

Aus dem Institut für  
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwigs-Maximilians-Universität München

Geschäftsführender Vorstand:

Prof. Dr. H.-J. Gabius

Arbeit angefertigt unter der Leitung von

Prof. Dr. W.A. Rambeck

**Untersuchungen zum Einfluss Seltener Erd-Citrate auf  
Leistungsparameter beim Schwein und die ruminale Fermentation  
im künstlichen Pansen (RUSITEC)**

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

von  
Carmen Knebel  
aus  
Schramberg

München 2004

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle  
Referent: Prof. Dr. W.A. Rambeck  
Korreferent: Univ. Prof. Dr. W. Klee

Tag der Promotion: 23. Juli 2004

**Meinen Eltern**

**INHALTSVERZEICHNIS**

**INHALTSVERZEICHNIS ..... I**

**TABELLENVERZEICHNIS ..... V**

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS ..... VII**

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS ..... VIII**

**1. EINLEITUNG ..... 1**

**2. LITERATURÜBERSICHT ..... 3**

**2.1. LEISTUNGSFÖRDERER ..... 3**

    2.1.1. LEISTUNGSFÖRDERER MIT ANTIMIKROBIELLER WIRKUNG ..... 3

    2.1.2. STOFFE MIT WIRKUNG AUF DEN INTERMEDIÄRSTOFFWECHSEL ..... 4

    2.1.3. ALTERNATIVE LEISTUNGSFÖRDERER ..... 4

        2.1.3.1. PROBIOTIKA ..... 4

        2.1.3.2. PREBIOTIKA ..... 9

        2.1.3.3. SYMBIOTIKA ..... 11

        2.1.3.4. ORGANISCHE SÄUREN UND DEREN SALZE ..... 11

        2.1.3.5. ENZYME ..... 13

        2.1.3.6. PHYTOGENE WACHSTUMSFÖRDERER ..... 15

**2.2. SELTENE ERDEN ..... 19**

    2.2.1. STELLUNG IM PERIODENSYSTEM UND EINTEILUNG ..... 19

    2.2.2. GESCHICHTE ..... 19

    2.2.3. VORKOMMEN UND GEWINNUNG ..... 20

    2.2.4. PHYSIKALISCHE UND CHEMISCHE EIGENSCHAFTEN ..... 20

    2.2.5. BIOCHEMISCHE EIGENSCHAFTEN ..... 22

    2.2.6. TOXIZITÄT ..... 22

    2.2.7. VERWENDUNG ..... 24

    2.2.8. EINFLUSS AUF MIKROORGANISMEN ..... 25

    2.2.9. EINSATZ IN DER AGRARWIRTSCHAFT ..... 26

    2.2.10. EINSATZ IN DER TIERPRODUKTION ..... 28

2.2.11. MÖGLICHE WIRKUNGSMECHANISMEN.....	35
<b>2.3. DAS RUSITEC-SYSTEM .....</b>	<b>37</b>
<b>3. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. FÜTTERUNGSVERSUCH MIT SCHWEINEN .....</b>	<b>38</b>
3.1.1. VERSUCHSAUFBAU.....	38
3.1.2. VERSUCHSTIERE .....	38
3.1.3. TIERHALTUNG .....	39
3.1.4. FUTTER.....	39
3.1.4.1. FUTTERZUSAMMENSETZUNG .....	39
3.1.4.2. FÜTTERUNGSTECHNIK .....	43
3.1.5. UNTERSUCHTE PARAMETER .....	43
3.1.5.1. GESUNDHEITSTATUS .....	43
3.1.5.2. FUTTERAUFNAHME .....	43
3.1.5.3. GEWICHTSZUNAHME.....	44
3.1.5.4. FUTTERVERWERTUNG.....	44
3.1.5.5. BESTIMMUNG VON BLUTPARAMETERN .....	44
3.1.5.5.1. BLUTENTNAHME.....	44
3.1.5.5.2. BESTIMMUNG DER ALP IM SERUM .....	44
3.1.5.5.3. BESTIMMUNG DES ZINKGehALTES IM SERUM.....	45
3.1.5.6. BESTIMMUNG DES CALCIUMGehALTES DER KNOCHEN .....	47
3.1.5.7. BESTIMMUNG DES PHOSPHORGehALTES DER KNOCHEN.....	48
3.1.5.8. MIKROBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER DARMFLORA .....	49
<b>3.2. FERMENTATIONSVERSUCH MIT HILFE DER RUMEN SIMULATION TECHNIQUE (RUSITEC) .....</b>	<b>50</b>
3.2.1. VERSUCHSAUFBAU – RUMEN SIMULATION TECHNIQUE.....	50
3.2.2. VERSUCHSANORDNUNG .....	52
3.2.3. VORGEHEN .....	53
3.2.4. VERSUCHSRATIONEN UND FUTTERMITTEL .....	54
3.2.5. ANALYSEN .....	55
3.2.5.1. PROBENENTNAHME .....	55
3.2.5.2. PANSENSAFTUNTERSUCHUNG.....	55
3.2.5.3. GASMENGE .....	56

<b>4. ERGEBNISSE.....</b>	<b>58</b>
<b>4.1. FÜTTERUNGSVERSUCH MIT SCHWEINEN.....</b>	<b>58</b>
4.1.1. GESUNDHEITZUSTAND.....	58
4.1.2. LEISTUNGSPARAMETER.....	60
4.1.2.1. FUTTERAUFNAHME.....	60
4.1.2.2. GEWICHTSENTWICKLUNG.....	61
4.1.2.3. FUTTERVERWERTUNG.....	63
4.1.3. BLUTPARAMETER.....	64
4.1.3.1. ALP-KONZENTRATION.....	64
4.1.3.2. GEHALT AN ZINK IM SERUM.....	65
4.1.4. CALCIUM- UND PHOSPHORGEHALT DER KNOCHEN.....	66
4.1.5. MIKROBIOLOGIE DER DARMFLORA.....	67
<b>4.2. RUMEN SIMULATION TECHNIQUE.....</b>	<b>69</b>
4.2.1. PH-WERT.....	69
4.2.2. REDOXPOTENTIAL.....	71
4.2.3. AMMONIAK-GEHALT.....	73
4.2.4. FLÜCHTIGE FETTSÄUREN.....	75
4.2.4.1. GESAMTMENGE DER FFS.....	75
4.2.4.2. ACETAT.....	77
4.2.4.3. PROPIONAT.....	79
4.2.4.4. BUTYRAT.....	81
4.2.4.5. ISO-BUTYRAT.....	83
4.2.4.6. VALERIANAT.....	84
4.2.4.7. ISO-VALERIANAT.....	86
4.2.5. GASMENGE.....	88
<b>5. DISKUSSION.....</b>	<b>89</b>
<b>5.1. FÜTTERUNGSVERSUCH MIT SCHWEINEN.....</b>	<b>89</b>
5.1.1. GESUNDHEITSTATUS.....	89
5.1.2. FUTTERAUFNAHME.....	90
5.1.3. GEWICHTSZUNAHME.....	92
5.1.4. FUTTERVERWERTUNG.....	93
5.1.5. AKTIVITÄT DER ALP IM SERUM.....	94
5.1.6. ZINKGEHALT IM SERUM.....	96

5.1.7. CALCIUM- UND PHOSPHORGEHALT DER KNOCHEN .....	96
5.1.8. MIKROBIOLOGISCHE UNTERSUCHUNG DER DARMFLORA .....	97
<b>5.2. FERMENTATIONSVERSUCH MIT HILFE DES RUSITEC .....</b>	<b>99</b>
5.2.1. PH-WERT .....	99
5.2.2. REDOXPOTENTIAL .....	100
5.2.3. AMMONIAK-GEHALT .....	102
5.2.4. GEHALT AN FLÜCHTIGEN FETTSÄUREN .....	102
5.2.5. GASMENGE .....	106
5.2.6. SCHLUSSFOLGERUNG.....	107
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>108</b>
<b>7. SUMMARY.....</b>	<b>110</b>
<b>8. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>112</b>
<b>9. ANHANG.....</b>	<b>145</b>
<b>10. DANKSAGUNG.....</b>	<b>146</b>
<b>11. LEBENS LAUF .....</b>	<b>147</b>

**TABELLENVERZEICHNIS**

TABELLE 1: ÜBERSICHT DER FÜR DIE JEWEILIGE TIERSPEZIES ZUGELASSENEN PROBIOTIKA NACH FUTTERMITTELRECHT (2004) .....	6
TABELLE 2: DURCHSCHNITTLICHE RELATIVE LEISTUNGSSTEIGERUNGEN IN PROZENT (MINIMUM BIS MAXIMUM) DURCH DEN EINSATZ VON PROBIOTIKA (NACH FREITAG <i>ET AL.</i> , 1999) .....	9
TABELLE 3: ÜBERSICHT ÜBER FUTTERENZYME UND IHRE WIRKUNG .....	15
TABELLE 4: VERSCHIEDENE IN DER LITERATUR ANGEGEBENE LEISTUNGSSTEIGERUNGEN DURCH PHYTOBIOTIKA .....	17
TABELLE 5: EIGENSCHAFTEN VON CALCIUM UND LANTHANOIDEN (NACH EVANS, 1990) .....	21
TABELLE 6: EFFEKTE VON REE BEI DER PRODUKTION VERSCHIEDENER FELDFRÜCHTE.....	26
TABELLE 7: EINSATZ VON REE IN DER CHINESISCHEN TIERPRODUKTION UND IHRE EFFEKTE .....	29
TABELLE 8: ÜBERSICHT DER ERGEBNISSE DES VERSUCHS VON XU <i>ET AL.</i> (1999) .....	31
TABELLE 9: ÜBERSICHT ÜBER WESTLICHE FÜTTERUNGSVERSUCHE BEI NUTZTIEREN UND DIE DABEI EINGESetzte REE-BINDUNGSFORM.....	34
TABELLE 10: FUTTERMITTELZUSAMMENSETZUNG DER BASISRATION .....	40
TABELLE 11: ZUSAMMENSETZUNG DER SPURENELEMENTE.....	41
TABELLE 12: ZUSAMMENSETZUNG DER VITAMINVORMISCHUNG .....	41
TABELLE 13: ZUSATZ AN SELTENEN ERDEN IN DEN EINZELNEN RATIONEN IN MG /KG FUTTER .....	42
TABELLE 14: GEHALT DER RATION AN CALCIUM, PHOSPHOR, NATRIUM, MAGNESIUM UND ESSENTIELLEN AMINOSÄUREN.....	42
TABELLE 15: ROHNÄHRSTOFF- UND ENERGIEGEGHALT DER BASISRATION .....	43
TABELLE 16: INKUBATION DER INGESTAPROBEN AUF SELEKTIVMEDIEN .....	49
TABELLE 17: VERSUCHSÜBERSICHT .....	52
TABELLE 18: VERSUCHSPHASEN UND MESSZEITPUNKTE .....	54
TABELLE 19: ZUSAMMENSETZUNG DER VERSUCHSRATIONEN .....	54
TABELLE 20: TROCKENSUBSTANZ UND ROHNÄHRSTOFFGEGHALT (BEZOGEN AUF TS) DER EINZELNEN FUTTERKOMPONENTEN .....	55
TABELLE 21: ÜBERSICHT ÜBER DIE ANZAHL DER AN DIARRHÖE ERKRANKTEN TIERE PRO GRUPPE .....	59
TABELLE 22: ERGEBNISSE DER PARASITOLOGISCHEN UND BAKTERIOLOGISCHEN UNTERSUCHUNG DER KOTPROBEN UND KOTTUPFER.....	59
TABELLE 23: DURCHSCHNITTLICHER FUTTERVERZEHR IN GRAMM PRO TIER UND TAG IN DEN EINZELNEN RATIONSGRUPPEN WÄHREND DES VERSUCHES (MW $\pm$ S) .....	60
TABELLE 24: DURCHSCHNITTLICHES KÖRPERGEWICHT IN KILOGRAMM (KG) PRO TIER DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN AN DEN TAGEN 0 BIS 38 (MW $\pm$ S) .....	61



TABELLE 25: DURCHSCHNITTLICHE TÄGLICHE GEWICHTSZUNAHMEN PRO TIER IN DEN EINZELNEN RATIONSGRUPPEN IM VERSUCHSZEITRAUM (MW ± S) .....	62
TABELLE 26: DURCHSCHNITTLICHE FUTTERVERWERTUNG (KG/KG) IN DEN EINZELNEN RATIONSGRUPPEN IM VERSUCHSZEITRAUM .....	63
TABELLE 27: DURCHSCHNITTLICHE AKTIVITÄT DER ALKALISCHEN PHOSPHATASE IM SERUM IN IU/L AN TAG 1, 15, 29 UND 41 (MW ± S).....	64
TABELLE 28: DURCHSCHNITTLICHER ZINKGEHALT (MG / KG) IM SERUM (MW ± S) AN TAG 1, 14, 29 UND 41.....	65
TABELLE 29: DURCHSCHNITTLICHEN CALCIUM- UND PHOSPHORGEHALTE IN GRAMM PRO KILOGRAMM KNOCHEN SOWIE DAS CALCIUM/PHOSPHORVERHÄLTNIS (MW ± S) .....	66
TABELLE 30: KEIMZAHLEN DER DUODENALINGESTAPROBEN.....	67
TABELLE 31: ÜBERSICHT DER DURCHSCHNITTLICHEN PH-WERTE IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM (MW ± S) .....	70
TABELLE 32: ÜBERSICHT DES DURCHSCHNITTLICHEN REDOXPOTENTIALS IN MV IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM (MW ± S) .....	72
TABELLE 33: ÜBERSICHT DES DURCHSCHNITTLICHEN AMMONIAK-GEHALTS IN MMOL/L IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM (MW ± S) .....	74
TABELLE 34: DURCHSCHNITTLICHE GESAMTKONZENTRATION DER FLÜCHTIGEN FETTSÄUREN IN MMOL/L IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	76
TABELLE 35: DURCHSCHNITTLICHE GESAMTKONZENTRATION VON ACETAT (MMOL/L) IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	78
TABELLE 36: DURCHSCHNITTLICHE GESAMTKONZENTRATION VON PROPIONAT (MMOL/L) IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	80
TABELLE 37: DURCHSCHNITTLICHE GESAMTKONZENTRATION VON BUTYRAT (MMOL/L) IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	82
TABELLE 38: DURCHSCHNITTLICHE GESAMTKONZENTRATION VON ISO-BUTYRAT (MMOL/L) IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	83
TABELLE 39: DURCHSCHNITTLICHE GESAMTKONZENTRATION VON VALERIANAT (MMOL/L) IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	85
TABELLE 40: DURCHSCHNITTLICHE GESAMTKONZENTRATION VON ISO-VALERIANAT (MMOL/L) IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	87
TABELLE 41: TÄGLICH GEBILDETE DURCHSCHNITTLICHE GASMENGE IN ML IN DEN VERSCHIEDEN RATIONIERTEN FERMENTERN (MW ± S).....	88

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

ABBILDUNG 1: DAS RUSITEC-SYSTEM .....	50
ABBILDUNG 2: DURCHSCHNITTLICHE TÄGLICHE FUTTERAUFNahme (G) PRO TIER IN DEN VERSCHIEDENEN RATIONSGRUPPEN WÄHREND DER EINZELNEN VERSUCHSWOCHEN .....	91
ABBILDUNG 3: DURCHSCHNITTLICHE TÄGLICHE GEWICHTSZUNAHME (G) IN DEN VERSCHIEDENEN RATIONSGRUPPEN WÄHREND DER EINZELNEN VERSUCHSWOCHEN.....	92
ABBILDUNG 4: DURCHSCHNITTLICHE FUTTERVERWERTUNG (KG/KG) IN DEN VERSCHIEDENEN RATIONSGRUPPEN WÄHREND DER EINZELNEN VERSUCHSWOCHEN.....	94
ABBILDUNG 5: DURCHSCHNITTLICHER ALP-GEHALT IM SERUM (IU/L) DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN AN DEN TAGEN 1, 15, 29 UND 41 .....	95
ABBILDUNG 6: VERLAUF DES DURCHSCHNITTLICHEN REDOXPOTENTIALS WÄHREND DER VERSUCHSPHASE ZU DEN ZEITPUNKTEN 0 H, 1 H, 2 H, 4 H UND 6 H .....	101
ABBILDUNG 7: DURCHSCHNITTLICHES REDOXPOTENTIAL DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCH ZUM ZEITPUNKT VOR DER FÜTTERUNG (0 H) .....	101
ABBILDUNG 8: DURCHSCHNITTLICHER AMMONIAK-GEHALT DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCH ZUM ZEITPUNKT VOR DER FÜTTERUNG (0 H) ....	102
ABBILDUNG 9: TÄGLICHER DURCHSCHNITTLICHER PROPIONAT-GEHALT (MMOL / L) DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM .....	104
ABBILDUNG 10: TÄGLICHER DURCHSCHNITTLICHER BUTYRAT-GEHALT (MMOL / L) DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM .....	104
ABBILDUNG 11: TÄGLICHER DURCHSCHNITTLICHER VALERIANAT-GEHALT (MMOL / L) DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM ZUM ZEITPUNKT 0 H .....	105
ABBILDUNG 12: TÄGLICHER DURCHSCHNITTLICHER ISO-VALERIANAT-GEHALT (MMOL / L) DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM.....	106
ABBILDUNG 13: TÄGLICH DURCHSCHNITTLICH PRODUZIERTE GASMENGE DER EINZELNEN RATIONSGRUPPEN ÜBER DEN GESAMTEN VERSUCHSZEITRAUM .....	107

**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
Abb.	Abbildung
ALP	Alkalische Phosphatase
ALT	Alanin-Amino-Transferase
AML	antimikrobielle Leistungsförderer
AST	Aspartat-Amino-Transferase
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
Ca	Calcium
Ce	Cer
d	Tag
DLG	Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft
E.coli	Escherichia coli
EG	Eigewicht
et al.	und Mitarbeiter
ETEC	enterotoxische E.coli
EU	Europäische Union
Fa.	Firma
FMR	Futtermittelrecht
FFS	Flüchtige Fettsäuren
FV	Futtermittelrecht
g	Gramm
GH	Growth Hormon (Wachstumshormon)
GZ	Gewichtszunahme
h	Stunde
häm.	hämolyisierend
Hrsg.	Herausgeber
Ig	Immunglobulin
IU	International Units (Internationale Einheiten)
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
KBE	Kolonien bildende Einheit

kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
l	Liter
LD <sub>50</sub>	mittlere letale Dosis
LR	Legerate
mg	Milligramm
MJ	Megajoule
mV	Millivolt
mm	Millimeter
Mmol	Millimol
MW	Mittelwert
nm	Nanometer
NSP	Nicht-Stärke-Polysaccharide
ppm	parts per million
P	Phosphor
Ra	Rohasche
REE	Rare Earth Elements
Rfa	Rohfaser
Rfe	Rohfett
Rp	Rohprotein
RUSITEC	RumenSimulationTechnique
s	Standardabweichung
T <sub>3</sub>	Trijodthyronin
T <sub>4</sub>	Thyroxin
Tab.	Tabelle
Tetra	Tetrazyklin
TS	Trockensubstanz
Vit.	Vitamin

# 1. Einleitung

Antimikrobielle Leistungsförderer finden seit mehreren Jahrzehnten Einsatz in der Tierernährung. Jedoch stößt dieser Einsatz in der Tierhaltung seitens der Verbraucher, aber auch zunehmend seitens der Wissenschaft auf immer größer werdenden Widerstand. Dieser Widerstand, beziehungsweise die Verbote von und Verzicht auf antibiotische Leistungsförderer lassen das Interesse an alternativ einsetzbaren Futterzusätzen wachsen, die auf einem ähnlichen Niveau die Leistung der Nutztiere zu steigern vermögen, ohne dabei negativ auf die Resistenzentwicklung und die Rückstandsproblematik zu wirken und ökologisch vertretbar sind.

In China werden Seltene Erden seit mehreren Jahrzehnten zur Leistungs- und Ertragssteigerung in der Landwirtschaft eingesetzt. Zu den Seltenen Erden gehören 17 Übergangsmetalle aus der 3. Nebengruppe des Periodensystems. Dabei handelt es sich um die Elemente Lanthan, Scandium und Yttrium, sowie die Lanthanoide, welche die 14 auf das Lanthan folgenden Elemente darstellen. Zahlreiche in China durchgeführte Studien berichten von bemerkenswerten Leistungssteigerungen in allen Nutztierkategorien und der Pflanzenproduktion. Ausgehend von der Fragestellung, ob sich diese enormen Leistungssteigerungen auch unter westlichen Bedingungen erzielen lassen, wurden in Deutschland einige Fütterungsstudien mit unterschiedlichen Gemischen von Seltenen Erden in den verschiedensten Nutztierkategorien durchgeführt. Teilweise konnten ebenfalls deutliche Leistungssteigerungen erzielt werden. Der genaue Mechanismus, der den durch Seltene Erden verursachten Leistungssteigerungen zugrunde liegt, ist dennoch unklar. Da es bisher nur wenige westliche Studien gibt und in unserer Arbeitsgruppe nur Seltene Erden in Chloridform eingesetzt wurden, sollte nun in der vorliegenden Dissertation erstmalig überprüft werden, welchen Effekt Seltene Erden in Citrat-Form auf Absatzferkel haben. Hierzu sollten im Rahmen eines Fütterungsversuches der Einfluss dieser organisch gebundenen Seltenen Erden auf verschiedene Leistungs-, Serum- und Knochenparameter bestimmt werden.

In den bisherigen westlichen Studien wurde nur der Einfluss von Seltenen Erden auf Schweine, Geflügel und Ratten untersucht. In der vorliegenden Arbeit sollte nun

erstmalig überprüft werden, ob ein Einsatz auch beim Wiederkäuer möglich ist und sich positive Effekte auf die ruminale Fermentation feststellen lassen. Zu diesem Zwecke sollte eine in vitro Studie an einem artifiziellen Pansen durchgeführt werden. Hierzu sollte die Rumen Simulation Technique (RUSITEC), eine semi-kontinuierliche Methode, die es ermöglicht Untersuchungen zur mikrobiellen Fermentation im Pansen unter kontrollierten in vitro Bedingungen durchzuführen, eingesetzt werden.

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1. Leistungsförderer**

Als Leistungsförderer im klassischen Sinn werden synthetisch (chemotechnisch) oder fermentativ (Sekundärstoffe von Mikroorganismen) hergestellte Stoffe bezeichnet, die bei leistungsgerechter Versorgung der Tiere mit allen essentiellen Nährstoffen den Futtermittelverbrauch für die Erzeugung von Nahrungsmitteln tierischer Herkunft, wie Milch, Fleisch, Eier und Wolle, verringern (GREIFE und BERSCHAUER, 1988).

Die verschiedenen Leistungsförderer können hinsichtlich ihrer Wirkungsweise unterschieden werden. Dabei kann zwischen Stoffen mit vorwiegend antimikrobieller Wirkung, Substanzen mit Wirkung auf den Intermediärstoffwechsel und sogenannten „Alternativen Leistungsförderern“ differenziert werden.

#### **2.1.1. Leistungsförderer mit antimikrobieller Wirkung**

Antimikrobielle Leistungsförderer (AML) wurden über 50 Jahre lang erfolgreich in der Tierproduktion angewendet. Aufgrund der sensationellen Leistungssteigerungen fanden AML schnell weite Verbreitung, wobei ursprünglich in der Tierernährung die gleichen Substanzen wie in der Therapie von Mensch und Tier eingesetzt wurden (WANNER, 1999). Die deutliche Zunahme resistenter Bakterienstämme und die wenig später gemachte Entdeckung der Übertragbarkeit von Resistenzen (WATANABE, 1963) führten zu den Empfehlungen des Swann-Reports (1969), nur solche Stoffe als Leistungsförderer zu verwenden, welche keine oder nur geringe therapeutische Bedeutung haben und nicht zu Kreuzresistenzen mit therapeutisch eingesetzten Antibiotika führen. Die Ausbreitung multiresistenter human- und tierpathogener Bakterien während der letzten Jahre hat die Diskussion über die Risiken jeglichen Einsatzes antibiotischer Wirkstoffe generell neu belebt. Bereits 1999 wurde die Zulassung von sechs antimikrobiellen Leistungsförderern durch den Agrarministerrat der EU widerrufen. Gründe waren die nicht auszuschließende

Gefahr einer Resistenzentwicklung bei humanpathogenen Keimen und toxikologische Bedenken bei den Chemobiotika Carbadox und Olaquinox (KAMPHUES, 1999). Am 29.01.2001 einigten sich die 15 Agrarminister der EU-Mitgliedstaaten in Brüssel auf ein gänzlich Verbot von Leistungsförderern bis spätestens 2006. Ziel der aktuellen Agrarpolitik ist die Minimierung von Antibiotika in der Tierhaltung. Zur Zeit sind nur noch die vier antibiotischen Leistungsförderer Avilamycin, Flavophospholipol, Monensin und Salinomycin in der Nutztierfütterung zugelassen davon drei in der Schweinehaltung. Die Zulassung von Avilamycin im Putenfutter wurde am 20. Februar 2003 durch den Rat jedoch um 10 Jahre verlängert. In der Schweiz ist bereits seit dem 1. Januar 1999 der Einsatz jeglicher antimikrobieller Leistungsförderer verboten. In Schweden besteht ein ähnliches Verbot schon seit 1986.

Aufgrund des baldigen gänzlichen Verbots von antimikrobiellen Leistungsförderern in der Nutztierhaltung wird auf eine eingehende Betrachtung dieses Themas verzichtet.

### **2.1.2. Stoffe mit Wirkung auf den Intermediärstoffwechsel**

Das Wachstum wird über den intermediären Stoffwechsel durch eine Vielzahl von Hormonen beeinflusst. Als Leistungsförderer werden **anabole Steroide**, wie Östrogen, Progesteron und Testosteron als natürliche, sowie Zeranol, Trenbolonacetat und Melengestrolacetat als synthetische Vertreter, **exogenes Somatotropin** und **Beta-Agonisten**, wie Cimaterol, Ractopamin und Clenbuterol eingesetzt. Da für den Einsatz von Hormonen zu Mastzwecken in der EU keine Zulassung besteht, wird von einer ausführlichen Behandlung dieses Themas abgesehen.

### **2.1.3. Alternative Leistungsförderer**

#### **2.1.3.1. Probiotika**

FULLER (1989) definierte Probiotika als lebende mikrobielle Futterzusätze, die eine vorteilhafte Wirkung auf das Wirtstier haben, indem sie das mikrobielle Gleichgewicht verbessern. Nach JANSEN und VAN DER WAAIJ (1995) sollten als Probiotika



solche Präparate gelten, welche das mikrobiologische und enzymatische Gleichgewicht auf Schleimhäuten verbessern oder Immunmechanismen stimulieren. Nach SALMINEN *et al.* (1999) sind Probiotika mikrobielle Zellpräparationen oder Komponenten von mikrobiellen Zellen, die einen positiven Effekt auf die Gesundheit und das Wohlbefinden des Wirtstieres haben. Diesen letzteren Definitionen nach wird jedoch nicht vorausgesetzt, dass Probiotika zwingenderweise im Gegensatz zu der Definition von FULLER (1989) lebend sein müssen. Im Gegensatz zu Antibiotika handelt es sich bei Probiotika nicht um mikrobielle Stoffwechselprodukte, die selektive Wirkung besitzen, sondern um Mikroorganismen, die aufgrund ihrer antagonistischen Eigenschaften bioregulativ in die Besiedlung des Verdauungstraktes eingreifen können (GEDEK, 1993; GEDEK, 1994).

Probiotika werden schon seit vielen Jahren in der Tierernährung eingesetzt. Ihr Einsatz wird über die EU-Richtlinie 70/524/EEC über Zusatzstoffe in der Tierernährung geregelt. Zugelassene Zusatzstoffe sind in Anlage 3 der Futtermittelverordnung vom 23. November 2000 (zuletzt aktualisiert am 9. Dezember 2003) aufgeführt. Danach sind 25 mikrobiologische Produkte zugelassen. Überwiegend handelt es sich dabei um Präparate mit Monokulturen. Die für die jeweiligen Tierspezies zugelassenen Bakterienarten können Tabelle 1 entnommen werden. Dabei handelt es sich nur um eine Übersicht der Spezies. Oft unterscheiden sich die zugelassenen Präparate nur durch unterschiedliche Stämme einer gleichen Spezies, die aus verschiedenen Kulturensammlungen stammen. Diese Zulassungen sind zeitlich befristet und unterliegen einer ständigen Revision.

Tabelle 1: Übersicht der für die jeweilige Tierart zugelassenen Probiotika nach Futtermittelrecht (2004)

Kulturen	Schwein		Rind		Geflügel		Kaninchen	
	Ferkel	Mast/Zucht	Kalb	Mast/Milch	Mast	Lege	Mast	Zucht
<i>Bacillus cereus var. toyoi</i>	+	+	+	+		+	+	+
<i>Bacillus licheniformis</i> u. <i>Bacillus subtilis</i> (1:1)	+	+	+		+			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	+	+	+			+	
<i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	+	+			
<i>Pediococcus acidilactici</i>	+	+			+			
<i>Enterococcus faecium</i> u. <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	+		+					
<i>Lactobacillus casei</i> u. <i>Enterococcus faecium</i>			+					
<i>Lactobacillus acidophilus</i>						+		
<i>Lactobacillus farciminis</i>	+							
<i>Streptococcus Infantarius</i> u. <i>Lactobacillus plantarum</i>			+					

Dem Tierfutter können Hefen (*Saccharomyces cerevisiae*), Sporenbildner (*Bacillus* spp.) und Darmbakterien (*Enterococcus faecium* und *Lactobacillus* spp.) mit der Absicht hinzugesetzt werden, die Futtermittelverwertung, die Wachstumsrate und die Diarrhöe-Vorbeugung zu verbessern (ZANI *et al.*, 1998; FULLER, 1999). Bei monogastrischen Nutztieren werden vorwiegend Milchsäurebakterien und Sporenbildner eingesetzt. Produkte aus Hefen werden dabei sowohl bei Monogastriern als auch bei Polygastriern verwendet.

Die Wirkmechanismen von Probiotika lassen sich generell in Interaktionen zwischen probiotischen Keimen und anderen Mikroorganismen, sowie in die Beeinflussung des Makroorganismus durch das Probiotikum gliedern (GÖRKE und LIEBLER-TENORIO, 2001).

Durch die Abgabe antibakterieller Substanzen durch probiotische Mikroorganismen, wie auch durch die Bildung von Säuren oder Bacteriozinen auf andere im Darm befindliche Mikroorganismen kann ein antagonistischer Effekt ausgeübt werden (FULLER und GIBSON, 1997). Milchsäurebakterien zum Beispiel sind im Stande, antimikrobiell wirksame Substanzen wie Acidolin, Acidophilin, Lactobacillin bzw. Lactocidin zu bilden (SANDINE, 1979; STEWART *et al.*, 1995).

Ein weiterer Mechanismus, der die Wirkungsweise von Probiotika erklären könnte, ist die sogenannte „Kompetitive Exklusion“. Dies bedeutet, dass durch die Besetzung von Anheftungsstellen der Glykokalyx mit den eingesetzten apathogenen Probiotika diese für eine Adhäsion von pathogenen Keimen nicht mehr zur Verfügung stehen (MURALIDHARA *et al.*, 1973). Die Probiotika erfüllen in diesem Fall eine Platzhalterfunktion (FLACHOWSKY und DAENICKE, 1996), denn viele Organismen werden, wenn sie nicht am Darmepithel haften können, durch die Darmperistaltik mit den Ingesta fortgetragen und somit verdrängt.

Neben der Konkurrenz um die Adhäsionsstellen wird noch eine weitere Konkurrenz, und zwar eine um Nährstoffe, beschrieben. Bakterien sind für ihr Wachstum auf Nährstoffe und Energie angewiesen. Diese können entweder exogener, dies entspricht vom Wirt aufgenommener Nahrung, oder endogener Herkunft, wie abgeschilferte Epithelzellen oder Zellexkretionen, sein. Obwohl die Auffassung, dass vor allem der Kampf um die Substrate die Zusammensetzung der Darmflora bestimmt, größtenteils akzeptiert wird, konnte die letztendliche Mitwirkung der

Nährstoffe noch nicht geklärt werden (OZAWA und FRETER, 1964; STEWART *et al.*, 1995).

Auch eine Immunmodulation durch Probiotika wird diskutiert (FULLER, 1989; ROTH, 1997). Durch Probiotika kann die IgA-Sekretion stimuliert, das Cytokinsekretionsmuster modifiziert, die antigenen Eigenschaften eines Allergens durch Proteolyse verändert, sowie die Darmpermeabilität normalisiert werden (ISOLAURI *et al.*, 1993; SUTAS *et al.*, 1996; ISOLAURI *et al.*, 2001). Nach STEWART *et al.* (1995) steigern von Probiotika gebildete Hemmstoffe die Wirksamkeit der Antikörper des Wirtes.

Letztendlich scheinen die Auswirkungen der Probiotika auf den Organismus genauso vielfältig wie ihre Wirkungsweisen zu sein. Nach Untersuchungen von ZANI *et al.* (1998) kann durch Zusatz von Probiotika die Durchfallrate bei Ferkeln um die Hälfte im Vergleich zur Kontrollgruppe reduziert werden. Auch beim Kalb kann durch Zugabe von *Lactobacillus* und *Streptococcus* die Diarrhöe-Inzidenz deutlich vermindert werden (FOX, 1988; ABU-TARBOUSH *et al.*, 1996). GÖRKE (2000) konnte überdies nach dreiwöchiger Verfütterung des apathogenen Sporenbildners *Bacillus cereus* var. *toyoi* eine signifikante Verlängerung der jejunalen Zotten feststellen. Ferner konnten einige Autoren eine Steigerung der Milchleistung bei Kühen verzeichnen (PIVA *et al.*, 1993; KUNG, *et al.*, 1997; WOHLT *et al.*, 1998).

