). In der Langzeitinkubation erzeugte die Zugabe von Mangoschalen in die Fermenter kaum Veränderungen der Parameter. Dabei erzielte die Zugabe von Mangoschalen neben den höchsten Buttersäuregehalten ( $p = 0,002$ ) höhere Valeriansäuregehalte ( $p = 0,002$ ) im Vergleich zum Apfelpektin. Die Zugabe von Mangoschalen in das System der Langzeitinkubation unterschied sich beim Vergleich des erzielten Essigsäuregehalts oder des pH-Werts jedoch nicht von der Kontrollgruppe. Der zweite methodische Abschnitt der Studie stellten Infektionsversuche mit der permanenten Zelllinie IPEC-J2 dar. Dabei wurden mögliche Effekte pflanzlicher Substanzen zum Schutz der IPEC-J2 Zellen vor enterotoxischen *E. coli*-Bakterien mittels einer durchflusszytometrischen Methode untersucht. Diese Ergebnisse zeigten einen deutlichen Effekt ( $p = 0,029$ ) des Mangopektins gegenüber der Positivkontrolle durch Reduktion der Anzahl mit *E. coli* assoziierten IPEC-J2 Zellen um 56,1 %.

Der dritte Abschnitt umfasste die Durchführung eines Fütterungsversuchs zur Analyse intestinaler Parameter mit insgesamt 50 Absetzferkeln in fünf Versuchsgruppen über eine vierwöchige Versuchsdauer. Darüber hinaus erfolgte ein weiterer Fütterungsversuch zur Erhebung der Leistungsdaten mit insgesamt 100 Absetzferkeln über einen Versuchszeitraum von sechs Wochen. Anhand des Fütterungsversuchs wurden die Auswirkungen einer ein- und zweiprozentigen Dosierung von Mangoschalen bzw. Apfelpektin auf verdauungsphysiologische und mikrobiologische Parameter untersucht. Zu den erfassten Daten zählten neben der Bestimmung der scheinbaren praecaecalen Verdaulichkeit sowie der Gesamtverdaulichkeit die Analyse der bakteriellen Metaboliten. Diese umfasste den Gehalt von kurzkettigen Fettsäuren, Laktat, Ammonium und biogenen Aminen sowie von Phenolen und Indolen. Darüber hinaus wurde anhand molekularbiologischer Methoden der Einfluss der Versuchsdäten auf definierte Gruppen der Mikrobiota untersucht. Des Weiteren wurde die Substratverwertungsaktivität der Mikrobiota gemessen. Die Analyse erfolgte dabei anhand von Faecesproben der Tiere unter der Verwendung von BIOLOG MT2-Platten.

Die Ergebnisse der *in vitro*-Untersuchungen belegten die Fermentation von Mangoschalen durch die porcine Mikrobiota mit entsprechender Veränderung des Fermentationsmusters. Das in den Mangoschalen enthaltene Mangopektin konnte anhand der Arbeiten mit der Zellkultur einen die IPEC-J2 Zellen schützenden Effekt gegenüber einer *E. coli*-Infektion aufweisen. Generell zeigten sich im Fütterungsversuch kaum Unterschiede zwischen den fünf Versuchsgruppen. Beim Vergleich der Effekte von Mangoschalen bzw. Apfelpektin auf die ermittelten Gehalte der bakteriellen Metaboliten zeigten sich in den untersuchten Abschnitten des GITs zum Teil numerische Unterschiede. Diese zeichneten sich vor allem in den praecaecalen Abschnitten ab, sodass vermutlich ein Großteil der Mangoschale bzw. des Apfelpektins bereits praecaecal mikrobiell verstoffwechselt worden sein könnte, und im Dickdarm weniger Veränderungen der bakteriellen Gruppen der Mikrobiota und deren Stoffwechselprodukten stattfanden. Im Gegensatz dazu zeigte sich jedoch eine verringerte proteolytische Aktivität der Mikrobiota des Dickdarms in den Versuchsgruppen mit einer jeweils zweiprozentigen Dosierung von Mangoschalen bzw. Apfelpektin, sodass bei diesen Gruppen vermutlich noch ein gewisser Teil der bis dahin unverdauten Kohlenhydrate als Energiequelle genutzt werden konnte.

Im Rahmen dieser Studie konnten im Fütterungsversuch keine negativen Effekte der Zulage von Mangoschalen oder Apfelpektin in einer Versuchsdät von Absetzferkeln ermittelt werden, sodass man im untersuchten Dosierungsrahmen von einer guten Verträglichkeit ausgehen kann. Dies deutet darauf hin, dass der Einsatz von getrockneten Mangoschalen in der Fütterung von Absetzferkeln möglich ist und tendenziell zu einer positiven Beeinflussung der Darmgesundheit führen kann.

## 7 Summary

Brucker, Lisa:

### **Investigations on the suitability for the use of mango peels (*Mangifera indica* L.) in animal nutrition and its impact on performance parameters, digestibility and microbiology of weaned piglets**

The objective of the study was to explore the application of mango peels in the feeding of weaned piglets as a sustainable use of a by-product from the food industry. Thereby the eligibility of mango peels as plant derived feed material to improve animal health and performance of piglets was evaluated.

This study was conducted to test the suitability of mango peels according to different investigations. The methodical work was divided into three sections. At first short term incubations with feces from sows together with different carbohydrates were carried out. After 24 h of incubation under anaerobic conditions the fermentation pattern was analyzed according to the produced bacterial metabolites. Moreover, semi-continuous long term incubations with cecum content from piglets together with mango peels or apple pectin were examined to determine the influence on the fermentation pattern over a longer period. The results of both incubation techniques showed, that there was an influence of the substrate on the amount of produced bacterial metabolites. The results of the short term incubations revealed differences that were achieved by the addition of the various substrates compared to the negative control in almost all measured parameters. Thereby the reduction of the pH-value after the addition of apple or mango pectin was due to an increased acetic acid concentration. The incubation of mango peels for 24 hours showed results comparably to the addition of apple pectin ( $p = 0.579$ ). In the long term incubations the addition of mango peels to the fermenter caused only little changes of the fermentation parameters. The addition of mango peels resulted in the highest butyric acid levels ( $p = 0.002$ ), and also higher valeric acid levels ( $p = 0.002$ ) were detected compared to apple pectin. However, the addition of mango peels into the system of the long term incubation did not differ in the acetic acid content or the pH-value compared to the control group. The second methodical part of the present study constitutes infection experiments with the permanent cell line IPEC-J2. The aim was to determine possible effects of plant extracts on the protection of IPEC-J2 cells against enterotoxic *E. coli* bacteria via flow cytometry analysis. The results of these infection experiments showed validated effects ( $p = 0.029$ ) of mango pectin compared to the positive control, with a reduction in the number of *E. coli* associated IPEC-J2 cells by 56.1%.

## Summary

---

The third section included a feeding trial to analyse intestinal parameters of a total of 50 weaned piglets in five groups over a period of four weeks. To ascertain the performance data another feeding trial was carried out with a total of 100 weaned piglets over a trial period of six weeks.

The feeding trial was conducted to examine the effects of a one- and two-percent dosage of mango peels, resp. apple pectin on digestibility and microbiology parameters. The acquired data included the determination of the apparent ileal digestibility as well as the total tract digestibility and the analysis of different bacterial metabolites. This included the content of short chain fatty acids, lactate, ammonia and biogenic amines as well as phenols and indoles. Furthermore, the influence of the experimental diets on defined groups of the microbiota was examined on a molecular biological level. In addition, the substrate utilization of the microbiota was measured based on fecal samples and the use of BIOLOG MT2 plates.

The results of the *in vitro* studies verified the fermentation of mango peels by the porcine microbiota with a corresponding change in the fermentation pattern. The mango pectin, which is present in mango peels, showed a protective effect on IPEC-J2 cells against an *E. coli* infection. In general, the feeding experiment showed scarce differences between the five experimental groups. In the effect of mango peels resp. apple pectin on the determined contents of bacterial metabolites, some numerical differences in the examined sections of the GIT could be detected. These differences appeared particularly in the ileal sections of the GIT, with the result that the majority of mango peels or apple pectin might already be metabolized praecaecal resulting in fewer changes in the bacterial groups of microbiota and their metabolites in the large intestine. In contrast to these results, a reduced proteolytic activity of the microbiota in the large intestine was detected in the experimental groups C and E. A certain part of the so far undigested carbohydrates left in these groups could be accountable for these findings, since they could be used as an energy source.

In the present study, no adverse effects by the addition of mango peels or apple pectin in an experimental diet of weaned piglets were detected. Therefore it can be assumed that the investigated dosage showed a good tolerability. This suggests that the use of dried mango peels in the feeding of weaned piglets is possible and can result in a positive effect on the gut health.

## 8 Literatur

- Abdalla, A.E.M., Darwish, S.M., Ayad, E.H.E. & El-Hamahmy, R.M. (2007). "Egyptian mango by-product 1. Compositional quality of mango seed kernel." *Food Chemistry* **103**(4): 1134-1140.
- Ajila, C.M., Aalami, M., Leelavathi, K. & Rao, U.J.S. (2010). "Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **11**(1): 219-224.
- Ajila, C.M., Bhat, S.G. & Prasada Rao, U.J.S. (2007). "Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties." *Food Chemistry* **102**(4): 1006-1011.
- Ajila, C.M., Leelavathi, K. & Prasada Rao, U.J.S. (2008). "Improvement of dietary fiber content and antioxidant properties in soft dough biscuits with the incorporation of mango peel powder." *Journal of Cereal Science* **48**(2): 319-326.
- Albers, N. & Henkel, H. (1979). "Untersuchungen über den Futterwert von pflanzlichen Zellwandbestandteilen beim Schwein." *Zeitschrift für Tierphysiologie Tierernährung und Futtermittelkunde* **42**: 101-112.
- Anguita, M., Canibe, N., Pérez, J.F. & Jensen, B.B. (2006). "Influence of the amount of dietary fiber on the available energy from hindgut fermentation in growing pigs: Use of cannulated pigs and in vitro fermentation." *Journal of Animal Science* **84**(10): 2766-2778.
- Araneo, B.A., Cebra, J.J., Beuth, J., Fuller, R., Heidt, P.J., Midvedt, T., Nord, C.E., Nieuwenhuis, P., Manson, W.L. & Pulverer, G. (1996). "Problems and priorities for controlling opportunistic pathogens with new antimicrobial strategies; an overview of current literature." *Zentralblatt für Bakteriologie* **283**(4): 431-465.
- Argenzio, R.A. & Southworth, M. (1975). "Sites of organic acid production and absorption in gastrointestinal tract of the pig." *American Journal of Physiology* **228**(2): 454-460.
- Armstrong, E.F., Eastwood, M.A. & Brydon, W.G. (1993). "The influence of wheat bran and pectin on the distribution of water in rat caecal contents and faeces." *British Journal of Nutrition* **69**(3): 913-920.
- Arogba, S.S. (1997). "Physical, chemical and functional properties of Nigerian mango (*Mangifera indica*) kernel and its processed flour." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **73**(3): 321-328.
- Ashoush, I.S. & Gadallah, M.G.E. (2011). "Utilization of mango peels and seed kernels powders as sources of phytochemicals in biscuit." *World Journal of Dairy & Food Sciences* **6**(1): 35-42.
- Axelos, M.A.V. & Thibault, J.F. (1991): The chemistry of low-methoxyl pectin gelation. In: The chemistry and technology of pectin. / Hrsg. R. H. Walter. - San Diego: Academic Press, Inc.- ISBN: 978-0127338705. 109-118.
- Bakker, G.C.M., Dekker, R.A., Jongbloed, R. & Jongbloed, A.W. (1998). "Non-starch polysaccharides in pig feeding." *Veterinary Quarterly* **20**(S3): S59-S64.
- Bardócz, S., Duguid, T.J., Brown, D.S., Grant, G., Pusztai, A., White, A. & Ralph, A. (1995). "The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth." *British Journal of Nutrition* **73**(06): 819-828.
- Barreto, J.C., Trevisan, M.T., Hull, W.E., Erben, G., de Brito, E.S., Pfundstein, B., Wurtele, G., Spiegelhalder, B. & Owen, R.W. (2008). "Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**(14): 5599-5610.