FREITAG *et al.* (1999) fanden bei der Auswertung verschiedener Studien, bei denen probiotische Leistungsförderer eingesetzt wurden, verbesserte durchschnittliche Tageszunahmen sowie im Durchschnitt einen verringerten Futteraufwand pro Kilogramm Zuwachs (Tabelle 2). Die Effekte von Probiotika scheinen jedoch sehr variabel.

**Tabelle 2: Durchschnittliche relative Leistungssteigerungen in Prozent (Minimum bis Maximum) durch den Einsatz von Probiotika (nach Freitag et al., 1999)**

Probiotika	Tier	n	KGW-Zunahme	Futtermittelverzehr	Futtermittelverwertung
Milchsäurebakterien	Ferkel	9	+5,2 (-2,7 bis +24,3)	-0,2 (-4,7 bis +8,1)	-3,3 (0 bis -7,3)
	Mast-schwein	4	+4,5 (+3,0 bis +6,7)	-	-6,5 (-5,5 bis -7,1)
	Kalb	15	+5,2 (-5,3 bis +14,7)	+3,3 (-0,8 bis +14,4)	-1,5 (+3,6 bis -7,9)
Kultur- hefen	Mastrind	4	+1,7 (-4,3 bis +7,2)	+0,3 (-1,7 bis +2,3)	-0,8 (+7,6 bis -4,7)
Bacillus- Arten	Ferkel	11	+3,6 (-8,1 bis +13,6)	+2,8 (-9,0 bis +16,1)	-1,2 (+3,1 bis -3,8)
	Kalb	13	+6,4 (-0,6 bis +21,7)	-	-3,9 (+1,9 bis -7,6)
	Mastrind	5	-3,5 (+2,5 bis +5,1)	-	-

n = Anzahl der berücksichtigten Studien

### 2.1.3.2. Prebiotika

Der Begriff Prebiotika wurde zum ersten Mal von GIBSON und ROBERFROID (1995) verwendet. Sie definieren Prebiotika als unverdauliche Nahrungsbestandteile, die den Wirtsorganismus durch selektive Stimulation des Wachstums und/oder der Aktivität von einer Art oder bestimmten Anzahl im Kolon befindlicher Bakterien positiv beeinflussen. Unter Prebiotika werden heute verschiedene Kohlenhydrate wie Oligosaccharide, Polysaccharide, kleine Zuckeralkohole und Disaccharide verstanden. Sie können aufgrund ihrer spezifischen Bindungsform von den körpereigenen Verdauungsenzymen nicht gespalten und daher erst, je nach Kettenlänge und Zusammensetzung, im hinteren Dünndarm oder in nachgelagerten Intestinalabschnitten durch die Mikroflora verwertet werden.

Um als Futterzusatzstoff prebiotisch verwendet werden zu können, darf das Prebiotikum in den oberen Partien des Gastrointestinaltraktes weder hydrolysiert noch absorbiert werden. Weiterhin muss es ein selektives Substrat für eine eingeschränkte Zahl von Bakterien, die den Wirt positiv beeinflussen, darstellen, sowie die Darmflorazusammensetzung positiv beeinflussen und von der Flora metabolisiert werden (ROBERFROID, 1998). Anstelle der Zufuhr von lebenden Mikroorganismen, wie es bei Probiotika der Fall ist, kommt es durch die Zufütterung von Prebiotika zu einer spezifischen Förderung der bereits im Gastrointestinaltrakt vorhandenen anwesenden günstigen Bakterien. Bei der Fermentation entstehen kurzkettige Fettsäuren wie Acetat, Propionat und Butyrat. Dies führt zu einer pH-Wert-Senkung der Darmingesta und erzeugt somit ungünstige Bedingungen für andere Mikroorganismen (BUDDINGTON, 2001), die potentiell pathogen sein können, wie zum Beispiel E.coli, Clostridien oder Salmonellen.

Mit dem Ziel, die Gewichtszunahme und den Gesundheitsstatus von Nutztieren zu verbessern, werden in Japan Oligosaccharide schon seit Mitte 1980 dem Tierfutter hinzugesetzt (FISHBEIN *et al.*, 1988; MUL und PERRY, 1994). Einige Autoren berichten von einer verbesserten Wachstumsleistung (BOLDUAN *et al.*, 1993; BUDDINGTON, 2001) und einer verminderten Diarrhöe-Inzidenz unter Einsatz von Prebiotika. Andere Wissenschaftler jedoch können keine oder nur geringe Effekte in dieser Hinsicht zeigen (BREVES *et al.*, 2001; MIKKELSEN *et al.*, 2003). SCHOLZ-AHRENS *et al.* (2001) konnten eine Stimulation der Absorption und Retention von verschiedenen Mineralien wie Magnesium, Calcium und Eisen durch die Verabreichung von Prebiotika wie Inulin, Oligofruktose und Glucosacchariden zeigen. Bei der Verabreichung von Oligosacchariden an wachsende Schweine wurde eine Zunahme der Mukosadicke im Kolon festgestellt (BREVES *et al.*, 2001). WIEMER (1999) beschreibt einen Rückgang der Salmonellenprävalenz von Mastschweinen von 30 % bei Lactulosefütterung. Zudem konnten XU *et al.* (2003) bei Broilern, die ein mit Fructooligosacchariden supplementiertes Futter erhielten, signifikant erhöhte Tageszunahmen, verminderte E.coli-Zahlen in den Dünndarm- und Cecumsdigesta sowie eine Verlängerung der jejunalen und ilealen Mikrovilli nachweisen.

Ein wichtiger Punkt, auf den beim Einsatz von Prebiotika geachtet werden muss, ist die Dosierung, da es bei Überdosierungen zu Unverträglichkeitserscheinungen wie

Flatulenz und Diarrhöe kommen und dies letztendlich wiederum zu einer Leistungsminderung führen kann.

### **2.1.3.3. Symbiotika**

Unter Symbiotika versteht man die Kombination eines Probiotikum mit einem Prebiotikum. Dieser Begriff sollte aber nur verwendet werden, wenn das eingesetzte Substrat für die verwendeten Mikroorganismen verwertbar ist (SCHREZENMEIR und DE VRESE, 2001). Da das spezifische Substrat für den Mikroorganismenstamm schon verfügbar ist, kann das Überleben und Ansiedeln verbessert (COLLINS und GIBSON, 1999) und selektiv das Wachstum und der Stoffwechsel dieser den Wirtsorganismus positiv beeinflussenden Mikroorganismen stimuliert werden (GIBSON und ROBERFROID, 1995).

### **2.1.3.4. Organische Säuren und deren Salze**

Bei sogenannten organischen Säuren handelt es sich um Carbonsäuren. Sie bestehen aus einem Kohlenstoffgerüst mit einer über ein Alkyl gebundenen Carboxylgruppe. Ihr Vorkommen in der Natur ist weit verbreitet. Sie sind sowohl Bestandteil von Pflanzen als auch von tierischem Gewebe. Organische Säuren, insbesondere Ameisen- und Propionsäure, werden schon seit Jahrzehnten in der Tierernährung zur Konservierung der Futtermittel genutzt, um sie vor mikrobiellem Verderb zu schützen (MEIXNER und FLACHOWSKY, 1990; LÖWE, 1999). Futtermittelrechtlich betrachtet fallen organische Säuren unter der Bezeichnung „Konservierungsmittel“ in die Gruppe der Futterzusatzstoffe und sind als solche zugelassen. Des Weiteren werden die organischen Säuren nicht nur zu futtermitteltechnischen Zwecken wie der Konservierung, sondern auch zu nutritiven Zwecken eingesetzt. Organische Säuren verbessern die Wachstumsrate sowie den Futterverzehr (KIRCHGESSNER und ROTH-MAIER, 1975) und zeichnen sich durch eine verbesserte Futterverwertung aus (FALKOWSKI und AHERNE, 1984; KIRCHGESSNER und ROTH, 1976; EDMONDS *et al.*, 1985).

Nach KIRCHGESSNER und ROTH (1988) lassen sich drei Wirkungsbereiche organischer Säuren und ihrer Salze unterscheiden:

Im Futter führen sie zu einer Absenkung des pH-Wertes und der Säurebindungskapazität, welche den antimikrobiellen Effekt und die Konservierung des Futters erklären.

Im Verdauungstrakt führen sie durch die Ansäuerung ( nur bei Säureeinsatz) zu einer schnelleren Absenkung des pH-Wertes im Magen, der bei Absatzferkeln noch limitierte Kapazität zur Bildung von Säure besitzt. Es kommt zu einer vermehrten Aktivierung von Pepsinogen zu Pepsin, welche somit eine Förderung der Proteinverdauung zur Folge hat.

Auf den Stoffwechsel nehmen organische Säuren insofern Einfluss, als sie einen beträchtlichen Energiegehalt (z.B. Propionsäure mit 20,7 MJ/kg, Ameisensäure 5,6 MJ/kg) aufweisen, der vollständig metabolisiert wird und somit in die Energieberechnung der Ration miteinbezogen werden kann. Durch die antimikrobielle Wirkung kommt es außerdem zu einer Verminderung der bei dem mikrobiellen Proteinabbau entstehenden Stoffwechselprodukte wie Ammoniak und biogenen Aminen, welche den Stoffwechsel belasten und damit wachstumsdepressiv wirken können (ECKEL *et al.*, 1992b).

Besonders effektiv ist die Säurewirkung auf die Magenfunktion bei Jungtieren. Mischfutter besitzt eine hohe Säurebindungskapazität. Ohne Ansäuerung kann es bei Absatzferkeln und Fütterung von Mischfutter zu einer unzureichenden Durchsäuerung des Mageninhaltes und somit zu einer unvollständigen Verdauung der Nahrung kommen und unerwünschten Mikroorganismen eine Vermehrungsgrundlage geboten werden (EIDELSBURGER, 1998).

Zu den in der Schweinefütterung gebräuchlichsten organischen Säuren zählen Ameisen-, Essig-, Fumar-, Milch-, Propion-, Sorbin- und Zitronensäure sowie zum Teil auch deren Calcium-, Natrium- und Kaliumsalze (ROTH und WINDISCH, 2000).

Bei dem Einsatz von Monocarboxylsäuren zeigten Ameisen-, Milch- und Sorbinsäure eine ausgeprägte Verbesserung der täglichen Zunahmen (8 % bis 27 %), eine Steigerung der Futteraufnahme (7 % bis 16 %), sowie einen positiven Effekt auf die Futtermittelverwertung (1 % bis 9 %). Jedoch konnte bei Zusatz von Essig- und Propionsäure nur ein geringer oder gar kein Effekt gesehen werden (BOLDUAN *et al.*, 1988a; ECKEL *et al.*, 1992a; KIRCHGESSNER *et al.*, 1995; ROTH *et al.*, 1993). Unter den Di- und Tricarboxylsäuren zeigten vor allem die Zitronen- und die Fumarsäure einen eindeutig positiven Effekt auf die Tageszunahmen (12% bis 19 %),



den Futtermittelverzehr (5 % bis 10 %) und auch auf die Futtermittelverwertung (5 % bis 7 %) (BOLDUAN *et al.*, 1988b; BROZ und SCHULZE, 1987; KIRCHGESSNER und ROTH-MAIER, 1975; KIRCHGESSNER und ROTH, 1976). Nach ROTH und KIRCHGESSNER (1998) können Dosierungen von 4,5 % Zitronensäure, 2,0 % Fumarsäure, 1,2 % Ameisensäure, 1,6 % Milchsäure oder 2,0 % Sorbinsäure im Futter als optimal betrachtet werden.

Zwei Probleme erscheinen beim Einsatz von organischen Säuren in höheren Dosierungen. Zum einen kann die Palatabilität abnehmen, welches zu Futterablehnung führen kann (PARTANEN und MROZ, 1999). Zum anderen zeigt angesäuertes Futter korrosive Wirkung auf Zement und galvanisierten Stahl in Schweinestallungen. Zur Minimierung dieser Effekte sollte nach BEST (2000) die natürliche Pufferkapazität evaluiert werden, um die minimale effektive Säuremenge zu bestimmen und einsetzen zu können. Eine weitere Möglichkeit zur Verringerung der korrosiven Wirkung besteht darin, die Säure in einer Kapsel, die sich erst im vorderen Verdauungstrakt auflöst, zu verpacken (HEBELER *et al.*, 2000).

#### **2.1.3.5. Enzyme**

Die Effizienz der Verwertung vieler Futtermittel (v.a. Getreide) wird häufig durch das Vorhandensein von sogenannten Antinutritional Factors (ANFs) limitiert. Zu den ANFs gehören zum Beispiel Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP) (BEDFORD, 1995). Bei Nicht-Stärke-Polysacchariden handelt es sich um eine Stoffgruppe, die von Monogastriern nicht verwertet werden kann, da ihnen die zum Abbau erforderlichen Enzyme fehlen. Zu den NSP gehören v.a. die Zellulose sowie die (1-3)-, (1-4)-  $\beta$ -D-Glycane und Pentosane, die insbesondere in den Zellwänden des Endosperms von Gerste, Roggen und Weizen vorkommen. Nach HESSELMAN und ÅMAN (1986) sind  $\beta$ -Glycane die Hauptbestandteile in der Zellwand des Endosperms und der proteinreichen Aleuronschicht. (1-3)-, (1-4)-Glycane setzen sich aus  $\beta$ -glycosidisch verbundenen Glukosemolekülen zusammen und weisen neben den 1-4 zusätzliche 1-3 Bindungen auf. Pentosane bestehen hauptsächlich aus (1-4)- $\beta$ -Xylanketten (Hauptketten) und Arabinose-Einheiten (Nebenketten) und werden auch Arabinoxylane genannt. Pektine, eine weitere wichtige NSP-Fraktion, kommen v.a. in Nichtgetreide wie Soja, Raps und Sonnenblumen vor.

Die antinutritiven Eigenschaften der NSP haben verschiedene Ursachen. Unlösliche NSP kapseln als Zellwandkomponenten die Nährstoffe ein und bilden somit eine Barriere zwischen Verdauungsenzymen und Substraten. Dies wird als sogenannter Käfigeffekt bezeichnet (ÅMAN und GRAHAM, 1987; SCHURZ, 1997). Demzufolge können hochverdauliche Nährstoffe wie Proteine, Stärke und Fett nicht aufgeschlossen werden. MURRAY *et al.* (1977) konnten zeigen, dass die NSP-Fraktion in Futtermittel die Viskosität des Darmchymus erhöht. Dies beruht auf der Eigenschaft eines hohen Quell- und Wasserbindungsvermögens der NSP-Verbindungen (JEROCH, 1991). Auf Grund der erhöhten Viskosität kommt es zu einer reduzierten Durchmischung des Darminhaltes mit körpereigenen Enzymen und zu einer herabgesetzten Diffusion von Substraten (FENGLER und MARQUARDT, 1988) sowie zu einer verlangsamten Passagezeit der Digesta (BEDFORD und CLASSEN, 1992). Des Weiteren kann es durch die Verlangsamung der Digestapassage zu einer Verschiebung des mikrobiellen Artenspektrums und einer Zunahme der pathogenen Keime im Verdauungstrakt der Tiere kommen (BEDFORD und MORGAN, 1996; CLASSEN und BEDFORD, 1991; SIMON, 1997; VAHJEN *et al.*, 1998). Der erhöhte Wasseranteil im Gastrointestinaltrakt kann zu klebrigen Exkrementen, gefolgt von verschlechterter Stallhygiene und einem Anstieg der Mortalität führen (CHOCT *et al.*, 1996; CLASSEN *et al.*, 1985; ELWINGER und SÄTERBY, 1986; ELWINGER und TEGLÖF, 1991; THOMKE, 1972).

NSP-spaltende Enzyme können zu einer Steigerung der Verwertung vieler Futtermittel führen. Ihr Einsatz bezweckt nicht nur die Verfügbarmachung der NSP als Nährstoffe, sondern vielmehr die Beseitigung ihrer oben genannten antinutritiven Eigenschaften. Hierzu genügt ein partieller Abbau, also letztendlich ein Aufbrechen der polymeren Struktur. In den von HABERER und SCHULZ (1998) zusammengefassten Studien konnte durch Enzymzusatz in der Schweinefütterung die Futteraufnahme um 0,7 % bis 2,8% gesteigert werden. Offensichtliche Verbesserungen der Zunahmen konnten sowohl im Bereich der Vormast (4,2 % bis 10,5 %) wie auch im Bereich der Endmast (3,3 % bis 5,1 %) erzielt werden. Eine Reduktion des Futteraufwandes wurde sowohl in der Vormast (1,7 % bis 7,4%) als auch in der Endmast (2,4 % bis 3,3 %) verzeichnet. Zusammenfassend zeigten CHESSON und STEWART (2001) eine durch Enzymgabe verursachte abnehmende Diarrhöe-Inzidenz. Die in der Tierernährung vorwiegend eingesetzten NSP-spaltenden Enzyme sind Cellulase,  $\beta$ -Glucanase und Xylanase.

In der Schweine- und Geflügelfütterung wird schon seit langem ein weiteres Enzym, die Phytase eingesetzt. Rund zwei Drittel des pflanzlichen Phosphors sind als Phytat gebunden. Dies kann nur durch Phytase, die im Magen-Darmtrakt von Geflügel und Schweinen nicht vorkommt, gespalten und somit der Phosphor verfügbar gemacht werden. Bereits 1971 konnten NELSON *et al.* eine verbesserte Phosphorverwertung bei Hühnerküken infolge eines Phytasezusatzes zeigen. Dies führt zu einer Reduzierung der Phosphorausscheidung und somit zu einer verminderten Umweltbelastung.

Tabelle 3 stellt eine Übersicht über die in der Tierernährung eingesetzten Enzymgruppen, ihre Wirkung und ihren Haupteinsatz dar.

**Tabelle 3: Übersicht über Futterenzyme und ihre Wirkung**

<b>Enzym</b>	<b>Wirkung</b>	<b>Einsatzbereich</b>
<b>Amylasen</b>	Stärkeabbau zu Dextrin und Zucker	Getreide beim Absatzferkel
<b>Cellulasen</b>	Zelluloseabbau zu niedrigen Verbindungen und Zucker	Rohfaser in allen, besonders blatt- und stengelreichen Futtermitteln
<b>Glucanasen</b>	Glucanabbau zu Oligosacchariden und Glucose	Roggen und Gerste, v.a. bei Geflügel
<b>Pentosanasen</b>	Pentosanabbau	Roggen, Weizen und Gerste bei Schwein und Geflügel
<b>Phytasen</b>	Freisetzung des an Phytat gebundenen Phosphors	Phytatreiche Rationen (Getreide, Hülsen- und Ölf Früchte)
<b>Proteinasen</b>	Proteinabbau zu Peptiden und Aminosäuren	verschiedene Proteinfuttermittel

#### **2.1.3.6. Phyto gene Wachstumsförderer**

Bei den phyto genen Wachstumsförderern, die häufig auch als Phytobiotika bezeichnet werden, handelt es sich um eine Vielzahl natürlicher Stoffe pflanzlicher Herkunft. Hierzu zählen Produkte wie Kräuter, Gewürze bzw. deren Extrakte. Gemäß

dem geltenden EU-Futtermittelrecht gehören sie zu der Gruppe der „Aroma- und appetitanregenden Futterzusatzstoffe“, so dass sie derzeit zu diesem Zweck aus futtermittelrechtlicher Sicht uneingeschränkt eingesetzt werden können.

Ebenso vielfältig wie ihre pflanzlichen Inhaltsstoffe (Flavonoide, Terpene, Lignane, Sulfide, Polyphenole, Carotenoide, Cumarine, Saponine, Phytosterole, Curcumine, Phthalide) sind ihre Wirkungsweisen (CRAIG, 1999; CHANG, 2000).

Ätherische Öle können je nach Geschmack und Geruch die Akzeptanz des Futters verbessern und folglich die Futteraufnahme steigern. Des Weiteren kann die antioxidative Wirkung einiger ätherischer Öle Oxidationsprozesse im Futter verlangsamen oder sogar verhindern, welches die Erhöhung der Verdaulichkeit fetthaltiger Futtermittel zur Folge hat (JONES, 2001).

Indessen führen bittere und scharfe Substanzen verschiedener Kräuter und Gewürze zu einer erhöhten Speichel- und Magensaftproduktion. Aufgrund der bitteren Substanzen im Magen wird die Verdauung angeregt und die Gastrin- wie auch die Pankreassaftsekretion stimuliert sowie die Magen- und Darmperistaltik erhöht (MELLOR, 2000). Dabei nimmt die Aktivität der Amylase zu. Diese Effekte führen zu einer verbesserten Digestion der Nährstoffe wie Proteine und somit zu einer höheren Stickstoffretention, welches zu einer besseren Tageszuwachsrate führt (DEDL und ELSENWENGER, 2000).

Gleichermaßen ist es erwiesen, dass einige Extrakte antimikrobielle, immunstimulatorische und fungizide Wirkung besitzen (AURELI *et al.*, 1992; FARAG *et al.*, 1989; PASTER *et al.*, 1990; PAI und PLATT, 1995; WEISBURGER, 1999).

Es wurden eine ganze Reihe von Mechanismen, über die ätherische Öle ihre antimikrobielle Wirkung ausüben, festgestellt. Am häufigsten jedoch kommt es zur Zerstörung von Zellwandstrukturen. Diese Wirkung beeinträchtigt den Elektronentransport, die Ionengradienten, die Phosphorylierung und weitere enzymabhängige Reaktionen. Dies führt dazu, dass die betroffenen Bakterien ihre chemi-osmotische Kontrolle verlieren (ULTEE *et al.*, 1999; COX *et al.*, 2000; DORMAN und DEANS, 2000).

Zur immunstimulatorischen Wirkung der verschiedenen Phytobiotika ist bislang wenig an wissenschaftlich gesicherten Erkenntnissen zur Wirksamkeit verfügbar. TURNER *et al.* (2002) konnten für Knotentang (*Ascophyllum nodosum*) positive Effekte hinsichtlich der Aktivierung von porzinen Alveolarmakrophagen belegen.

Flavenoide, die in verschiedenen ätherischen Ölen vorkommen, weisen zudem eine immunstimulierende Wirkung durch Steigerung der Phagozytenaktivität auf (MELLOR, 2000).

Die leistungssteigernden Effekte jedoch, die bei verschiedenen pflanzlichen Stoffen beschrieben werden, fallen heterogen aus. In Tabelle 4 sind einige publizierte Versuche, bei denen verschiedene Phytobiotika zum Einsatz kamen, dargestellt. GÜNTHER und BOSSOW (1998) konnten unter Einsatz eines ätherischen Öls des „Organum vulgare“ eine Steigerung der Körpergewichtszunahme um 7,2 % und eine Verbesserung der Futtermittelverwertung von 9,1 % beobachten. Die weltweit in einer Vielzahl angebotenen Oreganoöle unterscheiden sich jedoch zum Teil erheblich in ihrer Zusammensetzung und somit auch zwangsläufig in ihrer Wirkung.

**Tabelle 4: Verschiedene in der Literatur angegebene Leistungssteigerungen durch Phytobiotika**

Substanz	Dosis	Tier	Effekte	Autor
Knoblauch	0,05%	Schwein	+ 8,4 % Wachstumsrate und Verbesserung der Futtermittelverwertung	JOST (1996)
Urtica dioica, Knoblauch, Agropyrum repens	5 %	Mast- schwein	Verbesserungen um 5-10% bei Futtermittelverwertung und Gewichtszunahmen	GRELA <i>et al.</i> (1998)
Oreganoöl	500 g / Tonne	Absatz- ferkel	+ 7,2 % Wachstumsrate 9,1 % verbesserte Futtermittelverwertung	GÜNTHER und BOSSOW (1998)
Sanguinaria canadensis		Schwein	Verbesserung der Mastleistung	HOPPENBROCK (1998)
Kräuterextrakte (Boerhavia diffusa, Andrographis paniculata, Eclipta alba, Phyllanthus niruri und Terminalia arjuna)		Schwein	+32% Wachstumsrate 5,1% verbesserte Futtermittelverwertung -15,8 % Mortalität	WHEELER <i>et al.</i> (1999)
Kräuterextrakte, pflanzliche und ätherische Öle		Schwein	Verbesserung der Futtermittelverwertung und Stickstoffretention	DEDL und ELSSSENWENGER (2000)

gefriergetrockneter Knoblauch und Zimtöl		Ferkel	geringe Verbesserung der Futtermittelverwertung und der Gewichtszunahme, reduzierte Mortalität	VAN DER PEET-SCHWERING und SWINKLELS (2000)
ätherische Öle (Oregano, Nelke, oder Kassia)		Absatzferkel	keine Unterschiede hinsichtlich Leistung	GOLLNISCH <i>et al.</i> (2001)
ätherische Öle (Nelke und Oregano/ Oregano und Kassia)	100 g / Tonne	Broilerküken	signifikant niedrigerer Futtermittelverzehr und Futteraufwand	HALLE (2001)
ätherische Öle (Oregano, Nelke, Piment, Zitronengras, Pfefferminze, Teebaum, Kassia)	100 g / Tonne	Absatzferkel	Verbesserung der Futtermittelverwertung um 2-7 % (signifikant bei Pfefferminze)	WALD <i>et al.</i> (2001)
ätherische Öle		Schwein	+ 5,6 % Gewichtszunahme und verbesserte Futtermittelverwertung	GEIER UND OSTER (2001)
chinesischer Rhabarber	0,25%	Absatzferkel	+ 17 % Gewichtszunahme + 32 % Futteraufnahme	STRAUB (2003)

## 2.2. Seltene Erden

### 2.2.1. Stellung im Periodensystem und Einteilung

Zu den Metallen der Seltenen Erden, die im Englischen Rare Earth Elements (REE) genannt werden, gehören die chemischen Elemente der 3. Gruppe des Periodensystems und die Lanthanoide. Dabei handelt es sich um die Elemente Scandium (Ordnungszahl 21), Yttrium (39) und Lanthan (57) sowie um die 14 auf das Lanthan folgenden Elemente Cer (58), Praseodym (59), Neodym (60), Promethium (61), Samarium (62), Europium (63), Gadolinium (64), Terbium (65), Dysprosium (66), Holmium (67), Erbium (68), Thulium (69), Ytterbium (70) und Lutetium (71). Man kann die Seltenen Erden weiter in die leichten, die auch als sogenannte Ceriterden bezeichnet werden, mit den Elementen Lanthan bis Gadolinium und in die schweren REE, die auch als Yttererden bezeichnet werden, mit Terbium bis Lutetium (einschliesslich Yttrium) einteilen. Jedoch wird in keine dieser Gruppen Scandium eingeschlossen (GSCHNEIDNER, 1978).

### 2.2.2. Geschichte

Entdeckt wurden die Seltenen Erden 1788 von dem finnischen Chemiker Gadolin in den „Yttererden“, einem Gemisch aus den schweren REE mit geringen Gehalten an leichten REE. 1803 fand der schwedische Chemiker Berzilius die „Ceriterden“, ein Gemisch aus den leichten REE mit geringen Gehalten an schweren REE. Erst Mitte des 19. Jahrhunderts erkannte man, dass es sich bei diesen „Erden“ um komplexe Gemische verschiedener chemischer Elemente handelt, die wegen ihrer grossen chemischen Ähnlichkeit nur schwer voneinander getrennt werden konnten.

Der Begriff „Seltene Erden“ ist eine eher unzutreffende Bezeichnung für diese Elemente. In der Tat sind Seltene Erden nicht so selten wie die Bezeichnung es annehmen lässt, da einige dieser Elemente häufiger in der Erdkruste vorkommen als Blei, Arsen oder Molybdän. Das seltenste Element der Seltenen Erden, das Thulium, kommt immer noch häufiger vor als Gold oder Platin. Eine Ausnahme hingegen stellt Promethium, welches nicht natürlich vorkommt, dar. Der Begriff „Erde“ wurde früher in

chemischem Sinne als Synonym für Oxyde verwendet. Die Seltenen Erden wurden in dieser Form entdeckt.

### **2.2.3. Vorkommen und Gewinnung**

Ungefähr 80 % der weltweiten Ressourcen von Seltenen Erden liegen in China, das auch den Hauptproduzent auf dem Weltmarkt darstellt, vor (BROWN *et al.*, 1990; PANG *et al.*, 2002). Bei REE handelt es sich um lithophile Elemente, d.h. sie kommen in der Natur an Sauerstoff gebunden (oxidisch, silikatisch, phosphatisch) vor. Gemäss der Oddo-Harkinschen Regel kommen die Elemente der REE mit gerader Ordnungszahl häufiger als die mit ungerader vor. In basischen Gesteinen kommen die REE dispers auf eine Vielzahl von Mineralien verteilt vor. In sauren Magmatiten und insbesondere in hydrothermalen Lösungen können sie allerdings in Nebengemengteilen stark bis in den Prozentbereich konzentriert sein. Über 200 Mineralien, die Lanthanoide enthalten, sind bekannt. Zur kommerziellen Gewinnung eignen sich jedoch nur wenige. Hohe REE-Anreicherungen sind in Alkaligesteinskomplexen und Karbonatiten zu finden. Vor allem die Minerale Bastnäsit und Monazit, in denen sich eine Anreicherung von leichten REE findet, sind von grossem wirtschaftlichem Interesse. Bastnäsit lässt sich überwiegend in China, den USA, Zaire und auf Madagaskar finden (BLUME, 2001). Aufgrund geringer Konzentrationen und hartem Begleitgestein ist die Gewinnung aus primären Monazitlagerstätten kaum rentabel. Aufgrund dessen nutzt man die durch Verwitterungsprozesse entstandenen sekundären Lagerstätten, die sogenannten Monazitsande, welche vorwiegend in Westaustralien, Südafrika, Brasilien, Indien, Malawi, der Türkei und den USA zu finden sind.

### **2.2.4. Physikalische und chemische Eigenschaften**

Aufgrund der sehr ähnlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften war es in der Vergangenheit sehr schwierig Seltene Erden voneinander zu trennen. Sie sind als Elemente silberfarben, ziemlich weich und liegen meistens in der hexagonal dichtesten Kugelpackung vor. Die grosse Ähnlichkeit der Eigenschaften ist ursächlich in der gleichen Besetzung der äusseren Elektronenhülle ( $5p^66s^2$ ) zu sehen. Die verschiedenen REE unterscheiden sich nur durch das Auffüllen der 4f-Niveaus. Sie



werden deshalb auch häufig als sogenannte f-Elemente bezeichnet. Infolge der Abschirmung durch die äußeren Elektronenhüllen nehmen die 4f-Niveaus nicht an chemischen Reaktionen teil. Einhergehend mit der Auffüllung der 4f-Niveaus nimmt die Anzahl der Protonen in den Atomkernen zu. Dies führt zu einer stärkeren Anziehung der Elektronenhüllen durch den jeweiligen Atomkern. Demzufolge kommt es zur Abnahme der Atom- und Ionenradien der REE mit steigender Ordnungszahl, was als *Lanthanidenkontraktion* bezeichnet wird (COTTON und WILKINSON, 1966). Normalerweise kommen die Lanthanoide als dreiwertige Kationen vor. Selten treten aber auch zweiwertige Formen von Sm, Eu, Tm und Yb sowie vierwertige von Ce, Pr, Nd, Tb, Dy und Ho auf (EVANS, 1990).  $\text{Sc}^{3+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$ ,  $\text{La}^{3+}$  und  $\text{Lu}^{3+}$  sind wegen ihrer abgeschlossenen Schalen diamagnetisch, während die restlichen Lanthanoid-Ionen Paramagnetismus aufweisen. Ausser  $\text{Ce}^{3+}$  und  $\text{Yb}^{3+}$  zeigen Lanthanoide sehr scharfe Absorptionsbanden im sichtbaren und ultravioletten Bereich.

Von den Seltenen Erden werden hauptsächlich ionische Bindungen eingegangen. Aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Eigenschaften und Ionenradien können Lanthanoidionen  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in vielen Strukturen isomorph ersetzen (BIRNBAUM *et al.*, 1970; EVANS, 1990). In Tabelle 5 sind die Haupteigenschaften von Lanthan- und Calciumionen im Vergleich dargestellt. Weder Calcium noch Lanthan zeigen signifikante kovalente Bindungen (EVANS, 1983). Jedoch können Seltene Erden auch Komplexverbindungen mit Komplexzahlen von 6 bis 12 ausbilden, wobei Chelatbindungen vorherrschen. In wässrigen Lösungen bildet sich um die Ionen der Seltenen Erden eine Hydrathülle aus (EVANS, 1990).

**Tabelle 5: Eigenschaften von Calcium und Lanthanoiden (nach EVANS, 1990)**

<b>Eigenschaft</b>	<b>Calcium</b>	<b>Lanthanoide</b>
Koordinationsnummer	6-12	6-12
Koordinationsgeometrie	hochflexibel	hochflexibel
Donoratompräferenz	O >> N >> S	O >> N >> S
Ionenradius ( )	1,00-1,18	0,86-1,22 <sup>a</sup>
Bindungsart	ionisch	ionisch
Diffusionskoeffizient	1,34	1,30 (La)
Stabilisierung im Kristalfeld	/	unwesentlich

a: abhängig von der Art

### 2.2.5. Biochemische Eigenschaften

Lanthanoide reagieren *in vitro* mit den verschiedensten Zellbestandteilen wie Nukleoproteinen, Plasmaproteinen, Aminosäuren, Phospholipiden, Enzymen, intermediären Metaboliten und inorganischen Phosphaten (DAS *et al.*, 1988). Die Beeinflussung biologischer Membranen durch Seltene Erden verläuft hauptsächlich über membran-assoziierte Enzyme und neuromuskuläre Funktionen. Obwohl Seltene Erden in der Lage sind an Membranproteine zu binden, können sie jedoch auch in gesunde Zellen eindringen (EVANS, 1990).

Zum Einen können Lanthan-Ionen die  $Mg^{2+}$ -ATPase und die Cholinesterase hemmen, zum Anderen jedoch die Kinase C aktivieren (WADKINS *et al.*, 1998). In Neuronen können  $La^{3+}$ ,  $Gd^{3+}$  und  $Lu^{3+}$  in Konzentrationen von 100 nMol bis 100  $\mu$ Mol zur direkten Freisetzung von Neurotransmittern führen (VACCARI *et al.*, 1999) oder die  $Ca^{2+}$ -abhängigen Mechanismen dieser Freisetzung blockieren (PRZYWARA *et al.*, 1992; VACCARI *et al.*, 1999). Des Weiteren sind Lanthanide im Stande, die  $Ca^{2+}$ -ATPase im Sarkoplasmatischen Retikulum der Skelettmuskelfasern zu hemmen (VAN DER LAARSE *et al.*, 1995).  $La^{3+}$  kompetitiert mit  $Ca^{2+}$  um Bindungsstellen der glatten intestinalen Muskulatur und hemmen somit deren Kontraktion (WEISS und GOODMAN, 1963). REE hemmen nicht nur die Kontraktion der glatten Muskulatur, sondern auch die der Muskulatur des Herzens (FAWZI und MCNEILL, 1985) und des Skelettmuskels (HOBER und SPAETH, 1914).

Weiterhin konnte eine Steigerung der Zellproliferation sowie eine Induktion der Apoptose unter Zugabe von Lanthanoiden beobachtet werden (SCHMIEDL *et al.*, 1995; WASSERMANN *et al.*, 1996; GREISBERG *et al.*, 2001). Der Mechanismus, der diesen beiden paradoxen Effekten zugrunde liegt, ist bis heute noch nicht geklärt. LIU *et al.* (2003) berichten über ein Anschwellen der Mitochondrien, über eine Zunahme der Membranfluidität und eine Abnahme des mitochondrialen Membranpotentials sowie über eine Freisetzung von Cytochrom c unter dem Einfluss von Seltenen Erden.

### 2.2.6. Toxizität

Die Seltenen Erden werden für Säugetiere nur als sehr geringgradig toxisch betrachtet (HALEY, 1979). Dabei hängt die Toxizität der REE sehr von der

Verabreichungsform ab und variiert mit Geschlecht und Spezies der Labortiere (BULMAN, 2003). Beispielsweise sind Ratten und Meerschweinchen weitaus empfindlicher als Mäuse. Seltene Erden werden nur in sehr geringem Maße (1 % bis 10 %) aus dem Gastrointestinaltrakt resorbiert (DURBIN, 1956; JI, 1985; EVANS, 1990). Die akute letale Dosis (g / kg) für verschiedene oral verabreichte Salze bei Ratten reicht von 10 für Lanthanacetat, über 4,5 für Lanthannitrat bis 2,5 für Neodymiumnitrat (HALEY, 1979).

Die Toxizität steigert sich wesentlich bei subkutaner, intramuskulärer, intraperitonealer und intravenöser Verabreichung. So beträgt die Verfügbarkeit von Seltenen Erden nach intravenöser Injektion nahezu 100 % und schon 10 bis 100 mg / kg führen zu einer LD<sub>50</sub> (EVANS, 1990). Bei einer akuten Intoxikation mit einer hohen Dosis an Seltenen Erden treten Ataxie, Krümmen, angestrengte Respiration, Zehenspitzenengang mit gekrümmtem Rücken und Sedation auf (ARVELA, 1977; HALEY, 1985). Die Ionen der Seltenen Erden verschwinden innerhalb eines Tages aus dem Blut, jedoch nicht aus den Organen, in denen sie länger verweilen. In der Leber erreicht der Gehalt an Europium und Dysprosium sein Maximum zwischen 8 und 24 Stunden und nimmt anschließend wieder stetig ab (NAKAMURA *et al.*, 1997). Bei intravenöser Verabreichung von REE-Chloriden konnten NAKAMURA *et al.* (1997) deren Akkumulation in der Leber (über 78 %), den Knochen und der Milz nachweisen. Ceriterden akkumulieren hauptsächlich in der Leber, während die Yttererden sich vorwiegend im Knochen ablagern. Eine i.v. Injektion von Seltenen Erden kann zur Bildung einer Fettleber führen (KYKER *et al.*, 1957, SNYDER *et al.*, 1959, 1960; MAGNUSSON, 1963). Nach einer Studie von EAPEN *et al.* (1996) lagert sich Cer wahrscheinlich in Organen mit einem Magnesiummangel, wie das Herz, ab. Dies kann möglicherweise als Ursache für eine kardiale Fibrose, die wiederum zu einer Kardiomyopathie führen kann, angesehen werden. KARTHA *et al.* (1998) konnten dies durch Verfütterung einer an Magnesium reduzierten Diät und gleichzeitigem Angebot von Cer-Chlorid-haltigem Wasser (1 g / L) nachvollziehen. Die Ausscheidung von REE erfolgt über den Urin, die Galle und über die Wand des Gastro-Intestinaltraktes (MAGNUSSON, 1963).

Von verschiedenen Autoren wird das Auftreten einer REE-bedingten Pneumoconiosis bei Arbeitern, wie Glas- oder Linsenpolierern und Filmvorfühern, die über eine längere Zeit Partikeln von REE exponiert waren und diese zwangsläufig inhaliert haben, berichtet. In diesen Personen akkumulierten große

Mengen von Seltenen Erden in Lunge, Leber, Niere und Nägeln (SABBIONI, 1982; SULOTTO *et al.*, 1986; NEMERY, 1990; WARING und WATTLING, 1990; PORRU *et al.*, 2000).

Nach einer i.p. Applikation von einer hohen Dosis Gadolinium in Ratten konnte anhand des Mikronukleus-Test und Knochenmarkszellen kein mutagenes Potential festgestellt werden (TORITSUKA *et al.*, 1999). Auch von JI (1985) konnten nach oraler Verabreichung von REE-Nitraten weder Hinweise auf einen teratogenen, noch auf einen mutagenen Effekt gefunden werden.

### **2.2.7. Verwendung**

Aufgrund ihrer vielfältigen Eigenschaften werden Seltene Erden in zahlreichen Industriezweigen eingesetzt. 42 % der gewonnenen Lantanoide werden in der Metallurgie verwendet. Aufgrund ihrer Reaktionsfreudigkeit mit Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel werden sie in diesem Bereich als Reduktionsmittel verwendet. Des Weiteren bewirkt ein Zusatz von Seltenen Erden eine Verbesserung der Bearbeitbarkeit und Verformbarkeit von nichtrostenden Stählen. 26 % finden als Katalysatoren und Chemikalien ihren Einsatz. Im Glas- und Keramiksektor werden 31 % eingesetzt. Lanthan verbessert in optischen Gläsern für Linsen die Dispersion und die Brechzahl.  $\text{CeO}_2$  wird als Poliermittel von Gläsern eingesetzt. 1 % der REE werden in anderen Industriezweigen und in der Elektronik wie beispielsweise zur Herstellung von Hochleistungsmagneten für elektronische Uhren oder Lautsprecher oder auch zur Herstellung von Supraleitern eingesetzt. REE-Aluminosilikate (Zeolithe) werden vor allem in der Erdölindustrie zum Cracken von Kohlenwasserstoff benötigt. Neben diesen vielfältigen Einsätzen werden Seltene Erden auch in der Reaktortechnik verwendet (MORRAL, 1990; ADACHI, 1991). Auch in der Medizin wurden Seltene Erden in der Vergangenheit vielfach eingesetzt (ELLIS, 1977; EVANS, 1983). Antikoagulatorische, antiemetische, antituberkulöse, antiinflammatorische und auch antikanzerogene Wirkungen wurden beschrieben. Ende 1970 wurde Cer-Nitrat als bakterizides Mittel bei der Behandlung von Verbrennungen entdeckt. Dessen Anwendung in Salben findet immer noch befriedigende Wirkung bei Verbrennungen (BARRET *et al.*, 1999), jedoch finden in den anderen medizinischen Einsatzbereichen effektivere Mittel ihren Einsatz. KRAMSCH *et al.* (1981) konnten durch orale Verabreichung von Lanthan eine

Verminderung von arteriosklerotischen Ablagerungen im Bereich der Aorta feststellen. Die Aorten der therapierten Affen zeigten deutlich geringere Mengen von Kollagen, Elastin, Cholesterin, Kalzium und DNA. Leider fehlen aktuellere Berichte über die antiarteriosklerotischen Eigenschaften von Lanthan. Neuere Studien berichten über die Einsatzmöglichkeiten von Lanthan-Carbonat als Phosphatbinder bei Dialysepatienten. Lanthan-Carbonat hat sowohl in vivo wie auch in vitro eine starke Phosphat-Bindungsfähigkeit (DAMMENT und WEBSTER, 2003). Die Verwendung von Seltenen Erden in der Medizin ist jedoch heutzutage weitgehend auf den Gebrauch von  $Gd^{3+}$  als Kontrastmittel beschränkt (BULMAN, 2003).

### **2.2.8. Einfluss auf Mikroorganismen**

Der Einsatz hoher Konzentrationen Seltener Erden (im Bereich von  $10^{-4}$  bis  $10^{-2}$  M) führt zu einer Wachstumshemmung von Bakterien, Pilzen und Hefen. Niedrigere Konzentrationen hingegen können stimulierend auf das Bakterienwachstum wirken (MUROMA, 1958).

ZHANG *et al.* (2000) untersuchten die Wirkung von Cerium-Huminsäure und Cerium-Citrat auf verschiedene Bakterienpopulationen. Bei Konzentrationen ab  $10^{-2}$  Mol pro Liter wird das Bakterienwachstum durch Cerium-Huminsäure gehemmt. Im Gegensatz hierzu führt Cerium-Citrat zu einer Stimulation des bakteriellen Wachstums. Die gänzlich verschiedenen bakteriostatischen Resultate dieser Cerium-Salze weisen darauf hin, dass die Verbindungen und chemischen Eigenschaften der Komplexe völlig unterschiedlich sind. Je nach Art des Komplexes kann es also zu einer Bakteriostase oder einer Wachstumsstimulation kommen. Je niedriger die Stabilität von REE-Komplexen ist, desto grösser ist ihre antibakterielle Aktivität (ZHANG *et al.*, 1999). Gram-negative Bakterien sind gegenüber hohen Lanthanoidkonzentrationen wesentlich empfindlicher als Gram-positive (MUROMA, 1958). Generell sind jedoch Pilze empfindlicher als Bakterien (TALBURT und JOHNSON, 1967).

Lanthanoide können an die Oberfläche von Bakterien binden, wodurch es zu einer Reduktion der Oberflächenladung kommt. Auf Grund der reduzierten Oberflächenladung und der Bildung von Lanthanidbrücken zwischen den Oberflächen der Bakterien kommt es zu deren Aggregation (EVANS, 1990). Lanthanoide können ausserdem zu einer Beeinträchtigung des bakteriellen

Stoffwechsels, zum Beispiel durch Hemmung der Sauerstoffaufnahme, der Kohlendioxidproduktion oder des Glucoseeinbaus, führen.

### 2.2.9. Einsatz in der Agrarwirtschaft

Neben ihrer Verwendung in der Industrie werden Seltene Erden seit ca. 40 Jahren in der chinesischen Landwirtschaft als Dünger eingesetzt. Sie wurden bereits 1990 in über 20 chinesischen Provinzen verwendet (YU und CHEN, 1995). Chinesische Wissenschaftler haben schon davor von ertragssteigernden Effekten in über 20 verschiedenen Feldfrüchten und Bäumen berichtet (ZHANG *et al.*, 1988). Des Weiteren wurde von einer Reihe von Effekten, wie der Zunahme des Chlorophyllgehaltes, schnellerer Entwicklung, gesteigerter Wurzelbildung und einer besseren Fruchtfarbe z.B. bei Äpfeln, Orangen und Wassermelonen berichtet (BROWN *et al.*, 1990). In Tabelle 6 sind weitere beschriebene Effekte und Ertragssteigerungen von REE bei verschiedenen Feldfrüchten dargestellt.

**Tabelle 6: Effekte von REE bei der Produktion verschiedener Feldfrüchte**

Feldfrucht	Effekte		Autor
	Ertragssteigerung	Qualität	
Alfalfa	+ 17 %	+ 5 % des 1000-Körnergewichtes	PANG <i>et al.</i> (2002)
Banane	+ 8-14 %	+ 3-4 % Zuckergehalt	
Gerste	+ 19 %		MAHESWARAN <i>et al.</i> (2001)
Weizen	+ 11 %		
Orange	+ 8-38 %	+ 0,6 % Zuckergehalt	WAN <i>et al.</i> (1998)
Reis	+ 5-10,3 %		
Tomate	+ 16 %		
Wassermelone	+ 22,9 %	Erhöhung des Zuckergehaltes	

HONG *et al.* (1996) konnten in einer zehnjährigen Studie den Ertrag von Weizen durch Düngung mit 600 g Seltenen Erden jährlich um 4 bis 10 % pro Hektar steigern.

In China werden verschiedene lösliche Lanthanoiddünger zur Ertragssteigerung verwendet. „Nongle“ (NL), was soviel wie „glücklicher Bauer“ heißt, enthält Seltene Erden in Chloridform. „Changle-Yizhisu“ (CZ) besteht aus REE-Nitraten und bedeutet „für immer glücklich“. „MAR“ enthält Komplexe verschiedener Seltener Erden (La, Ce, Pr, und Nd) und 17 Aminosäuren. Diese Angaben stammen aus der chinesischen Literatur und können nicht weiter nachgeprüft werden.

Die Aufnahme von REE erfolgt zumeist über die Wurzeln. Sie kann jedoch auch durch Besprühen der Pflanzenoberfläche über das Blatt erfolgen (SUN *et al.*, 1994). Eine weitere Möglichkeit der Applikation besteht darin, die Saat direkt mit dem Dünger zu vermischen oder sie in ihn einzutauchen (PANG *et al.*, 2002). Die Keimungsrate von Winterweizen kann durch Vermischen von 30-50 mg REE pro Liter Saatgut um 8 % bis 19 % gesteigert werden (WU *et al.*, 1984). Der Zeitpunkt wie auch die Dosierung und die Art der Applikation sind je nach Fruchtart verschieden. REE-Dünger müssen jedoch jedes Jahr eingesetzt werden, da sie ansonsten keine weiteren Ertragssteigerungen erzielen können (PANG *et al.*, 2002).

Pflanzen nehmen aus der Erde nur wenig Lanthanoide auf, auch wenn ihre Umgebung hohe Gehalte an REE aufweist (LINSALATA *et al.*, 1989). Nach HONG *et al.* (1996) reichern sich die aufgenommenen REE vorwiegend in den Wurzeln (88 % bis 90 %) an. Nur 10 % bis 12 % gelangen in Rinde und Stiel. Obwohl die Aufnahme nur sehr gering ist, sind die leistungssteigernden Effekte der Seltenen Erden stark dosisabhängig. Bei CHANG *et al.* (1998) steigerten Dosierungen von unter 1 g REE / kg Boden den Ernteertrag, während Dosierungen von 1 bis 2 g / kg Boden die Ernte verschlechterten. Die Anwendungsart des jeweiligen Düngers spielt dabei angeblich keine Rolle. Bei der Sprühapplikation auf die Blätter in Dosierungen von über 0,1 % treten toxische Effekte wie Verfärbungen und Nekrosen der Blätter sowie eine verminderte Ernte auf (DIATLOFF *et al.*, 1999).

Über den exakten Wirkmechanismus ist man sich nicht im Klaren. Zahlreiche Studien deuten daraufhin, dass es durch den Einsatz von Seltenen Erden bei Pflanzen zu einer Stimulation der Absorption, des Transfers und der Assimilation von Nährstoffen kommt (PANG *et al.*, 2002). NING und XIAO (1989) berichten von einer Steigerung der Stickstoff-, Phosphor- und Kaliumabsorption um 16,4 %, 12,0 % bzw. 8,5 % bei

REE-gedüngtem Reis. Der Stoffwechsel von Pflanzen kann durch Düngung mit Lanthanoiden signifikant erhöht werden. Die Nitrataseaktivität wird deutlich verbessert und die Transferrate von anorganischem zu organischem Stickstoff erhöht, was sich positiv auf Stickstoffbilanz und Proteinsynthese auswirkt. In Untersuchungen von YANG und ZHANG (1986) konnte die Nitrataseaktivität in Winterweizen durch Lanthanoiddüngung angeblich um 37% bis 75 % gesteigert werden.

Durch Düngung mit Seltenen Erden kommt es angeblich auch zu einer deutlichen Beeinflussung der Photosynthese. In einer Konzentration von 5 bis 20 mg pro Liter können Lanthanoide die Photosyntheserate von Tabakpflanzen steigern. Jedoch kommt es bei einer Konzentration von über 50 mg pro Liter zu einer Hemmung der Photosynthese. Des Weiteren führt Lanthan in niedrigen Konzentrationen zu einer Stimulation der Photophosphorylierung im Chloroplast (CHEN *et al.*, 2001). FASHUI *et al.* (2002) konnten durch Düngung von Spinat mit  $Ce^{3+}$  neben einer Steigerung der Photosyntheserate auch eine Zunahme des Chlorophyll- und Chloroplastengehaltes verzeichnen. Es liegt nahe, dass  $Ce^{3+}$  in den Chloroplast gelangt und an Chlorophyll bindet, indem es Magnesium verdrängt.

Weiter wird behauptet, dass die Pflanzen eine erhöhte Widerstandskraft gegenüber Krankheiten aufweisen. Insbesondere unter Stress kommt es angeblich bei lanthanbehandelten Pflanzen zu einer Zunahme des Wurzelwachstums wie auch der Biomasse (GUO *et al.*, 1988).

### **2.2.10. Einsatz in der Tierproduktion**

In China werden schon seit mehr als 40 Jahren Gemische Seltener Erden bei den verschiedensten Nutztieren als Leistungsförderer eingesetzt (CHANG *et al.*, 1998). Eine Vielzahl von in China durchgeführten Studien berichten über enorme Leistungssteigerungen und beachtliche Verbesserungen im Bereich der Futtermittelverwertung. Daneben werden auch Verbesserungen der Qualität tierischer Produkte beschrieben. HU *et al.* (1999) konnten durch Einsatz von 600 mg Seltenen Erden pro Kilogramm Futter eine Wachstumssteigerung bei Ferkeln von über 32 % mit gleichzeitiger Verbesserung der Futtermittelverwertung erzielen. Tabelle 7 bietet eine Übersicht der verschiedenen Ergebnisse, die im asiatischen Raum erzielt werden konnten.



Tabelle 7: Einsatz von REE in der chinesischen Tierproduktion und ihre Effekte

Spezies	Dosierung der REE	Effekte	Autoren
Legehennen	200 - 800 mg / kg	+ 3,9 -8,85 % LR	WU <i>et al.</i> (1994)
		+ 0,5 - 1,33 g EG	
Broiler	300 mg / kg	+ 20,3 % GZ	ZHANG und SHAO (1995)
	400 mg / kg	+18,6 % GZ	
	500 mg / kg	+ 6,6 % GZ	
Schwein	100 mg / kg	+ 8 % GZ - 8 % FV	CHEN (1997)
	130 mg / kg	+ 25 % GZ - 19 % FV	
Broiler	65 mg / kg	+ 6,3 % GZ	XIE und WANG (1998)
	130 mg / kg	+ 10,71 % GZ	
	195 mg / kg	- 0,09% GZ	
Schwein	200 mg / kg	+ 3,97 % GZ - 1,66 % FV	HU <i>et al.</i> (1999)
	400 mg / kg	+ 8,93 % GZ - 4,65 % FV	
	600 mg / kg	+ 32,34 % GZ - 11,29 FV	
Schwein	100 mg / kg	+ 13,26 % GZ - 8,50 % FV	XU <i>et al.</i> (1999)
Schwein	100 mg / kg	+13,06 % GZ - 6,53 % FV	WANG und XU (2003)

GZ = Gewichtszunahme

FV = Futtermittelverwertung

LR = Legeerate

EG = Eigewicht

Bei LI *et al.* (1992) zeigten sich bereits beim Einsatz von 50 mg REE-Gemisch pro Kilogramm Futter eine Verbesserung der Tageszunahmen um 9 % sowie eine um 8 % verbesserte Futtermittelverwertung. Des Weiteren untersuchten sie den Einfluss von Seltenen Erden auf die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe. Durch den Einsatz der Seltenen Erden wurde sowohl die Verdaulichkeit von Rohprotein als auch die von Rohfett um 8 % bzw. 15 % verbessert. Bei der Verdaulichkeit der Trockensubstanz zeigten sich nur geringe Unterschiede. Neben einer signifikanten Verbesserung der scheinbaren Verdaulichkeit von Rohprotein um 4,5 % bzw. 6,9 % bei Zufütterung von 400 mg bzw. 600 mg REE pro Kilogramm Futter bei Schweinen fanden HU *et al.* (1999) auch eine Verbesserung der scheinbaren Verdaulichkeit von essentiellen und nicht-essentiellen Aminosäuren. Dabei konnte unter Einsatz von 400 mg REE pro Kilo Futter die scheinbare Verdaulichkeit der essentiellen, nicht-essentiellen und gesamten Aminosäuren um 3,1 %, 3,4 % bzw. 2,0 % signifikant erhöht werden. Ähnliche Werte ließen sich auch bei der Zufütterung von 600 mg pro Kilogramm erzielen.

In anderen Studien wurde der Einfluss von Seltenen Erden auf verschiedene Serumparameter überprüft. Sowohl bei den Höchstwerten (+ 103,4 %), wie den Tiefstwerten (+88,9 %), als auch bei den Mittelwerten (+ 90,9 %) des Wachstumshormons (GH) zeigten sich deutliche Erhöhungen. Ebenso fanden sich bei den Werten von T<sub>3</sub> und T<sub>4</sub> Unterschiede. Desgleichen zeigten die Tiere höhere Tageszunahmen und eine verbesserte Futtermittelverwertung (XU *et al.*, 1999). In Tabelle 8 sind die genauen Werte dieser Studie aufgeführt. XU *et al.* (1999) schließen aus den Ergebnissen, dass Lanthan sowohl die Synthese als auch die Sekretion von GH, T<sub>3</sub> und auch T<sub>4</sub> stimuliert und somit die Verstoffwechslung am Zielorgan verstärken.

**Tabelle 8: Übersicht der Ergebnisse des Versuchs von XU *et al.* (1999)**

Tiere	60 Schweine
Dosis-REE	100 mg / kg
Gewichtszunahme	+ 13,26 % <sup>b</sup>
Futteraufnahme	+ 5,43 % <sup>b</sup>
Futterverwertung	- 8,50 % <sup>a</sup>
GH Höchstwert	103,36% <sup>b</sup>
GH Tiefstwert	88,88 % <sup>b</sup>
GH Mittelwert	90,91 % <sup>b</sup>
T3	+ 36,70 % <sup>b</sup>
T4	+ 28,96 % <sup>b</sup>
Glucose	+ 19,72 % <sup>b</sup>
Gamma-GT	+ 67,27 % <sup>b</sup>

a = (p &lt; 0,01)

b = (p &lt; 0,05)

Zur Leistungsförderung erfolgt die Verabreichung der Seltenen Erden oral. Entweder werden die Seltenen Erden über Vormischungen in das Futter eingemischt oder im Trinkwasser aufgelöst. Dabei werden Oxide, Nitrate und organische Salze verwendet. Problematisch erscheint jedoch ein Vergleich der verschiedenen Studien, da die eingesetzten Mischungen größtenteils unterschiedliche Zusammensetzung, unterschiedlichen Reinheitsgrad, unterschiedliche Konzentrationen und verschiedenste REE-Verbindungen aufweisen.

In den letzten Jahren wurden auch in der westlichen Welt verschiedene Fütterungsversuche mit Seltenen Erden durchgeführt, um nachvollziehen zu können, ob diese spektakulären Leistungssteigerungen auch unter westlichen Haltungsbedingungen zu erzielen sind. Betrachtet man Produktivität und Futterverwertung liegen die in China eingesetzten Rassen meist hinter den westlichen Hochleistungstieren weit zurück (XIE *et al.*, 1995). Erwiesenermaßen spielen des Weiteren Hygiene-, Haltungs- und Fütterungsbedingungen bezüglich der Wirksamkeit von Leistungsförderern in der Tiermast eine wesentliche Rolle. So

können zuweilen deutliche leistungssteigernde Effekte nur unter suboptimalen Hygiene- und Haltungsbedingungen erzielt werden.

Am Lehrstuhl für Tierernährung und Diätetik der tierärztlichen Fakultät der LMU München wurden in den letzten Jahren diverse Studien über den Zusatz von Seltenen Erden in der Fütterung bei Schweinen, Broilern und auch Wachteln durchgeführt. In einem ersten Versuch mit Absatzferkeln konnten durch Zusatz verschiedener Seltener Erden in Chloridform in Dosierungen von 150 mg bzw. 300 mg pro Kilo Futter Gewichtssteigerungen zwischen 2 % und 5 % erreicht werden. Die Futtermittelverwertung konnte dabei um 3 % bis 7 % verbessert werden. RAMBECK *et al.* (1999) konnten mit ihren Untersuchungen demonstrieren, dass durch den Einsatz Seltener Erden auch unter „westlichen Bedingungen“ Leistungssteigerungen und eine Verbesserung der Futterverwertung zu erzielen sind. In einem weiteren Versuch wurde erneut eine REE-Chlorid-Mischung eingesetzt und deren Wirksamkeit bei Broilern und japanischen Wachteln in verschiedenen Dosierungen getestet. Es konnten jedoch weder bei den Broilern noch bei den Wachteln Verbesserungen in Aufzucht- und Legeleistung erzielt werden. Auch konnten durch die Analyse der Darmflora weder qualitative noch quantitative Veränderungen der Zusammensetzung der Mikroorganismengruppen des Intestinaltraktes durch die Supplementierung mit Seltenen Erden festgestellt werden (SCHULLER *et al.*, 2002). Sowohl in dem vorausgegangenen Ferkelversuch von RAMBECK *et al.* (1999), wie auch in diesem Wachtel- und Broilerversuch wurden Organe entnommen und auf ihren Gehalt an Seltenen Erden hin untersucht. Dabei fand eine Akkumulation von Seltenen Erden in den Organen nur in geringem Maße statt.

Untersuchungen einer weiteren Arbeitsgruppe konnten durch Zusätze verschiedener Bindungsformen Seltener Erden in einem Mastversuch mit 308 männlichen Broilern Steigerungen in der Aufzuchtleistung der supplementierten Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe von 2 % bis 7 % erreichen. Die Futtermittelverwertung der mit REE-Ascorbat gefütterten Gruppe war signifikant verbessert (HALLE *et al.*, 2002). Im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Versuchen führte bei BÖHME *et al.* (2002a) die Supplementierung von Schweinefutter mit verschiedenen Chloriden Seltener Erden sogar zu einer Verschlechterung der Mastleistung um 1,1 % bis 3,6 %. Des Weiteren führten BÖHME *et al.* (2002b) Bilanzversuche mit Mastschweinen durch, um zu überprüfen, ob die Verdaulichkeit der Nährstoffe in praxisüblichen Diäten durch Zusätze verschiedener Verbindungen Seltener Erden beeinflusst werden kann.

Jedoch konnte für keinen der Rohnährstoffe ein statistisch gesicherter Einfluss der Verdaulichkeit durch die verschiedenen Lanthanoidzusätze im Vergleich zur Kontrollgruppe gesehen werden. Deshalb beruht nach Ansicht der Autoren die ergotrope Wirkung der Seltenen Erden nicht auf einer Steigerung der Nährstoffverdaulichkeit, sondern erfolgt möglicherweise über eine höhere Ausnutzung der Energie.

In einer weiteren Studie der Münchner Arbeitsgruppe wurden jedoch wiederum signifikante Steigerungen der täglichen Lebendmassenzunahmen um 19 % ( $p < 0,05$ ) und eine hochsignifikante Verringerung des Futteraufwandes um 11 % ( $p < 0,01$ ) bei REE-Chlorid supplementierten Mastschweinen gefunden. Auch in deren Aufzuchtphase konnten verbesserte Leistungsparameter verzeichnet werden. Bei den untersuchten Blutproben konnten jedoch lediglich bei dem Schilddrüsenhormon Trijodthyronin ( $T_3$ ) in der Aufzuchtphase signifikant niedrigere Werte nachgewiesen werden (BORGNER, 2003). EISELE (2003) verzeichnete ebenfalls bei REE-Chlorid-supplementierten Schweinen in einem zwölfwöchigen Versuch einen erniedrigten Spiegel von Trijodthyronin ( $T_3$ ) und gleichzeitig eine Erniedrigung von Thyroxin ( $T_4$ ) einhergehend mit einer 4 bis 5%igen Verbesserung der Tageszunahmen. Überdies konnte EISELE (2003) mit Schweizer Edelschweinen erstmalig in einem Feldversuch die ergotrope Wirkung Seltener Erden zeigen. In einem Versuchsdurchgang über 16 Tage betrug die Steigerung der Lebendmassenzunahme der mit 200 mg REE-Chlorid supplementierten Tiere 3 % und die Futtermittelverwertung verbesserte sich um 9 %. In einem zweiten Feldversuch über eine Dauer von 30 Tagen konnte eine um 10 % größere Gewichtszunahme und eine um 2 % verbesserte Futtermittelverwertung verzeichnet werden. Eine Übersicht über die Ergebnisse der „westlichen“ Versuche ist in Tabelle 9 dargestellt.

**Tabelle 9: Übersicht über westliche Fütterungsversuche bei Nutztieren und die dabei eingesetzte REE-Bindungsform**

Spezies	Bindungsform	REE-Dosierung	Effekte	Autoren
Absatzferkel	REE-Chlorid	75 mg / kg	+ 2 % GZ - 4-5 % FV	RAMBECK <i>et al.</i> (1999)
		150 mg / kg	+ 0-5 % GZ -3-7 % FV	
Broiler	REE-Chlorid	150 mg / kg	keine Verbesserung in Aufzucht- und Legeleistung	SCHULLER <i>et al.</i> (2002)
		300 mg / kg		
Japanische Wachtel		75 mg / kg		
		150 mg / kg		
		300 mg / kg		
Broiler	REE-Chlorid	100 mg / kg	+ 5 % GZ	HALLE <i>et al.</i> (2002)
	REE-Nitrat		+2 % GZ	
	REE-Ascorbat		+7 % GZ	
	REE-Citrat		+ 6,5 % GZ	
Mastschwein	REE-Chlorid	100 mg / kg	- 3,6 % GZ	BÖHME <i>et al.</i> (2002a)
	REE-Nitrat		- 3,6 % GZ	
	REE-Ascorbat		- 3,4 % GZ	
	REE-Citrat		- 1,1 % GZ	
Absatzferkel	REE-Chlorid	150 mg / kg	+ 19 % GZ - 11 % FV	BORGER (2003)
Mastschwein		150 mg / kg	+ 12 % GZ - 3 % FV	
Schwein	REE-Chlorid	300 mg / kg	+ 4-5 % GZ	EISELE (2003)
		200 mg / kg	+ 3-10 % GZ - 2-9 % FV	

GZ=Gewichtszunahme

FV=Futtermittelverwertung

HE *et al.* (2003) untersuchten den Einfluss von zugefütterten Seltenen Erden bei Ratten und ihre Auswirkungen auf verschiedene Blutparameter. Sie setzten Dosierungen von 75 und 150 mg REE-Chlorid pro Kilogramm Futter ein. Zwei Gruppen erhielten in diesen Dosierungen 99%iges  $\text{LaCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Die anderen beiden Gruppen erhielten in diesen Dosierungen ein REE-Chlorid-Gemisch, welches hauptsächlich Lanthan, Cer und Praesodym enthielt. Auch bei den Ratten zeigten sich ergotrope Effekte wie eine Verbesserung der Gewichtszunahmen von 4 % bis 7 %. Die Futtermittelverwertung konnte um 3 % bis 11 % verbessert werden. Generell lagen die biochemischen Blutserumparameter im physiologischen Bereich. Es konnten keine signifikanten Veränderungen des Gesamtcholesterins, Gesamtproteins und Albumins festgestellt werden. Die Serumkonzentrationen von Glucose waren jedoch bei den REE-supplementierten Tieren signifikant niedriger als die der Kontrolltiere, während der Kreatiningehalt erhöht war. Bis auf die Gruppe, welche 75 mg des reinen Lanthans erhielt, wiesen alle supplementierten Gruppen einen erniedrigten Gehalt der Gesamttriglyceride auf. Des Weiteren stiegen bei allen supplementierten Tieren signifikant die Aktivitäten der Alanin-Aminotransferase (ALT), der Aspartat-Aminotransferase (AST) und der Alkalischen Phosphatase (ALP). Des Weiteren bestimmten HE *et al.* (2003) die Gewichte von Milz und Thymus. Diese wiesen jedoch nur geringgradigste Unterschiede auf. Eine Ausnahme bildeten jedoch die Gewichte des Thymus der mit 150 mg Lanthan pro Kilogramm Futter supplementierten Tiere. Ihr Gewicht war zwar um 20 % schwerer, dies jedoch nicht signifikant.