- Barry, J.L., Hoebler, C., Macfarlane, G.T., Macfarlane, S., Mathers, J.C., Reed, K.A., Mortensen, P.B., Nordgaard, I., Rowland, I.R. & Rumney, C.J. (1995). "Estimation of the fermentability of dietary fibre in vitro: a European interlaboratory study." *British Journal of Nutrition* **74**(03): 303-322.
- Bauer, E., Williams, B.A., Bosch, M.W., Voigt, C., Mosenthin, R. & Verstegen, M.W.A. (2004). "Differences in microbial activity of digesta from three sections of the porcine large intestine according to in vitro fermentation of carbohydrate-rich substrates." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84**(15): 2097-2104.
- Bauer, E., Williams, B.A., Voigt, C., Mosenthin, R. & Verstegen, M.W.A. (2010). "In vitro fermentation of various carbohydrate-rich feed ingredients combined with chyme from pigs." *Archives of Animal Nutrition* **64**(5): 394-411.
- Beerh, O.P., Raghuramaiah, B., Krishnamurthy, G.V. & Giridhar, N. (1976). "Utilization of mango waste: recovery of juice from waste pulp and peel." *Journal of Food Science and Technology* **13**(23): 138-141.
- Belenguer, A., Duncan, S.H., Holtrop, G., Anderson, S.E., Lobley, G.E. & Flint, H.J. (2007). "Impact of pH on lactate formation and utilization by human fecal microbial communities." *Applied and Environmental Microbiology* **73**(20): 6526-6533.
- Berardini, N., Carle, R. & Schieber, A. (2004). "Characterization of gallotannins and benzophenone derivatives from mango (*Mangifera indica* L. cv. 'Tommy Atkins') peels, pulp and kernels by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry." *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **18**(19): 2208-2216.
- Berardini, N., Fezer, R., Conrad, J., Beifuss, U., Carle, R. & Schieber, A. (2005a). "Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol O- and xanthone C-glycosides, anthocyanins, and pectin." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**(5): 1563-1570.
- Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A. & Carle, R. (2005b). "Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **6**(4): 442-452.
- Berggren, A.M., Björck, I.M.E., Nyman, E.M.G.L. & Eggum, B.O. (1993). "Short-chain fatty acid content and pH in caecum of rats given various sources of carbohydrates." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **63**(4): 397-406.
- Berschneider, H.M. (1989). "Development of normal cultured small intestinal epithelial cell lines which transport Na and Cl." *Gastroenterology* **96**(Suppl. Pt 2): A41.
- Bindelle, J., Buldgen, A. & Leterme, P. (2008). "Nutritional and environmental consequences of dietary fibre in pig nutrition: a review." *Base* **12**: 69-80.
- Brighenti, F., Testolin, G., Canzi, E., Ferrari, A., Wolever, T., Ciappellano, S., Porrini, M. & Simonetti, P. (1989). "Influence of long-term feeding of different purified dietary fibers on the volatile fatty acid (VFA) profile, pH and fiber-degrading activity of the cecal contents in rats." *Nutrition Research* **9**(7): 761-772.
- Brown, R.C., Kelleher, J. & Losowsky, M.S. (1979). "The effect of pectin on the structure and function of the rat small intestine." *British Journal of Nutrition* **42**(03): 357-365.
- Bruins, M.J., Vente-Spreuwenberg, M.A.M., Smits, C.H. & Frenken, L.G.J. (2011). "Black tea reduces diarrhoea prevalence but decreases growth performance in enterotoxigenic *Escherichia coli*-infected post-weaning piglets." *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **95**(3): 388-398.
- Bryant, M.P. & Robinson, I.M. (1962). "Some nutritional characteristics of predominant culturable ruminal bacteria." *Journal of Bacteriology* **84**(4): 605-614.

- Bugaut, M. & Bentéjac, M. (1993). "Biological effects of short-chain fatty acids in nonruminant mammals." *Annual Review of Nutrition* **13**(1): 217-241.
- Buraczewska, L., Swiech, E., Tusnio, A., Taciak, M., Ceregrzyn, M. & Korczynski, W. (2007). "The effect of pectin on amino acid digestibility and digesta viscosity, motility and morphology of the small intestine, and on N-balance and performance of young pigs." *Livestock Science* **109**(1/3): 53-56.
- Butine, T.J. & Leedle, J.A. (1989). "Enumeration of selected anaerobic bacterial groups in cecal and colonic contents of growing-finishing pigs." *Applied and Environmental Microbiology* **55**(5): 1112-1116.
- Campos-Vega, R. & Oomah, B.D. (2013): Chemistry and classification of phytochemicals. In: *Handbook of Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction.* / Hrsg. B. K. Tiwari, N. P. Brunton & C. Brennan. - West Sussex, UK: John Wiley & Sons Ltd.- ISBN: 9781118464687.
- Canh, T.T., Verstegen, M.W., Aarnink, A.J. & Schrama, J.W. (1997). "Influence of dietary factors on nitrogen partitioning and composition of urine and feces of fattening pigs." *Journal of Animal Science* **75**(3): 700-706.
- Canteri-Schemin, M.H., Fertoni, H.C.R., Waszczynski, N. & Wosiacki, G. (2005). "Extraction of pectin from apple pomace." *Brazilian Archives of Biology and Technology* **48**(2): 259-266.
- Căpriță, R., Căpriță, A. & Julean, C. (2010). "Biochemical aspects of non-starch polysaccharides." *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies* **43**(1): 368-374.
- Cermak, R., Breves, G., Lüpke, M. & Wolfram, S. (2006). "In vitro degradation of the flavonol quercetin and of quercetin glycosides in the porcine hindgut." *Archives of Animal Nutrition* **60**(2): 180-189.
- Chen, J., Liang, R.-h., Liu, W., Li, T., Liu, C.-m., Wu, S.-s. & Wang, Z.-j. (2013). "Pectic-oligosaccharides prepared by dynamic high-pressure microfluidization and their in vitro fermentation properties." *Carbohydrate Polymers* **91**(1): 175-182.
- Chen, J.P., Tai, C.Y. & Chen, B.H. (2004). "Improved liquid chromatographic method for determination of carotenoids in Taiwanese mango (*Mangifera indica* L.)." *Journal of Chromatography A* **1054**(1): 261-268.
- Chen, Y.C., Lin, J.T., Liu, S.C., Lu, P.S. & Yang, D.J. (2011). "Composition of flavonoids and phenolic acids in lychee (*Litchi Chinensis* Sonn.) flower extracts and their antioxidant capacities estimated with human LDL, erythrocyte, and blood models." *Journal of Food Science* **76**(5): C724-C728.
- Christensen, D.N., Bach Knudsen, K.E., Wolstrup, J. & Jensen, B.B. (1999). "Integration of ileum cannulated pigs and in vitro fermentation to quantify the effect of diet composition on the amount of short-chain fatty acids available from fermentation in the large intestine." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**(5): 755-762.
- Collins, M., Lawson, P., Willems, A., Cordoba, J., Fernandez-Garayzabal, J., Garcia, P., Cai, J., Hippe, H. & Farrow, J. (1994). "The phylogeny of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combinations." *International journal of systematic bacteriology* **44**(4): 812-826.
- Cornick, N.A., Jensen, N.S., Stahl, D.A., Hartman, P.A. & Allison, M.J. (1994). "*Lachnospira pectinoschiza* sp. nov., an anaerobic pectinophile from the pig intestine." *International Journal of Systematic Bacteriology* **44**(1): 87-93.
- Corral-Aguayo, R.D., Yahia, E.M., Carrillo-Lopez, A. & Gonzalez-Aguilar, G. (2008). "Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity

- measured with six different assays in eight horticultural crops." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**(22): 10498-10504.
- Cummings, J.H. & Macfarlane, G.T. (1991). "The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon." *Journal of Applied Bacteriology* **70**(6): 443-459.
- Cummings, J.H., Pomare, E.W., Branch, W.J., Naylor, C.P. & Macfarlane, G.T. (1987). "Short chain fatty acids in human large intestine, portal, hepatic and venous blood." *Gut* **28**(10): 1221-1227.
- Czerkawski, J.W. & Breckenridge, G. (1977). "Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec)." *British Journal of Nutrition* **38**: 371-384.
- Darcy-Vrillon, B., Morel, M.-T., Cherbuy, C., Bernard, F., Posho, L., Blachier, F., Meslin, J.-C. & Duee, P.-H. (1993). "Metabolic characteristics of pig colonocytes after adaptation to a high fiber diet." *Journal of Nutrition* **123**(2): 234-243.
- de Lourdes García-Magaña, M., García, H.S., Bello-Pérez, L.A., Sáyago-Ayerdi, S.G. & Mata-Montes de Oca, M. (2013). "Functional Properties and Dietary Fiber Characterization of Mango Processing By-products (*Mangifera indica* L., cv *Ataulfo* and *Tommy Atkins*)." *Plant Foods for Human Nutrition* **68**(3): 254-258.
- den Hartog, L.A., Huisman, J., Thielen, W.J.G., van Schayk, G.H.A., Boer, H. & van Weerden, E.J. (1988). "The effect of including various structural polysaccharides in pig diets on ileal and faecal digestibility of amino acids and minerals." *Livestock Production Science* **18**(2): 157-170.
- Deng, Q., Xu, J., Yu, B., He, J., Zhang, K., Ding, X. & Chen, D. (2010). "Effect of dietary tea polyphenols on growth performance and cell-mediated immune response of post-weaning piglets under oxidative stress." *Archives of Animal Nutrition* **64**(1): 12-21.
- Deng, Z., Zhang, J., Li, J., Fan, Y., Cao, S., Huang, R., Yin, Y., Zhong, H. & Li, T. (2007). "Effect of polysaccharides of cassia seeds on the intestinal microflora of piglets." *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* **16**(1): 143-147.
- DeVries, J.W. (2003). "On defining dietary fibre." *Proceedings of the Nutrition Society* **62**(01): 37-43.
- Dhingra, S. & Kapoor, A.C. (1985). "Nutritive value of mango seed kernel." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **36**(8): 752-756.
- Diarra, S.S. (2014). "Potential of mango (*Mangifera indica* L.) seed kernel as a feed ingredient for poultry: a review." *World's Poultry Science Journal* **70**(2): 279-288.
- Dongowski, G., Lorenz, A. & Proll, J. (2002). "The degree of methylation influences the degradation of pectin in the intestinal tract of rats and in vitro." *Journal of Nutrition* **132**(7): 1935-1944.
- Dorta, E., Lobo, M.G. & Gonzalez, M. (2012). "Reutilization of mango byproducts: study of the effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties." *Journal of Food Science* **77**(1): C80-C88.
- Dreher, M.L. (2001): *Dietary Fiber Overview*. In: *Handbook of Dietary Fiber*. / Hrsg. S. S. Cho & M. L. Dreher. - New York: Marcel Dekker, Inc.- ISBN: 9780203904220. 1-16.
- Dreyer, J. (1990). *In Vitro-Untersuchungen mit der Colon-Simulationstechnik (COSITEC) zum mikrobiellen Stoffwechsel im Dickdarm von Schweinen.*, Georg-August-Universität zu Göttingen, Dissertation, S. 116
- Drochner, W. (1984). "Einfluss wechselnder Rohfaser- und Pektingehalte im Futter auf einige praecaecale und postileale Verdauungsvorgänge beim wachsenden Schwein." *Fortschritte in der Tierphysiologie und Tierernährung* **14**.
- Drochner, W., Cerci, I.H., Stadermann, B. & Lüders, H. (1990). "Einfluß steigender Zulagen niedrigveresterten Pektins in der Diät auf den Stoffwechsel von Legehennen - Geprüft