### **2.2.11. Mögliche Wirkungsmechanismen**

Der genaue Wirkungsmechanismus der Leistungssteigerung durch Seltene Erden ist noch unklar. Auch in der chinesischen Literatur wird darüber wenig berichtet. Generell werden zwei Wirkungsmechanismen diskutiert. Zum einen könnten Seltene Erden über eine lokale Wirkung im Gastro-Intestinaltrakt zu den ergotropen Effekten führen, zum anderen über eine Beeinflussung des Intermediärstoffwechsels. Die von verschiedenen Autoren beschriebene sehr geringe Resorption der Seltenen Erden aus dem Gastro-Intestinaltrakt (DURBIN, 1956; JI, 1985; EVANS, 1990) spricht eher für die lokale Wirkung. Einige Studien beschreiben eine Verbesserung der Verdaulichkeit von Nährstoffen sowie deren Verfügbarkeit (LI *et al.*, 1992; XU *et al.*,

1998), was jedoch durch die Studie von BÖHME *et al.* (2002b) nicht bestätigt werden konnte. Aufgrund ihrer bakteriostatischen Wirkung in hohen Konzentrationen und der Eigenschaft, in niedrigen Konzentrationen das Bakterienwachstum zu stimulieren (MUROMA, 1958), könnten Seltene Erden die Darmflora beeinflussen. Untersuchungen von SCHULLER *et al.* (2002) konnten jedoch keine gerichtete Beeinflussung der Mikroorganismenzusammensetzung und –anzahl im Intestinaltrakt zeigen. Jedoch zeigte sich in diesem Versuch auch kein ergotroper Effekt.

Für eine Beeinflussung des Intermediärstoffwechsels sprechen die in einigen Studien gemessenen Veränderungen von Enzymaktivitäten und Hormonspiegel im Blut der mit Seltenen Erden supplementierten Tiere. So fanden HE *et al.* (2003) signifikant erhöhte Aktivitäten verschiedener Leberenzyme und Xie *et al.* (1995) eine erhöhte Gluthationperoxidaseaktivität, während die Konzentration von Wachstumshormon und Trijodthyronin ebenfalls erhöht waren. Gleichzeitig wurde ein erniedrigter Thyroxinspiegel gemessen. In anderen Studien zeigte sich jedoch ein signifikant erniedrigter Trijodthyroninspiegel (BORGER, 2003; EISELE, 2003). Die Beeinflussung des Schilddrüsenhormonstoffwechsels durch Seltene Erden ist noch nicht aufgeklärt. Generell kann man jedoch annehmen, dass durch starke Veränderungen der Schilddrüsenhormonkonzentration der Energieumsatz beeinflusst wird.

Ein weiterer denkbarer Wirkmechanismus wäre die Beeinflussung von spezifischen Zellfunktionen durch Seltene Erden. Lanthanionen können Calciumionen in ihrer Bindung ersetzen und somit eine Blockierung von Calciumkanälen verursachen (EVANS, 1990). Nachweislich gehen Seltene Erden spezifische Bindungen mit membranständigen Proteinstrukturen wie der Adenylat-Cyclase (NATHANSON *et al.*, 1976), Insulin-Rezeptoren (WILLIAMS und TURTLE, 1984) und Acetylcholin-Rezeptoren (RÜBSAMEN *et al.*, 1978) ein.

Ein weiterer Ansatz zur Erklärung der Wirkungsweise stellt die immunstimulierende Wirkung Seltener Erden dar. In niedrigen Dosierungen können Seltene Erden das Immunsystem stimulieren (NI, 1995) und die Histaminsekretion von Mastzellen steigern (FOREMAN und MONGAR, 1973), jedoch zeigt sich in höheren Dosierungen ein gegenteiliger Effekt. Der letztendlich für die leistungssteigernden Effekte verantwortliche genaue Wirkungsmechanismus ist bis heute nicht geklärt.



### 2.3. Das RUSITEC-System

Prinzipiell kann zwischen drei unterschiedlichen Pansensimulationssystemen differenziert werden. Zum Einen werden impermeable, geschlossene einfache Behälter, in denen Pansensaft mit Futter gemischt und inkubiert wird, verwendet (FAITHFULL, 1984). Zum Anderen werden semipermeable Systeme beschrieben, in denen man versucht, die Absorption von Fermentationsprodukten durch die Pansenwand nachzuahmen (GRAY *et al.*, 1962). Außerdem gibt es permeable oder kontinuierliche Durchflusssysteme wie die **Rumen Simulation Technique**, kurz RUSITEC genannt.

Das RUSITEC-System wurde 1977 von CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE entwickelt. Dem natürlichen Pansen entsprechend lassen sich auch in diesem artifiziellen Pansen Kompartimente definieren, die jeweils eine spezifische Flora aufweisen (KELLY, 1996). RUSITEC ist jedoch ein Pansen ohne Pansenwand. Ihm fehlt das Kompartiment, das der Pansenwand mit den an der Schleimhaut haftenden fakultativ anaeroben Bakterien, welche unter anderem Harnstoff spalten, entspricht (CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE, 1979). Substanzen können ihn daher nur in Lösung oder sehr feiner Suspension durch den Überlauf verlassen, oder in fester Form manuell entfernt werden.

Dieses System wird in leicht verbesserter Weise heute noch betrieben. So wurde der Effekt von leistungsfördernden Substanzen wie zum Beispiel Monensin auf ihren Effekt auf die ruminale Fermentation im RUSITEC untersucht (WALLACE *et al.* 1981; JALČ und LAUKOVÁ, 2002). WANG *et al.* (2001) untersuchten den Effekt von Enzympräparaten auf die mikrobielle Proteinsynthese im RUSITEC. Des Weiteren wurden verschiedene Futtermittel (KELLY, 1996), wie auch verpilzte Futtermittel (HÖLTERSHINKEN *et al.*, 1997), Ketoseschutzmittel (MESSERLI, 1999), anionische Futterzusätze (MÜLLER-ÖZKAN, 2002), oder auch Salze von Säuren (CARRO und RANILLA, 2003) in diesem *in vitro* System untersucht. Mit diesem Modell lassen sich Fermentationsstudien über mehrere Wochen durchführen und Rückschlüsse auf die *in vivo* Verhältnisse ziehen. Die Einsatzmöglichkeiten scheinen äußerst breit gefächert. Zudem können Substanzen in Dosierungen, die möglicherweise toxisch sein könnten, eingesetzt werden.

## **3. Material und Methoden**

### **3.1. Fütterungsversuch mit Schweinen**

#### **3.1.1. Versuchsaufbau**

Für den Fütterungsversuch wurden 28 Absatzferkel gemästet. Die Tiere wurden in 4 Gruppen zu je 7 Tieren eingeteilt.

*Gruppe 1* erhielt Basisfutter, ohne jeglichen Zusatz von Seltenen Erden.

*Gruppe 2* erhielt das gleiche Futter, jedoch mit einem Zusatz von 50 ppm Seltenen Erden-Gemisch (REE) in Citratform.

*Gruppe 3* erhielt das Basisfutter mit einem Zusatz von 100 ppm Seltenen Erden-Gemisch (REE) in Citratform.

*Gruppe 4* erhielt das Basisfutter mit einem Zusatz von 200 ppm Seltenen Erden-Gemisch (REE) in Citratform.

Die Schweine erhielten das Futter über einen Zeitraum von 41 Tagen. Dabei wurden sie bis zur ersten Blutentnahme, welche am Tag nach der Einstallung erfolgte, mit dem REE-freien Basisfutter restriktiv angefüttert. Nach der Blutentnahme erhielten die Tiere restriktiv das jeweilige Versuchsfutter. Ab Tag 6 erfolgte die Fütterung ad libitum. An Tag 41 wurden alle Versuchstiere euthanasiert.

#### **3.1.2. Versuchstiere**

Für den Versuch wurden 14 männlich-kastrierte und 14 weibliche 4 Wochen alte Absatzferkel der Kreuzung Deutsche Landrasse x Piétrain von einem Ferkelerzeugerbestand bezogen.

Das durchschnittliche Gewicht der Tiere wurde vor dem Einstellen ermittelt und betrug 8,6 kg. Nach dem Wiegen wurden die 28 Absatzferkel in 4 gemischtgeschlechtliche Gruppen, die aus jeweils 7 Tieren bestanden, eingeteilt.

Gruppe 1 und Gruppe 2 bestanden jeweils aus 3 männlich-kastrierten und 4 weiblichen Ferkeln, während Gruppe 3 und Gruppe 4 sich jeweils aus 4 männlich-kastrierten und 3 weiblichen Ferkeln zusammensetzten. Das durchschnittliche Gruppengewicht betrug 60,27 kg mit einer Abweichung von  $\pm 0,07$  kg.

### **3.1.3. Tierhaltung**

Die Versuchstiere wurden im Stall der II. Medizinischen Tierklinik, Abteilung für Schweinekrankheiten der Ludwig-Maximilians-Universität München, gruppenweise in einer jeweils mit Stroh eingestreuten Box, deren Maße 1,30 x 2,50 m betrug, gehalten. Sie hatten jederzeit Zugang zu einem Tränkebecken. Zur ad libitum Fütterung befand sich ein Futterautomat mit rostfreiem Stahltrog (Fa. Schippers, Kerken) für 60 Kilogramm Futter und vier Fressplätzen in jeder Box. Der Stall wurde mit Hilfe einer Heizung und Lüftung auf 22°C temperiert. In der ersten Woche nach der Einstellung war zusätzlich pro Box eine Rotlicht-Wärmelampe angebracht. Zur Beschäftigung der Tiere wurde in jeder Box eine Metallkette zum Beißen aufgehängt.

Vier Lampen sorgten mindestens 8 Stunden täglich für ausreichende Beleuchtung. Die stallklimatischen Bedingungen wurden zu drei verschiedenen Tageszeiten an je 5 Punkten pro Box auf Rüsselhöhe gemessen, waren für alle Versuchsgruppen gleich und entsprachen der Verordnung zum Schutz von Schweinen bei Stallhaltung vom 18.02.1994.

Die Tiere wurden einmal täglich ausgemistet und neu eingestreut, anschließend wurde direkt das Futter rückgewogen.

### **3.1.4. Futter**

#### **3.1.4.1. Futterzusammensetzung**

Das Versuchsfutter wurde 2 Wochen vor Versuchsbeginn im Mischraum des Lehrstuhls für Tierernährung und Diätetik der LMU München hergestellt. Dabei wurden verschiedene Mischer (Fa. Gebr. Lödig) mit einem jeweiligen Trommelvolumen von 8, 50 und 200 Litern eingesetzt. Die Zusammensetzung des

Futters entspricht dem praxisüblicher Diäten (gemäss DLG-Futterwerttabellen für Schweine, 1991) auf Getreide- und Sojabasis (Tabelle 10)

**Tabelle 10: Futtermittelzusammensetzung der Basisration**

<b>Futtermittel-Rohstoff</b>	<b>Menge ( in % )</b>
Gerste	31,68
Soja 44	22,00
Haferschrot	20,00
Weizen	20,00
DL-Methionin	0,10
L-Lysin-HCl	0,20
Calciumcarbonat	1,60
Cefkaphos	1,10
Natriumchlorid	0,30
Spurenelemente <sup>a</sup>	0,13
Sojaöl	2,00
Maisstärke	0,10
Vitamine <sup>b</sup>	0,30
Ca-Propionat	0,50
<b>Summe</b>	<b>100,00</b>

a: siehe Tab. 11

b: siehe Tab. 12

Sowohl die Vitamine als auch die Spurenelemente und die Seltenen Erden wurden als Vormischungen in die jeweiligen Rationen eingebracht. Die Zusammensetzung der Spurenelemente und der Vitaminvormischung sind in Tabelle 11 und in Tabelle 12 dargestellt. Die Menge des Zusatzes an Seltenen Erden ist in Tabelle 13 aufgeführt. Durch die auf Basis von Maisstärke hergestellten Vormischungen konnte eine bessere Verteilung der Komponenten, die in kleineren Mengen zugesetzt wurden, gewährleistet werden. Nach dem Mischen wurde das Futter ohne Dampfzusatz bei einer Temperatur von 70 °C zu 3 mm starken Pellets gepresst.

Tabelle 11: Zusammensetzung der Spurenelemente

Komponente	Menge (in %)
Eisensulfat $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	39,84
Zinksulfat $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	32,00
Mangansulfat $\text{MnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	12,40
Kupfersulfat $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	15,71
Natriumselenit* $5 \text{H}_2\text{O}$	0,05
Summe	100,00

Tabelle 12: Zusammensetzung der Vitaminvormischung

Komponente	Menge (in %)
Retinol (500.000 IU Vit. A/g)	1,00
Cholecalciferol (500.000 IU Vit. D <sub>3</sub> /g)	0,09
Tocopherol (Vit. E 50 %)	2,40
Menadion (Vit. K3 Reinsubstanz)	0,08
Thiamin (Vit. B1 Reinsubstanz)	0,08
Riboflavin (Vit. B2 Reinsubstanz)	0,25
Pyridoxin-HCl (Vit. B6 Reinsubstanz)	0,12
Cobalamin (Vit. B12 0,1%)	1,00
Biotin (D-Biotin 2%)	0,15
Folsäure (80%)	0,01
Calciumpantothenat (Reinsubstanz)	0,65
Ascorbinsäure (Vit. C)	3,00
Cholinchlorid (50%)	34,57
Nikotinsäure (Niacin)	1,80
Stärke	54,67
Summe	100,00

Bei dem REE-Gemisch handelt es sich um organisch gebundene Seltene Erden, die in Form von REE-Citraten vorliegen. Die Hauptelemente der Seltenen Erden sind dabei Lanthan, Cer, Praseodym und Neodym. Die Aufteilung der Lanthanoide beträgt dabei 5,94 % Lanthan, 16,29 % Cer, 3,015 % Praseodym und 0,32 % Neodym. Bei den restlichen Anteilen des Gemisches handelt es sich um Begleitminerale, wie

Eisen-, Calcium-, Magnesium-, Thorium- und Natriumoxide, sowie um Sulfate und Phosphate.

**Tabelle 13: Zusatz an Seltenen Erden in den einzelnen Rationen in mg /kg Futter**

<b>Ration</b>	<b>REE-Gemisch (mg / kg)</b>
<b>1</b>	-
<b>2</b>	50
<b>3</b>	100
<b>4</b>	200

Der Gehalt an Rohnährstoffen, Energie, Calcium, Phosphor, Natrium und Magnesium sowie der essentiellen Aminosäuren wird in den Tabelle 14 und in Tabelle 15 beschrieben.

**Tabelle 14: Gehalt der Ration an Calcium, Phosphor, Natrium, Magnesium und essentiellen Aminosäuren**

<b>Nährstoff</b>	<b>Gehalt (in %)</b>
Calcium	0,970
Phosphor	0,630
Ver. Phosphor	0,310
Natrium	16,000
Magnesium	0,140
Lysin	1,072
Methionin	0,367
Methionin und Cystein	0,680
Tryptophan	0,187
Threonin	0,815

**Tabelle 15: Rohnährstoff- und Energiegehalt der Basisration**

<b>Rohnährstoff</b>	<b>Gehalt (in %)</b>
Rohprotein	18,05
Rohfett	4,36
Rohfaser	5,43
Rohasche	6,13
Trockensubstanz	88,3
Umsetzbare Energie	12,86 MJ/kg

### **3.1.4.2. Fütterungstechnik**

In den ersten 6 Tagen wurde den Absatzferkeln zweimal täglich Futter angeboten. An Tag 1, vor der ersten Blutentnahme, wurde allen Tieren ausschließlich das Kontrollfutter (ohne Zusatz von Seltenen Erden) in einer Tagesration von 100 g pro Ferkel angeboten. Die Tagesration wurde anschließend jeden Tag um 50 Gramm gesteigert. Ab Tag 7 wurde schließlich ad libitum gefüttert.

Das Futter wurde einmal täglich, immer zur selben Zeit und in der selben Reihenfolge aus den Automaten genommen, rückgewogen und wieder aufgefüllt.

### **3.1.5. Untersuchte Parameter**

#### **3.1.5.1. Gesundheitsstatus**

Die Absatzferkel wurden vor dem Einstellen gründlich klinisch untersucht. Ihr Gesundheitsstatus wurde im Verlauf des Versuchs mehrmals täglich begutachtet und einmal täglich protokolliert.

#### **3.1.5.2. Futteraufnahme**

Das Futter wurde vor dem Befüllen der Futterautomaten gewogen. Dabei wurden 2 Kilogramm mehr als der Vortagesverbrauch eingefüllt. Im Abstand von 24 Stunden wurden die Automaten entleert und das zurückgebliebene Futter rückgewogen.

Neben die Futterautomaten gefallenes Futter wurde aufgesammelt und ebenfalls rückgewogen. So konnte durch Subtraktion der rückgewogenen Futtermenge von der Vortags eingefüllten die aufgenommene Futtermenge errechnet werden.

### **3.1.5.3. Gewichtszunahme**

Die Ferkel wurden beim Einstellen (Tag 0) sowie an Tag 5 und 6 zu Beginn der ad libitum Fütterung und anschließend 2 mal wöchentlich gewogen. Die Wägung fand immer morgens zur gleichen Uhrzeit und am ersten und am fünften Tag der Versuchswoche statt.

### **3.1.5.4. Futterverwertung**

Die Futterverwertung wurde nach jeder Körpergewichtsbestimmung aus dem Quotienten aus Futteraufnahme und Gewichtszunahme bestimmt.

### **3.1.5.5. Bestimmung von Blutparametern**

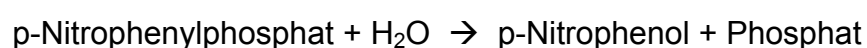
#### **3.1.5.5.1. Blutentnahme**

Ein Tag nach der Einstellung an Tag 2 sowie an Tag 16, 30 und 42 wurde venöses Blut aus der *Vena cava cranialis* mit Hilfe von 9 ml Serum-Monovetten<sup>®</sup> (Fa. Sarstedt) und 1,10 x 50 mm Einwegkanülen Sterican<sup>®</sup> entnommen.

Die Gewinnung des Serums gelang durch Zentrifugation (10 Minuten bei 1500 x g) nach Spontangerinnung des Blutes. Das auf diese Weise gewonnene Serum wurde mittels einer Pipette (Fa. Eppendorf) in 2 ml Cups (Fa. Eppendorf) abpipettiert und zunächst bei -80°C eingefroren, da die Proben nicht sofort untersucht werden konnten.

#### **3.1.5.5.2. Bestimmung der ALP im Serum**

Die alkalische Phosphatase, im Folgenden ALP genannt, katalysiert die Hydrolyse von Phosphatestern. Das Grundprinzip dieser Messung von ALP beruht auf der Katalyse von:





Bei der Reaktion wird das farblose Substrat (p-Nitrophenylphosphat) durch Hydrolyse in das gelb gefärbte p-Nitrophenol überführt, das durch Dissoziation in das Anion und ein Proton eine weitere Farbvertiefung (Bathochromie) erfährt. Die enzymatische Produktion von Nitrophenol kann direkt aus der zeitlichen Zunahme der Extinktion bei 405 nm im Spektralphotometer bestimmt werden.

Hierfür wurden 1 ml des Puffers B in 1,5 ml halbmikro PS Einmal-Küvetten (Plastibrand®) pipettiert und in einem Heizblock auf 37°C erwärmt. Die tiefgefrorenen Serumproben wurden ebenfalls auf 37°C erwärmt. Anschließend wurden 20 µl des Serums in die Küvette hinzupipettiert, kurz vermischt und die zeitliche Zunahme der Extinktion bei 405 nm im Spektralphotometer GENESYS 10 UV (Fa. ThermoSpectronic) mit einer Vorlaufzeit von 30 Sekunden über 4 Minuten lang jede Minute gemessen. Pro Probe wurde ein Doppelansatz durchgeführt und der Mittelwert bestimmt.

#### Puffer A:

23,30 ml Alkaline Buffer Solution 221 (Sigma Diagnostics Inc.)

74,44 mg EDTA (ICN)

42,89 mg Magnesiumacetat (Fa. Merck)

28,75 mg Zinksulfat (Fa. Merck)

#### Puffer B:

148,4 mg p-Nitrophenylphosphat (ICN)

25 ml Puffer A

#### 3.1.5.5.3. Bestimmung des Zinkgehaltes im Serum

Der Zinkgehalt im Serum wurde mittels die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) ermittelt. Das Prinzip basiert auf der Eigenschaft von Atomen, dass ein Elektron, welches durch Energiezufuhr von außen von seinem Ausgangszustand auf ein energiereicheres Niveau angehoben wurde, genau diejenige Wellenlänge absorbiert, die es selbst aussendet. Bei Verwendung eines Flammenabsorptionsspektrometers wird die für die Atomisierung notwendige Energie durch eine Flamme erzeugt. Feine

Tröpfchen der Probe werden dabei in eine Brenngas/Luft-Flamme gesaugt und damit die vorhandenen Elemente in den atomaren Zustand überführt. Die Atome absorbieren die Strahlung der korrespondierenden Wellenlängen, die Hohlkathodenlampen beinhalten das gesuchte Element und analysieren das einzigartige Linienspektrum. Hierzu wird der durch eine Hohlkathodenlampe hervorgebrachte Lichtstrahl vor Durchtritt durch die atomarisierten Elemente halbiert, wobei nur eine Hälfte durch den Atomnebel (Atomnebelstrahl) geführt, die andere in Form eines Parallelstrahls (Referenzstrahl) an diesem vorbeigeleitet wird. Je höher die Konzentration des zu untersuchenden Elements, desto höher ist der Grad der Absorption des Atomnebelstrahls, d.h. desto stärker ist die Abnahme seiner Lichtintensität. Für diesen Absorptionsvorgang gilt das Lambert-Beersche Gesetz, welches aussagt, dass die Konzentration des absorbierenden Stoffes dem logarithmischen Verhältnis der Strahlungsintensität vor und nach dem Absorptionsvorgang proportional ist. Die Höhe der Lichtintensitätsabnahme ist über den Vergleich der Lichtintensitäten des Atomnebelstrahls und des Parallelstrahls zu ermitteln. Die gemessene Extinktion ist zur Konzentration des Elements in der Probe direkt proportional.

Für die im Rahmen dieser Untersuchung durchgeführte Zinkanalyse wurde das Atomabsorptionsspektrometer Solar 939 (Fa. Unicam) verwendet. Als Lichtquelle dient eine Hohlkathodenlampe, die für die Zinkbestimmung einen Lichtstrahl mit einer Wellenlänge von 213,9 nm aussendet. Dieser Strahl wird durch die sogenannte Atomisierungseinheit geleitet, in der die Proben enthalten sind. Der Probenwechsel innerhalb der Einheit erfolgt automatisch nach Einprogrammierung des gewünschten Probenvolumens. Nach dem Austritt aus der Atomisierungseinheit fällt der Lichtstrahl auf den Monochromator, der dazu dient, den ausfallenden Lichtstrahl auf eine Wellenlänge zu begrenzen und so eine höhere Spezifität bei der folgenden Messung zu ermöglichen. Der Lichtstrahl fällt nun auf den Detektor (Photomultiplier), eine photooptische Einheit, die durch den Strahl übermittelte Lichtenergie in elektrische Impulse umwandelt, welche wiederum über eine Zählseinheit registriert werden. Das bereits beschriebene Zweistrahlmesssystem (Atomnebelstrahl und Parallel- bzw. Referenzstrahl) sorgt dafür, dass sich die durch die Hohlkathodenlampe hervorgerufenen Schwankungen der Lichtemission nicht auf das Messergebnis auswirken.

Vor Beginn der Probenanalysen wurde eine Eichkurve durch quadratische Anpassung an den Blindwert und drei Standardlösungen erstellt. Als standardisierte Zinklösung diente Zink-Standardlösung der Fa. Merck (1000 mg Zinknitrat/ l in Salpetersäure 0,5 mol/l). Diese wurde zur Herstellung der Eichlösungen mit Reinstwasser verdünnt. Zur Herstellung der Analyseproben wurde die jeweilige Serumprobe 1:5 mit Reinstwasser verdünnt.

### **3.1.5.6. Bestimmung des Calciumgehaltes der Knochen**

Zur Gewinnung von definierten Knochenteilen wurde den unmittelbar davor euthanasierten Schweinen der Schwanz direkt am Ansatz mittels eines Schlachtermessers abgetrennt. Die so gewonnenen Schwänze wurden zunächst bei -20°C in einem Gefrierbeutel eingefroren.

Zur Aufbereitung wurden sie zunächst 10 Minuten in einem 60°C heißen Wasserbad aufgetaut. Anschließend wurden sie eine halbe Stunde in destilliertem Wasser gekocht. Sodann wurde mit Hilfe eines Skalpells und zweier Pinzetten die Haut und das Fleisch abgetrennt. Der nun übrig gebliebene Anteil aus Schwanzwirbeln, Bindegewebe und Knochen wurde 1 Stunde lang in destilliertem Wasser gekocht. Anschließend konnten die Knorpelkappen und das verbliebene Bindegewebe von den Knochen gelöst werden.

Jeweils der erste Schwanzwirbel wurde in einen Porzellantiegel gegeben und 24 Stunden bei 105°C in einem Trockenschrank getrocknet und anschließend im Exsikator abgekühlt. Mit einer Waage wurde das Gewicht des getrockneten Knochens festgestellt, der daraufhin für 48 Stunden im Muffelofen bei 550°C verascht und anschließend wieder gewogen wurde.

Die veraschten Knochen wurden in Glasröhrchen umgefüllt, in 3 ml Roriputan® (37% HCl p.a., ACS, ISO; Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe) gelöst und 10 Minuten stehen gelassen, bis der Knochen vollständig aufgelöst war. Diese Lösung wurde mit Aqua dest. auf 10 ml aufgefüllt und mittels eines Vortex® gut vermischt. 100 µl dieser 1:10 Verdünnung wurden nochmals mit Aqua dest. auf ein Volumen von 10 ml aufgefüllt und ebenfalls mittels eines Vortex® gut vermischt. Die Kalziumkonzentrationen wurden mit dem Flammenphotometer *Elex 6361* (Fa. Eppendorf) gemessen. Mit der an das Gerät angeschlossenen Autopipette wurde die 1:1000 verdünnte Probe

entnommen und in einen Eppendorf Probebecher (4 ml) pipettiert. Pro Probe wurde ein Doppelansatz durchgeführt.

Bei diesem Messverfahren handelt es sich um ein photometrisches Messen der Flammenfärbung. Die von dem Gerät angesaugte Lösung wird im Photometer durch Druckluft mittels eines Zerstäubers sehr fein verteilt. Das entstandene Luft-Lösung-Aerosol wird mit Acetylen (Brenngas) gemischt und in die Flamme gebracht. Es entsteht ein Aufleuchten der Flamme, dessen Wellenlänge charakteristisch für jedes Element ist. Dieses Aufleuchten kommt durch die Anregung von Atomen zustande. Dies bedeutet, dass die Anzahl der vorhandenen Atome proportional zur Lichtmenge ist, so dass über die Messung der Lichtintensität auf die Konzentration des Calciums geschlossen werden kann.

#### **3.1.5.7. Bestimmung des Phosphorgehaltes der Knochen**

Die Vorgehensweise bei der Phosphorbestimmung ist bis zur 1:10-Verdünnung die Gleiche wie bei der Calciumbestimmung. Anschließend wird 1 ml der Probe (1:10-Verdünnung) mit Aqua dest. auf 10 ml aufgefüllt, so dass eine 1:100-Verdünnung entsteht. 50 µl dieser Lösung wurden in ein PP-Rundbodenröhrchen (10 ml) pipettiert, 1 ml 0,6 n Trichloressigsäure (98 g Trichloressigsäure (Fa. Merk, Nr.810) in 1 Liter Aqua dest.) , 1 ml Ammoniummolybdat-Lösung (40 mmol Ammoniummolybdat (49,4 g Molybdat, Fa. Merk, Nr.1182) in 2,5 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (130 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98 %ig) in 1 Liter Aqua dest.)) und 1 ml Ammoniumvanadat-Lösung (21 mmol Ammoniumvanadat in 2,8 n HNO<sub>3</sub> (2,46 g Vanadat, Fa. Merk, Nr. 1182 und 280 ml 1n HNO<sub>3</sub> in 1 Liter Aqua dest.)) wurden zur Probe hinzugegeben, diese auf dem Reagenzglasschüttler (Vortex<sup>®</sup>) kurz geschüttelt und 10 Minuten stehen gelassen. Die so vorbereitete Probe wurde in Einmal-Küvetten (Plastibrand<sup>®</sup>, 2,5 ml) gefüllt und ihre Extinktion im Spektralphotometer GENESYS 10 UV (Fa. ThermoSpectronic) bei 366 nm gemessen. Von den Proben wurden jeweils Doppelbestimmungen angefertigt.

Das Prinzip der Messung beruht darauf, dass bei Zugabe von salpetersaurer Lösung, Ammoniummolybdat und Ammoniumvanadat zu einer Phosphorsäure ein orangegelb gefärbter Komplex entsteht, dessen Farbintensität proportional zur Menge der Phosphorsäure ist. Diese Färbung kann bei 366 nm als Extinktion gemessen werden.

### 3.1.5.8. Mikrobiologische Untersuchung der Darmflora

Da sich aufgrund eines anderen Versuchs am Institut die Möglichkeit ergab, eine mikrobiologische Untersuchung der Darmflora durchzuführen, wurden unmittelbar der Euthanasie anschließend jeweils einem Tier pro Gruppe unter sterilen Bedingungen Duodenum entnommen und dessen Ingesta in sterile Proberöhrchen verbracht. In Kooperation mit dem Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung der LMU München wurde eine mikrobiologische Untersuchung der Darmflora auf Enterobakterien und Milchsäurebildner sowie auf die Gesamtzahl der aeroben und der anaeroben kolonienbildenden Einheiten und die Gesamtzahl der Enterokokken eingeleitet. Die Ingestaprobe wurden homogenisiert (Vortex®) und zur Aufstellung einer dezimalen Verdünnungsreihe mit NaCl versetzt. Die jeweiligen Verdünnungen wurden im Tropfverfahren auf Selektivmedien aufgebracht (0,1 ml). Die untersuchten Keimspezies und verwendeten Selektivnährböden sowie die Inkubationszeit und Bebrütungstemperatur sind in Tabelle 16 dargestellt.

**Tabelle 16: Inkubation der Ingestaprobe auf Selektivmedien**

Selektivmedium	Selektierte Mikroorganismen	aerob	an-aerob	Temperatur in °C	Inkubationsdauer in Stunden
Caseinpepton-Sojamehlagar <sup>a</sup>	KBE (aerob)	+	-	38	24
RCM-Agar mit Polymixin-B-Zusatz und Anaerocult A <sup>a</sup>	KBE (anaerob)	-	+	38	48
ROGOSA <sup>a</sup>	Lactobacillus	-	+	39	72
Columbia-CNA-Agar <sup>b</sup>	Enterokokken	+	-	45	24-48
MacConkey-Agar <sup>a</sup>	Enterobakterien	+	-	38	24

a: Fa. Merck

b: Fa. Merieux

## 3.2. Fermentationsversuch mit Hilfe der Rumen Simulation Technique (RUSITEC)

### 3.2.1. Versuchsaufbau – Rumen Simulation Technique

In diesem Versuch wurde ein RUSITEC-Gerät (CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE, 1977), das aus sechs simultan laufenden Glasfermentern besteht, verwendet. Jeder dieser Fermenter bildet ein geschlossenes System. Dieses System besteht jeweils aus einem zweiteiligen Glaskolben, in dem sich ein perforierter Glasinnenbehälter, welcher die Futtersäckchen enthält, befindet, eine daran angeschlossene Pufferzufuhr sowie ein Überlauf, der in einen Gasauffangballon mündet.



Abbildung 1: Das RUSITEC-System

Das kleinere Oberteil des Glaskolbens besitzt eine Öffnung für die Hubstange, eine Probenentnahmeöffnung und eine Überlauföffnung. Das längere Unterteil enthält die Öffnung für den Pufferzulauf. Beide Teile sind fest und luftdicht miteinander verschraubbar. Durch die Überlauföffnung, die an eine Flasche angeschlossen ist, kann überschüssige Flüssigkeit und gebildetes Gas entweichen. Die überschüssige Flüssigkeit wird in den Glasflaschen, die sich in einem Kühlsystem bei  $-20^{\circ}\text{C}$  befinden, tiefgefroren, um eine zusätzliche Gasproduktion zu vermeiden, die das Ergebnis verfälschen könnte. Aus der Überlaufflasche kann das Gas weiter in die Gas auffangballons entweichen.

Das lange Unterteil des Fermenters befindet sich in einem auf  $39,5^{\circ}\text{C}$  temperierten Wasserbad. Die Menge des ebenfalls durch das Wasserbad temperierten, in das Unterteil einfließenden Puffers (McDougall, 1948)<sup>1</sup>, der als Speichelerersatz dient, wird mittels einer PA-SK 8-IKA-Schlauchpumpe reguliert. Diese Menge sollte Idealerweise zwischen 600 bis 800 ml pro 24 Stunden betragen.