- mit Hilfe von „Pair-Feeding-Versuchen “. Archives of Animal Nutrition **40**(5-6): 431-442.
- Drochner, W. & Coenen, M. (1986). "Pflanzliche Strukturstoffe in der Schweineernährung (Diätetische Aspekte)." Übersichten zur Tierernährung **14**: 1-50.
- Drochner, W., Kerler, A. & Zacharias, B. (2004). "Pectin in pig nutrition, a comparative review." Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition **88**(11-12): 367-380.
- Duncan, S.H., Louis, P. & Flint, H.J. (2004). "Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product." Applied and Environmental Microbiology **70**(10): 5810-5817.
- Eastwood, M.A. (1992). "The physiological effect of dietary fiber: an update." Annual Review of Nutrition **12**(1): 19-35.
- Eastwood, M.A., Brydon, W.G. & Anderson, D.M. (1986). "The effect of the polysaccharide composition and structure of dietary fibers on cecal fermentation and fecal excretion." The American Journal of Clinical Nutrition **44**(1): 51-55.
- Elegbede, J., Achoba, I. & Richard, H. (1995). "Nutrient composition of mango (*Mangifera indica*) seed kernel from Nigeria." Journal of food biochemistry **19**(5): 391-398.
- Englyst, H., Wiggins, H.S. & Cummings, J.H. (1982). "Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates." Analyst **107**(1272): 307-318.
- Englyst, H.N. & Cummings, J.H. (1984). "Simplified method for the measurement of total non-starch polysaccharides by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates." Analyst **109**(7): 937-942.
- Englyst, H.N., Hay, S. & Macfarlane, G.T. (1987). "Polysaccharide breakdown by mixed populations of human faecal bacteria." FEMS Microbiology Ecology **45**(3): 163-171.
- Fairbrother, J.M., Nadeau, É. & Gyles, C.L. (2005). "*Escherichia coli* in postweaning diarrhea in pigs: an update on bacterial types, pathogenesis, and prevention strategies." Animal Health Research Reviews **6**(01): 17-39.
- FAOSTAT (2015). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Abgerufen am: 23.02.2015, 10:29 h, von <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/Q/QC/E>
- Fardet, A., Guillon, F., Hoebler, C. & Barry, J.L. (1997). "In vitro fermentation of beet fibre and barley bran, of their insoluble residues after digestion and of ileal effluents." Journal of the Science of Food and Agriculture **75**(3): 315-325.
- Fischer, J.E. (1957). "Effects of feeding diets containing lactose, agar, cellulose, raw potato starch or arabinose on the dry weights of cleaned gastrointestinal tract organs in the rat." American Journal of Physiology **188**: 550-554.
- Flourie, B., Vidon, N., Florent, C.H. & Bernier, J.J. (1984). "Effect of pectin on jejunal glucose absorption and unstirred layer thickness in normal man." Gut **25**(9): 936-941.
- Franke, A.A., Custer, L.J., Arakaki, C. & Murphy, S.P. (2004). "Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii." Journal of Food Composition and Analysis **17**(1): 1-35.
- Freire, J.P.B., Guerreiro, A.J.G., Cunha, L.F. & Aumaitre, A. (2000). "Effect of dietary fibre source on total tract digestibility, caecum volatile fatty acids and digestive transit time in the weaned piglet." Animal Feed Science and Technology **87**(1): 71-83.
- Friend, D.W., Nicholson, J.W.G. & Cunningham, H.M. (1964). "Volatile fatty acid and lactic acid content of pig blood." Canadian Journal of Animal Science **44**(3): 303-308.
- Fukunaga, T., Sasaki, M., Araki, Y., Okamoto, T., Yasuoka, T., Tsujikawa, T., Fujiyama, Y. & Bamba, T. (2003). "Effects of the soluble fibre pectin on intestinal cell proliferation,

- fecal short chain fatty acid production and microbial population." *Digestion* **67**(1-2): 42-49.
- Galán Saúco, V. (2004). "Mango production and world market: current situation and future prospects." *Acta horticulturae* **645**: 107-116.
- García, D., Delgado, R., Ubeira, F.M. & Leiro, J. (2002). "Modulation of rat macrophage function by the *Mangifera indica* L. extracts Vimang and mangiferin." *International Immunopharmacology* **2**(6): 797-806.
- García, D., Escalante, M., Delgado, R., Ubeira, F.M. & Leiro, J. (2003). "Anthelmintic and antiallergic activities of *Mangifera indica* L. stem bark components Vimang and mangiferin." *Phytotherapy Research* **17**(10): 1203-1208.
- Garland, J.L. & Mills, A.L. (1991). "Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization." *Applied and Environmental Microbiology* **57**(8): 2351-2359.
- Garrido, G., González, D., Delporte, C., Backhouse, N., Quintero, G., Núñez Sellés, A.J. & Morales, M.A. (2001). "Analgesic and anti-inflammatory effects of *Mangifera indica* L. extract (vimang)." *Phytotherapy Research* **15**(1): 18-21.
- Garrido, G., González, D., Lemus, Y., Garcia, D., Lodeiro, L., Quintero G., Delporte C., Núñez Sellés, A.J. & Delgado, R. (2004). "In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (VIMANG®)." *Pharmacological Research* **50**(2): 143-149.
- Gärtner, S. (2011). Untersuchungen zur Wirkung pflanzlicher Futterzusatzstoffe auf verdauungsphysiologische, mikrobiologische und immunologische Parameter bei Absetzferkeln. Berlin, Freie Universität Berlin, Dissertation, S. 168
- Gaskins, H.R. (2001): Intestinal Bacteria and Their Influence on Swine Growth. In: Swine Nutrition, Second Edition. / Hrsg. A. J. Lewis & L. L. Southern. - Florida: CRC Press.- ISBN: 9781420041842. 585-608.
- Geerkens, C.H., Nagel, A., Just, K.M., Miller-Rostek, P., Kammerer, D.R., Schweiggert, R.M. & Carle, R. (2015). "Mango pectin quality as influenced by cultivar, ripeness, peel particle size, blanching, drying, and irradiation." *Food Hydrocolloids* **51**: 241-251.
- Geerkens, C.H., Schweiggert, R.M., Steingass, H., Boguhn, J., Rodehutschord, M. & Carle, R. (2013). "Influence of apple and citrus pectins, processed mango peels, a phenolic mango peel extract, and gallic acid as potential feed supplements on in vitro total gas production and rumen methanogenesis." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**(24): 5727-5737.
- GfE (2006): Empfehlungen zur Energie-und Nährstoffversorgung bei Schweinen. / Hrsg. Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. - Frankfurt am Main: DLG-Verlag.- ISBN: 978-3-7690-0683-4. 247.
- Grange, P.A., Mouricout, M.A., Lavery, S.B., Francis, D.H. & Erickson, A.K. (2002). "Evaluation of receptor binding specificity of *Escherichia coli* K88 (F4) fimbrial adhesin variants using porcine serum transferrin and glycosphingolipids as model receptors." *Infection and Immunity* **70**(5): 2336-2343.
- Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J.C. & Thom, D. (1973). "Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model." *FEBS Letters* **32**(1): 195-198.
- Gullón, B., Gullón, P., Sanz, Y., Alonso, J.L. & Parajó, J.C. (2011). "Prebiotic potential of a refined product containing pectic oligosaccharides." *LWT-Food Science and Technology* **44**(8): 1687-1696.

- Hansen, M.J., Chwalibog, A. & Tauson, A.H. (2007). "Influence of different fibre sources in diets for growing pigs on chemical composition of faeces and slurry and ammonia emission from slurry." *Animal Feed Science and Technology* **134**(3/4): 326-336.
- Hansen, M.J.r., Chwalibog, A., Tauson, A.-H. & Sawosz, E. (2006). "Influence of different fibre sources on digestibility and nitrogen and energy balances in growing pigs." *Archives of Animal Nutrition* **60**(5): 390-401.
- Henningsson, Å.M., Björck, I.M.E. & Nyman, E.M.G.L. (2002). "Combinations of indigestible carbohydrates affect short-chain fatty acid formation in the hindgut of rats." *Journal of Nutrition* **132**(10): 3098-3104.
- Heo, J.M., Opapeju, F.O., Pluske, J.R., Kim, J.C., Hampson, D.J. & Nyachoti, C.M. (2013). "Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds." *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **97**(2): 207-237.
- Hipsley, E.H. (1953). "Dietary "fibre" and pregnancy toxemia." *British Medical Journal* **2**(4833): 420.
- Holdeman, L.V., Cato, E.P. & Moore, W.E.C. (1977): *Anaerobe laboratory manual*, University of Michigan, Virginia Polytechnic Institute and State University, Anaerobe Laboratory.
- Holtug, K., Rasmussen, H.S. & Mortensen, P.B. (1992). "An *in vitro* study of short-chain fatty acid concentrations, production and absorption in pig (*Sus scrofa*) colon." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **103**(1): 189-197.
- Hostettmann, K. & Wagner, H. (1977). "Xanthone glycosides." *Phytochemistry* **16**: 821-829.
- Hughes, R., Magee, E.A.M. & Bingham, S. (2000). "Protein degradation in the large intestine: relevance to colorectal cancer." *Current Issues in Intestinal Microbiology* **1**(2): 51-58.
- Hungate, R.E. (1950). "The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria." *Bacteriology Reviews* **14**(1): 1-49.
- Idouraine, A., Khan, M.J. & Weber, C.W. (1996). "In vitro binding capacity of wheat bran, rice bran, and oat fiber for Ca, Mg, Cu, and Zn alone and in different combinations." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **44**(8): 2067-2072.
- Ikegami, S., Tsuchihashi, F., Harada, H., Tsuchihashi, N., Nishide, E. & Innami, S. (1990). "Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats." *Journal of Nutrition* **120**(4): 353-360.
- Imoto, S. & Namioka, S. (1978). "VFA production in the pig large intestine." *Journal of Animal Science* **47**(2): 467-478.
- Ivarsson, E., Roos, S., Liu, H.Y. & Lindberg, J.E. (2014). "Fermentable non-starch polysaccharides increases the abundance of *Bacteroides-Prevotella-Propyromonas* in ileal microbial community of growing pigs." *animal* **8**(11): 1777-1787.
- Jarvis, M.C. (1984). "Structure and properties of pectin gels in plant cell walls." *Plant, Cell & Environment* **7**(3): 153-164.
- Jensen, B.B. (2006). "Prevention of boar taint in pig production. Factors affecting the level of skatole." *Acta veterinaria Scandinavica* **48**(Suppl 1): S6.
- Jensen, B.B. & Jørgensen, H. (1994). "Effect of dietary fiber on microbial activity and microbial gas production in various regions of the gastrointestinal tract of pigs." *Applied and Environmental Microbiology* **60**(6): 1897-1904.
- Jensen, M.T., Cox, R.P. & Jensen, B.B. (1995). "Microbial production of skatole in the hind gut of pigs given different diets and its relation to skatole deposition in backfat." *Animal Science* **61**(02): 293-304.

- Jensen, N.S. & Canale-Parola, E. (1986). "*Bacteroides pectinophilus* sp. nov. and *Bacteroides galacturonicus* sp. nov.: two pectinolytic bacteria from the human intestinal tract." *Applied and Environmental Microbiology* **52**(4): 880-887.
- Jeroch, H., Drochner, W. & Simon, O. (2008): Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere, 2. Auflage. Stuttgart, Eugen Ulmer KG. - ISBN: 978-3-8252-8180-9.
- Johnson, I.T. & Gee, J.M. (1981). "Effect of gel-forming gums on the intestinal unstirred layer and sugar transport in vitro." *Gut* **22**(5): 398-403.
- Jørgensen, H., Larsen, T., Zhao, X.-Q. & Eggum, B.O. (1997). "The energy value of short-chain fatty acids infused into the caecum of pigs." *British Journal of Nutrition* **77**(05): 745-756.
- Jørgensen, H., Serena, A., Hedemann, M.S. & Bach Knudsen, K.E. (2007). "The fermentative capacity of growing pigs and adult sows fed diets with contrasting type and level of dietary fibre." *Livestock Science* **109**(1): 111-114.
- Jørgensen, H., Zhao, X.-Q. & Eggum, B.O. (1996). "The influence of dietary fibre and environmental temperature on the development of the gastrointestinal tract, digestibility, degree of fermentation in the hind-gut and energy metabolism in pigs." *British Journal of Nutrition* **75**(03): 365-378.
- KakaoV (2003). Verordnung über Kakao- und Schokoladenerzeugnisse (Kakaoverordnung), Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Richtlinie 2000/36/EG. [http://www.gesetze-im-internet.de/kakaov\\_2003/BJNR273800003.html](http://www.gesetze-im-internet.de/kakaov_2003/BJNR273800003.html), Seite 6.
- Karlsson, K.A. (1995). "Microbial recognition of target-cell glycoconjugates." *Current Opinion in Structural Biology* **5**(5): 622-635.
- Kashyap, D.R., Vohra, P.K., Chopra, S. & Tewari, R. (2001). "Applications of pectinases in the commercial sector: a review." *Bioresource Technology* **77**(3): 215-227.
- Kass, M.L., van Soest, P.J. & Pond, W.G. (1980). "Utilization of dietary fiber from alfalfa by growing swine. 2. Volatile fatty acid concentrations in and disappearance from the gastrointestinal tract." *Journal of Animal Science* **50**(1): 192-197.
- Kim, H., Kim, H., Mosaddik, A., Gyawali, R., Ahn, K.S. & Cho, S.K. (2012). "Induction of apoptosis by ethanolic extract of mango peel and comparative analysis of the chemical constituents of mango peel and flesh." *Food Chemistry* **133**(2): 416-422.
- Kim, Y., Brecht, J.K. & Talcott, S.T. (2007). "Antioxidant phytochemical and fruit quality changes in mango (*Mangifera indica* L.) following hot water immersion and controlled atmosphere storage." *Food Chemistry* **105**(4): 1327-1334.
- Kirchgeßner, M. (2014): Tierernährung, 14. Auflage. Frankfurt am Main, DLG-Verlags-GmbH. - ISBN: 978-3-7690-0819-7.
- Kittiphoom, S. (2012). "Utilization of mango seed." *International Food Research Journal* **19**(4): 1325-1335.
- Krämer, C. (2014). Der Einfluss phytogener Futterzusatzstoffe auf die Nährstoffverdaulichkeit und Aktivität verschiedener intestinaler Enzyme sowie Expression von Nährstofftransportern bei Absetzferkeln. Berlin, Freie Universität Berlin, Dissertation, S. 97
- Kratchanova, M., Benemou, C. & Kratchanov, C. (1991). "On the pectic substances of mango fruits." *Carbohydrate Polymers* **15**(3): 271-282.
- Kreuzer, M., Machmüller, A., Gerdemann, M.M., Hanneken, H. & Wittmann, M. (1998). "Reduction of gaseous nitrogen loss from pig manure using feeds rich in easily-fermentable non-starch polysaccharides." *Animal Feed Science and Technology* **73**(1): 1-19.