Die durch das Oberteil hindurchführende Hubstange ist einerseits an dem perforierten Glasinnenbehälter, andererseits an einer Platte, welche durch einen Motor auf und ab bewegt wird, befestigt. Dieser Innenbehälter enthält die beiden mit Futter befüllten Nylonsäckchen, deren dichtes Beisammenliegen einen bestmöglichen Übertritt von Mikroorganismen aus dem schon 24 Stunden inkubierten in das neue Futtersäckchen gewährleistet. Die verwendeten Nylonsäckchen mit einer Grösse von 7 x 14 cm sind aus Nylonstoff (Scrynel PA-100/31, Fa. SEFAR AG, Mesh + Technology, Rüslikon, Switzerland), dessen Porengrösse  $100 \times 100 \mu\text{m}$  beträgt. Die Bewegung des Innenbehälters mit einer Hubstrecke von 15 cm (8 x / Minute), der sich eng an der Fermenterwand auf und ab bewegt, simuliert die Pansenmotorik. Hierbei wird, allerdings im Gegensatz zu den physiologischen Gegebenheiten, die flüssige durch die feste Phase gepresst. Im Fermenter herrschen

---

<sup>1</sup>Mc Dougall-Puffer:

- Lösung 1:     49,00 g  $\text{NaHCO}_3$   
                   23,38 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$  in 4950 ml  $\text{H}_2\text{O}$
- Lösung 2:     2,35 g  $\text{NaCl}$   
                   2,85 g  $\text{KCl}$   
                   0,27 g  $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$   
                   0,64 g  $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$  in 50 ml  $\text{H}_2\text{O}$

Lösung 2 unter ständigem Rühren langsam zu Lösung 1 geben

anaerobe Verhältnisse. Damit dies gewährleistet werden kann, muss nach jeder Beschickung der Fermenter zwei Minuten mit Stickstoff begast werden.

### 3.2.2. Versuchsanordnung

Eine Übersicht zur Versuchsanordnung wird in Tabelle 17 dargestellt. Es wurden insgesamt vier Versuchsdurchgänge durchgeführt. Pro Versuchsdurchgang waren alle sechs Fermenter in Betrieb, wobei zwei der Fermenter immer Kontrollfermenter darstellten. In jedem Durchgang wurde der Zusatz der Menge an Seltenen Erden gesteigert. So wurden zunächst 150 ppm seltene Erden in die Versuchsfermenter hinzugegeben, im darauffolgenden Versuch 750 ppm und in den beiden letzten Durchläufen 3750 ppm, wobei die absolute REE-Menge, die in Versuch 4 eingesetzt wurde, die von Versuch 3 überstieg, da in Versuch 4 eine grössere Futtermenge eingesetzt wurde. In den beiden letzten Versuchsdurchläufen wurden zusätzlich zwei Fermenter als Positivkontrolle eingesetzt und ihnen wurde Tetracycline (Fluka Chemie AG) zugegeben. Die Zugabe von Seltenen Erden bzw. Tetracycline erfolgte jeweils am 5. Tag und wurde täglich wiederholt. Bei den dabei eingesetzten Seltenen Erden handelt es sich exakt um das gleiche REE-Citrat-Gemisch wie im vorangegangenen Ferkelversuch.

**Tabelle 17: Versuchsübersicht**

<b>Fermenteranzahl</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
<b>Versuch I</b>	Kontrolle	REE (150 ppm)	REE (150 ppm)
<b>Versuch II</b>	Kontrolle	REE (750 ppm)	REE (750 ppm)
<b>Versuch III</b>	Kontrolle	REE (3750 ppm)	Tetrazyklin
<b>Versuch IV</b>	Kontrolle	REE (3750 ppm)	Tetrazyklin



### 3.2.3. Vorgehen

Jeder Versuchsdurchlauf begann mit der Entnahme von Panseninhalt aus einer pansenfistulierten Kuh, die vorwiegend mit Heu gefüttert wurde. Der über die Fistel gewonnene Panseninhalt wurde umgehend mittels Filtrierung durch ein mit Gaze ausgelegtes feinmaschiges Sieb gelassen und in Pansensaft und Festsubstanz aufgetrennt. Je 800 ml des filtrierten Pansensaftes und je 100 ml künstlicher Speichel (McDougall-Puffer) wurden in jede der sechs Fermentationseinheiten, die schon im 39,5°C warmen Wasserbad standen, gegeben. Nun wurden als Startinokulum jeweils zirka 80 g der festen Pansenbestandteile in sechs Nylonsäckchen gefüllt. Diese wurden mit einem Nylonfaden zugeschnürt und jeder Fermenter mit einem dieser Säckchen bestückt. Des weiteren wurden pro Fermenter jeweils ein Nylonsäckchen mit einer Tagesration Kontrollfutter befüllt, verschnürt und ebenfalls in den Fermenter gegeben. Die Reaktionsgefäße wurden luftdicht verschlossen und anschließend für mindestens zwei Minuten mit Stickstoff begast, um ein anaerobes Milieu zu erhalten.

Die Futterrationen wurden jeweils morgens direkt nach der 0 h Messung ausgetauscht, wobei immer jenes Futtersäckchen entnommen wurde, welches sich schon 48 Stunden im Fermenter befand (nach den ersten 24 Stunden entsprach dies dem Säckchen mit dem Startinokulum).

Täglich erfolgte im Anschluss an die 0 h Messung die sogenannte Beschickung der Fermenter. Diese sogenannte Beschickung beinhaltet das Entnehmen des 48 Stunden verbliebenen Futtersäckchens, dessen Ausdrücken und zweimaliges Spülen mit jeweils 10 ml Mc Dougall-Puffer über dem jeweiligen Fermenter und die Neubeladung mit einer weiteren Futterration. Ab Tag 5 wurde, je nach Versuchsdurchlauf, eine bestimmte Menge REE-Citrat in 1ml McDougall-Puffer gelöst und bei der täglichen Beschickung hinzugegeben.

Damit in allen Fermentern die selben Verhältnisse herrschten, erfolgte zunächst eine viertägige Vorperiode ohne Zugabe von Seltenen Erden bzw. in den letzten beiden Durchläufen zusätzlich Tetrazyklin, in der eine Adaption der Pansenflora an die Rusitec-Verhältnisse ermöglicht werden konnte. An diese Vorperiode war eine 24-stündige Adaption angeschlossen, in der den Versuchsfermentern zum ersten Mal REE bzw. Tetrazyklin hinzugesetzt wurde. Die anschließende eigentliche

Versuchsphase dauerte 4 Tage. Die Versuchsphasen und jeweiligen Messzeitpunkte werden in Tabelle 18 dargestellt.

**Tabelle 18: Versuchsphasen und Messzeitpunkte**

	<b>Start</b>	<b>Vorperiode</b>	<b>Adaption</b>	<b>Versuchsperiode</b>	<b>Abbruch</b>
<b>Tag</b>	1	2 3 4	5	6 7 8 9	10
<b>Messungen</b>	0 h	0 h	0 h	0, 1, 2, 4 und 6 h	0 h

### 3.2.4. Versuchsrationen und Futtermittel

Die Futterrationen der ersten drei Versuchsdurchläufe setzten sich aus Heu, Gerste und Sojaextraktionsschrot zusammen. Die des letzten Durchlaufes bestanden aus Maissilage, Heu, Sojaextraktionsschrot und Gerste. Die Rationen wurden für eine 650 kg schwere Kuh mit einer Milchleistung von 7000 Litern pro Jahr erstellt. Für die Rumen Simulation Technic wurde für jeden Fermenter 1/1000 der zusammengestellten Ration verwendet. Um die physikalische Verkleinerung des Futters durch die Kuh durch Kauen und Wiederkäuen so gut wie möglich zu simulieren, wurde sowohl das Heu (Siebmaschenweite 4x4 mm), als auch die Gerste (Siebmaschenweite 2x2 mm) gemahlen. Aus Tabelle 19 sind die Zusammensetzungen der Versuchsrationen ersichtlich.

**Tabelle 19: Zusammensetzung der Versuchsrationen**

<b>Versuch</b>	<b>Heu</b>	<b>Sojaextraktionsschrot</b>	<b>Gerste</b>	<b>Maissilage</b>
<b>I, II und III</b>	19 g	1 g	5 g	-
<b>IV</b>	7 g	2,8 g	0,2 g	35 g

Der Gehalt an Rohnährstoffen der einzelnen Futtermittelkomponenten kann der Tabelle 20 entnommen werden.

**Tabelle 20: Trockensubstanz und Rohrnährstoffgehalt (bezogen auf TS) der einzelnen Futterkomponenten**

Komponente	TS (%)	Ra (%)	Rp (%)	Rfa(%)	Rfe (%)
Heu	91,98	6,96	8,03	27,17	-
Gerste	89,88	2,14	10,35	4,48	2,84
Soja	90,38	7,61	48,02	6,78	1,78
Maissilage	31,35	3,14	22,83	17,86	3,08

### 3.2.5. Analysen

#### 3.2.5.1. Probenentnahme

Mit Hilfe eines Katheterschläuchleins und einer Spritze wurden während der Vor- und Adaptionsphase täglich vor der Beschickung ( 0 h) und während der Versuchsphase zusätzlich 1, 2, 4 und 6 Stunden nach der Beschickung jeweils 10 ml Pansensaft aus den Fermentern entnommen. Als Pansensaft sollen im Folgenden der Pansensaft des Spendertieres und die sich in den Fermentern befindende Flüssigkeit verstanden werden.

#### 3.2.5.2. Pansensaftuntersuchung

Für jede Analyse wurden pro Fermenter 10 ml Pansensaft entnommen. Unmittelbar anschließend an die Entnahme erfolgte die Bestimmung des **pH-Wertes** mittels eines pH-Meters MA130 Ion Meter (Fa. METTLER TOLEDO AG, Switzerland) und des **Redoxpotentials** mittels einer Redoxelektrode und des 632 pH-Meters (Fa. METROHM, Switzerland).

Anschließend erfolgte die Bestimmung des **Ammoniak-Gehalts**. Hierzu wurde 1 ml Pansensaft mit 19 ml Aqua dest. auf ein Volumen von 20 ml verdünnt, 1 ml NaOH

hinzugegeben und umgehend mit einer ionenselektiven Elektrode, welche an das MA130 Ion Meter (Fa. METTLER TOLEDO AG, Switzerland) angeschlossen wurde, gemessen.

Für die Bestimmung der **flüchtigen Fettsäuren**, die nachfolgend **FFS** genannt werden, wurden zunächst, um die mikrobielle Fermentation zu stoppen, 200 µl Quecksilberchlorid ( 1,25 g HgCl<sub>2</sub> in 100 ml Aqua dest.) zu 2 ml Pansensaft hinzugegeben und die so vorbereiteten Proben bei -20°C eingefroren, da sie nicht umgehend analysiert werden konnten.

Zur Analyse wurden die Proben bei Zimmertemperatur aufgetaut und zu 0,6 ml des Untersuchungsmaterials wurden 0,15 ml Ameisensäure 20 % (Fluka Chemie AG) und 0,03 ml des internen Standards, welcher aus 2 ml Methanol (Biosolve) ad 50 ml H<sub>2</sub>O bestand, hinzugegeben, 30 Minuten bei 1600 g zentrifugiert und der Überstand in den Autosampler Varian 8200 CX eingesetzt. Bei diesem Messverfahren wird die eingesetzte Probe automatisch in den 250°C heißen Injektor des Gaschromatographen Star 3400 CX (Fa. Varian, Sugarland, TX 77478, USA) injiziert. Das Trägergas Stickstoff durchströmt mit 30 ml/min den heißen Injektor und nimmt die dort injizierte, schlagartig verdampfende Probe mit in die zwei Meter lange, 120°C heiße Glassäule. Die einzelnen Substanzen verweilen gemäß ihrer Löslichkeit und Polarität unterschiedlich lange Zeit in der stationären Phase und kommen deshalb zeitlich verzögert am FID Detektor (Fa. Varian) an. Dieser verwandelt die ankommenden Substanzen in elektrische Signale, welche von einem daran gekoppelten Schreiber registriert werden. Anhand verschiedener Standards kann anschließend auf die Menge der verschiedenen Fettsäuren geschlossen werden. In diesem Fall wurden Acetat, Butyrat, Iso-Butyrat, Propionat, Valerianat und Iso-Valerianat bestimmt.

### **3.2.5.3. Gasmenge**

Zur Messung der täglich produzierten Gasmenge wurden die jeweiligen Gas auffangballons an ein geschlossenes System, das aus einem mit Wasser gefüllten Glaszylinder mit Überlauf in einen Messzylinder bestand, angeschlossen. Durch Druck auf den Gasballon wurde dieser entleert und das aus diesem ausströmende Gas verdrängte das sich im Glaszylinder befindende Wasser. Nach

vollständiger Entleerung konnte anschließend die verdrängte Wassermenge von dem Messzylinder abgelesen und auf die Gasmenge geschlossen werden.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Fütterungsversuch mit Schweinen

#### 4.1.1. Gesundheitszustand

28 Ferkel der Kreuzung Deutsche Landrasse x Piétrain wurden für den Versuch in vier Rationsgruppen, welche jeweils aus sieben Tieren bestanden, eingeteilt. 4 Tage nach der Einstellung begannen einige Tiere aus verschiedenen Gruppen an Diarrhöe zu erkranken. Weitere Tiere erkrankten in den darauffolgenden Tagen. Aus Tabelle 21 kann die Anzahl und Gruppenzugehörigkeit der betroffenen Tiere entnommen werden. Drei Tage nach Erscheinen der ersten Symptome und zunehmender Anzahl erkrankter Tiere wurde von drei hochgradig erkrankten Ferkeln jeweils eine Kotprobe und ein Kottupfer entnommen und damit eine parasitologische, bakteriologische und virologische Untersuchung eingeleitet, sowie ein Antibiogramm erstellt. Die Ergebnisse der veranlassten Untersuchungen sind in Tabelle 22 dargestellt. Bei der Probe des Tieres 49 aus der Kontrollgruppe konnten ein geringer Keimgehalt von *Escherichia coli* variatio haemolytica, sowie einige Kolonien von Enterokokken und Pasteurellen festgestellt werden. In der Probe des Tieres 66 aus Gruppe 2 konnte ein hoher Gehalt von *E. coli* variatio haemolytica und in der Probe des Tieres 74 aus Gruppe 2 konnte ebenfalls ein hoher Gehalt an *E. coli*, die zum Teil hämolysierende Eigenschaften aufwiesen, nachgewiesen werden. Bei der molekularbiologischen Charakterisierung der *E. coli* konnte das *E. coli*-Enterotoxin ST-IP, das *E. coli*-Enterotoxin ST-II, ein Shigatoxin, sowie F18-Fimbrien nachgewiesen werden. Die Untersuchung auf Brachyspiren und Salmonellen war in allen drei Fällen negativ. In allen Kotproben konnte ein Parasitenbefall nicht nachgewiesen werden. Das Ergebnis des Antibiogramms zeigte, dass die ausgestrichenen Mischkulturen aus *E. coli* sensibel auf Enrofloxacin reagierten.

Da die Mehrheit der Tiere an Diarrhöe erkrankt war, wurden prophylaktisch alle Tiere ab Tag 11 drei Tage lang mit Enrofloxacin (Baytril® 5 %) i.m. in einer Dosierung von

2,5 mg / kg KGW ( das entspricht 0,05 ml / kg KGW) therapiert. Nach zwei Tagen verschwanden die Symptome bei allen Tieren.

**Tabelle 21: Übersicht über die Anzahl der an Diarrhöe erkrankten Tiere pro Gruppe**

<b>Gruppe</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
Ration	Kontrolle	50 ppm	100 ppm	200 ppm
Anzahl der Tiere mit Diarrhöe	4	6	4	4

**Tabelle 22: Ergebnisse der parasitologischen und bakteriologischen Untersuchung der Kotproben und Kottupfer**

<b>Schwein (Nummer/Gruppe)</b>	<b>Bakteriologische Untersuchung</b>	<b>Mikroskopische Untersuchung auf Brachyspiren</b>	<b>Parasitologische Untersuchung</b>
1 / 49	++ E.coli häm. und mucoid + Enterokokken + Pasteurella aerogenes	negativ	negativ
2 / 66	++++ E.coli häm.	negativ	negativ
2 / 74	++++ E.coli, z.T. häm.	negativ	negativ

Ebenfalls an Tag 4 riss sich ein weibliches Tier der Gruppe 2 den Hornschuh der vorderen Außenklaue ab. Es wurde zunächst mit einem Antibiotikum und Analgetikum therapiert, musste aber an Tag 8 aufgrund seiner Behinderung aus dem Versuch genommen werden.

Während des restlichen Versuchszeitraums, nach der überstandenen Diarrhöe-Phase, war der Gesundheitszustand der übrigen Tiere als gut zu bewerten.

## 4.1.2. Leistungsparameter

### 4.1.2.1. Futteraufnahme

Aus Tabelle 23 kann die durchschnittliche Futteraufnahme der verschiedenen Versuchsgruppen pro Tag entnommen werden. Für Gruppe 1 (Kontrollgruppe) betrug die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme über den gesamten ad libitum Versuchszeitraum 870 Gramm. Die durchschnittliche tägliche Futteraufnahme der Gruppe 2, 3 und 4 betrug 856, 913 bzw. 1020 Gramm. Somit war der gesamte Futtermittelverzehr von Gruppe 2 (50 mg REE-Citrat/kg Futter) um 1,6 % niedriger verglichen mit der Kontrollgruppe. Prozentuell gesehen lag die gesamte Futteraufnahme der Gruppen 3 (100 mg REE-Citrat/kg Futter) und 4 (200 mg REE-Citrat/kg Futter) bei 4,9 % bzw. 17,2 % über dem der Kontrollgruppe. Die Futteraufnahme stieg in den Versuchswochen in allen Gruppen stetig an. Am Ende des Versuches betrug der Futtermittelverzehr in allen Gruppen über das Dreifache, verglichen mit Woche 1.

**Tabelle 23: Durchschnittlicher Futtermittelverzehr in Gramm pro Tier und Tag in den einzelnen Rationsgruppen während des Versuches (MW  $\pm$  s)**

Durchschnittlicher Futtermittelverzehr pro Tier und Tag (g)						
Ration	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5(1/2)	Gesamt
Kontrolle	367 $\pm$ 83	680 $\pm$ 148	1020 $\pm$ 101	1197 $\pm$ 207	1245 $\pm$ 77	870 $\pm$ 144
50 mg REE/kg	366 $\pm$ 99	808 $\pm$ 178	942 $\pm$ 43	1165 $\pm$ 231	1258 $\pm$ 79	856 $\pm$ 130
100 mg REE/kg	337 $\pm$ 70	718 $\pm$ 206	995 $\pm$ 115	1301 $\pm$ 265	1441* $\pm$ 66	913 $\pm$ 152
200 mg REE/kg	469 $\pm$ 120	836 $\pm$ 213	1155 $\pm$ 52	1340* $\pm$ 207	1513* $\pm$ 62	1020 $\pm$ 137

\* =  $p < 0,05$



Dabei nahmen die Tiere der Gruppe 4 bereits ab Woche 1 mehr Futter als die Tiere der anderen Gruppen auf. Dies setzte sich über alle darauffolgenden Versuchswochen fort. Sowohl in Woche 3, als auch in Woche 5 (1/2) war der tägliche Futterverzehr der Tiere der Gruppe 4 gegenüber dem der Tiere der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Ebenfalls eine signifikant erhöhte Futteraufnahme in Woche 5 (1/2) zeigten die Tiere aus Gruppe 3, verglichen mit denen der Kontrollgruppe. Bis auf Abweichungen in Woche 2 und Woche 3 entsprach der tägliche Futterverbrauch der Gruppe 2 tendenziell dem der Kontrolltiere.

#### 4.1.2.2. Gewichtsentwicklung

Die Tiere wurden am Tag der Einstallung (Tag 0), an Tag 5, sowie an Tag 6 zu Beginn der ad libitum Fütterung und anschließend zweimal wöchentlich in 3- bzw. 4-tägigen Abständen gewogen. Tabelle 24 gibt das durchschnittliche Körpergewicht der verschiedenen Rationsgruppen an den Tagen 0, 5, 6, 10, 13, 17, 20, 24, 27, 31, 34 und 38 wieder.

**Tabelle 24: Durchschnittliches Körpergewicht in Kilogramm (kg) pro Tier der einzelnen Rationsgruppen an den Tagen 0 bis 38 (MW  $\pm$  s)**

Ration	Durchschnittliches Lebendgewicht (kg) pro Tier											
	Tag 0	Tag 5	Tag 6	Tag 10	Tag 13	Tag 17	Tag 20	Tag 24	Tag 27	Tag 31	Tag 34	Tag 38
Kontrolle	8,6 $\pm 0,8$	8,8 $\pm 0,8$	9,0 $\pm 0,9$	9,5 $\pm 1,1$	10,6 $\pm 1,4$	12,0 $\pm 1,6$	13,7 $\pm 1,9$	16,2 $\pm 2,3$	18,2 $\pm 2,6$	20,9 $\pm 3,2$	23,4 $\pm 3,1$	25,7 $\pm 3,5$
50 mg REE/kg	8,6 $\pm 0,7$	9,1 $\pm 0,9$	9,2 $\pm 0,9$	9,8 $\pm 1,3$	11,0 $\pm 1,5$	12,5 $\pm 2,0$	14,4 $\pm 1,9$	16,8 $\pm 2,1$	18,3 $\pm 2,2$	20,8 $\pm 2,6$	23,3 $\pm 2,9$	26,1 $\pm 3,2$
100 mg REE/kg	8,6 $\pm 1,1$	9,0 $\pm 1,1$	9,3 $\pm 1,2$	9,8 $\pm 1,3$	11,0 $\pm 1,4$	12,8 $\pm 1,5$	14,6 $\pm 1,6$	16,9 $\pm 2,5$	19,0 $\pm 2,9$	21,5 $\pm 3,2$	24,1 $\pm 3,3$	27,4 $\pm 3,7$
200 mg REE/kg	8,6 $\pm 1,3$	9,2 $\pm 1,5$	9,5 $\pm 1,5$	10,2 $\pm 1,9$	12,1 $\pm 2,0$	14,0 $\pm 2,5$	15,7 $\pm 2,7$	18,8 $\pm 3,3$	20,9 $\pm 3,7$	24,0 $\pm 4,1$	26,5 $\pm 4,5$	30,1 $\pm 5,0$

Beim Einstellen wiesen alle vier Versuchsgruppen ein im Mittel gleiches Gewicht von 8,6 kg ( $\pm 0,01$  kg) auf. Während des Versuchszeitraums hatte die Gruppe 4 (200 mg REE-Citrat / kg) bereits ab Tag 5, also noch während der restriktiven Fütterungsphase, das höchste durchschnittliche Gewicht. Des Weiteren hatten die Tiere der Gruppe 3 (100 mg REE-Citrat / kg) ebenfalls schon ab Tag 5 höhere Gewichte als die Kontrollgruppe. Das durchschnittliche Körpergewicht der Gruppe 2 (50 mg REE-Citrat / kg) unterschied sich über den gesamten Versuchszeitraum nur geringgradig von dem der Kontrollgruppe. Die durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahmen pro Tier in der jeweiligen Versuchswoche werden in Tabelle 25 dargestellt.

**Tabelle 25: Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahmen pro Tier in den einzelnen Rationsgruppen im Versuchszeitraum (MW  $\pm$  s)**

Ration	Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahmen (g) pro Tier					
	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5 (1/2)	Gesamt
Kontrolle	232 $\pm 94$	432 $\pm 82$	655 $\pm 138$	734 $\pm 122$	593 $\pm 176$	523 $\pm 118$
50 mg REE/kg	229 $\pm 132$	495 $\pm 93$	558 $\pm 117$	708 $\pm 137$	713 $\pm 146$	525 $\pm 123$
100 mg REE/kg	249 $\pm 72$	512 $\pm 95$	621 $\pm 256$	738 $\pm 134$	832* $\pm 146$	568 $\pm 140$
200 mg REE/kg	365 $\pm 98$	512 $\pm 109$	741 $\pm 164$	798 $\pm 140$	898* $\pm 176$	641 $\pm 134$

\* =  $p < 0,05$

Die durchschnittlichen Tageszunahmen der Gruppe 2 (50 mg REE-Citrat), über den gesamten Versuchszeitraum gesehen, entsprachen im Prinzip denen der Kontrollgruppe. Die täglichen Gewichtszunahmen der mit 100 ppm REE –Citrat supplementierten Tiere (Gruppe 3) lagen bei einem Wert von durchschnittlich 568 g pro Tag um 8,6 % über denen der Kontrollgruppe. Die Tiere der Gruppe 4 (200 mg

REE-Citrat) lagen mit einer durchschnittlichen täglichen Gewichtszunahme von 641 g pro Tag sogar um 22,6 % über der Kontrollgruppe, deren Tiere durchschnittlich 523 g pro Tag zugenommen hatten. In Woche 5 (1/2) waren sowohl die durchschnittlichen täglichen Zunahmen von Gruppe 4 wie auch von Gruppe 3 im Vergleich zu denen der Kontrollgruppe signifikant erhöht.

#### 4.1.2.3. Futtermittelverwertung

Anhand des täglich bestimmten Futtermittelverzehrs und der Gewichtszunahme der Versuchstiere konnte die jeweilige Futtermittelverwertung pro Tier und Gruppe errechnet werden. Die durchschnittliche Futtermittelverwertung der einzelnen Rationsgruppen wird in Tabelle 26 dargestellt. In Woche 1 wiesen die Tiere der Gruppe 3 und 4 eine um 15,1 % bzw. um 18,9 % verbesserte Futtermittelverwertung gegenüber der Kontrollgruppe auf. Im Gegensatz hierzu unterschied sich die Futtermittelverwertung der Gruppe 2 in Woche 1 nur geringfügig von der Kontrollgruppe. Bei allen Gruppen verschlechterte sich die Futtermittelverwertung zum Versuchsende hin.

**Tabelle 26: Durchschnittliche Futtermittelverwertung (kg/kg) in den einzelnen Rationsgruppen im Versuchszeitraum**

Ration	Durchschnittliche Futtermittelverwertung (kg/kg)					Gesamt
	Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	Woche 5(1/2)	
Kontrolle	1,59	1,57	1,56	1,63	2,10	1,65
50 ppm	1,60	1,46	1,69	1,65	1,77	1,62
100 ppm	1,35	1,40	1,60	1,76	1,73	1,56
200 ppm	1,29	1,63	1,56	1,68	1,68	1,56

\*) Die Standardabweichung der durchschnittlichen Futtermittelverwertung konnte nicht berechnet werden, da die Gewichtsbestimmung zwar pro Tier, die Futtermittelaufnahme jedoch nur pro Gruppe bestimmt werden konnte.

Über den gesamten Versuchszeitraum gesehen war die durchschnittliche Futtermittelverwertung bei allen mit Seltenen Erden supplementierten Gruppen besser als die der Kontrollgruppe. Bei den Tieren der Gruppe 2 (50 mg REE-Citrat) konnte eine Verbesserung der Futtermittelverwertung um insgesamt 1,99 % erzielt werden. Bei den Gruppen 3 (100 mg REE-Citrat) und 4 (200 mg REE-Citrat) konnte eine Verbesserung der Futtermittelverwertung um 5,80 % bzw. um 5,78 % erreicht werden.

### 4.1.3. Blutparameter

#### 4.1.3.1. ALP-Konzentration

Bei den Versuchstieren wurde an Tag 1, 15, 29 und 41 venöses Blut entnommen. Im Serum wurde die Aktivität der Alkalischen Phosphatase gemessen. Die Ergebnisse der Analyse des ALP-Gehaltes im Serum werden in Tabelle 27 aufgeführt.

**Tabelle 27: Durchschnittliche Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Serum in IU/l an Tag 1, 15, 29 und 41 (MW  $\pm$  s)**

Ration	Durchschnittlicher Gehalt der ALP im Serum in IU/l			
	Tag 1	Tag 15	Tag 29	Tag 41
Kontrolle	500,86 $\pm$ 182,66	433,09 $\pm$ 187,60	375,23 $\pm$ 174,01	296,83 $\pm$ 70,54
50 mg REE/kg	529,24 $\pm$ 182,33	423,99 $\pm$ 138,38	349,61 $\pm$ 120,25	287,25 $\pm$ 107,88
100 mg REE/kg	562,02 $\pm$ 113,25	351,14 $\pm$ 86,40	359,65 $\pm$ 134,88	305,81 $\pm$ 119,15
200 mg REE/kg	494,25 $\pm$ 72,38	312,42 $\pm$ 89,17	318,08 $\pm$ 25,78	251,89 $\pm$ 53,13

Die zu Beginn hohen Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase nahmen im Laufe des Versuchs in allen Gruppen, einschließlich der Kontrollgruppe, ab. Dabei waren die

Werte der Gruppe 4 (200 mg REE-Citrat / kg Futter ) zu jedem Messzeitpunkt die niedrigsten. Während der Verfütterung der Seltenen Erden waren die Werte der Gruppe 4 um 15,1 % bis 27,9 % niedriger als die der Kontrollgruppe. Die Aktivitäten der ALP von Gruppe 2 waren nach der ersten Blutentnahme um 2,1 % bis 6, 8 % kleiner als die der Kontrollgruppe. Die Aktivität der ALP in Gruppe 3 war an Tag 15 und 29 um 18,9 % bzw. 4,2 % niedriger und an Tag 41 um 3,02 % höher als die der Kontrollgruppe. Die ALP-Werte der Versuchsgruppen wiesen an den verschiedenen Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede zu denen der Kontrollgruppe auf.

#### 4.1.3.2. Gehalt an Zink im Serum

Bei der Messung des Zinkgehaltes im Serum an den Tagen 1, 15, 29 und 41 ergaben sich für die verschiedenen Rationsgruppen ähnliche Werte (Tabelle 28). Der durchschnittliche Zinkgehalt stieg bei allen Gruppen bis zur dritten Blutentnahme an und fiel anschließend wieder geringgradig ab. Zu allen vier Blutentnahmezeitpunkten wiesen die Zink-Werte keine signifikanten Unterschiede im Vergleich mit der Kontrollgruppe auf.

**Tabelle 28: Durchschnittlicher Zinkgehalt (mg / kg) im Serum (MW ± s) an Tag 1, 14, 29 und 41**

Ration	Durchschnittlicher Zink-Gehalt im Serum			
	Tag 1	Tag 15	Tag 29	Tag 41
Kontrolle	0,516 ±0,098	0,616 ±0,059	0,887 ±0,116	0,717 ±0,078
50 mg REE/kg	0,555 ±0,112	0,586 ±0,137	0,941 ±0,361	0,712 ±0,061
100 mg REE/kg	0,582 ±0,051	0,635 ±0,173	0,800 ±0,088	0,739 ±0,170
200 mg REE/kg	0,568 ±0,072	0,652 ±0,095	0,909 ±0,149	0,701 ±0,069

#### 4.1.4. Calcium- und Phosphorgehalt der Knochen

Der jeweils erste Schwanzwirbel wurde auf seinen Calcium- und Phosphorgehalt hin analysiert. Der Calcium- und Phosphorgehalt sowie das Calcium/Phosphorverhältnis im veraschten Knochen sind in Tabelle 29 dargestellt. Der durchschnittliche Calciumgehalt im Knochen unterschied sich zwischen den verschiedenen Gruppen nur geringfügig.

**Tabelle 29: Durchschnittlichen Calcium- und Phosphorgehalte in Gramm pro Kilogramm Knochen sowie das Calcium/Phosphorverhältnis (MW  $\pm$  s)**

Ration	Calcium	Phosphor	Ca/P
Kontrolle	341,47 $\pm 6,61$	178,48 $\pm 3,06$	1,91 $\pm 0,04$
50 mg REE/kg	330,31* $\pm 6,07$	180,92 $\pm 1,24$	1,83* $\pm 0,03$
100 mg REE/kg	330,25* $\pm 6,58$	177,04 $\pm 6,56$	1,87* $\pm 0,06$
200 mg REE/kg	347,35 $\pm 6,26$	179,47 $\pm 1,69$	1,94 $\pm 0,05$

\* =  $p < 0,05$

Er lag bei Gruppe 2 und 3 bei 330 Gramm pro Kilogramm Knochen, während er bei Gruppe 1 und 4 Werte von 341 Gramm bzw. 347 Gramm pro Kilogramm Knochen erreichte. Die Calcium-Gehalte der Gruppe 2 und 3 sind verglichen mit denen der Gruppen 1 und 4 signifikant erniedrigt. Der durchschnittliche Phosphorgehalt des Knochens lag bei Werten zwischen 177 Gramm und 180 Gramm pro Kilogramm Knochen. Der Phosphorgehalt von Gruppe 2 war um 1,4 % geringgradig erhöht, während der von Gruppe 3 und 4, verglichen mit der Kontrollgruppe um 0,8 % bzw. 0,6 % erniedrigt war. Das durchschnittliche Calcium/Phosphorverhältnis lag bei Werten zwischen 1,83 und 1,94. Am höchsten war der Wert des Calcium/Phosphorverhältnisses bei Gruppe 4. Dieser lag um 1,2 % über dem der

Kontrollgruppe, während der von Gruppe 2 und 3 um 4,6 % bzw. 2,4 % darunter lag. Verglichen mit Gruppe 4 waren die Ca/P-Verhältnisse der Gruppen 2 und 3 signifikant erniedrigt, verglichen mit der Kontrollgruppe nur jenes der Gruppe 2.

#### 4.1.5. Mikrobiologie der Darmflora

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung der LMU München wurde die Anzahl der koloniebildenden Einheiten pro Gramm Feuchtgewicht des Duodenalinhaltes von je einem Tier pro Gruppe ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 30 dargestellt.