- Kröger, S. (2009). Untersuchungen zur Bildung von Vitamin K2 durch die Intestinalflora des Hundes. Berlin, Freie Universität Berlin, S. 122
- Kukkonen, M., Raunio, T., Virkola, R., Lähteenmäki, K., Mäkelä, P.H., Klemm, P., Clegg, S. & Korhonen, T.K. (1993). "Basement membrane carbohydrate as a target for bacterial adhesion: binding of type I fimbriae of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* to laminin." *Molecular Microbiology* **7**(2): 229-237.
- Ladero, V., Calles-Enriquez, M., Fernández, M. & Alvarez, M.A. (2010). "Toxicological effects of dietary biogenic amines." *Current Nutrition & Food Science* **6**(2): 145-156.
- Laerke, H.N., Hellwing, A.L.F., Bach Knudsen, K.E., Strarup, A. & Rolin, C. (2001): Isolated pectins vary in their functional properties in the gut of piglets. In: *Digestive Physiology of Pigs.* / Hrsg. J. E. Lindberg & B. Ogle. - Wallingford: CABI Publishing.- ISBN: 0-85199-517-9. 127-129.
- Landete, J.M. (2012). "Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **52**(10): 936-948.
- Langhout, D.J., Schutte, J.B., Van Leeuwen, P., Wiebenga, J. & Tamminga, S. (1999). "Effect of dietary high-and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks." *British Poultry Science* **40**(3): 340-347.
- Larrauri, J.A., Goñi, I., Martín-Carrón, N., Rupérez, P. & Saura-Calixto, F. (1996a). "Measurement of Health-Promoting Properties in Fruit Dietary Fibres: Antioxidant Capacity, Fermentability and Glucose Retardation Index." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **71**(4): 515-519.
- Larrauri, J.A., Rupérez, P., Borroto, B. & Saura-Calixto, F. (1996b). "Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization." *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie* **29**(8): 729-733.
- Larrauri, J.A., Rupérez, P. & Saura-Calixto, F. (1997). "Mango peel fibres with antioxidant activity." *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung* **205**(1): 39-42.
- Le Dividich, J. & Sève, B. (2000). "Effects of underfeeding during the weaning period on growth, metabolism, and hormonal adjustments in the piglet." *Domestic Animal Endocrinology* **19**(2): 63-74.
- Le Goff, G., Noblet, J. & Cherbut, C. (2003). "Intrinsic ability of the faecal microbial flora to ferment dietary fibre at different growth stages of pigs." *Livestock Production Science* **81**(1): 75-87.
- Lee, S.C., Prosky, L. & De Vries, J.W. (1992). "Determination of total, soluble, and insoluble dietary fiber in foods: Enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study." *Journal of AOAC International* (USA).
- Leijdekkers, A.G.M., Aguirre, M., Venema, K., Bosch, G., Gruppen, H. & Schols, H.A. (2014). "In vitro fermentability of sugar beet pulp derived oligosaccharides using human and pig fecal inocula." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **62**(5): 1079-1087.
- Leser, T.D., Amenuvor, J.Z., Jensen, T.K., Lindecrona, R.H., Boye, M. & Moller, K. (2002). "Culture-independent analysis of gut bacteria: the pig gastrointestinal tract microbiota revisited." *Applied and Environmental Microbiology* **68**(2): 673-690.
- Lindberg, J.E. (2014). "Fiber effects in nutrition and gut health in pigs." *Journal of animal science and biotechnology* **5**(1): 15.
- Lindermayer, H., Propstmeier, G. & Preißinger, W. (2009). Grundsätze der Schweinefütterung - Teil 1: Ernährungsphysiologische Grundlagen. Abgerufen am: 07.09.2015, 13:52 h, von [http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/ite/dateien/grunds\\_\\_tze\\_der\\_schweinef\\_\\_tterung.pdf](http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/ite/dateien/grunds__tze_der_schweinef__tterung.pdf)

- Liu, Y., Song, M., Che, T.M., Almeida, J.A.S., Lee, J.J., Bravo, D., Maddox, C.W. & Pettigrew, J.E. (2013). "Dietary plant extracts alleviate diarrhea and alter immune responses of weaned pigs experimentally infected with a pathogenic." *Journal of Animal Science* **91**(11): 5294-5306.
- Lizardo, R., Peiniau, J. & Aumaitre, A. (1997). "Inclusion of sugar-beet pulp and change of protein source in the diet of the weaned piglet and their effects on digestive performance and enzymatic activities." *Animal Feed Science and Technology* **66**(1): 1-14.
- Loeillet, D. (1994). "The European mango market: a promising tropical fruit." *Fruits* **49**(5/6): 332-334.
- Logan, R.P.H., Robins, A., Turner, G.A., Cockayne, A., Borriello, S.P. & Hawkey, C.J. (1998). "A novel flow cytometric assay for quantitating adherence of *Helicobacter pylori* to gastric epithelial cells." *Journal of Immunological Methods* **213**(1): 19-30.
- Longland, A.C., Carruthers, J. & Low, A.G. (1994). "The ability of piglets 4 to 8 weeks old to digest and perform on diets containing two contrasting sources of non-starch polysaccharide." *Animal Science* **58**(03): 405-410.
- Lopes da Silva, J.A. & Rao, M.A. (2006): Pectins: Structure, Functionality, and Uses. In: *Food Polysaccharides and Their Applications.* / Hrsg. A. M. Stephen & G. O. Phillips. - Taylor & Francis.- ISBN: 9781420015164. 354-397.
- Louis, P., Scott, K.P., Duncan, S.H. & Flint, H.J. (2007). "Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine." *Journal of Applied Bacteriology* **102**(5): 1197-1208.
- Lupton, J.R., Coder, D.M. & Jacobs, L.R. (1988). "Long-term effects of fermentable fibers on rat colonic pH and epithelial cell cycle." *Journal of Nutrition* **118**(7): 840-845.
- Macfarlane, G.T., Cummings, J.H. & Allison, C. (1986). "Protein degradation by human intestinal bacteria." *Journal of General Microbiology* **132**(6): 1647-1656.
- Macfarlane, G.T. & Macfarlane, S. (1993). "Factors affecting fermentation reactions in the large bowel." *Proceedings of the Nutrition Society* **52**(02): 367-373.
- Macfarlane, S. & Macfarlane, G.T. (2003). "Regulation of short-chain fatty acid production." *Proceedings of the Nutrition Society* **62**(1): 67-72.
- Mader, A. (2011). Biological effects of industrial plant residues in pigs. Wien, Veterinärmedizinische Universität Wien, Dissertation, S. 253
- Madhukara, K., Krishna, N., Raju, N.R. & Srilatha, H.R. (1993). "Ensilage of mango peel for methane generation." *Process Biochemistry* **28**(2): 119-123.
- Mahadevaswamy, M. & Venkataraman, L.V. (1990). "Integrated utilization of fruit-processing wastes for biogas and fish production." *Biological Wastes* **32**(4): 243-251.
- Mair, C., Pnitzner, C., Domig, K.J., Schedle, K. & Windisch, W. (2010). "Impact of inulin and a multispecies probiotic formulation on performance, microbial ecology and concomitant fermentation patterns in newly weaned piglets." *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **94**(5): e164-e177.
- Makris, D.P. & Rossiter, J.T. (2001). "Comparison of quercetin and a non-orthohydroxy flavonol as antioxidants by competing in vitro oxidation reactions." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**(7): 3370-3377.
- Malinen, E., Kassinen, A., Rinttilä, T. & Palva, A. (2003). "Comparison of real-time PCR with SYBR Green I or 5'-nuclease assays and dot-blot hybridization with rDNA-targeted oligonucleotide probes in quantification of selected faecal bacteria." *Microbiology* **149**(Pt 1): 269-277.

- Manzanilla, E.G., Perez, J.F., Martin, M., Kamel, C., Baucells, F. & Gasa, J. (2004). "Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs." *Journal of Animal Science* **82**(11): 3210-3218.
- Marounek, M., Brezina, P. & Baran, M. (2000). "Fermentation of carbohydrates and yield of microbial protein in mixed cultures of rabbit caecal microorganisms." *Archives of Animal Nutrition* **53**(3): 241-252.
- Martínez, G., Delgado, R., Pérez, G., Garrido, G., Núñez Sellés, A.J. & León, O.S. (2000). "Evaluation of the *in vitro* antioxidant activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang)." *Phytotherapy Research* **14**(6): 424-427.
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M.A., Figueroa, J.G., Pérez-Álvarez, J.A. & Viuda-Martos, M. (2012). "Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate." *Food Chemistry* **135**(3): 1520-1526.
- Masibo, M. & He, Q. (2008). "Major mango polyphenols and their potential significance to human health." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **7**(4): 309-319.
- Masibo, M. & He, Q. (2009). "Mango bioactive compounds and related nutraceutical properties—a review." *Food Reviews International* **25**(4): 346-370.
- Mata, Y.N., Blázquez, M.L., Ballester, A., González, F. & Muñoz, J.A. (2009). "Sugar-beet pulp pectin gels as biosorbent for heavy metals: preparation and determination of biosorption and desorption characteristics." *Chemical Engineering Journal* **150**(2): 289-301.
- Matsuki, T., Watanabe, K., Fujimoto, J., Miyamoto, Y., Takada, T., Matsumoto, K., Oyaizu, H. & Tanaka, R. (2002). "Development of 16S rRNA-gene-targeted group-specific primers for the detection and identification of predominant bacteria in human feces." *Applied and Environmental Microbiology* **68**(11): 5445-5451.
- Matsuki, T., Watanabe, K., Fujimoto, J., Takada, T. & Tanaka, R. (2004). "Use of 16S rRNA gene-targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in human feces." *Applied and Environmental Microbiology* **70**(12): 7220-7228.
- McBurney, M.I., Van Soest, P.J. & Chase, L.E. (1983). "Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibres." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **34**(9): 910-916.
- McDonald, D.E., Pethick, D.W., Pluske, J.R. & Hampson, D.J. (1999). "Adverse effects of soluble non-starch polysaccharide (guar gum) on piglet growth and experimental colibacillosis immediately after weaning." *Research in veterinary science* **67**(3): 245-250.
- Meister, E. (2004). Organic farming and the impact of fiber-related digestive processes in pigs, Georg-August-Universität zu Göttingen, Dissertation, S. 136
- Mercadante, A.Z. & Rodriguez-Amaya, D.B. (1998). "Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**(1): 128-130.
- Metzler, B.U., Mosenthin, R., Baumgärtel, T. & Rodehutschord, M. (2008). "The effect of dietary phosphorus and calcium level, phytase supplementation, and ileal infusion of pectin on the chemical composition and carbohydrase activity of fecal bacteria and the level of microbial metabolites in the gastrointestinal tract of pigs." *Journal of Animal Science* **86**(7): 1544-1555.
- Metzler, B.U., Vahjen, W., Baumgärtel, T., Rodehutschord, M. & Mosenthin, R. (2009). "Changes in bacterial populations in the ileum of pigs fed low-phosphorus diets

- supplemented with different sources of fermentable carbohydrates." *Animal Feed Science and Technology* **148**(1): 68-89.
- Michel, F., Thibault, J.F., Mercier, C., Heitz, F. & Pouillaude, F. (1985). "Extraction and Characterization of Pectins from Sugar Beet Pulp." *Journal of Food Science* **50**(5): 1499-1500.
- Miura, T., Ichiki, H., Hashimoto, I., Iwamoto, N., Kato, M., Kubo, M., Ishihara, E., Komatsu, Y., Okada, M., Ishida, T. & Tanigawa, K. (2001). "Antidiabetic activity of a xanthone compound, mangiferin." *Phytomedicine* **8**(2): 85-87.
- Mortensen, P.B. & Clausen, M.R. (1996). "Short-chain fatty acids in the human colon: relation to gastrointestinal health and disease." *Scandinavian Journal of Gastroenterology* **216**: 132-148.
- Mosenthin, R., Sauer, W.C. & Ahrens, F. (1994). "Dietary pectin's effect on ileal and fecal amino acid digestibility and exocrine pancreatic secretions in growing pigs." *Journal of Nutrition* **124**(8): 1222-1229.
- Muralikrishna, G. & Tharanathan, R.N. (1994). "Characterization of pectic polysaccharides from pulse husks." *Food Chemistry* **50**(1): 87-89.
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P.K. & Lal, J. (2005). "Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats." *Journal of Ethnopharmacology* **97**(3): 497-501.
- Nahm, K.H. (2003). "Influences of fermentable carbohydrates on shifting nitrogen excretion and reducing ammonia emission of pigs." *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **33**(2): 165-186.
- Namkung, H., Li J. Gong, M., Yu, H., Cottrill, M. & de Lange, C.F.M. (2004). "Impact of feeding blends of organic acids and herbal extracts on growth performance, gut microbiota and digestive function in newly weaned pigs." *Canadian Journal of Animal Science* **84**(4): 697-704.
- National Research Council (2005): *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients)*, Washington D.C., The National Academies Press. - ISBN: 9780309085250.
- Naumann, C. & Bassler, R. (2004): *Methodenbuch Band III Chemische Untersuchungen von Futtermitteln*, 3. Auflage, 5. Ergänzungslieferung. Darmstadt, VDLUFA-Verlag. - ISBN: 3-922712-76-2.
- Neeser, J.-R., Koellreutter, B. & Wuersch, P. (1986). "Oligomannoside-type glycopeptides inhibiting adhesion of *Escherichia coli* strains mediated by type 1 pili: preparation of potent inhibitors from plant glycoproteins." *Infection and Immunity* **52**(2): 428-436.
- Nisperos-Carriedo, M.O., Buslig, B.S. & Shaw, P.E. (1992). "Simultaneous detection of dehydroascorbic, ascorbic, and some organic acids in fruits and vegetables by HPLC." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **40**(7): 1127-1130.
- Noblet, J. & Le Goff, G. (2001). "Effect of dietary fibre on the energy value of feeds for pigs." *Animal Feed Science and Technology* **90**(1): 35-52.
- Noratto, G.D., Bertoldi, M.C., Krenek, K., Talcott, S.T., Stringheta, P.C. & Mertens-Talcott, S.U. (2010). "Anticarcinogenic effects of polyphenolics from mango (*Mangifera indica*) varieties." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**(7): 4104-4112.
- Núñez Sellés, A.J., Delgado-Hernández, R., Garrido-Garrido, G., García-Rivera, D., Guevara-García, M. & Pardo-Andreu, G.L. (2007). "The paradox of natural products as pharmaceuticals. Experimental evidences of a mango stem bark extract." *Pharmacological Research* **55**(5): 351-358.

- Núñez Sellés, A.J., Vélez Castro, H.T., Agüero-Agüero, J., González-González, J., Naddeo, F., De Simone, F. & Rastrelli, L. (2002). "Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as a nutritional supplement." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**(4): 762-766.
- Nyachoti, C.M., Omogbenigun, F.O., Rademacher, M. & Blank, G. (2006). "Performance responses and indicators of gastrointestinal health in early-weaned pigs fed low-protein amino acid-supplemented diets." *Journal of Animal Science* **84**(1): 125-134.
- Nzikou, J.M., Kimbonguila, A., Matos, L., Loumouamou, B., Pambou-Tobi, N.P.G., Ndangui, C.B., Abena, A.A., Silou, T., Scher, J. & Desobry, S. (2010). "Extraction and characteristics of seed kernel oil from mango (*Mangifera indica*)." *Research Journal of Environmental and Earth Sciences* **2**(1): 31-35.
- O'Neill, M., Albersheim, P. & Darvill, A. (1990): The Pectic Polysaccharides of Primary Cell Walls. In: *Methods in Plant Biochemistry*. / Hrsg. P. M. Dey & J. B. Harborne. - London: Academic Press Limited.- ISBN: 0124610129. 415 - 442.
- Ofek, I., Mirelman, D. & Sharon, N. (1977). "Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors." *Nature* **265**(5595): 623-625.
- Okorie, A.U., Buttery, P.J. & Lewis, D. (1977). "Ammonia concentration and protein synthesis in the rumen." *Proceedings of the Nutrition Society* **36**(1): 38A.
- Olano-Martin, E., Williams, M.R., Gibson, G.R. & Rastall, R.A. (2003). "Pectins and pectic-oligosaccharides inhibit *Escherichia coli* O157: H7 Shiga toxin as directed towards the human colonic cell line HT29." *FEMS Microbiology Letters* **218**(1): 101-105.
- Olano-Martin, E., Gibson, G.R. & Rastall, R.A. (2002). "Comparison of the in vitro bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides." *Journal of Applied Bacteriology* **93**(3): 505-511.
- Ornelas-Paz, J.d.J., Yahia, E.M. & Gardea-Bejar, A. (2007). "Identification and quantification of xanthophyll esters, carotenes, and tocopherols in the fruit of seven Mexican mango cultivars by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-time-of-flight mass spectrometry [LC-(APCI+)-MS]." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**(16): 6628-6635.
- Owusu-Asiedu, A., Patience, J., Laarveld, B., Van Kessel, A., Simmins, P. & Zijlstra, R. (2006). "Effects of guar gum and cellulose on digesta passage rate, ileal microbial populations, energy and protein digestibility, and performance of grower pigs." *Journal of animal science* **84**(4): 843-852.
- Pastuszewska, B., Kowalczyk, J. & Ochtabinska, A. (2000). "Dietary carbohydrates affect caecal fermentation and modify nitrogen excretion patterns in rats I. studies with protein-free diets." *Archives of Animal Nutrition* **53**(3): 207-225.
- Pedrolli, D.B., Monteiro, A.C., Gomes, E. & Carmona, E.C. (2009). "Pectin and pectinases: production, characterization and industrial application of microbial pectinolytic enzymes." *The Open Biotechnology Journal* **3**: 9-18.
- Pegg, A.E. (1986). "Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes." *Biochemical Journal* **234**(2): 249.
- Pegg, A.E. & McCann, P.P. (1982). "Polyamine metabolism and function." *American Journal of Physiology - Cell Physiology* **243**(5): C212-C221.
- Phatak, L., Chang, K.C. & Brown, G. (1988). "Isolation and Characterization of Pectin in Sugar-Beet Pulp." *Journal of Food Science* **53**(3): 830-833.
- Piattoni, F., Demeyer, D. & Maertens, L. (1997). "Fasting effects on in vitro fermentation pattern of rabbit caecal contents." *World Rabbit Science* **5**: 23-26.

- Pieper, R., Boudry, C., Bindelle, J., Vahjen, W. & Zentek, J. (2014). "Interaction between dietary protein content and the source of carbohydrates along the gastrointestinal tract of weaned piglets." *Archives of Animal Nutrition*: 1-18.
- Pieper, R., Janczyk, P., Zeyner, A., Smidt, H., Guiard, V. & Souffrant, W.B. (2008). "Ecophysiology of the developing total bacterial and *Lactobacillus* communities in the terminal small intestine of weaning piglets." *Microbial Ecology* **56**(3): 474-483.
- Pieper, R., Kröger, S., Richter, J.F., Wang, J., Martin, L., Bindelle, J., Htoo, J.K., von Smolinski, D., Vahjen, W., Zentek, J. & Van Kessel, A.G. (2012). "Fermentable fiber ameliorates fermentable protein-induced changes in microbial ecology, but not the mucosal response, in the colon of piglets." *Journal of Nutrition* **142**(4): 661-667.
- Pippen, E.L., McCreedy, R.M. & Owens, H.S. (1950). "Gelation Properties of Partially Acetylated Pectins." *Journal of the American Chemical Society* **72**(2): 813-816.
- Pirman, T., Ribeyre, M.C., Mosoni, L., Rémond, D., Vrecl, M., Salobir, J. & Patureau Mirand, P. (2007). "Dietary pectin stimulates protein metabolism in the digestive tract." *Nutrition* **23**(1): 69-75.
- Piva, A., Galvano, F., Biagi, G., Casadei, G., Mosenthin, R., Zentek, J. & Żebrowska, T. (2006). "Intestinal fermentation: dietary and microbial interactions." *Biology of nutrition in growing animals*: 3-31.
- Pluske, J.R., Kim, J.C., McDonald, D.E., Pethick, D.W. & Hampson, D.J. (2001). "Non-starch polysaccharides in the diets of young weaned piglets." *The weaner pig. Nutrition and management*: 81-112.
- Pluske, J.R., Pethick, D.W., Durmic, Z., Hampson, D.J. & Mullan, B.P. (1999). "Non-starch polysaccharides in pig diets and their influence on intestinal microflora, digestive physiology and enteric disease." *Recent Advances in Animal Nutrition*: 189-226.
- Potkins, Z.V., Lawrence, T.L.J. & Thomlinson, J.R. (1991). "Effects of structural and non-structural polysaccharides in the diet of the growing pig on gastric emptying rate and rate of passage of digesta to the terminal ileum and through the total gastrointestinal tract." *British Journal of Nutrition* **65**(03): 391-413.
- Poulsen, M., Jensen, B.B. & Engberg, R.M. (2012). "The effect of pectin, corn and wheat starch, inulin and pH on in vitro production of methane, short chain fatty acids and on the microbial community composition in rumen fluid." *Anaerobe* **18**(1): 83-90.
- Prasanna, V., Yashoda, H.M., Prabha, T.N. & Tharanathan, R.N. (2003). "Pectic polysaccharides during ripening of mango (*Mangifera indica* L)." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83**(11): 1182-1186.
- Prohászka, L., Jayarao, B.M., Fábian, A. & Kovács, S. (1990). "The role of intestinal volatile fatty acids in the *Salmonella* shedding of pigs." *Journal of Veterinary Medicine, Series B* **37**(1- 10): 570-574.
- Prosky, L., Asp, N.-G., Schweizer, T., De Vries, J. & Furda, I. (1992). "Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods and food products: collaborative study." *Journal of AOAC International* **75**(2): 360-367.
- Prosky, L., Asp, N.-G., Schweizer, T.F., DeVries, J.W. & Furda, I. (1987). "Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study." *Journal - Association of Official Analytical Chemists* **71**(5): 1017-1023.
- Pulido, R., Bravo, L. & Saura-Calixto, F. (2000). "Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**(8): 3396-3402.
- Ramakrishna, B.S., Gee, D., Weiss, A., Pannall, P., Roberts-Thomson, I.C. & Roediger, W.E. (1989). "Estimation of phenolic conjugation by colonic mucosa." *Journal of Clinical Pathology* **42**(6): 620-623.

- Ramakrishna, B.S., Roberts-Thomson, I.C., Pannall, P.R. & Roediger, W.E. (1991). "Impaired sulphation of phenol by the colonic mucosa in quiescent and active ulcerative colitis." *Gut* **32**(1): 46-49.
- Rao, D.S., Ravi, A. & Yedukondalu, R. (2003). "Inclusion of Dried Mango (*Mangifera indica*) Peels in Finisher Rations of Pigs on Their Performance." *Indian Journal of Animal Nutrition* **20**(1): 120-123.
- Rechkemmer, G., Rönnau, K. & Engelhardt, W.V. (1988). "Fermentation of polysaccharides and absorption of short chain fatty acids in the mammalian hindgut." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **90**(4): 563-568.
- Rehman, Z.U., Salariya, A.M., Habib, F. & Shah, W.H. (2004). "Utilization of mango peels as a source of pectin." *Journal of the Chemical Society of Pakistan* **26**: 73-76.
- Reyes, L.F. & Cisneros-Zevallos, L. (2007). "Electron-beam ionizing radiation stress effects on mango fruit (*Mangifera indica* L.) antioxidant constituents before and during postharvest storage." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**(15): 6132-6139.
- Ribeiro, S.M.R., Queiroz, J.H., Queiroz, M.E.L.R., Campos, F.M. & Pinheiro Sant'Ana, H.M. (2007). "Antioxidant in mango (*Mangifera indica* L.) pulp." *Plant Foods for Human Nutrition* **62**(1): 13-17.
- Ribeiro, S.M.R. & Schieber, A. (2010): Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.). In: Bioactive Foods in Promoting Health. / Hrsg. R. R. Watson & V. R. Preedy. - San Diego: Academic Press.- ISBN: 978-0-12-374628-3. 507-523.
- Ridley, B.L., O'Neill, M.A. & Mohnen, D. (2001). "Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling." *Phytochemistry* **57**(6): 929-967.
- Rinttilä, T., Kassinen, A., Malinen, E., Krogus, L. & Palva, A. (2004). "Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR." *Journal of Applied Bacteriology* **97**(6): 1166-1177.
- Roe, B. & Brümmer, J.H. (1981). "Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of "Keitt" mangos." *Journal of Food Science* **46**(1): 186-189.
- Roediger, W.E. (1980). "Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man." *Gut* **21**(9): 793-798.
- Rolin, C. (1993): Chapter 10 - Pectin. In: Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives. / Hrsg. R. L. Whistler. - San Diego [u.a.]: Academic Press.- ISBN: 0127462538. 257-293.
- Russell, J.B., Sniffen, C.J. & van Soest, P.J. (1983). "Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria." *Journal of Dairy Science* **66**(4): 763-775.
- Saeed, A.R., Tinay, A.H. & Khattab, A.H. (1975). "Characterization of pectic substances in mango marc." *Journal of Food Science* **40**(1): 205-206.
- Salyers, A.A., West, S.E., Vercellotti, J.R. & Wilkins, T.D. (1977). "Fermentation of mucins and plant polysaccharides by anaerobic bacteria from the human colon." *Applied and Environmental Microbiology* **34**(5): 529-533.
- Sánchez, G.M., Re, L., Giuliani, A., Núñez Sellés, A.J., Davison, G.P. & León-Fernández, O.S. (2000). "Protective effects of *Mangifera indica* L. extract, mangiferin and selected antioxidants against TPA-induced biomolecules oxidation and peritoneal macrophage activation in mice." *Pharmacological Research* **42**(6): 565-573.
- Sato, T., Kawamoto, A., Tamura, A., Tatsumi, Y. & Futjii, T. (1992). "Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid) and mangiferin (a xanthonoid)." *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **40**(3): 721-724.