**Tabelle 30: Keimzahlen der Duodenalingestapoben**

	<b>Gruppe 1</b>	<b>Gruppe 2</b>	<b>Gruppe 3</b>	<b>Gruppe 4</b>
KBE aerob	35 x 10 <sup>6</sup>	4 x 10 <sup>6</sup>	4 x 10 <sup>6</sup>	11 x 10 <sup>6</sup>
KBE anaerob	1,7 x 10 <sup>9</sup>	60 x 10 <sup>6</sup>	17 x 10 <sup>6</sup>	92 x 10 <sup>6</sup>
Enterobakterien	0,8 x 10 <sup>6</sup> E.coli	0,4 x 10 <sup>6</sup> E.coli	0,8 x 10 <sup>6</sup> E.coli	1 x 10 <sup>6</sup> E.coli
Enterokokken (Gesamtzahl)	-	-	-	0,1 x 10 <sup>6</sup> E.faecalis
Milchsäurebildner (Gesamtzahl)	50 x 10 <sup>6</sup>	50 x 10 <sup>6</sup>	8 x 10 <sup>6</sup>	71 x 10 <sup>6</sup>
Lactobacillus acidophilus	40 x 10 <sup>6</sup>	50 x 10 <sup>6</sup>	8 x 10 <sup>6</sup>	2 x 10 <sup>6</sup>
Lactobacillus delb. delb.	10 x 10 <sup>6</sup>	-	-	64 x 10 <sup>6</sup>
Lactobacillus fermentum	-	-	-	4 x 10 <sup>6</sup>
Lactobacillus salivarius	-	-	-	1 x 10 <sup>6</sup>

Die Probe des Tieres aus der Kontrollgruppe wies die höchste Anzahl der aeroben und anaeroben koloniebildender Einheiten auf, während die KBE der mit Seltenen Erden supplementierten Tiere deutlich niedriger waren. Die Anzahl von E.coli war bei allen vier Tieren sehr ähnlich. Nur bei den Tieren, welche mit 200 mg REE-Citrat supplementiertes Futter erhielten, konnte eine geringe Besiedelung von Enterococcus faecalis nachgewiesen werden. Die Gesamtzahl der Milchsäurebildner war in der Probe des Tieres aus Gruppe 3 (100 mg REE/kg Futter) im Vergleich zu den anderen reduziert. Die Digestaprobe des Tieres aus Gruppe 4 (200 mg REE/kg Futter) wies sowohl eine größere Anzahl wie auch Vielfalt an Milchsäurebildnern auf.



## **4.2. Rumen Simulation Technique**

Es wurden insgesamt vier Versuchsdurchläufe durchgeführt. Aufgrund der großen Datenmengen und der prinzipiell gleichen Ergebnisse der verschiedenen Versuchsdurchläufe wird lediglich das Ergebnis beispielhaft anhand eines Versuchsdurchlaufes dargestellt.

### **4.2.1. pH-Wert**

Gegen Ende der Vorperiode stellte sich in allen Fermentern ein relativ einheitlicher pH-Wert zwischen 6,91 und 6,94 ein. Tabelle 31 zeigt eine Übersicht der durchschnittlichen pH-Werte zu allen Messzeitpunkten. Die pH-Wert-Schwankungen verhielten sich über den ganzen Versuchszeitraum sehr ähnlich. Der pH-Wert lag in der Vorperiode bei 6,66 im Startinokulum und erreichte Werte bis 6,94 in den Fermentern. Während der Versuchsphase lag der Schwankungsbereich des pH-Wertes zwischen 6,86 und 6,98. Zwischen den verschiedenen Versuchsfermentern bestanden keine Unterschiede.

**Tabelle 31: Übersicht der durchschnittlichen pH-Werte in den verschiedenen rationierten Fermentern über den gesamten Versuchszeitraum (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	6,66 $\pm$ 0,00	6,66 $\pm$ 0,00	6,66 $\pm$ 0,00
2	0 h	6,78 $\pm$ 0,04	6,79 $\pm$ 0,05	6,73 $\pm$ 0,03
3	0 h	6,89 $\pm$ 0,04	6,93 $\pm$ 0,02	6,87 $\pm$ 0,03
4	0 h	6,88 $\pm$ 0,02	6,90 $\pm$ 0,01	6,91 $\pm$ 0,02
5	0 h	6,91 $\pm$ 0,01	6,94 $\pm$ 0,03	6,91 $\pm$ 0,04
6	0 h	6,95 $\pm$ 0,05	6,91 $\pm$ 0,02	6,95 $\pm$ 0,02
	1 h	6,93 $\pm$ 0,01	6,93 $\pm$ 0,00	6,94 $\pm$ 0,02
	2 h	6,98 $\pm$ 0,04	6,97 $\pm$ 0,02	6,98 $\pm$ 0,01
	4 h	6,95 $\pm$ 0,01	6,92 $\pm$ 0,01	6,92 $\pm$ 0,02
	6 h	6,93 $\pm$ 0,07	6,93 $\pm$ 0,03	6,91 $\pm$ 0,01
7	0 h	6,88 $\pm$ 0,02	6,87 $\pm$ 0,02	6,86 $\pm$ 0,00
	1 h	6,92 $\pm$ 0,02	6,93 $\pm$ 0,03	6,94 $\pm$ 0,01
	2 h	6,93 $\pm$ 0,01	6,95 $\pm$ 0,02	6,97 $\pm$ 0,06
	4 h	6,93 $\pm$ 0,01	6,94 $\pm$ 0,06	6,90 $\pm$ 0,01
	6 h	6,90 $\pm$ 0,04	6,92 $\pm$ 0,00	6,87 $\pm$ 0,01
8	0 h	6,87 $\pm$ 0,02	6,96 $\pm$ 0,01	6,93 $\pm$ 0,01
	1 h	6,88 $\pm$ 0,02	6,96 $\pm$ 0,02	6,91 $\pm$ 0,00
	2 h	6,92 $\pm$ 0,01	6,97 $\pm$ 0,02	6,82 $\pm$ 0,05
	4 h	6,90 $\pm$ 0,03	6,95 $\pm$ 0,05	6,82 $\pm$ 0,05
	6 h	6,91 $\pm$ 0,01	6,96 $\pm$ 0,06	6,85 $\pm$ 0,02
9	0 h	6,89 $\pm$ 0,02	6,92 $\pm$ 0,03	6,84 $\pm$ 0,01
	1 h	6,92 $\pm$ 0,01	6,97 $\pm$ 0,02	6,83 $\pm$ 0,02
	2 h	6,900 $\pm$ 0,00	6,93 $\pm$ 0,01	6,89 $\pm$ 0,02
	4 h	6,90 $\pm$ 0,10	6,88 $\pm$ 0,02	6,79 $\pm$ 0,01
	6 h	6,88 $\pm$ 0,05	6,91 $\pm$ 0,01	6,82 $\pm$ 0,01
10	0 h	6,89 $\pm$ 0,01	6,92 $\pm$ 0,01	6,90 $\pm$ 0,00

### 4.2.2. Redoxpotential

Die durchschnittlichen Redoxpotentialwerte während des gesamten Versuches sind in Tabelle 32 dargestellt. Das Redoxpotential sank in der Vorversuchsphase von -252 mV im Startinokkulum auf Werte zwischen -194 mV und -221 mV ab. In der Versuchsphase verhielten sich das durchschnittliche Redoxpotential der Kontrollgruppe und der mit Seltenen Erden supplementierten Gruppe sehr ähnlich zueinander, während das Redoxpotential der Tetrazyklingruppe ab Tag 7 massiv anstieg und diese hohen Werte über die restliche Versuchsphase beibehielt. In allen Fermentern erniedrigte sich das Redoxpotential umgehend nach der Fütterung. Während der Versuchsphase stellte sich zwei Stunden nach der Fütterung (2 h) bei den Kontrollfermentern und den mit Seltenen Erden supplementierten Fermentern das negativste Redoxpotential ein. Im Gegensatz hierzu fiel das Redoxpotential in den Tetrazyklinfermentern zunächst ab, war anschließend bei 2 h etwas höher und erreichte erst 4 h nach Fütterung den negativsten Wert.

**Tabelle 32: Übersicht des durchschnittlichen Redoxpotentials in mV in den verschiedenen rationierten Fermentern über den gesamten Versuchszeitraum (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	-252 $\pm$ 0	-252 $\pm$ 0	-252 $\pm$ 0
2	0 h	-249 $\pm$ 9	-247 $\pm$ 4	-249 $\pm$ 11
3	0 h	-233 $\pm$ 11	-225 $\pm$ 22	-237 $\pm$ 18
4	0 h	-237 $\pm$ 24	-222 $\pm$ 29	-228 $\pm$ 1
5	0 h	-194 $\pm$ 6	-198 $\pm$ 6	-221 $\pm$ 7
6	0 h	-203 $\pm$ 4	-205 $\pm$ 6	-216 $\pm$ 4
	1 h	-258 $\pm$ 5	-260 $\pm$ 15	-224 $\pm$ 18
	2 h	-254 $\pm$ 2	-258 $\pm$ 14	-223 $\pm$ 13
	4 h	-251 $\pm$ 6	-266 $\pm$ 4	-203 $\pm$ 16
	6 h	-246 $\pm$ 14	-266 $\pm$ 2	-226 $\pm$ 0
7	0 h	-206 $\pm$ 2	-196 $\pm$ 8	-111 $\pm$ 0
	1 h	-271 $\pm$ 4	-261 $\pm$ 4	-175 $\pm$ 11
	2 h	-279 $\pm$ 3	-264 $\pm$ 6	-140 $\pm$ 5
	4 h	-260 $\pm$ 2	-266 $\pm$ 4	-165 $\pm$ 10
	6 h	-256 $\pm$ 7	-240 $\pm$ 1	-178 $\pm$ 10
8	0 h	-220 $\pm$ 6	-204 $\pm$ 1	-102 $\pm$ 12
	1 h	-259 $\pm$ 4	-267 $\pm$ 5	-140 $\pm$ 12
	2 h	-261 $\pm$ 4	-268 $\pm$ 3	-136 $\pm$ 12
	4 h	-254 $\pm$ 4	-263 $\pm$ 15	-156 $\pm$ 6
	6 h	-262 $\pm$ 10	-257 $\pm$ 16	-131 $\pm$ 8
9	0 h	-230 $\pm$ 2	-191 $\pm$ 10	-72 $\pm$ 41
	1 h	-268 $\pm$ 5	-261 $\pm$ 3	-143 $\pm$ 39
	2 h	-278 $\pm$ 8	-281 $\pm$ 14	-129 $\pm$ 26
	4 h	-270 $\pm$ 6	-265 $\pm$ 1	-144 $\pm$ 25
	6 h	-249 $\pm$ 1	-248 $\pm$ 4	-143 $\pm$ 18
10	0 h	-214 $\pm$ 8	-209 $\pm$ 13	-95 $\pm$ 21

### **4.2.3. Ammoniak-Gehalt**

Nach initialem Anstieg des Ammoniak-Gehalts senkte sich dieser am Ende der Vorversuchsphase auf Werte zwischen 4,93 mmol/l und 5,97 mmol/l. Eine Übersicht über den Verlauf des Ammoniak-Gehalts während des gesamten Versuchs bietet Tabelle 33. Ab Tag 8 lagen die Ammoniakwerte der Tetrazyklinfermenter immer unterhalb derer der Kontroll- und REE-Fermenter. An Tag 10 lag der durchschnittliche Ammoniakgehalt der Tetrazyklinfermenter unter 50 % der Anderen.

**Tabelle 33: Übersicht des durchschnittlichen Ammoniak-Gehalts in mmol/l in den verschieden rationierten Fermentern über den gesamten Versuchszeitraum (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	6,91 $\pm$ 0,00	6,91 $\pm$ 0,00	6,91 $\pm$ 0,00
2	0 h	10,09 $\pm$ 0,09	11,63 $\pm$ 0,04	11,94 $\pm$ 1,72
3	0 h	8,23 $\pm$ 0,33	10,59 $\pm$ 0,18	12,32 $\pm$ 1,65
4	0 h	5,49 $\pm$ 0,17	6,24 $\pm$ 0,07	8,18 $\pm$ 1,77
5	0 h	4,93 $\pm$ 0,00	5,08 $\pm$ 0,19	5,97 $\pm$ 0,74
6	0 h	4,52 $\pm$ 0,30	5,19 $\pm$ 0,44	6,30 $\pm$ 0,51
	1 h	4,38 $\pm$ 0,32	5,11 $\pm$ 0,56	5,74 $\pm$ 0,51
	2 h	3,96 $\pm$ 0,29	4,83 $\pm$ 0,58	5,45 $\pm$ 0,42
	4 h	3,45 $\pm$ 0,23	4,23 $\pm$ 0,47	4,91 $\pm$ 0,46
	6 h	3,07 $\pm$ 0,19	3,72 $\pm$ 0,36	4,41 $\pm$ 0,32
7	0 h	3,76 $\pm$ 0,10	4,27 $\pm$ 0,16	3,97 $\pm$ 0,21
	1 h	3,89 $\pm$ 0,06	4,69 $\pm$ 0,48	4,08 $\pm$ 0,12
	2 h	3,59 $\pm$ 0,09	4,40 $\pm$ 0,42	3,67 $\pm$ 0,20
	4 h	2,91 $\pm$ 0,14	3,71 $\pm$ 0,48	3,11 $\pm$ 0,18
	6 h	2,49 $\pm$ 0,19	3,29 $\pm$ 0,53	2,83 $\pm$ 0,17
8	0 h	2,34 $\pm$ 0,03	2,82 $\pm$ 0,46	2,18 $\pm$ 0,14
	1 h	3,24 $\pm$ 0,11	3,88 $\pm$ 0,37	2,51 $\pm$ 0,07
	2 h	2,13 $\pm$ 0,01	2,78 $\pm$ 0,33	1,82 $\pm$ 0,05
	4 h	1,66 $\pm$ 0,14	2,34 $\pm$ 0,32	1,44 $\pm$ 0,08
	6 h	1,44 $\pm$ 0,19	2,12 $\pm$ 0,31	1,36 $\pm$ 0,03
9	0 h	2,96 $\pm$ 0,45	3,20 $\pm$ 0,07	2,14 $\pm$ 0,24
	1 h	2,79 $\pm$ 0,39	3,27 $\pm$ 0,05	2,01 $\pm$ 0,25
	2 h	2,41 $\pm$ 0,34	2,90 $\pm$ 0,01	1,69 $\pm$ 0,17
	4 h	2,00 $\pm$ 0,38	2,42 $\pm$ 0,04	1,38 $\pm$ 0,09
	6 h	1,71 $\pm$ 0,23	2,30 $\pm$ 0,03	1,32 $\pm$ 0,14
10	0 h	3,23 $\pm$ 0,27	3,30 $\pm$ 0,60	1,55 $\pm$ 0,22

#### **4.2.4. Flüchtige Fettsäuren**

In diesem Versuch wurden die flüchtigen Fettsäuren Acetat, Propionat, Butyrat, Iso-Butyrat, Valerianat und Iso-Valerianat bestimmt.

##### **4.2.4.1. Gesamtmenge der FFS**

Die Gesamtmenge der flüchtigen Fettsäuren in dem frisch von der fistulierten Kuh entnommenen Pansensaft betrug 106 mmol/l. Tabelle 34 stellt den Verlauf der durchschnittlichen Gesamtmenge flüchtiger Fettsäuren dar. Im Verlauf der Vorversuchsphase nahm die Gesamtmenge der FFS in allen sechs Fermentern kontinuierlich, jedoch nicht in allen Fermentern in gleichem Maße, ab und betrug am Ende der Vorversuchsphase 43,10 mmol/l bis 50,15 mmol/l. Im Verlauf der Versuchsphase nahm die Gesamtmenge an produzierten flüchtigen Fettsäuren bei allen Gruppen zu.

**Tabelle 34: Durchschnittliche Gesamtkonzentration der flüchtigen Fettsäuren in mmol/l in den verschiedenen rationierten Fermentern (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	106,00 $\pm$ 0,00	106,00 $\pm$ 0,00	106,00 $\pm$ 0,00
2	0 h	70,90 $\pm$ 2,40	67,70 $\pm$ 1,70	74,25 $\pm$ 6,15
3	0 h	51,50 $\pm$ 4,24	51,45 $\pm$ 1,34	65,15 $\pm$ 2,33
4	0 h	47,75 $\pm$ 0,64	58,90 $\pm$ 16,55	47,35 $\pm$ 1,34
5	0 h	43,10 $\pm$ 2,83	50,15 $\pm$ 2,05	43,30 $\pm$ 1,98
6	0 h	46,20 $\pm$ 4,67	46,05 $\pm$ 6,43	45,75 $\pm$ 5,59
	1 h	45,65 $\pm$ 1,34	46,40 $\pm$ 1,98	49,65 $\pm$ 7,99
	2 h	54,30 $\pm$ 11,17	59,60 $\pm$ 6,08	58,80 $\pm$ 19,52
	4 h	58,20 $\pm$ 15,70	48,95 $\pm$ 1,48	45,45 $\pm$ 0,07
	6 h	58,90 $\pm$ 13,44	60,90 $\pm$ 0,28	52,35 $\pm$ 5,30
7	0 h	46,70 $\pm$ 1,84	47,60 $\pm$ 3,25	47,70 $\pm$ 3,82
	1 h	54,05 $\pm$ 1,06	52,00 $\pm$ 2,26	53,10 $\pm$ 2,40
	2 h	54,70 $\pm$ 0,99	52,80 $\pm$ 0,28	53,35 $\pm$ 0,49
	4 h	53,25 $\pm$ 0,35	57,60 $\pm$ 3,82	56,05 $\pm$ 0,92
	6 h	72,65 $\pm$ 22,13	92,75 $\pm$ 10,39	68,35 $\pm$ 0,35
8	0 h	70,35 $\pm$ 4,45	79,90 $\pm$ 8,91	71,65 $\pm$ 0,07
	1 h	74,65 $\pm$ 4,31	71,80 $\pm$ 2,69	70,55 $\pm$ 0,49
	2 h	94,55 $\pm$ 5,02	103,70 $\pm$ 0,71	78,80 $\pm$ 4,24
	4 h	81,60 $\pm$ 2,55	77,45 $\pm$ 1,91	78,95 $\pm$ 2,76
	6 h	85,80 $\pm$ 14,99	83,05 $\pm$ 2,33	89,20 $\pm$ 19,23
9	0 h	81,25 $\pm$ 2,33	80,60 $\pm$ 6,36	77,65 $\pm$ 0,35
	1 h	76,85 $\pm$ 2,62	73,20 $\pm$ 1,41	75,65 $\pm$ 1,91
	2 h	76,15 $\pm$ 1,06	72,80 $\pm$ 1,41	78,15 $\pm$ 1,77
	4 h	75,45 $\pm$ 1,20	74,35 $\pm$ 7,71	78,05 $\pm$ 3,18
	6 h	75,65 $\pm$ 0,07	84,00 $\pm$ 21,21	80,25 $\pm$ 0,07
10	0 h	73,40 $\pm$ 4,24	77,80 $\pm$ 13,86	79,20 $\pm$ 3,25



#### **4.2.4.2. Acetat**

In der Vorperiode sank der Acetatgehalt von 81,8 mmol/l auf Werte von 25,4 mmol/l bis 30,5 mmol/l ab. Tabelle 35 kann der durchschnittliche Acetatgehalt der verschiedenen Fermenter über den gesamten Versuch entnommen werden. Alle verschieden rationierten Fermenter verhielten sich auch über die Versuchsperiode bezüglich des Acetatgehalts sehr ähnlich zueinander.

**Tabelle 35: Durchschnittliche Gesamtkonzentration von Acetat (mmol/l) in den verschieden rationierten Fermentern (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	81,80 $\pm$ 0,00	81,80 $\pm$ 0,00	81,80 $\pm$ 0,00
2	0 h	51,40 $\pm$ 0,28	48,15 $\pm$ 1,20	52,60 $\pm$ 4,10
3	0 h	35,30 $\pm$ 3,54	34,30 $\pm$ 0,00	42,35 $\pm$ 2,19
4	0 h	29,80 $\pm$ 0,42	36,75 $\pm$ 10,96	30,00 $\pm$ 0,99
5	0 h	25,90 $\pm$ 1,41	30,45 $\pm$ 1,48	25,40 $\pm$ 0,99
6	0 h	26,70 $\pm$ 2,40	26,70 $\pm$ 3,68	26,65 $\pm$ 4,31
	1 h	25,70 $\pm$ 0,57	25,75 $\pm$ 0,21	27,10 $\pm$ 4,95
	2 h	29,05 $\pm$ 6,15	32,20 $\pm$ 3,82	34,90 $\pm$ 13,86
	4 h	34,75 $\pm$ 11,53	27,25 $\pm$ 0,78	25,55 $\pm$ 0,35
	6 h	35,35 $\pm$ 9,97	35,30 $\pm$ 0,99	29,70 $\pm$ 2,55
7	0 h	26,10 $\pm$ 1,13	26,65 $\pm$ 2,76	26,75 $\pm$ 1,48
	1 h	29,15 $\pm$ 0,35	27,85 $\pm$ 1,91	28,25 $\pm$ 0,35
	2 h	29,30 $\pm$ 0,28	29,20 $\pm$ 0,28	29,50 $\pm$ 0,42
	4 h	29,30 $\pm$ 0,28	31,15 $\pm$ 1,34	30,45 $\pm$ 1,06
	6 h	38,35 $\pm$ 10,96	53,80 $\pm$ 8,34	39,00 $\pm$ 0,71
8	0 h	40,05 $\pm$ 3,04	46,05 $\pm$ 4,60	38,65 $\pm$ 1,63
	1 h	41,75 $\pm$ 4,03	39,35 $\pm$ 2,76	38,65 $\pm$ 1,06
	2 h	51,95 $\pm$ 2,76	57,55 $\pm$ 1,06	42,00 $\pm$ 3,54
	4 h	44,45 $\pm$ 1,91	44,10 $\pm$ 1,70	41,50 $\pm$ 3,54
	6 h	48,05 $\pm$ 8,27	47,60 $\pm$ 1,56	45,65 $\pm$ 8,13
9	0 h	46,50 $\pm$ 0,71	46,10 $\pm$ 4,38	41,90 $\pm$ 0,42
	1 h	42,85 $\pm$ 2,19	40,20 $\pm$ 1,13	41,20 $\pm$ 1,13
	2 h	42,30 $\pm$ 0,57	39,45 $\pm$ 0,35	41,65 $\pm$ 0,92
	4 h	41,65 $\pm$ 0,78	41,60 $\pm$ 5,94	42,05 $\pm$ 2,90
	6 h	41,60 $\pm$ 0,85	47,80 $\pm$ 14,42	40,55 $\pm$ 0,49
10	0 h	39,40 $\pm$ 2,12	42,55 $\pm$ 10,82	40,25 $\pm$ 0,35

#### **4.2.4.3. Propionat**

Die Propionat-Gehalte im Pansensaft sanken in der Vorperiode von 14,6 mmol/l auf Werte zwischen 6,75 mmol/l und 7,95 mmol/l. Die durchschnittlichen Propionat-Werte der Kontroll- und die der REE-Fermenter, die auch Tabelle 36 entnommen werden können, verliefen während der gesamten Versuchsphase sehr ähnlich und stiegen nie über 15,80 mmol/l. Im Gegensatz dazu stiegen die bis einschließlich Tag 7 noch recht ähnlich verlaufenden Propionat-Werte der Tetrazyklinfermenter ab Tag 8 und erreichten an Tag 10 ihr höchstes Niveau mit Konzentrationen von durchschnittlich 21,45 mmol/l. Im Vergleich hierzu betragen die durchschnittlichen Propionatkonzentrationen in den Versuchs- und REE-Fermentern an Tag 10 lediglich 13,20 mmol/l bis 13,30 mmol/l und sind somit deutlich niedriger.

**Tabelle 36: Durchschnittliche Gesamtkonzentration von Propionat (mmol/l) in den verschieden rationierten Fermentern (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	14,60 $\pm$ 0,00	14,60 $\pm$ 0,00	14,60 $\pm$ 0,00
2	0 h	11,25 $\pm$ 1,06	10,85 $\pm$ 0,21	11,40 $\pm$ 0,57
3	0 h	8,05 $\pm$ 0,21	8,30 $\pm$ 0,42	10,30 $\pm$ 0,28
4	0 h	7,75 $\pm$ 0,07	9,40 $\pm$ 2,40	7,05 $\pm$ 0,21
5	0 h	7,00 $\pm$ 0,42	7,95 $\pm$ 0,35	6,75 $\pm$ 0,49
6	0 h	7,70 $\pm$ 0,57	7,65 $\pm$ 1,06	6,60 $\pm$ 0,85
	1 h	7,45 $\pm$ 0,21	7,65 $\pm$ 0,35	7,10 $\pm$ 1,13
	2 h	9,20 $\pm$ 1,84	9,25 $\pm$ 0,07	6,75 $\pm$ 1,48
	4 h	8,00 $\pm$ 1,56	7,15 $\pm$ 0,35	5,40 $\pm$ 0,00
	6 h	8,15 $\pm$ 1,34	8,70 $\pm$ 0,42	6,50 $\pm$ 0,85
7	0 h	7,45 $\pm$ 0,21	7,40 $\pm$ 0,42	6,45 $\pm$ 0,49
	1 h	8,30 $\pm$ 0,42	7,90 $\pm$ 0,42	7,45 $\pm$ 0,35
	2 h	8,70 $\pm$ 0,42	7,85 $\pm$ 0,07	7,20 $\pm$ 0,14
	4 h	8,40 $\pm$ 0,00	8,95 $\pm$ 1,20	7,95 $\pm$ 0,35
	6 h	12,15 $\pm$ 4,03	13,00 $\pm$ 0,00	9,05 $\pm$ 0,21
8	0 h	10,90 $\pm$ 0,71	11,65 $\pm$ 0,78	13,65 $\pm$ 0,92
	1 h	11,60 $\pm$ 0,14	10,95 $\pm$ 0,49	13,55 $\pm$ 0,64
	2 h	15,15 $\pm$ 0,49	15,80 $\pm$ 0,71	15,70 $\pm$ 0,28
	4 h	13,70 $\pm$ 0,00	11,70 $\pm$ 0,71	16,65 $\pm$ 0,92
	6 h	14,10 $\pm$ 2,40	12,75 $\pm$ 1,06	19,55 $\pm$ 4,17
9	0 h	13,60 $\pm$ 0,71	12,80 $\pm$ 1,13	18,50 $\pm$ 0,00
	1 h	12,85 $\pm$ 0,35	11,70 $\pm$ 0,71	17,85 $\pm$ 0,49
	2 h	13,00 $\pm$ 0,14	12,05 $\pm$ 1,20	19,00 $\pm$ 1,13
	4 h	13,10 $\pm$ 0,00	11,85 $\pm$ 1,34	19,25 $\pm$ 0,21
	6 h	13,25 $\pm$ 0,35	13,30 $\pm$ 3,11	21,05 $\pm$ 0,21
10	0 h	13,30 $\pm$ 0,71	13,20 $\pm$ 1,41	21,45 $\pm$ 0,92

#### **4.2.4.4. Butyrat**

In der Vorperiode wurden Butyratkonzentrationen zwischen 6,2 mmol/l und 9,1 mmol/l gemessen. In Tabelle 37 sind alle Butyratkonzentrationen, welche über den gesamten Versuch gemessen wurden, dargestellt. Die durchschnittlichen Butyratkonzentrationen stiegen während der Versuchsphase in allen Gruppen an und betrugen am Tag 10 Werte zwischen 14,4 mmol/l und 15,0 mmol/l. Das Verhalten der Butyratkonzentrationen nach der Fütterung war in allen Fermentern ähnlich.

**Tabelle 37: Durchschnittliche Gesamtkonzentration von Butyrat (mmol/l) in den verschieden rationierten Fermentern (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	7,50 $\pm$ 0,00	7,50 $\pm$ 0,00	7,50 $\pm$ 0,00
2	0 h	6,75 $\pm$ 0,78	6,95 $\pm$ 0,35	8,40 $\pm$ 1,27
3	0 h	6,20 $\pm$ 0,28	6,65 $\pm$ 0,64	9,50 $\pm$ 0,14
4	0 h	7,45 $\pm$ 0,21	9,10 $\pm$ 2,26	7,45 $\pm$ 0,07
5	0 h	7,05 $\pm$ 0,78	8,15 $\pm$ 0,21	7,75 $\pm$ 0,35
6	0 h	7,95 $\pm$ 1,34	7,90 $\pm$ 1,13	8,55 $\pm$ 0,21
	1 h	8,50 $\pm$ 0,28	8,85 $\pm$ 0,92	10,60 $\pm$ 1,13
	2 h	10,75 $\pm$ 2,33	12,00 $\pm$ 1,41	12,00 $\pm$ 2,83
	4 h	10,65 $\pm$ 1,91	9,95 $\pm$ 0,21	10,20 $\pm$ 0,14
	6 h	10,60 $\pm$ 1,56	11,40 $\pm$ 0,57	11,35 $\pm$ 1,34
7	0 h	8,95 $\pm$ 0,49	9,25 $\pm$ 0,07	10,55 $\pm$ 1,34
	1 h	11,40 $\pm$ 0,28	11,15 $\pm$ 0,21	12,75 $\pm$ 1,20
	2 h	11,55 $\pm$ 0,35	10,75 $\pm$ 0,21	12,20 $\pm$ 0,14
	4 h	10,65 $\pm$ 0,07	12,05 $\pm$ 1,20	13,05 $\pm$ 0,07
	6 h	15,10 $\pm$ 4,53	17,55 $\pm$ 0,92	14,95 $\pm$ 0,35
8	0 h	13,10 $\pm$ 0,71	15,05 $\pm$ 2,19	14,85 $\pm$ 0,64
	1 h	14,50 $\pm$ 0,14	14,65 $\pm$ 0,21	14,15 $\pm$ 0,07
	2 h	18,70 $\pm$ 0,99	20,75 $\pm$ 0,49	16,35 $\pm$ 0,49
	4 h	16,15 $\pm$ 0,21	14,75 $\pm$ 0,21	16,25 $\pm$ 0,07
	6 h	16,20 $\pm$ 3,11	15,55 $\pm$ 0,07	18,80 $\pm$ 5,23
9	0 h	14,55 $\pm$ 0,64	14,80 $\pm$ 0,57	14,00 $\pm$ 0,57
	1 h	14,60 $\pm$ 0,14	14,50 $\pm$ 0,28	13,55 $\pm$ 0,35
	2 h	14,35 $\pm$ 0,35	14,60 $\pm$ 0,42	14,20 $\pm$ 1,41
	4 h	14,35 $\pm$ 0,35	14,20 $\pm$ 0,28	13,70 $\pm$ 0,14
	6 h	14,35 $\pm$ 0,35	15,55 $\pm$ 2,47	15,30 $\pm$ 0,57
10	0 h	14,40 $\pm$ 1,27	15,00 $\pm$ 0,99	14,50 $\pm$ 2,55

#### 4.2.4.5. Iso-Butyrat

Der Gehalt von Iso-Butyrat betrug im Startinokulum noch 0,5 mmol/l, sank jedoch in der Vorperiode in allen Fermentern auf 0,1 mmol/l ab. Einen Überblick über die gemessenen durchschnittlichen Iso-Butyratkonzentrationen über den gesamten Versuchszeitraum gibt Tabelle 38. Der Iso-Butyratgehalt aller Fermenter lag während der Versuchphase immer in einem Bereich von 0,1 mmol/l bis 0,2 mmol/l.

**Tabelle 38: Durchschnittliche Gesamtkonzentration von Iso-Butyrat (mmol/l) in den verschieden rationierten Fermentern (MW ± s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	0,50 ±0,00	0,50 ±0,00	0,50 ±0,00
2	0 h	0,15 ±0,07	0,20 ±0,00	0,15 ±0,07
3	0 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,20 ±0,00
4	0 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
5	0 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
6	0 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	1 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	2 h	0,10 ±0,00	0,15 ±0,07	0,15 ±0,07
	4 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	6 h	0,10 ±0,00	0,20 ±0,00	0,10 ±0,00
7	0 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	1 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	2 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	4 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	6 h	0,10 ±0,00	0,15 ±0,07	0,10 ±0,00
8	0 h	0,10 ±0,00	0,15 ±0,07	0,10 ±0,00
	1 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	2 h	0,10 ±0,00	0,20 ±0,00	0,10 ±0,00
	4 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	6 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
9	0 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	1 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	2 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	4 h	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00	0,10 ±0,00
	6 h	0,10 ±0,00	0,15 ±0,07	0,10 ±0,00
10	0 h	0,10 ±0,00	0,15 ±0,07	0,10 ±0,00

#### **4.2.4.6. Valerianat**

Tabelle 39 gibt die durchschnittliche Gesamtkonzentration von Valerianat zu den verschiedenen Messzeitpunkten über den gesamten Versuchszeitraum an. Zu Beginn des Versuchs betrug die Valerianatkonzentration 0,8 mmol/l im frisch entnommenen Pansensaft. Bis Ende der Vorversuchsphase stieg die Konzentration in allen Fermentern auf Werte zwischen 2,5 mmol/l und 2,8 mmol/l an. Während die Kontroll- und REE-Fermenter während der Versuchsphase recht ähnliche Konzentrationen aufwiesen und diese Werte bis zu 8,15 mmol/l annahmen, sanken ab Tag 7 die durchschnittlichen Valerianatkonzentrationen in den mit Tetrazyklin zugesetzten Fermentern auf Werte unter 3 mmol/l.