- Sauer, W.C. & Ozimek, L. (1986). "Digestibility of amino acids in swine: results and their practical applications. A review." *Livestock Production Science* **15**(4): 367-388.
- Schieber, A., Berardini, N. & Carle, R. (2003). "Identification of flavonol and xanthone glycosides from mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") peels by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**(17): 5006-5011.
- Schieber, A., Ullrich, W. & Carle, R. (2000). "Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **1**(2): 161-166.
- Schierack, P., Nordhoff, M., Pollmann, M., Weyrauch, K.D., Amasheh, S., Lodemann, U., Jores, J., Tachu, B., Kleta, S., Blikslager, A., Tedin, K. & Wieler, L.H. (2006). "Characterization of a porcine intestinal epithelial cell line for in vitro studies of microbial pathogenesis in swine." *Histochemistry and Cell Biology* **125**(3): 293-305.
- Schmidgall, J. & Hensel, A. (2002). "Bioadhesive properties of polygalacturonides against colonic epithelial membranes." *International Journal of Biological Macromolecules* **30**(5): 217-225.
- Schmidt, L.D., Kohrt, L.J. & Brown, D.R. (2008). "Comparison of growth phase on *Salmonella enterica* serovar Typhimurium invasion in an epithelial cell line (IPEC J2) and mucosal explants from porcine small intestine." *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* **31**(1): 63-69.
- Shah, N., Atallah, M.T., Mahoney, R.R. & Pellett, P.L. (1982). "Effect of dietary fiber components on fecal nitrogen excretion and protein utilization in growing rats." *Journal of Nutrition* **112**(4): 658-666.
- Sharon, N. (1987). "Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease." *FEBS Letters* **217**(2): 145-157.
- Shoaf, K., Mulvey, G.L., Armstrong, G.D. & Hutkins, R.W. (2006). "Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to tissue culture cells." *Infection and Immunity* **74**(12): 6920-6928.
- Simpson, B.K., Egyankor, K.B. & Martin, A.M. (1984). "Extraction, purification and determination of pectin in tropical fruits." *Journal of Food Processing and Preservation* **8**(2): 63-72.
- Singh, N.I., Dhuique-Mayer, C. & Lozano, Y. (2000). "Physico-chemical changes during enzymatic liquefaction of Mango pulp (cv. *Keitt*)." *Journal of Food Processing and Preservation* **24**(1): 73-85.
- Sirisakulwat, S., Nagel A., Sruamsiri P., Carle R. & Neidhart, S. (2008). "Yield and quality of pectins extractable from the peels of thai mango cultivars depending on fruit ripeness." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**(22): 10727-10738.
- Skjolaas, K.A., Burkey, T.E., Dritz, S.S. & Minton, J.E. (2006). "Effects of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium (ST) and Choleraesuis (SC) on chemokine and cytokine expression in swine ileum and jejunal epithelial cells." *Veterinary Immunology and Immunopathology* **111**(3): 199-209.
- Sogi, D.S., Siddiq, M., Greiby, I. & Dolan, K.D. (2013). "Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods." *Food Chemistry* **141**(3): 2649-2655.
- Song, Y., Liu, C. & Finegold, S.M. (2004). "Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children." *Applied and Environmental Microbiology* **70**(11): 6459-6465.
- Spitzer, F., Speiser, S., Vahjen, W. & Zentek, J. (2015). "Effect of different feed ingredients and additives on IPEC-J2 cells challenged with an enterotoxigenic *Escherichia coli* strain." *Cytotechnology*: 1-9.

- Sriamornsak, P. (2003). "Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review." *Silpakorn University International Journal* **3**(1-2): 206-228.
- Srirangarajan, A.N. & Shrikhande, A.J. (1977). "Characterization of mango peel pectin." *Journal of Food Science* **42**(1): 279-280.
- Stephen, A. & Cummings, J.H. (1979). "Water-holding by dietary fibre in vitro and its relationship to faecal output in man." *Gut* **20**(8): 722-729.
- Stoilova, I., Jirovetz, L., Stoyanova, A., Krastanov, A., Gargova, S. & Ho, L. (2008). "Antioxidant activity of the polyphenol mangiferin." *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry* **7**(13): 2706-2716.
- Strobel, H.J. & Russell, J.B. (1986). "Effect of pH and energy spilling on bacterial protein synthesis by carbohydrate-limited cultures of mixed rumen bacteria." *Journal of Dairy Science* **69**(11): 2941-2947.
- Sudhakar, D.V. & Maini, S.B. (2000). "Isolation and characterization of mango peel pectins." *Journal of Food Processing and Preservation* **24**(3): 209-227.
- Terao, J., Piskula, M. & Yao, Q. (1994). "Protective effect of epicatechin, epicatechin gallate, and quercetin on lipid peroxidation in phospholipid bilayers." *Archives of Biochemistry and Biophysics* **308**(1): 278-284.
- Teti, D., Visalli, M. & McNair, H. (2002). "Analysis of polyamines as markers of (patho) physiological conditions." *Journal of Chromatography B* **781**(1): 107-149.
- Thakur, B.R., Singh, R.K. & Handa, A.K. (1997). "Chemistry and uses of pectin - A review " *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **37**(1): 47-73.
- Thibault, J.-F., Lahaye, M. & Guillon, F. (1992): Physico-chemical properties of food plant cell walls. In: *Dietary fibre - a component of food.* / Hrsg. - Springer.- ISBN: 1447119304. 21-39.
- Thibault, J.F. & Ralet, M.C. (2001): Pectins, their origin, structure and functions. In: *Advanced dietary fibre technology.* / Hrsg. B. V. McCleary & L. Prosky. - Oxford: Blackwell Science Ltd.- ISBN: 0470999616. 367-378.
- Thurnham, D.I. (2007). "Bioequivalence of  $\beta$ -carotene and retinol." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **87**(1): 13-39.
- Trowell, H. (1974). "Definitions of fibre." *The Lancet* **303**(7856): 503.
- Trowell, H. (1976). "Definition of dietary fiber and hypotheses that it is a protective factor in certain diseases." *The American Journal of Clinical Nutrition* **29**(4): 417-427.
- USDA. (2014). United States Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 26 Abgerufen am: 30.07.2014 um 08:50 Uhr, von <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2318?manu=&fgcd=>
- van der Waaij, D., Berghuis-de Vries, J.M. & Lekkerkerk-van der Wees, J.E.C. (1971). "Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice." *Journal of Hygiene* **69**(03): 405-411.
- van Laere, K.M.J., Hartemink, R., Bosveld, M., Schols, H.A. & Voragen, A.G.J. (2000). "Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**(5): 1644-1652.
- van Soest, P.J. (1963a). "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content." *Journal - Association of Official Analytical Chemists* **46**(5): 825.

- van Soest, P.J. (1963b). "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin." *Journal - Association of Official Analytical Chemists* **46**: 829-835.
- van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. (1991). "Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition." *Journal of Dairy Science* **74**(10): 3583-3597.
- van Soest, P.J. & Wine, R.H. (1967). "Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents." *Journal - Association of Official Analytical Chemists* **50**(1): 50-55.
- Vasquez-Caicedo, A.L., Neidhart, S. & Carle, R. (2004). "Postharvest ripening behavior of nine Thai mango cultivars and their suitability for industrial applications." *Acta horticulturae* **645**: 617-625.
- Veda, S., Platel, K. & Srinivasan, K. (2007). "Varietal differences in the bioaccessibility of  $\beta$ -carotene from mango (*Mangifera indica*) and papaya (*Carica papaya*) fruits." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**(19): 7931-7935.
- Vernay, M. & Marty, J. (1984). "Absorption and metabolism of butyric acid in rabbit hind gut." *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **77**(1): 89-96.
- Vinci, G., Botrè, F., Mele, G. & Ruggieri, G. (1995). "Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation." *Food Chemistry* **53**(2): 211-214.
- Viswanath, P., Sumithra Devi, S. & Nand, K. (1992). "Anaerobic digestion of fruit and vegetable processing wastes for biogas production." *Bioresource Technology* **40**(1): 43-48.
- von Engelhardt, W., Bartels, J., Kirschberger, S., Meyer zu Duttingdorf, H.D. & Busche, R. (1998). "Role of short-chain fatty acids in the hind gut." *Veterinary Quarterly* **20 Suppl 3**: S52-59.
- von Engelhardt, W. & Breves, G. (2005): *Physiologie der Haustiere*, 2. Auflage. Stuttgart, Enke Verlag in MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co. KG. - ISBN: 9783830410393.
- Wang, J.F., Zhu, Y.H., Li, D.F., Wang, Z. & Jensen, B.B. (2004). "In vitro fermentation of various fiber and starch sources by pig fecal inocula." *Journal of Animal Science* **82**(9): 2615-2622.
- Whittington, F.M., Nute, G.R., Hughes, S.I., McGivan, J.D., Lean, I.J., Wood, J.D. & Doran, E. (2004). "Relationships between skatole and androstenone accumulation, and cytochrome P4502E1 expression in Meishan×Large White pigs." *Meat Science* **67**(4): 569-576.
- Wilfart, A., Montagne, L., Simmins, H., Noblet, J. & Van Milgen, J. (2007). "Effect of fibre content in the diet on the mean retention time in different segments of the digestive tract in growing pigs." *Livestock Science* **109**(1): 27-29.
- Willats, W.G.T., Knox, J.P. & Mikkelsen, J.D. (2006). "Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel." *Trends in Food Science & Technology* **17**(3): 97-104.
- Williams, B., Verstegen, M.W. & Tamminga, S. (2001). "Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health." *Nutrition Research Reviews* **14**(2): 207-227.
- Williams, B.A., Bosch, M.W., Awati, A., Konstantinov, S.R., Smidt, H., Akkermans, A.D.L., Verstegen, M.W.A. & Tamminga, S. (2005). "In vitro assessment of gastrointestinal tract (GIT) fermentation in pigs: Fermentable substrates and microbial activity." *Animal Research* **54**(3): 191-201.

- Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. & Kroismayr, A. (2008). "Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry." *Journal of Animal Science* **86**(14): E140-E148.
- Yapo, B., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B. & Paquot, M. (2007). "Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts." *Food Chemistry* **100**(4): 1356-1364.
- Yashoda, H.M., Prabha, T.N. & Tharanathan, R.N. (2005). "Mango ripening—chemical and structural characterization of pectic and hemicellulosic polysaccharides." *Carbohydrate Research* **340**(7): 1335-1342.
- Yokoyama, M.T., Tabori, C., Miller, E.R. & Hogberg, M.G. (1982). "The effects of antibiotics in the weanling pig diet on growth and the excretion of volatile phenolic and aromatic bacterial metabolites." *The American Journal of Clinical Nutrition* **35**(6): 1417-1424.
- Yoosook, C., Bunyapraphatsara, N., Boonyakiat, Y. & Kantasuk, C. (2000). "Anti-herpes simplex virus activities of crude water extracts of Thai medicinal plants." *Phytomedicine* **6**(6): 411-419.
- Zacharias, B., Kerler, A. & Drochner, W. (2004). "The influence of 5% and 10% dietary apple pectin on parameters of fermentation in faeces and caecal digesta of weaning pigs." *Archives of Animal Nutrition* **58**(2): 149-156.
- Zentek, J. (1996). "Cellulose, pectins and guar gum as fibre sources in canine diets." *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **76**: 36-45.
- Zentek, J., Ferrara, F., Pieper, R., Tedin, L., Meyer, W. & Vahjen, W. (2013). "Effects of dietary combinations of organic acids and medium chain fatty acids on the gastrointestinal microbial ecology and bacterial metabolites in the digestive tract of weaning piglets." *Journal of Animal Science* **91**(7): 3200-3210.
- Zervas, S. & Zijlstra, R.T. (2002). "Effects of dietary protein and fermentable fiber on nitrogen excretion patterns and plasma urea in grower pigs." *Journal of Animal Science* **80**(12): 3247-3256.
- Zhang, Q., Widmer, G. & Tzipori, S. (2013). "A pig model of the human gastrointestinal tract." *Gut Microbes* **4**(3): 193-200.
- Zhu, W.-Y., Williams, B.A., Konstantinov, S.R., Tamminga, S., De Vos, W.M. & Akkermans, A.D.L. (2003). "Analysis of 16S rDNA reveals bacterial shift during in vitro fermentation of fermentable carbohydrate using piglet faeces as inoculum." *Anaerobe* **9**(4): 175-180.

## 9 Anhang

**Tabelle 27: Zusammensetzung (g/L *aqua bidest.*) des für die Kurzzeitinkubation verwendeten PRAS-Puffers**

Bestandteile	g/L <i>aqua bidest.</i>
Cysteinhydrochlorid	5,0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Kaliumdihydrogenphosphat)	0,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (Di-Kaliumhydrogenphosphat)	0,5
NaHCO <sub>3</sub> (Natriumhydrogencarbonat)	5,0
NaCl (Natriumchlorid)	1,0
CaCl <sub>2</sub> x 2 H <sub>2</sub> O (Kalziumchlorid-Dihydrat)	0,1324
MgSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O (Magnesiumsulfat-Heptahydrat)	0,1
Resazurin	0,001

**Tabelle 28: Analyseergebnisse der Mangoschalen**

	cv. Kaew <sup>1</sup>	cv. Alphonso <sup>2</sup>
TS [g/kg uS]	-	954
Rohasche [g/kg TS]	-	49,9
Rohprotein [g/kg TS]	-	68,1
Rohfett [g/kg TS]	-	29,2
Rohfaser [g/kg TS]	-	158
AIS [g/100g TS]	26,6	19,3
Methylierungsgrad	66,4	-
Acetylierungsgrad	3,60	-
	[g/100g AIS]	
Stärke	5,90	3,18
Fucose	0,09	0,07
Rhamnose	1,33	1,55
Arabinose	1,95	1,75
Galaktose	15,5	10,2
Glukose	17,4	3,86
Xylose	0,91	0,37
Mannose	0,48	0,36
Galakturonsäure	36,3	49,9
Glucuronsäure	0,89	0,61
Uronsäure	37,1	50,6
Polyphenole [mg GAE/g TS]	-	44,5

<sup>1</sup> = nach Geerkens *et al.* (2015)

<sup>2</sup> = Weender-Analyse im Institut für Tierernährung, Freie Universität Berlin; die weiteren Ergebnisse aus dem Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, Fg. Technologie und Analytik pflanzlicher Lebensmittel, Universität Hohenheim

**Tabelle 29: Zusammensetzung (mmol/L *aqua bidest.*) der für die Langzeitinkubation verwendeten Pufferlösung**

Bestandteile	mmol/L <i>aqua bidest.</i>
NaCl (Natriumchlorid)	115,0
KCl (Kaliumchlorid)	10,0
MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O (Magnesiumchlorid-Hexahydrat)	2,5
CaCl <sub>2</sub> x 2 H <sub>2</sub> O (Calciumchlorid-Dihydrat)	2,5
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O (Natriumdihydrogenphosphat)	2,0
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Natriumsulfat)	1,0
NH <sub>4</sub> Cl (Ammoniumchlorid)	5,0
NaHCO <sub>3</sub> (Natriumhydrogencarbonat)	25,0

Bei der Herstellung des Puffers für die Langzeitinkubation wurde das Natriumhydrogencarbonat sehr langsam hinzugefügt. Das Calciumchlorid-Dihydrat wurde darüber hinaus in einem separaten Gefäß gelöst und zum Schluss der Pufferlösung hinzugegeben um eine gute Löslichkeit aller Bestandteile zu erzielen. Die Pufferlösung wurde für maximal zwei Tage auf Vorrat hergestellt.

**Tabelle 30: Verdünnungsstufen der Testmaterialien für die Infektionsversuche**

Substanz	Verdünnungen				
	1	2	3	4	5
Apfelpektin	1:1000	1:10.000	1:100.000	1:1.000.000	1:10.000.000
Mangoschale	1:100	1:1.000	1:10.000	1:100.000	1:1.000.000
Mangopektin	1:100	1:1.000	1:10.000	1:100.000	1:1.000.000
Phenolischer Extrakt der Mangoschale	1:100	1:1.000	1:10.000	1:100.000	1:1.000.000

**Tabelle 31: Pipettierschema der 24er Zellkulturplatte der mit pflanzlichem Extrakt behandelten und mit *E. coli* infizierten IPEC-J2-Zellen**

Nährmedium + <i>E. coli</i>	V 1 + <i>E. coli</i>	V 2 + <i>E. coli</i>	V 3 + <i>E. coli</i>	V 4 + <i>E. coli</i>	V 5 + <i>E. coli</i>
Nährmedium + <i>E. coli</i>	V 1 + <i>E. coli</i>	V 2 + <i>E. coli</i>	V 3 + <i>E. coli</i>	V 4 + <i>E. coli</i>	V 5 + <i>E. coli</i>
Nährmedium + <i>E. coli</i>	V 1 + <i>E. coli</i>	V 2 + <i>E. coli</i>	V 3 + <i>E. coli</i>	V 4 + <i>E. coli</i>	V 5 + <i>E. coli</i>
Nährmedium (nicht infiziert)	V 1 (nicht infiziert)	V 2 (nicht infiziert)	V 3 (nicht infiziert)	V 4 (nicht infiziert)	V 5 (nicht infiziert)

V = Verdünnung

**Tabelle 32: Zusammensetzung der Versuchsdiäten (Ferkelaufzuchtfutter I)**

Inhaltsstoffe g/kg	Gruppen				
	A	B	C	D	E
Optigrain*	296,7	283,9	270,3	283,9	270,3
Sojaextraktionsschrot (44 % XP)	175,8	177,0	178,4	177,0	178,4
Gerste	170,0	170,0	170,0	170,0	170,0
Weizen	125,0	125,0	125,0	125,0	125,0
Mais	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Magermilchpulver	81,0	81,0	81,0	81,0	81,0
Kohlensaurer Futterkalk	13,8	13,4	13,2	13,4	13,2
Mineralfutter**	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Monocalciumphosphat	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Sojaöl	9,0	11,0	13,5	11,0	13,5
L-Lysin-HCL	3,9	3,9	3,8	3,9	3,8
DL Methionin	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
L-Threonin	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
L-Typtophan	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Mangoschalen	-	10,0	20,0	-	-
Apfelpektin	-	-	-	10,0	20,0

\* 50 % Mais, 25 % Weizen, 25 % Gerste, gereinigt und wärmebehandelt;

\*\* Zusammensetzung pro kg Premix: 400000 U Vit. A; 40000 U Vit. D<sub>3</sub>; 8000 mg Vit. E ( $\alpha$ -Tocopherolacetat); 300 mg Vit. K<sub>3</sub>; 250 mg Vit. B<sub>1</sub>; 250 mg Vit. B<sub>2</sub>; 2500 mg Nikotinsäure; 400 mg Vit. B<sub>6</sub>; 2000  $\mu$ g Vit. B<sub>12</sub>; 25000  $\mu$ g Biotin; 1000 mg Pantothensäure; 100 mg Folsäure; 80000 mg Cholinchlorid; 5000 mg Zn (Zinkoxid); 1000 mg Cu (Kupfersulfat-pentahydrat); 2000 mg Fe (Eisencarbonat); 45 mg J (Calciumjodat); 30 mg Co (Cobalt- (II)-sulfat-heptahydrat); 35 mg Se (Natriumselenit); 130 g Na (Natriumchlorid); 55 g Mg (Magnesium oxid)

**Tabelle 33: Zusammensetzung der Versuchsdiäten (Ferkelaufzuchtfutter II)**

Inhaltsstoffe g/kg	Gruppen				
	A	B	C	D	E
Weizen	315,7	312,0	308,5	312,0	308,5
Gerste	300,0	300,0	300,0	300,0	300,0
Sojaextraktionsschrot (44 % XP)	200,8	202,5	204,0	202,5	204,0
Mais	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Optigrain*	20,0	10,0	-	10,0	-
Sojaöl	16,2	18,5	20,8	18,5	20,8
Kohlensaurer Futterkalk	14,0	13,6	13,4	13,6	13,4
Mineralfutter**	12,0	12,0	12,0	12,0	12,0
Monocalciumphosphat	11,0	11,2	11,2	11,2	11,2
Titanium(IV)-oxid	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
L-Lysin-HCL	3,5	3,4	3,3	3,4	3,3
DL Methionin	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
L-Threonin	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
L-Typtophan	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Mangoschalen	-	10,0	20,0	-	-
Apfelpektin	-	-	-	10,0	20,0

\* 50 % Mais, 25 % Weizen, 25 % Gerste, gereinigt und wärmebehandelt;

\*\* Zusammensetzung pro kg Premix: 400000 U Vit. A; 40000 U Vit. D<sub>3</sub>; 8000 mg Vit. E ( $\alpha$ -Tocopherolacetat); 300 mg Vit. K<sub>3</sub>; 250 mg Vit. B<sub>1</sub>; 250 mg Vit. B<sub>2</sub>; 2500 mg Nikotinsäure; 400 mg Vit. B<sub>6</sub>; 2000  $\mu$ g Vit. B<sub>12</sub>; 25000  $\mu$ g Biotin; 1000 mg Pantothensäure; 100 mg Folsäure; 80000 mg Cholinchlorid; 5000 mg Zn (Zinkoxid); 1000 mg Cu (Kupfersulfat-pentahydrat); 2000 mg Fe (Eisencarbonat); 45 mg J (Calciumjodat); 30 mg Co (Cobalt- (II)-sulfat-heptahydrat); 35 mg Se (Natriumselenit); 130 g Na (Natriumchlorid); 55 g Mg (Magnesium oxid)

**Tabelle 34: Zusammensetzung des Saugferkelbeifutters (Tag 24-28)**

Inhaltsstoffe	[g/kg]
Weizen	450,0
Sojaextraktionsschrot (44 % XP)	250,0
Magermilchpulver	120,0
Haferflocken	106,5
Mais	10,0
Kohlensaurer Futterkalk	12,0
Monocalciumphosphat	15,0
Mineralfutter*	13,0
Sojaöl	10,0
L-Lysin-HCL	3,0
DL Methionin	1,5

\* Zusammensetzung pro kg Premix: 400000 U Vit. A; 40000 U Vit. D<sub>3</sub>; 8000 mg Vit. E ( $\alpha$ -Tocopherolacetat); 300 mg Vit. K<sub>3</sub>; 250 mg Vit. B<sub>1</sub>; 250 mg Vit. B<sub>2</sub>; 2500 mg Nikotinsäure; 400 mg Vit. B<sub>6</sub>; 2000  $\mu$ g Vit. B<sub>12</sub>; 25000  $\mu$ g Biotin; 1000 mg Pantothenensäure; 100 mg Folsäure; 80000 mg Cholinchlorid; 5000 mg Zn (Zinkoxid); 1000 mg Cu (Kupfersulfat-pentahydrat); 2000 mg Fe (Eisencarbonat); 45 mg J (Calciumjodat); 30 mg Co (Cobalt- (II)-sulfat-heptahydrat); 35 mg Se (Natriumselenit); 130 g Na (Natriumchlorid); 55 g Mg (Magnesium oxid)

**Tabelle 35: Bewertungsschema zur Gesundheitsbeurteilung**

	Verhalten	Habitus	Entwicklungs- zustand	Ernährungs- zustand	Pflege- zustand	Konsistenz der Faeces
1	Apathisch	Ungestört	Kümmerer	Adipös	Gut	Diarrhoe
2	Matt	Ggr. Gestört	Alter und Rasse entsprechend	Gut	Mäßig	Größtenteils flüssig
3	Aufmerksam, ruhig	Mgr. gestört	Überentwickelt	Mäßig	Schlecht	Geformt, aber weich
4	Überregt	Hgr. Gestört	-	Schlecht	-	Geformt
5	Exzitation	-	-	Kachektisch	-	Geformt, hart

**Tabelle 36: Beurteilung des Gesundheitszustands aller Ferkel der verschiedenen Gruppen anhand des Bewertungsschemas für jede Versuchswoche (Mittelwert ± Standardabweichung)**