**Tabelle 39: Durchschnittliche Gesamtkonzentration von Valerianat (mmol/l) in den verschieden rationierten Fermentern (MW  $\pm$  s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	0,80 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,00	0,80 $\pm$ 0,00
2	0 h	0,75 $\pm$ 0,07	0,80 $\pm$ 0,00	0,85 $\pm$ 0,07
3	0 h	1,30 $\pm$ 0,14	1,35 $\pm$ 0,21	1,80 $\pm$ 0,14
4	0 h	2,20 $\pm$ 0,14	2,70 $\pm$ 0,71	2,05 $\pm$ 0,07
5	0 h	2,50 $\pm$ 0,28	2,80 $\pm$ 0,00	2,60 $\pm$ 0,14
6	0 h	3,00 $\pm$ 0,42	2,95 $\pm$ 0,49	3,05 $\pm$ 0,07
	1 h	3,20 $\pm$ 0,14	3,30 $\pm$ 0,42	3,85 $\pm$ 0,49
	2 h	4,20 $\pm$ 0,85	4,65 $\pm$ 0,64	4,15 $\pm$ 1,06
	4 h	3,95 $\pm$ 0,64	3,75 $\pm$ 0,07	3,50 $\pm$ 0,14
	6 h	3,95 $\pm$ 0,49	4,35 $\pm$ 0,21	3,95 $\pm$ 0,49
7	0 h	3,35 $\pm$ 0,07	3,45 $\pm$ 0,07	3,25 $\pm$ 0,49
	1 h	4,30 $\pm$ 0,00	4,25 $\pm$ 0,21	3,95 $\pm$ 0,49
	2 h	4,30 $\pm$ 0,00	4,15 $\pm$ 0,35	3,70 $\pm$ 0,14
	4 h	4,05 $\pm$ 0,07	4,55 $\pm$ 0,07	3,90 $\pm$ 0,14
	6 h	5,75 $\pm$ 2,05	7,05 $\pm$ 0,92	4,60 $\pm$ 0,28
8	0 h	5,15 $\pm$ 0,07	6,00 $\pm$ 1,13	3,85 $\pm$ 0,07
	1 h	5,70 $\pm$ 0,00	5,85 $\pm$ 0,35	3,55 $\pm$ 0,21
	2 h	7,30 $\pm$ 0,57	8,15 $\pm$ 0,49	4,05 $\pm$ 0,49
	4 h	6,15 $\pm$ 0,35	5,90 $\pm$ 0,28	3,90 $\pm$ 0,28
	6 h	6,25 $\pm$ 1,06	6,10 $\pm$ 0,28	4,50 $\pm$ 1,56
9	0 h	5,45 $\pm$ 0,21	5,85 $\pm$ 0,21	2,65 $\pm$ 0,07
	1 h	5,45 $\pm$ 0,07	5,80 $\pm$ 0,14	2,50 $\pm$ 0,14
	2 h	5,40 $\pm$ 0,00	5,75 $\pm$ 0,07	2,70 $\pm$ 0,00
	4 h	5,25 $\pm$ 0,07	5,75 $\pm$ 0,07	2,50 $\pm$ 0,28
	6 h	5,35 $\pm$ 0,21	6,25 $\pm$ 0,92	2,80 $\pm$ 0,28
10	0 h	5,20 $\pm$ 0,14	6,00 $\pm$ 0,42	2,45 $\pm$ 0,07

**4.2.4.7. Iso-Valerianat**

Tabelle 40 zeigt die durchschnittlichen Iso-Valerianatkonzentrationen zu allen Messzeitpunkten über die gesamte Versuchsdauer. In der Vorperiode wurden Iso-Valerianatkonzentrationen zwischen 0,45 mmol/l und 1,00 mmol/l gemessen. An Tag 6 pendelten sich die Werte bei allen Fermentern in einem Bereich zwischen 0,75 mmol/l und 0,80 mmol/l ein. Die durchschnittlichen Konzentrationen des Iso-Valerianats stiegen sowohl bei den Kontroll- als auch bei den REE-Fermentern auf Werte um die 1,00 mmol/l. Im Gegensatz hierzu fielen die Iso-Valerianatkonzentrationen zwei Tage nach Beginn der Tetrazyklinzugabe stetig ab und erreichten Werte von unter 0,5 mmol/l.

**Tabelle 40: Durchschnittliche Gesamtkonzentration von Iso-Valerianat (mmol/l) in den verschieden rationierten Fermentern (MW ± s)**

Tag	Messpunkt	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	0 h	0,80±0,00	0,80±0,00	0,80±0,00
2	0 h	0,60±0,14	0,75±0,07	0,85±0,07
3	0 h	0,55±0,07	0,75±0,07	1,00±0,14
4	0 h	0,45±0,07	0,85±0,21	0,70±0,14
5	0 h	0,55±0,07	0,70±0,00	0,70±0,00
6	0 h	0,75±0,07	0,75±0,07	0,80±0,14
	1 h	0,70±0,14	0,75±0,07	0,90±0,28
	2 h	1,00±0,00	1,35±0,21	0,85±0,21
	4 h	0,75±0,07	0,75±0,07	0,70±0,00
	6 h	0,75±0,07	0,95±0,07	0,75±0,07
7	0 h	0,75±0,07	0,75±0,07	0,60±0,00
	1 h	0,80±0,00	0,75±0,07	0,60±0,00
	2 h	0,75±0,07	0,75±0,07	0,65±0,07
	4 h	0,75±0,07	0,80±0,00	0,60±0,00
	6 h	1,20±0,57	1,20±0,14	0,65±0,07
8	0 h	1,05±0,07	1,00±0,14	0,55±0,07
	1 h	1,00±0,00	0,90±0,00	0,55±0,07
	2 h	1,35±0,21	1,25±0,07	0,60±0,00
	4 h	1,05±0,07	0,90±0,00	0,55±0,07
	6 h	1,10±0,14	0,95±0,07	0,60±0,14
9	0 h	1,05±0,07	0,95±0,07	0,50±0,14
	1 h	1,00±0,00	0,90±0,00	0,45±0,07
	2 h	1,00±0,00	0,85±0,07	0,50±0,14
	4 h	1,00±0,00	0,85±0,07	0,45±0,07
	6 h	1,00±0,00	0,95±0,21	0,45±0,07
10	0 h	1,00±0,00	0,90±0,14	0,45±0,07

#### 4.2.5. Gasmenge

Die täglich produzierten durchschnittlichen Gasmengen der verschiedenen Fermenter (Tabelle 41) verhalten sich sehr ähnlich zueinander. Während der Vorperiode wurde in allen Fermentern geringfügig mehr Gas gebildet, als in der anschließenden Versuchsperiode. In den letzten beiden Tagen der Versuchsphase wurde in den Fermentern, denen Tetrazyklin zugesetzt wurde, geringfügig weniger Gas gebildet. Insgesamt wurden Gasmengen zwischen 2515 ml und 3500 ml pro Tag und Fermenter gebildet.

**Tabelle 41: Täglich gebildete durchschnittliche Gasmenge in ml in den verschiedenen rationierten Fermentern (MW  $\pm$  s)**

Tag	3750 mg REE/kg	Kontrolle	Tetrazyklin
1	2850 $\pm$ 141	3155 $\pm$ 290	3300 $\pm$ 467
2	3090 $\pm$ 552	3040 $\pm$ 28	3460 $\pm$ 198
3	3470 $\pm$ 99	3500 $\pm$ 99	3300 $\pm$ 141
4	3410 $\pm$ 269	3340 $\pm$ 170	3390 $\pm$ 14
5	3200 $\pm$ 0	2990 $\pm$ 410	2965 $\pm$ 233
6	2885 $\pm$ 7	2810 $\pm$ 127	2815 $\pm$ 49
7	3150 $\pm$ 42	3090 $\pm$ 71	2975 $\pm$ 49
8	2990 $\pm$ 14	2935 $\pm$ 120	2515 $\pm$ 375
9	2945 $\pm$ 106	2930 $\pm$ 71	2795 $\pm$ 78

## 5. Diskussion

### 5.1. Fütterungsversuch mit Schweinen

Ferkel mit einem Durchschnittsgewicht von 8,6 kg wurden in 4 Rationsgruppen eingeteilt und über 6 Wochen gemästet. Die Tiere erhielten zu ihrer praxisüblichen Diät als Zusatz ein Gemisch von Seltenen Erden-Citrat in einer Dosierung von 0, 50, 100 bzw. 200 mg / kg Futter. Die Ration entsprach den Fütterungsempfehlungen der DLG (1991).

#### 5.1.1. Gesundheitsstatus

Vier Tage nach der Einstallung zeigten einige Tiere Durchfall in unterschiedlichen Schweregraden. In den darauffolgenden Tagen erkrankten mehr als 50 % der Tiere an Diarrhöe. Bei drei Tieren, deren Diarrhöe über mehrere Tage bestand, bzw. die wässrigen Durchfall zeigten, wurden Kotproben zur Untersuchung genommen. Bei der Untersuchung wurden neben *Escherichia coli*, Enterokokken und Pasteurellen gefunden. Brachyspiren und Salmonellen konnten nicht nachgewiesen werden.

Der Durchfall trat in allen 4 Versuchsgruppen auf und ist daher nicht auf den Zusatz des Seltenen Erden Gemisches zurückzuführen.

*Escherichia coli* treten in einer Vielzahl von Stämmen auf, die sowohl Bestandteil der Normalflora als auch wichtige Krankheitserreger bei Mensch und Tier sein können. Hämolyse und mukoides Wachstum sind Kriterien zur ergänzenden phänotypischen Charakterisierung, die in einigen Fällen in Beziehung zur Virulenz stehen. Die Colidiarrhöe verursachenden enterotoxischen *E.coli*-Stämme (ETEC), die vor allem Absatzferkel betrifft, zeigen auf Blutagar Hämolyse. In allen drei Kotproben konnten hämolysierende *E.coli* nachgewiesen werden, zum Teil mit einem hohen Keimgehalt. Durch molekularbiologische Charakterisierung konnten Shigatoxin, F18-Fimbrien temperaturlabile (LT) wie auch temperaturstabile (ST) Enterotoxine differenziert werden.

Die Enterokokken, die bei der bakteriologischen Kotuntersuchung gefunden wurden, gehören der Normalflora des Darmtraktes an. Bei den Pasteurellen muss es sich um eine Kontamination der Probe handeln, da diese Keime nur in der Lunge vorkommen bzw. pathogen wirken. Differentialdiagnostisch sind Salmonellose, Dysenterie und die intestinale Spirochätose abzuklären. Die Erreger werden nicht kontinuierlich ausgeschieden, so dass ein diesbezüglich negativer Befund eine Infektion nicht ausschließt. Des Weiteren ist differentialdiagnostisch ein durch Futterumstellung bedingter Durchfall in Betracht zu ziehen. Dieser tritt meist 3 bis 4 Tage nach dem Absetzen mit Futterwechsel auf. Die Schweine wurden jedoch bei der Einstallung langsam auf das neue Futter umgestellt. Zum Zeitpunkt der ersten Durchfallssymptome erhielten die Tiere 100 bis 115 g Futter pro Mahlzeit.

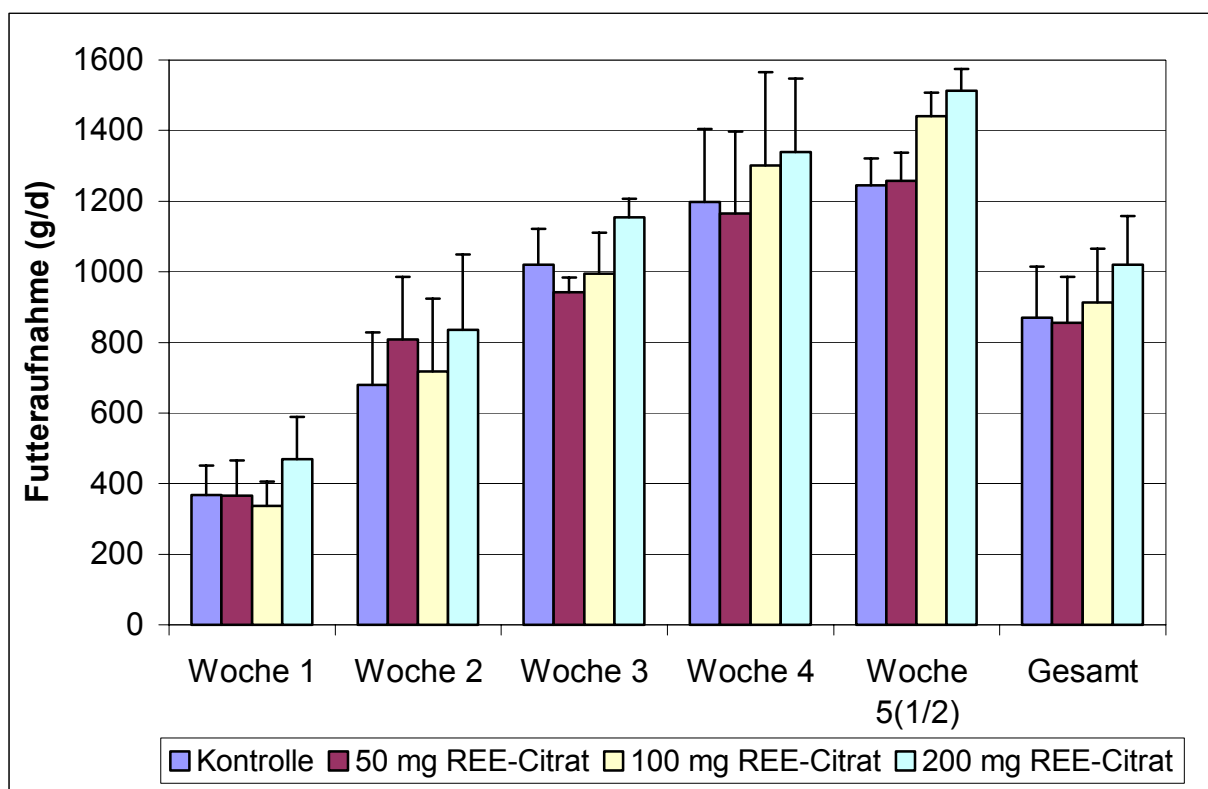
Aufgrund des teilweise hohen Keimgehaltes an E.coli, der nachgewiesenen Enterotoxine und des Alters der Tiere können diese Erreger als Hauptursache der Diarrhöe gesehen werden, da auch die Therapie mit Enrofloxacin binnen 2 Tagen bei allen Tieren anschlug. Eine in der Literatur beschriebene bakteriostatische bzw. bakteriozide Wirkung der Seltenen Erden (CASSONE und GARACI, 1974; ZHANG *et al.*, 1999) konnte das Durchfallgeschehen nicht beeinflussen.

Der Ausfall eines Tieres aus Gruppe 2 beruhte allein auf einer durch mechanische Einflüsse aufgetretenen Behinderung. Auf Grund dessen musste das Tier aus dem Versuch genommen werden, da es in der Futteraufnahme gegenüber den anderen Tieren benachteiligt war. Durch das Verfüttern an Seltenen Erden war keine Beeinflussung der Gesundheit der Tiere erkennbar. Das entspricht der in der Literatur beschriebenen geringen oralen Toxizität (EVANS, 1990) sowie der in früheren Versuchen beschriebenen guten oralen Verträglichkeit von Seltenen Erden in diesen Dosierungen (SCHULLER *et al.*, 2002; EISELE, 2003; HE *et al.*, 2003).

### **5.1.2. Futteraufnahme**

Die Futteraufnahme wurde täglich durch Rückwägung festgestellt. Problematisch daran jedoch ist, dass nur eine durchschnittliche Futteraufnahme pro Gruppe und nicht pro Einzeltier festgestellt werden konnte, da alle Tiere der jeweiligen Rationsgruppe gemeinsamen Zugang zum Futterautomaten hatten. Ein Vorteil der Gruppenhaltung jedoch ist, dass diese Haltungsform den Umständen in der Praxis entspricht und somit eher Schlussfolgerungen auf eine mögliche Replizierbarkeit

unter Feldbedingungen zulässt. Abbildung 2 zeigt die durchschnittliche Futteraufnahme pro Tier und Tag. Der Futterverzehr von Gruppe 2 (50 mg REE-Citrat/kg Futter) war dem der Kontrollgruppe relativ ähnlich. Insgesamt nahmen die Tiere aus Gruppe 2 (50 mg REE-Citrat/kg Futter) 1,6 % weniger Futter auf, verglichen mit den Tieren der Kontrollgruppe. Im Gegensatz hierzu nahmen die Tiere der Gruppen 3 und 4, welche 100 bzw. 200 mg Seltene Erden-Citrat-Gemisch pro Kilogramm Futter erhielten, 4,9 % bzw. 17,2 % mehr Futter als die Tiere der Kontrollgruppe über den gesamten Versuchszeitraum auf. Die in den verschiedenen Versuchswochen z.T. deutlich erhöhten Futteraufnahmen bei den mit 100 und 200 mg REE-Citrat/kg Futter supplementierten Tieren lassen auf eine Beeinflussung der Futteraufnahme durch REE-Citrat schließen.



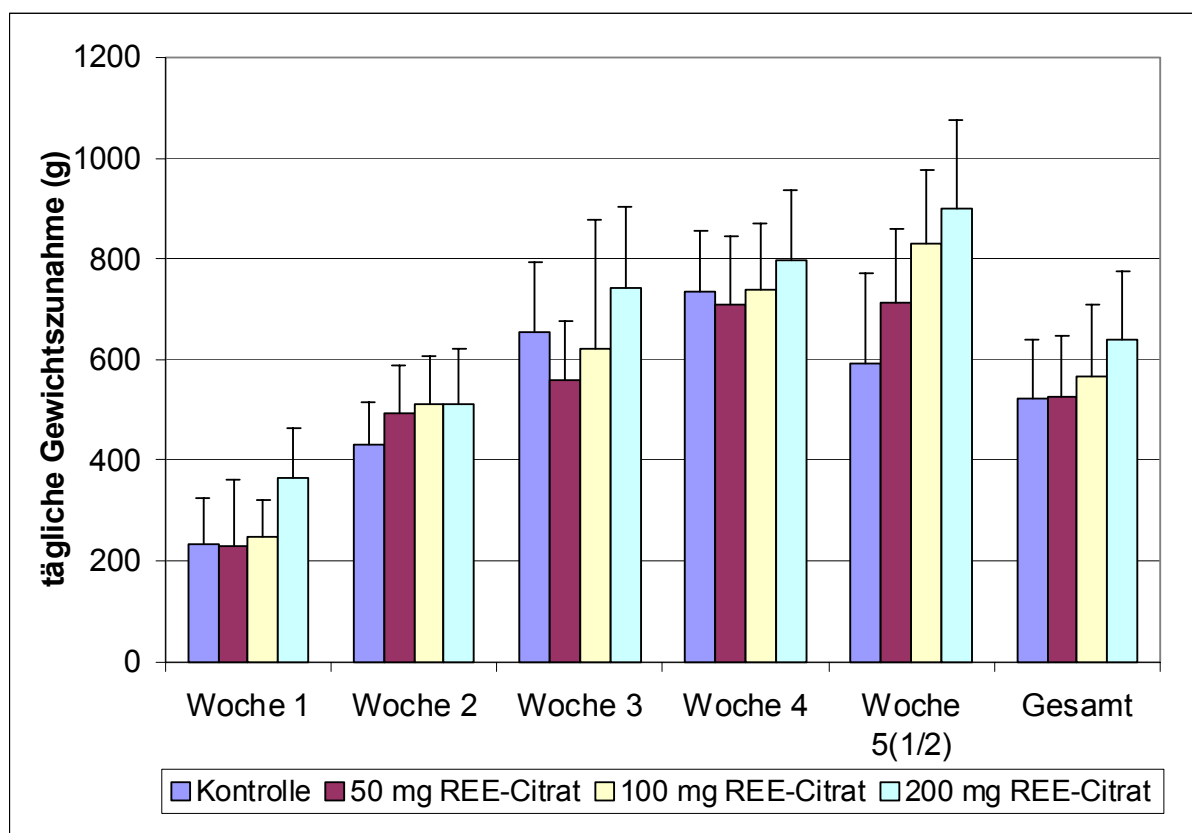
**Abbildung 2: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme (g) pro Tier in den verschiedenen Rationsgruppen während der einzelnen Versuchswochen**

Die Mehraufnahme an Futter der mit 200 mg REE-Citrat-Gemisch supplementierten Rationen fiel sogar noch größer aus, als die von SCHULLER *et al.* (2002) beschriebenen. Hierbei nahmen die Tiere, welche ein mit 300 mg REE-Chlorid-Gemisch/kg supplementiertes Futter erhielten, um 7 % bis 11 % mehr Futter auf. Im Versuch von HE *et al.* (2003) nahmen die Tiere (Ratten), welche mit 75 mg REE-Chlorid-Gemisch/kg supplementiertes Futter erhielten, signifikant mehr Futter im

Vergleich zu den Kontrolltieren auf, während die Versuchsgruppen, welche reines  $\text{LaCl}_3$  in einer Dosierung von 75 mg bzw. 150 mg oder 150 mg REE-Chlorid-Gemisch pro Kilogramm Futter erhielten, eine gegenüber der Kontrollgruppe reduzierte Futteraufnahme zeigten.

### 5.1.3. Gewichtszunahme

Im Gegensatz zur täglich erfassten Futteraufnahme wurde die Gewichtszunahme zweimal pro Woche überprüft. In der Abbildung 3 ist die mittlere tägliche Lebendmassezunahme in den einzelnen Rationen im Versuchszeitraum veranschaulicht. Dabei fallen zum Teil deutliche Unterschiede auf. In allen Versuchswochen wies die Gruppe 4 (200 mg REE-Citrat) die höchste Gewichtszunahme auf. Betrachtet man den gesamten Versuchszeitraum, so ergeben sich gegenüber der Kontrollgruppe um 0,4 %, 8,6 % und 22,6 % höhere Tageszunahmen für die mit Seltenen Erden supplementierten Gruppen 2, 3 und 4. In Woche 3 und 5 (1/2) zeigten sich bei Gruppe 4 deutliche Gewichtszunahmen.



**Abbildung 3: Durchschnittliche tägliche Gewichtszunahme (g) in den verschiedenen Rationsgruppen während der einzelnen Versuchswochen**

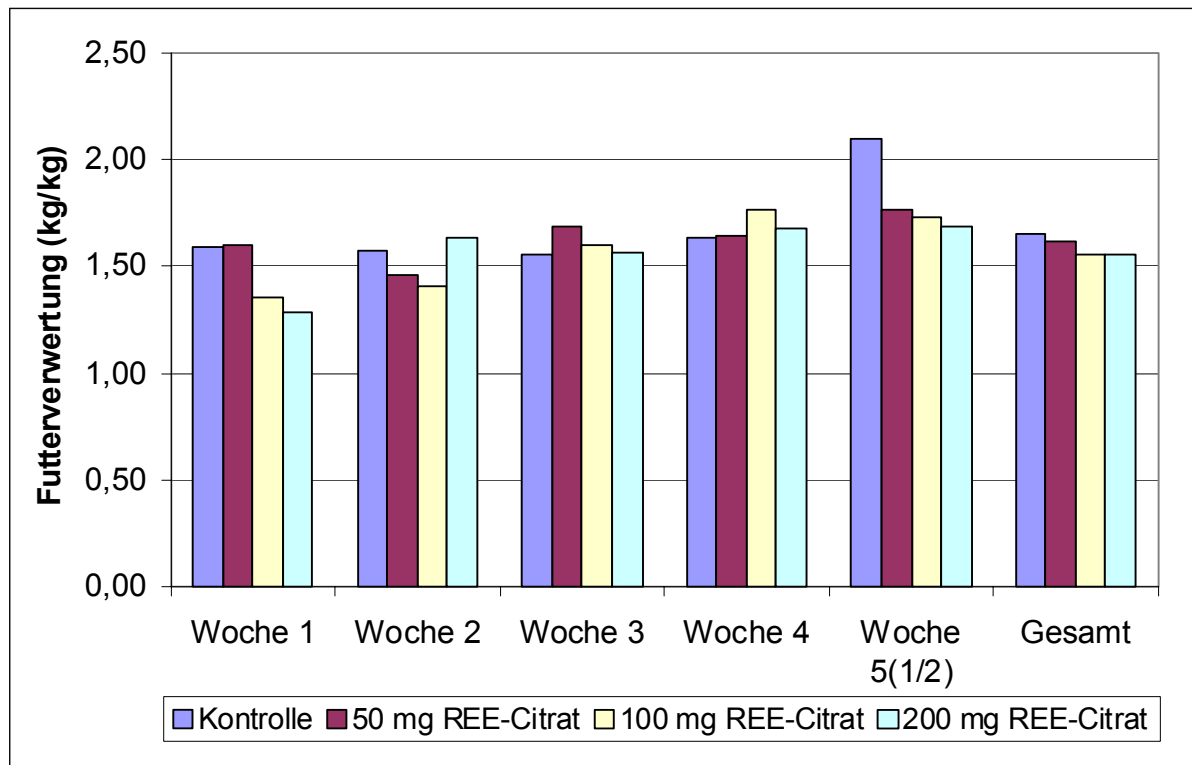


Auffallend ist die in Woche 5 (1/2) deutlich reduzierte Gewichtszunahme der Tiere der Kontrollgruppe. Es konnte jedoch hierfür keine Erklärung gefunden werden. Der Grund für die in allen Gruppen relativ hohe Standardabweichung ist sicherlich auch hier in der geringen Tierzahl zu sehen, was mitunter auch Ursache für die wenigen Signifikanzen zu sein scheint. Die Steigerungen der Tageszunahmen durch die Supplementierung mit Seltenen Erden fielen wesentlich größer aus als in den früheren Versuchen (RAMBECK *et al.*, 1999; HE *et al.*, 2001, SCHULLER *et al.*, 2002; EISELE, 2003). Die erzielten Mastleistungssteigerungen entsprechen den in der chinesischen Literatur beschriebenen (CHEN, 1997; HU *et al.*, 1999; WANG und XU, 2003).

#### **5.1.4. Futterverwertung**

Nachdem eine gesteigerte Futtermittelaufnahme und Gewichtszunahme bei den Gruppen, die mit höheren Dosierungen an Seltenen Erden supplementiert wurden, verzeichnet werden konnte, war nun von Interesse, ob die erzielten Steigerungen der Gewichtszunahme allein als Folge des erhöhten Futterverzehr zu sehen war. Um dies zu klären, wurde die Futterverwertung errechnet. Sie gibt an, wie viel kg Futter pro kg Körperzuwachs benötigt wird. Der tägliche Futterverzehr konnte aufgrund der Gruppenhaltung für jedes Tier nur im Durchschnitt errechnet werden. Aufgrund dessen und der niedrigen Tierzahl pro Gruppe wirken sich von Einzeltieren verschlechterte Futtermittelaufnahmen und Verwertungen stark auf das Gesamtergebnis aus und reduzieren dadurch etwas dessen Aussagekraft.

Abbildung 4 veranschaulicht, dass die Futterverwertung über die gesamte ad libitum-Phase gesehen bei allen mit REE supplementierten Gruppen verbessert ist. Vor allem in Woche 1 zeigen die hochdosierten Tiere eine deutliche Verbesserung der Futterverwertung. In Woche 3 und 4 weisen alle Tiere der REE-Gruppen jedoch eine wenn auch nur geringfügig schlechtere Futterverwertung als die Kontrollgruppe auf.



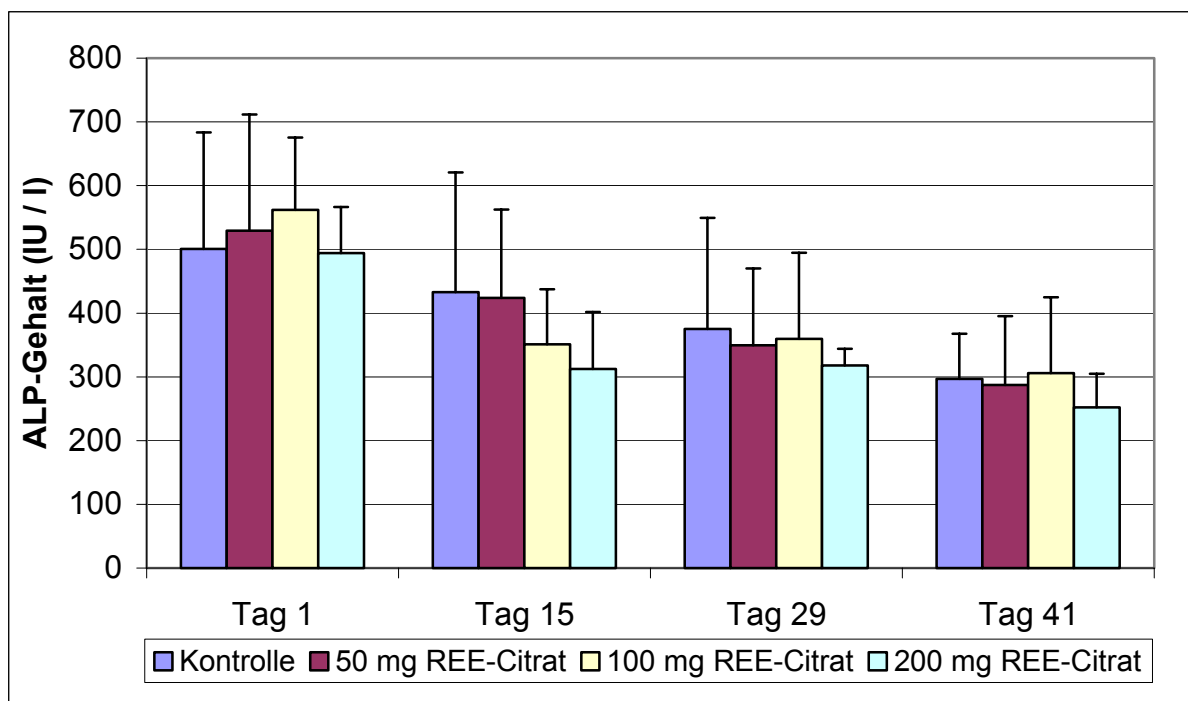
**Abbildung 4: Durchschnittliche Futterverwertung (kg/kg) in den verschiedenen Rationsgruppen während der einzelnen Versuchswochen**

In Versuchen mit Aufzuchtsferkeln und Mastschweinen unter westlichen Haltungs- und Fütterungsbedingungen wurden Verbesserungen des Futteraufwandes von 3 % bis 7 % bei den Aufzuchtsferkeln bzw. 3 % bis 11 % bei den Mastschweinen gesehen. Im Fütterungsversuch mit den Mastschweinen war die Futterverwertung in der Aufzuchtphase hochsignifikant verbessert (RAMBECK *et al.*, 1999; BORGER, 2003). Auch in der chinesischen Literatur wird von einem verringerten Futteraufwand bei Schweinen durch die Supplementierung des Futters bzw. des Wassers mit Seltenen Erden berichtet. Die Verbesserungsrate beträgt 2 % und 19 % (CHEN, 1997; HU *et al.*, 1999; WANG und XU, 2003). Bei anderen Tierarten werden ebenfalls Verbesserungen der Futterverwertung erzielt

### 5.1.5. Aktivität der ALP im Serum

Um Aufschluss über den Wirkungsmechanismus von Seltenen Erden zu erhalten wurde die Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Serum zu Beginn und an drei Messzeitpunkten während der Studie gemessen. Auch hier besteht das Problem der geringen Tierzahl. Schon 1 bis 2 „Ausreißer“ beeinträchtigen stark das Ergebnis, was an den teilweise relativ hohen Standardabweichungen ersichtlich ist. Deshalb ist eine

Bewertung der Ergebnisse nur unter Vorsicht durchzuführen. In Abbildung 5 werden die Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase über den Versuchszeitraum zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten verdeutlicht. Insbesondere an Tag 15 lagen die Aktivitäten der ALP bei den Tieren der Gruppe 4 (200 mg REE-Citrat/kg Futter) weit unter denen der Kontrollgruppe. Die Aktivitäten der ALP sinken bei allen Gruppen im Verlauf des Versuches. Diese Abnahme der Aktivität der ALP ist physiologisch, da bei der Aktivität der ALP eine erhebliche Altersabhängigkeit besteht. Die ALP ist unter anderem in Osteoblasten enthalten, dies ist der Grund warum Jungtiere eine wesentlich höhere Enzymaktivität als erwachsene Tiere besitzen (KRAFT *et al.*, 1997).



**Abbildung 5: Durchschnittlicher ALP-Gehalt im Serum (IU/l) der einzelnen Rationsgruppen an den Tagen 1, 15, 29 und 41**

Die in diesem Versuch im Vergleich zur Kontrollgruppe tendenziell niedrigeren Aktivitäten der Alkalischen Phosphatase wurden in der Literatur bisher nicht beschrieben. Im Gegensatz dazu konnten HE *et al.* (2003) bei Ratten, welche 18 Tage lang mit Seltenen Erden supplementiertes Futter erhielten, eine Erhöhung der ALP-Aktivität im Serum beobachten, welche bei den Tieren, die 75 mg REE-Chlorid pro kg Futter erhielten, signifikant war. Die Tiere, welche 150 mg REE-Chlorid pro kg Futter erhielten, zeigten eine 20 %ige Aktivitätssteigerung der ALP, welche jedoch nicht signifikant war. In der vorliegenden Studie konnte eine Senkung der Aktivität der ALP im Serum bei Schweinen durch Seltene Erden-Citrat festgestellt werden.

Der Grund für diese Aktivitätsabnahmen ist jedoch nichtbekannt. Eine zusätzliche Bestimmung der knochenspezifischen ALP könnte mehr Aufschluss geben.

### **5.1.6. Zinkgehalt im Serum**

Durch Calcium und Phytinsäure kann die Zinkresorption durch die Inaktivierung zinkhaltiger Enzyme oder die Besetzung der gleichen Bindungsstellen beeinflusst werden. Auch Cadmium, Chrom, Eisen, Kupfer, Mangan und Nickel beeinflussen die Zinkresorption maßgeblich (WOLTER, 1982; MÄNNER und BRONSCH, 1987; KIRCHGESSNER, 1997). Denkbar wäre daher eine Beeinflussung der Resorption von Spurenelementen durch Seltene Erden. Bei der Messung des Zinkgehaltes im Serum ergaben sich zwischen den verschiedenen Gruppen jedoch keine wesentlichen Unterschiede. Es ergab sich somit kein Einfluss von Seltenen Erden auf den Zink-Gehalt im Serum.