Bewertungs- parameter	Woche	Gruppen				
		A	B	C	D	E
Verhalten	Woche 1	3,03 ± 0,13	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
	Woche 2	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
	Woche 3	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
	Woche 4	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00
Habitus	Woche 1	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
	Woche 2	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
	Woche 3	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
	Woche 4	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Entwicklungs- zustand	Woche 1	1,97 ± 0,13	1,90 ± 0,28	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	1,97 ± 0,13
	Woche 2	2,00 ± 0,00	1,90 ± 0,28	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	1,97 ± 0,13
	Woche 3	1,97 ± 0,13	1,83 ± 0,36	2,00 ± 0,00	1,93 ± 0,26	1,97 ± 0,13
	Woche 4	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
Ernährungs- zustand	Woche 1	2,03 ± 0,13	2,00 ± 0,00	2,03 ± 0,13	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
	Woche 2	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
	Woche 3	2,00 ± 0,00	2,13 ± 0,35	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
	Woche 4	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00	2,00 ± 0,00
Pflegezustand	Woche 1	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
	Woche 2	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
	Woche 3	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
	Woche 4	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00
Konsistenz der Faeces	Woche 1	3,37 ± 0,48	3,50 ± 0,55	3,43 ± 0,68	3,46 ± 0,57	3,73 ± 0,53
	Woche 2	3,23 ± 0,37	3,47 ± 0,40	3,40 ± 0,34	3,40 ± 0,43	3,30 ± 0,41
	Woche 3	3,50 ± 0,42	3,27 ± 0,37	3,27 ± 0,37	3,50 ± 0,33	3,43 ± 0,42
	Woche 4	3,50 ± 0,41	3,55 ± 0,37	3,25 ± 0,26	3,65 ± 0,34	3,30 ± 0,35

**Herstellung verwendeter Lösungen zur Analyse kurzkettiger Fettsäuren:**

Standardlösung (0,5 mM) kurzkettiger Fettsäuren (SULPECO 4-6975 „Volatile Acids Standard Mix“)

SUPELCO Stammlösung (10 mM)	50 µl
Oxalsäure-Dihydrat	10 mg
<i>Aqua bidest.</i>	950 µl

Verdünnungslösung für Proben:

Herstellung einer Stammlösung (10 mM):

Hexansäure	250 µl
Oxalsäure-Dihydrat	2 g
<i>Aqua bidest.</i>	200 ml

Herstellung der Verdünnungslösung (0,5 mM):

Stammlösung	50 ml
Natriumazid	2,5 g
<i>Aqua bidest.</i>	1000 ml

Das Temperaturprogramm wurde wie folgt festgelegt:

Injektor-Temperaturprogramm: 100 °C; 0,02 min

150 °C; 0,5 min

250 °C; 2 min

90 °C

Ofen-Temperaturprogramm: 70 °C (Initialtemperatur); 0,5 min

140 °C; 1 min

190 °C; 3 min

**Herstellung der Lösungen für die Analyse des Laktatgehalts:**

Lösung A: 2,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung mit 2-Propanol

Kupfer-II-Sulfat	399 mg
2-Propanol	50,0 ml
<i>Aqua bidest.</i>	1000 ml

Lösung B: 0,5 mM Kupfer-II-Sulfat-Lösung

Kupfer-II-Sulfat	79,8 mg
<i>Aqua bidest.</i>	1000 ml

Lösung C: Carrez I

Zinkchlorid	17,0 g
<i>Aqua bidest.</i>	100 ml

Lösung D: Carrez II

Kaliumhexacyanoferrat (II)	15,0 g
<i>Aqua bidest.</i>	100 ml

**Tabelle 37: Verwendete Primer für die qPCR**

Detektierte Bakteriengruppen	Primer	Primersequenz (5' → 3')	C	Produktgröße	Ziel-Gen	Referenz
<i>Lactobacillus</i> Gruppe	Lac1-F	AGCAGTAGGGAATCTTCCA	0,4	341 bp	16s rDNA	Rinttilä <i>et al.</i> (2004)
	Lac2-R	CACCGCTACACATGGAG				
<i>E. coli/Hafnia/Shigella</i>	Entero-F	GTTAATACCTTTGCTCATTGA	0,4	340 bp	16s rDNA	Malinen <i>et al.</i> (2003)
	Entero-R	ACCAGGGTATCTAATCCTGTT				
<i>Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas</i>	BPP1	GGTGTCGGCTTAAGTGCCAT	0,4	140 bp	16s rDNA	Rinttilä <i>et al.</i> (2004)
	BPP2	CGGAYGTAAGGGCCGTGC				
Clostridien-Cluster I	CI-F1	TACCHRAGGAGGAAGCCAC	0,4	231 bp	16s rDNA	Song <i>et al.</i> (2004)
	CI-R2	GTTCTTCCTAATCTCTACGCAT				
<i>C. leptum</i> -Cluster IV	sg-Clept-F	GCACAAGCAGTGGAGT	0,6	239 bp	16s rDNA	Matsuki <i>et al.</i> (2004)
	sg-Clept-R3	CTTCCTCCGTTTTGTCAA				
<i>C. coccooides</i> -Cluster XIVa	g-Ccoc-F	AAATGACGGTACCTGACTAA	0,4	440 bp	16s rDNA	Matsuki <i>et al.</i> (2002)
	g-Ccoc-R	CTTTGAGTTTCATTCTTGCGAA				

F = Vorwärtsprimer; R = Rückwärtsprimer; C = Primerkonzentration [ $\mu$ M]

**Tabelle 38: Reaktionsbedingungen für die qPCR**

	n	<i>Lactobacillus</i> Gruppe	<i>E. coli/ Hafnia/Shigella</i>	<i>Bacteroides- Prevotella- Porphyromonas</i>	Clostridien- Cluster I	<i>C. leptum</i> - Cluster IV	<i>C. coccooides</i> - Cluster XIVa
Aktivierung	1	95 °C/15 min.	95 °C/15 min.	95 °C/15 min.	95 °C/15 min.	95 °C/15 min.	95 °C/15 min.
Denaturierung	40	95 °C/15 sec.	95 °C/15 sec.	95 °C/15 sec.	95 °C/30 sec.	95 °C/30 sec.	95 °C/30 sec.
Annealing Primermoleküle		58 °C/1 min.	55 °C/1 min.	55 °C/1 min.	63 °C/1 min.	60 °C/30 sec.	60 °C/30 sec.
Elongation der DNA-Fragmente		72 °C/1 min.	72 °C/1 min.	72 °C/1 min.	72 °C/1 min.	72 °C/30 sec.	72 °C/30 sec.
Schmelzkurvenanalytik	1	+	+	+	+	+	+

n = Anzahl der PCR Zyklen

**Tabelle 39: Mengenverhältnisse eines Reaktionsansatzes mit Brilliant II SYBR® Green Low ROX QPCR Master Mix für die qPCR**

	<b>Menge bei Primer- konzentration 0,4 µM</b>	<b>Menge bei Primer- konzentration 0,6 µM</b>
Brilliant II SYBR® Green Low ROX QPCR MasterMix	12,5 µl	12,5 µl
Forward Primer (10 µM)	1 µl	1,5 µl
Reverse Primer (10 µM)	1 µl	1,5 µl
Wasser, nuklease-frei, sterilfiltriert	9,5 µl	8,5 µl

## Publikationsverzeichnis

### 13. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

Wien - 29. April 2014

Brucker L., Geerkens C.H., Carle R. & Zentek J. (2014)

*In vitro*-Studie zur Eignung von getrockneten Mangoschalen (*Mangifera indica* L.) als Futtermittelzusatzstoff

In: Tagungsband des 13. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG, Seite 235-239

Herausgeber: Schwarz C., Kraft M., Gierus M.

Eigenverlag: Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Universität für Bodenkultur Wien

ISBN: 978-3-900932-16-9

### 69. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie

Göttingen - 10.-12.03.2015

Brucker, L.; Geerkens, C.H.; Carle, R.; Zentek, J. (2015)

Effect of dried mango peels on intestinal microbial metabolites in piglets

Wirkung von getrockneten Mangoschalen auf intestinale mikrobielle Metaboliten bei Ferkeln.

In: Proceedings of the Society of Nutrition Physiology – Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (Hrsg.)

Frankfurt: DLG-Verlag; 24, S. 49

ISBN: 978-3-7690-4108-8

### 14. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

Wien - 9. April 2015

Brucker L., Geerkens C.H., Carle R. & Zentek J. (2015)

Effect of dried mango peels on intestinal microbial metabolites in piglets

In: Tagungsband des 14. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG, Seite 105-106

Herausgeber: Schwarz C., Kraft M., Braach J., Gierus M.

Eigenverlag: Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie, Universität für Bodenkultur Wien

ISBN: 978-3-900932-22-0

## **Danksagung**

Zunächst möchte ich mich bei Prof. Dr. Jürgen Zentek für die Annahme als Doktorandin und die Überlassung des spannenden Themas sowie für die Unterstützung während der gesamten Zeit bedanken.

Bei dem Projektträger Innovationsförderung der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung möchte ich mich für die Förderung des Verbundprojekts: „Entwicklung innovativer pflanzlicher Futtermittelzusatzstoffe zur Verbesserung der Tiergesundheit und Effizienzsteigerung in der Produktion tierischer Lebensmittel“ bedanken.

Mein Dank geht dabei auch an die Herbstreith & Fox KG und die agro Food Solution GmbH, im Besonderen an Herrn Jürgen Sautter für die stets schnelle Versorgung mit Apfelpektin für die Versuche und für den freien Platz auf dem Messestand in Hannover für die Präsentation einiger Ergebnisse.

Mein Dank geht darüber hinaus an meine Projektpartner Erin Lau und Dipl.-LM-Ing. Christian Geerkens sowie an Prof. Dr. Reinhold Carle, Leiter des Fachgebiets Technologie und Analytik pflanzlicher Lebensmittel der Universität Hohenheim, für die erfolgreiche Zusammenarbeit in dem gemeinsamen Projekt.

Bedanken möchte ich mich besonders bei Prof. Dr. Klaus Männer für die Hilfe bei der Planung und Durchführung der Fütterungsversuche.

Bei Dr. Wilfried Vahjen möchte ich mich für die Unterstützung und hilfreichen Tipps während der gesamten Zeit bedanken.

Besonders bedanken möchte ich mich bei der hervorragenden technischen Assistenz durch Marita Eitinger, Petra Huck, Katharina Topp, Luisa Ebersbach, Anett Kriesten und Kirstie Fiedler. Vielen Dank für eure stetige Hilfsbereitschaft im Labor.

Mein herzlicher Dank geht an die Tierpfleger Corinna Schmidt, Ines Bebert, Chris Schulze und Sandra Fischer sowie Rainer Jokiel für die Hilfe bei der Versorgung meiner Ferkel.

Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Doktoranden des Instituts für Tierernährung für die Hilfsbereitschaft und die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre bedanken.

Der größte Dank gilt meinen Eltern, die mich immer in allem unterstützen und mir dadurch meinen bisherigen Weg und diese Arbeit ermöglicht haben.

# Lebenslauf

## Persönliche Angaben

---

Name Lisa Brucker  
Geburtsdatum 29.04.1987  
Geburtsort Bad Saulgau

## Akademischer Werdegang

---

07/2012 – heute **Promotion**  
Institut für Tierernährung  
Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin  
Titel der Doktorarbeit:  
„Untersuchungen zur Eignung von Mangoschalen (*Mangifera indica* L.)  
in der Tierernährung und deren Einfluss auf die zootecnische  
Leistung sowie verdauungsphysiologische und mikrobiologische  
Parameter bei Absetzferkeln“

10/2006 – 07/2011 **Studium der Agrarbiologie**  
Universität Hohenheim  
Abschluss: Diplom-Agrarbiologin (Dipl.-Agr.-Biol.)  
Titel der Diplomarbeit:  
„Feldstudie zum Einfluss verschiedener Selenquellen auf die Selen-  
versorgung der Milchkuh“

09/1997 – 06/2006 **Allgemeine Hochschulreife**  
Staufer-Gymnasium Pfullendorf  
Prüfungsfächer: Deutsch, Mathematik, Englisch, Religion, Biologie

## Berufserfahrung und Praktika

---

07/2012 – 09/2015 Institut für Tierernährung, Freie Universität Berlin  
Wissenschaftliche Mitarbeiterin (Promotion)

06/2010 – 09/2010 Bergophor Futtermittelfabrik Dr. Berger GmbH & Co. KG, Kulmbach  
Praktikum in der wissenschaftlichen Abteilung

06/2009 – 09/2009 Mlisha Nguni Stud, Farm Ombujondindi, Namibia  
Auslandspraktikum (Rinder- und Ziegenfarm)

Berlin, den 30.10.2015

---

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation eigenständig und nur unter der Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe. Die Arbeit lag bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vor.

Berlin, den 30.10.2015

Lisa Brucker