### **5.1.7. Calcium- und Phosphorgehalt der Knochen**

Aufgrund der geringen Tierzahl pro Gruppe können Abweichungen der Werte bei Einzeltieren in großem Maße Einfluss auf den Mittelwert nehmen. Die Standardabweichung ist jedoch bei diesen Parametern sehr gering, was die Aussagekraft des Ergebnisses verstärkt. Zwar lagen nur geringe Unterschiede zwischen den Gruppen vor, diese waren jedoch signifikant. Gruppe 2 und 3 zeigen gegenüber der Kontrollgruppe und Gruppe 4 einen erniedrigten Calciumgehalt im Knochen. In der Literatur finden sich Hinweise, dass Lanthanoidionen Calciumionen isomorph ersetzen können (BIRNBAUM, 1970; EVANS, 1990), dies womöglich auch im Knochen. Aufgenommene Seltene Erden reichern sich unter anderem im Knochen an (EVANS, 1990). Dies wäre somit eine Erklärung für den erniedrigten Calciumgehalt. KRAMSCH *et al.* (1980) konnten jedoch im Knochen von Kaninchen, welche acht Wochen lang 40 mg Lanthan/kg Futter erhielten, kein Lanthan nachweisen. Verglichen mit Gruppe 2 und 3 zeigt Gruppe 4 einen signifikant erhöhten Calcium-Gehalt. Zu beachten ist jedoch, dass die Unterschiede zwar signifikant, jedoch nicht sehr groß sind. Warum Seltene Erden bei den beiden niedrig dosierten Gruppen den Calciumgehalt senken und bei der hochdosierten Gruppe erhöhen, konnte nicht geklärt werden.

DAMMENT *et al.* (2002) beschreiben eine reduzierte Knochenmineralisation und reduzierten Phosphorgehalt im Serum bei Einsatz von Lanthan-Carbonat bei nephrektomierten Ratten. Der Verdacht bestand, dass sich die von DAMMENT und WEBSTER (2003) beschriebene phosphorbindende Eigenschaft von Lanthan-Carbonat auch bei Seltene Erden-Citrat auftreten könnte und dies möglicherweise eine Beeinflussung des Phosphorgehaltes im Knochen zur Folge hätte. Dies war jedoch nicht der Fall. Das erniedrigte Ca/P-Verhältnis von Gruppe 2 und 3 ist alleine auf die signifikante Calciumreduktion zu beziehen, da sich der Phosphorgehalt zu ähnlich war.

### **5.1.8. Mikrobiologische Untersuchung der Darmflora**

Aufgrund eines anderen Versuches an unserem Institut bestand die Möglichkeit, vier Digestaprobe untersuchen zu lassen. Die Bestimmung der aeroben und anaeroben koloniebildenden Einheiten, der Enterobakterien und der Milchsäurebildner erfolgte beispielhaft an einem Tier pro Gruppe. Es ist klar, dass anhand einer Probe eines Einzeltieres pro Gruppe keinerlei gesicherte Aussagen gemacht werden können. Tendenziell wurden bei den mit Seltenen Erden supplementierten Tieren niedrigere Gehalte anaerober Keime gefunden, was auch den Beobachtungen von SCHULLER (2001), welche Digestaprobe von Seltenen Erden-Chlorid supplementierten Broilern untersuchte, entspricht. Dies könnte bedeuten, dass Mikroorganismengruppen im Dünndarm durch den Zusatz von Seltenen Erden beeinflusst werden. Bei den weiteren bestimmten Mikroorganismen ließen sich keinerlei Tendenzen erkennen, da die Ergebnisse stark variierten und eine Probe pro Gruppe eigentlich auch keine Aussage erlaubt.

Bezüglich der Wirkung Seltener Erden auf Mikroorganismen finden sich in der Literatur einige Hinweise auf einen bakteriostatischen und auch bakterioziden Effekt. Interessanterweise wird bei niedrigen Dosen ( $10^{-5}M$ ) jedoch eine Stimulierung des mikrobiellen Wachstums beschrieben (MUROMA, 1958; EVANS, 1990). Die genauen Wirkmechanismen sind jedoch in beiden Fällen ungeklärt. Da die antimikrobielle Wirkung der Seltenen Erden offensichtlich in hohem Maße konzentrationsabhängig ist, scheint es interessant, zu klären, in welchen Konzentrationen die aufgenommenen Seltenen Erden in den Digesta vorliegen. Beachtung sollte dabei auch der jeweiligen Art des eingesetzten REE-Komplexes

geschenkt werden, da es je nach Art zu einer Wachstumsstimulation oder Bakteriostase kommen kann (ZHANG *et al.*, 2000).

## **5.2. Fermentationsversuch mit Hilfe des RUSITEC**

Das RUSITEC-System simuliert die für den mikrobiellen Stoffwechsel im Pansen wichtigsten physiologischen Bedingungen. Mit Hilfe dieser semi-kontinuierlichen in vitro Methode können Untersuchungen zur mikrobiellen Fermentation im Pansen unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt werden. Im Gegensatz zu in vivo Untersuchungen, bei denen die Versuchsergebnisse durch inhomogenen Panseninhalt und Absorption- bzw. Sekretionsvorgänge im Pansen beeinflusst werden, ermöglicht das RUSITEC-System eine exakte Bestimmung der Messgrößen des mikrobiellen Pansenstoffwechsels.

Charakteristisch für das RUSITEC-System ist das nach wenigen Tagen erreichte Gleichgewicht der mikrobiellen Stoffwechseleigenschaften. Während der ersten 4 bis 6 Tage des Versuches sinkt die Produktion an Fermentationsprodukten leicht ab, bleibt danach aber auf gleichem Niveau. Voraussetzung für diesen als steady state bezeichneten Zustand ist eine gleichbleibende Qualität und Quantität der Futterration im RUSITEC-System und eine darauf abgestimmte Puffer-Perfusionsrate (CZERKAWSKI und BRECKENRIDGE, 1977).

Das für diese Studie eingesetzte RUSITEC-Gerät bestand aus 6 Fermentern. Wegen der geringen Anzahl wurden die Untersuchungen mit unterschiedlichen Konzentrationen von Seltenen Erden und Futtermitteln hintereinander durchgeführt. Aufgrund der sich hieraus ergebenden Variationen im Versuchsablauf, ist es nicht möglich die einzelnen Versuchsdurchgänge statistisch zu bewerten. Daher und aufgrund der enormen Datenmengen wurde nur ein Versuch beispielhaft dargestellt und näher erläutert.

### **5.2.1. pH-Wert**

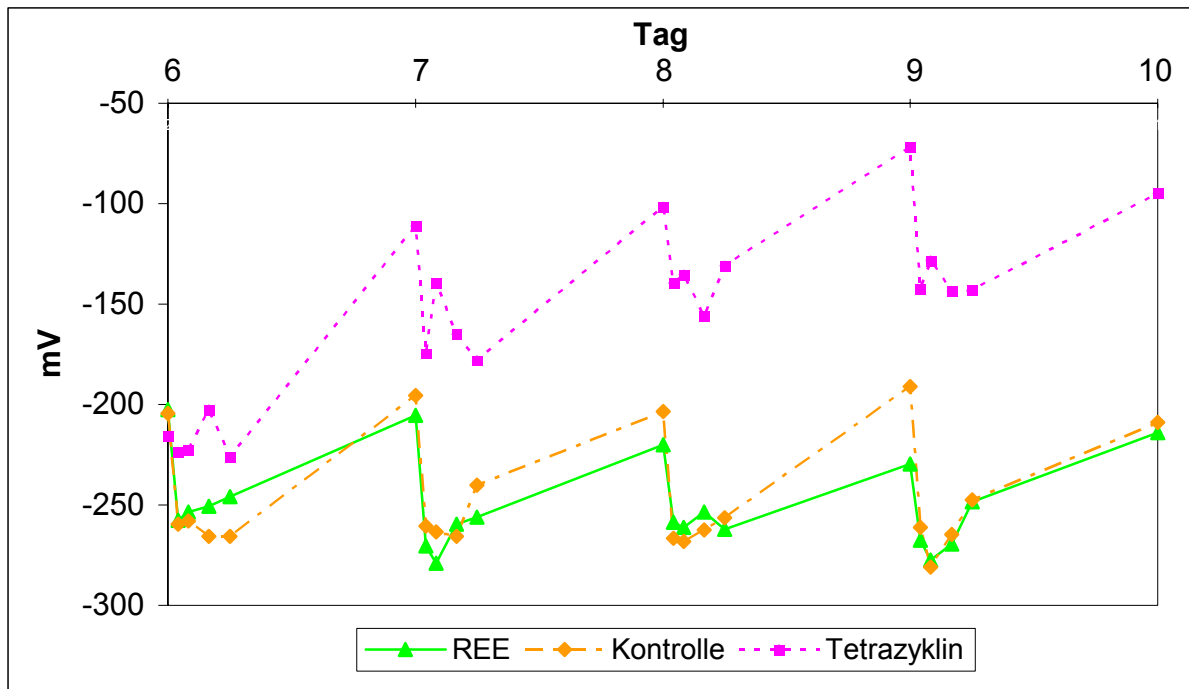
Weder in der Vorperiode noch zu den verschiedenen Messzeitpunkten der Versuchsphase bestanden Unterschiede im pH-Wert zwischen den verschiedenen Fermentern. Die tägliche Pufferzufuhr trug sicherlich zur Stabilität der pH-Werte bei, jedoch kann eine eigentlich starke pH-Wert-Änderung nicht vollständig abgepuffert werden. So findet man in der Literatur pH-Wert-Änderungen im RUSITEC zum

Beispiel unter Zusatz von Glycerol (MESSERLI, 1999) und keine beim Zusatz von Nisin oder Monensin (JALČ und LAUKOVÁ, 2002). Auch ZINN (1993) konnte unter oralem Einsatz von Chlortetrazyklin bei Stieren keinen Effekt auf den Pansen-pH feststellen. Aus den vorliegenden Ergebnissen kann angenommen werden, dass Seltene Erden keinen Einfluss auf den pH-Wert im Pansen haben.

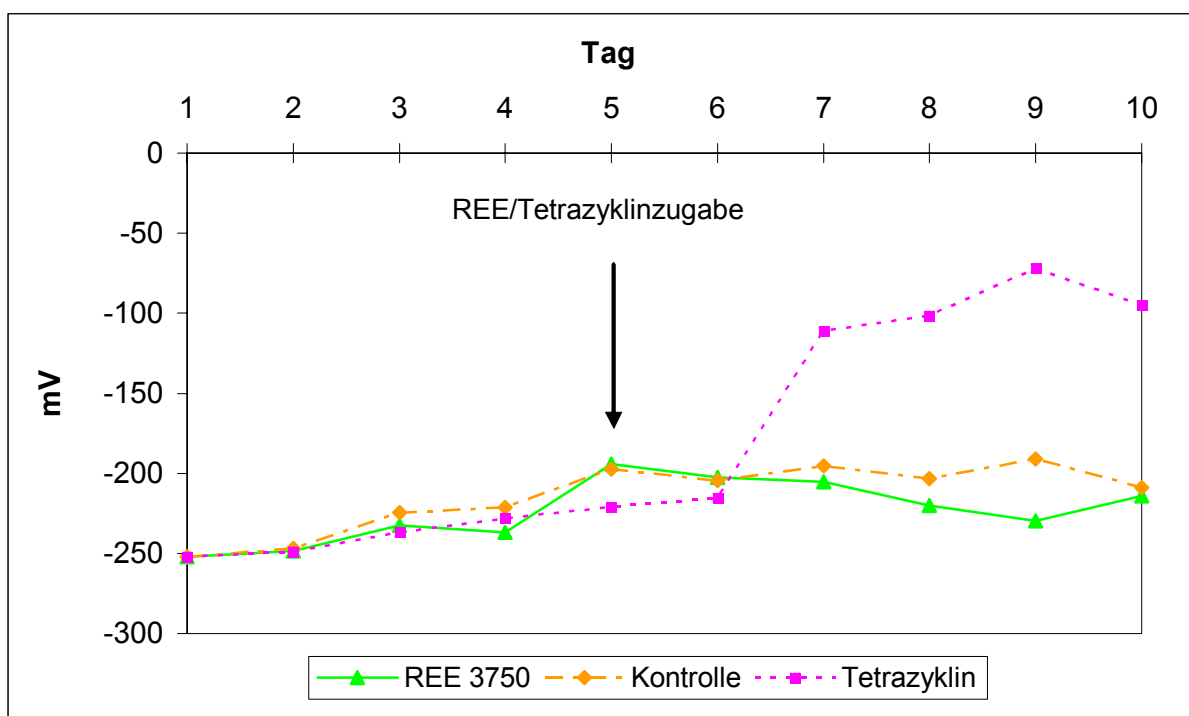
### **5.2.2. Redoxpotential**

Um optimale Fermentationsprozesse und ein ungehemmtes Wachstum der Mikroben zu gewährleisten, müssen analog zu den Verhältnissen im Pansen auch im RUSITEC-System anaerobe Bedingungen herrschen. Das Redoxpotential gibt einen Hinweis auf die Sauerstoffbelastung in den Inkubationsgefäßen. In vivo lassen sich Redoxpotentiale in einem Bereich von – 200 bis – 400 mV messen. LEEDLE *et al.* (1982) beschreiben zwei Stunden nach der Fütterung ein Maximum der Fermentationsrate, was dem Erreichen des tiefsten Punktes des Redoxpotentials in den Kontroll- und REE-Fermentern bei den Messungen zum gleichen Zeitpunkt in der Versuchsphase des vorliegenden Versuchs gut entspricht (Abbildung 6). Bei den Versuchen von KELLY (1996) zeigte sich ebenfalls zwei Stunden nach Fütterung das negativste Redoxpotential. In unserer Studie erreichte die Positivkontrolle mit Tetrazyklin erst nach vier Stunden das negativste Redoxpotential und zwei Stunden nach der Fütterung stieg es zunächst wieder an. Abbildung 7 verdeutlicht das ab Tag 7 stark reduzierte Redoxpotential der Tetrazyklinfermenter, während sich das Redoxpotential der Seltenen Erden- und Kontrollfermentern sehr ähnlich ist. Dieses abweichende Verhalten der Positivkontrolle bestätigt die Sensibilität der Versuchsdurchführung und untermauert die Schlussfolgerung, dass Seltene Erden keine Auswirkung auf das Redoxpotential im künstlichen Pansen haben.





**Abbildung 6: Verlauf des durchschnittlichen Redoxpotentials während der Versuchsphase zu den Zeitpunkten 0 h, 1 h, 2 h, 4 h und 6 h**



**Abbildung 7: Durchschnittliches Redoxpotential der einzelnen Rationsgruppen über den gesamten Versuch zum Zeitpunkt vor der Fütterung (0 h)**

### 5.2.3. Ammoniak-Gehalt

Für die im Pansen befindlichen Mikroorganismen ist eine ausreichende Stickstoff- und Energieversorgung essentiell. Erwiesenermaßen sinken die Ammoniak-Gehalte im künstlichen Pansen mit Fortschreiten des Versuches ab (GRIFFITHS, 1967). Abbildung 8 verdeutlicht den in unseren Studien ebenfalls auftretenden Abfall des Ammoniak-Gehaltes. Bei JALČ und LAUKOVÁ (2002) hatte die Zugabe von Antibiotika in den künstlichen Pansen eine niedrigere Ammoniak-Produktion zur Folge. Dies lässt sich tendenziell auch an den letzten beiden Tagen an der Tetrazyklingruppe erkennen. In diesem Versuch konnte kein Einfluss der Seltenen Erden auf die Ammoniak-Produktion im Pansen gesehen werden.

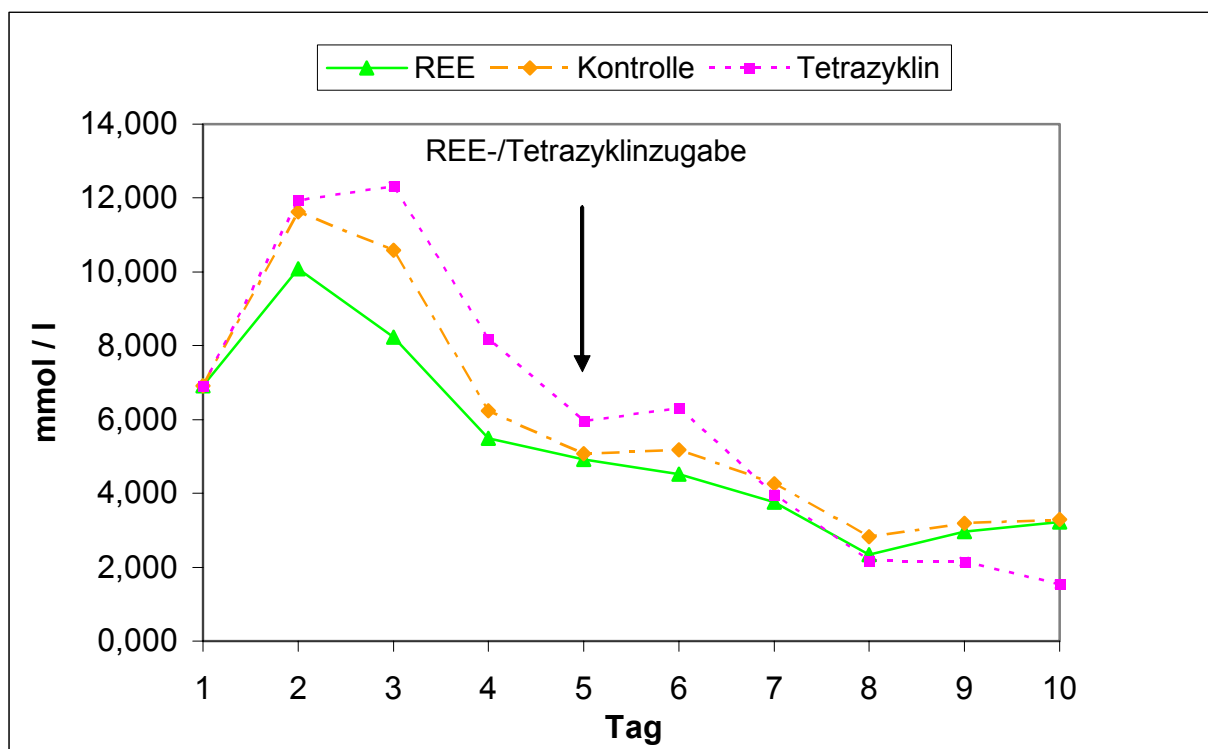


Abbildung 8: Durchschnittlicher Ammoniak-Gehalt der einzelnen Rationsgruppen über den gesamten Versuch zum Zeitpunkt vor der Fütterung (0 h)

### 5.2.4. Gehalt an flüchtigen Fettsäuren

Um festzustellen, ob eine Supplementierung von Seltenen Erden Auswirkungen auf ruminale Mikroorganismen hat, wurde der Gehalt an verschiedenen flüchtigen Fettsäuren gemessen. Als Positivkontrolle wurde Tetrazyklin eingesetzt, welches nachgewiesenermaßen Auswirkungen auf das Fettsäuremuster im Pansen hat. Wie

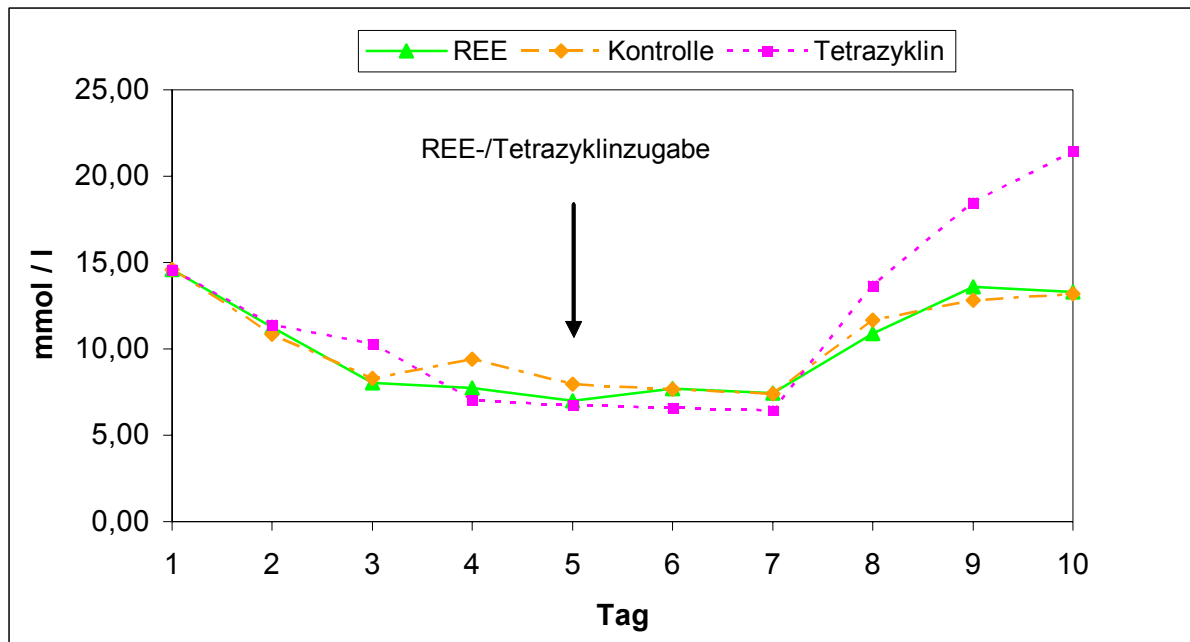
---

alle gemessenen Konzentrationen sind auch diejenigen der FFS vom Pufferfluss abhängig. Als Stoffwechselprodukte der im einzelnen Fermenter etablierten Mikroorganismenpopulation sind sie sehr sensible Indikatoren für deren Unterschiede. Die FFS werden im RUSITEC nicht im gleichen Ausmaß wie im Pansen durch Futter und wechselnd intensiven Speichelfluss verdünnt und über die Pansenwand aufgenommen, was die Messung ihrer Produktionsraten in vivo stark erschwert (VAN DER WALT, 1977). Die im RUSITEC gemessenen FFS-Konzentrationen sind eigentlich nur innerhalb eines Versuches oder zwischen ähnlichen Versuchen vergleichbar.

In dieser Studie verringerte sich die Gesamtkonzentration der FFS in der Vorversuchsphase, allerdings in allen Fermentern ähnlich, und stieg anschließend wieder an. Generell konnte in diesem Versuch keine Beeinflussung der Seltenen Erden auf die Gesamtmenge der FFS beobachtet werden.

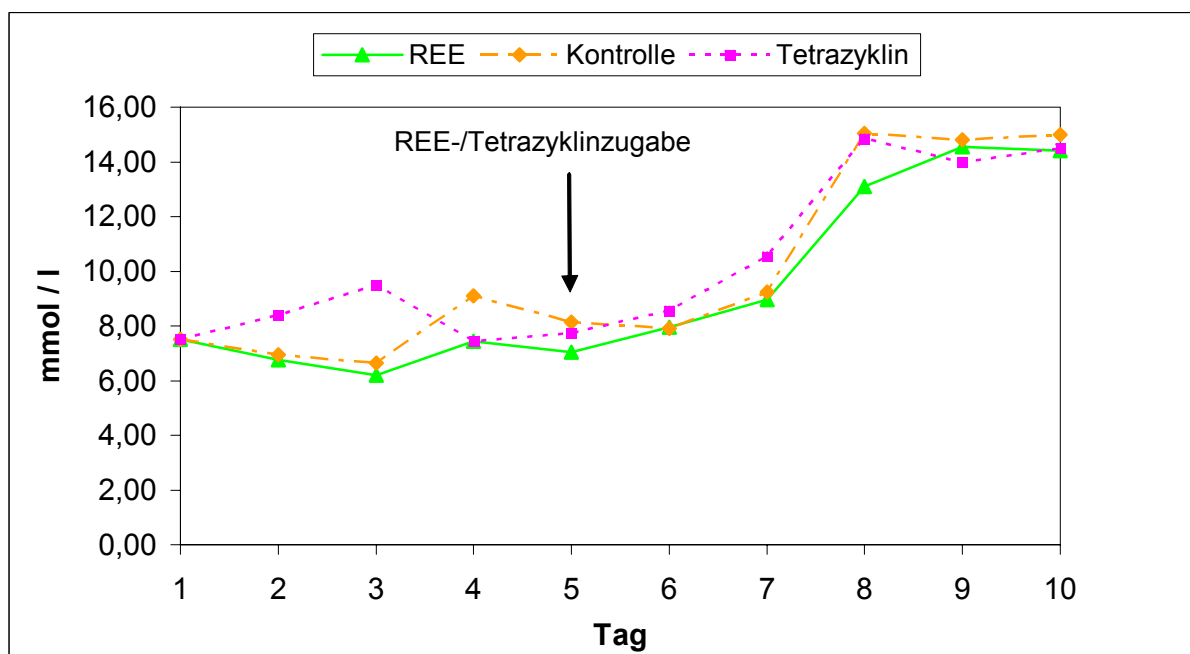
Die Acetat-Gehalte aller Fermenter waren sich zu allen Probeentnahmezeitpunkten äußerst ähnlich, auch die der Positivkontrolle mit Tetracyclin. Die Literaturangaben über die Beeinflussung des Acetat-Gehaltes im Pansen durch Antibiotika sind widersprüchlich. Während MIR (1989) bei oralem Einsatz von Chlortetracyclin keine Auswirkungen auf den Acetat-Gehalt feststellen konnten, verzeichnete ZINN (1993) eine Reduktion des Acetat-Gehaltes.

Die Propionat-Gehalte der Kontroll- und REE-Fermenter waren während des gesamten Versuches sehr ähnlich. Abbildung 9 verdeutlicht dieses. Zwei Tage nach Beginn der Versuchsphase stieg der Propionat-Gehalt im Tetracyclin-Fermenter deutlich an. Dieser Anstieg von Propionat unter Zugabe von Antibiotika wird auch in der Literatur beschrieben (ZINN, 1993; CORPET, 1999) und bestätigt die Positivkontrolle.



**Abbildung 9: Täglicher durchschnittlicher Propionat-Gehalt (mmol / l) der einzelnen Rationsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum**

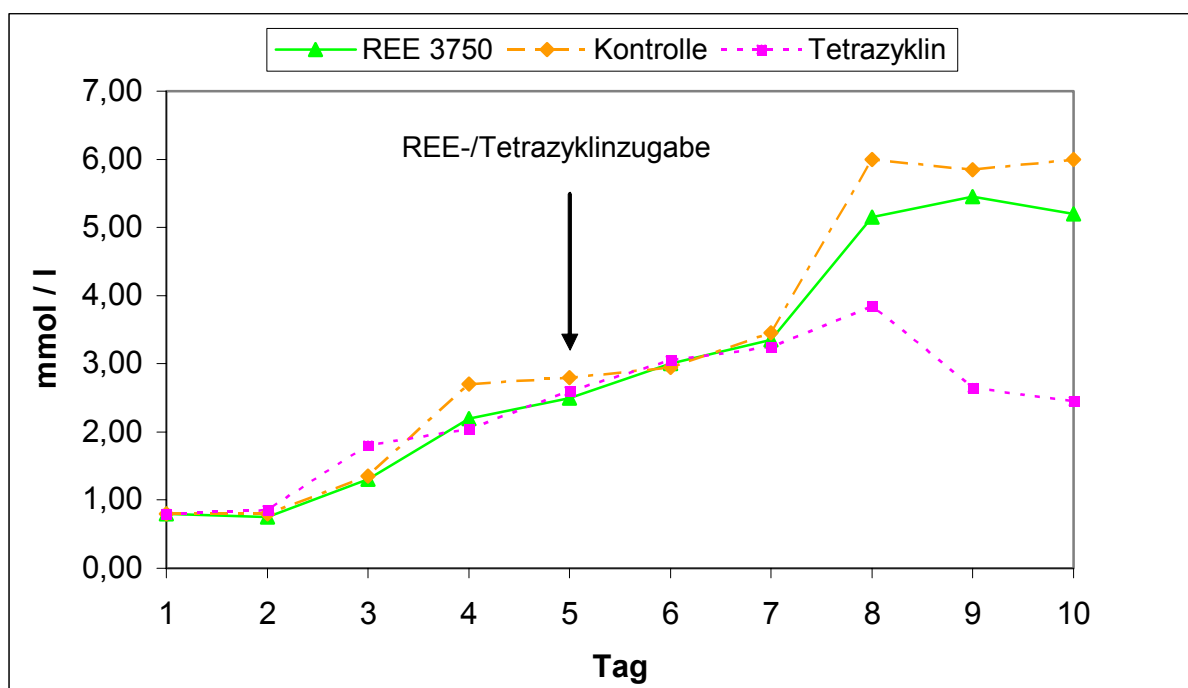
MANSFIELD *et al.* (1995) erwähnen in RUSITEC-artigen Fermentern eine leichte Verschiebung des Futtermittelabbaus von strukturgebenden zu nicht strukturgebenden Kohlenhydraten, was die Bildung von Propionat und Butyrat fördert. Dies erklärt den Anstieg des Butyratgehaltes in allen Fermentern während des Versuches (Abbildung 10).



**Abbildung 10: Täglicher durchschnittlicher Butyrat-Gehalt (mmol / l) der einzelnen Rationsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum**

Der Iso-Butyrat-Gehalt sank zu Beginn ab und blieb bei allen Gruppen während der Versuchsphase auf diesem niedrigen Niveau.

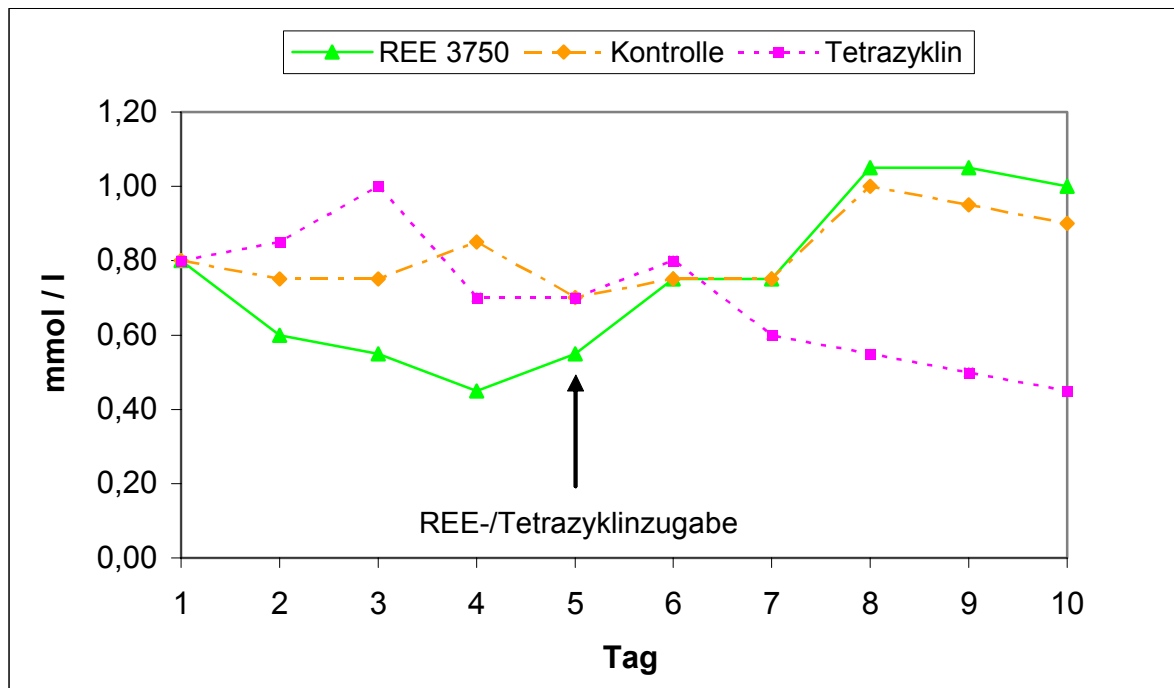
Der durchschnittliche Valerianat-Gehalt der Gruppen war über den gesamten Zeitraum sehr ähnlich. Eine Ausnahme stellen hier die Tetrazyklinfermenter dar, deren Valerianat-Gehalt an Tag 8 schon deutlich erniedrigt ist. Abbildung 11 verdeutlicht das Verhalten der durchschnittlichen Valerianat-Konzentration der verschiedenen Gruppen. Der im Vergleich mit der Kontrollgruppe geringgradig erniedrigte Valerianat-Gehalt der REE-Fermenter ließ sich nicht in den anderen Versuchen bestätigen. Diese Gehalte sind zum einen nur geringgradig niedriger, zum anderen bestand nur die geringe Anzahl von zwei Versuchsfermentern, so dass die Aussagekraft dieser Erniedrigung eingeschränkt ist. Es kann davon ausgegangen werden, dass Seltene Erden in den eingesetzten Konzentrationen keinen Einfluss auf den Valerianat-Gehalt im künstlichen Pansen haben.



**Abbildung 11: Täglicher durchschnittlicher Valerianat-Gehalt (mmol / l) der einzelnen Rationsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum zum Zeitpunkt 0 h**

Bis auf eine relative Schwankung in der Vorversuchsphase, in welcher noch keinerlei Zusätze in die Fermenter gegeben wurden, sind die Konzentrationen des Iso-Valerianats der REE-Fermenter sehr ähnlich mit denen der Kontrollfermenter (Abbildung 12). Der Iso-Valerianat-Gehalt verhielt sich bei der Positivkontrolle

ähnlich dem Valerianat der Positivkontrolle, wobei hier nur Differenzen von 0,4 mmol/l erreicht wurden.

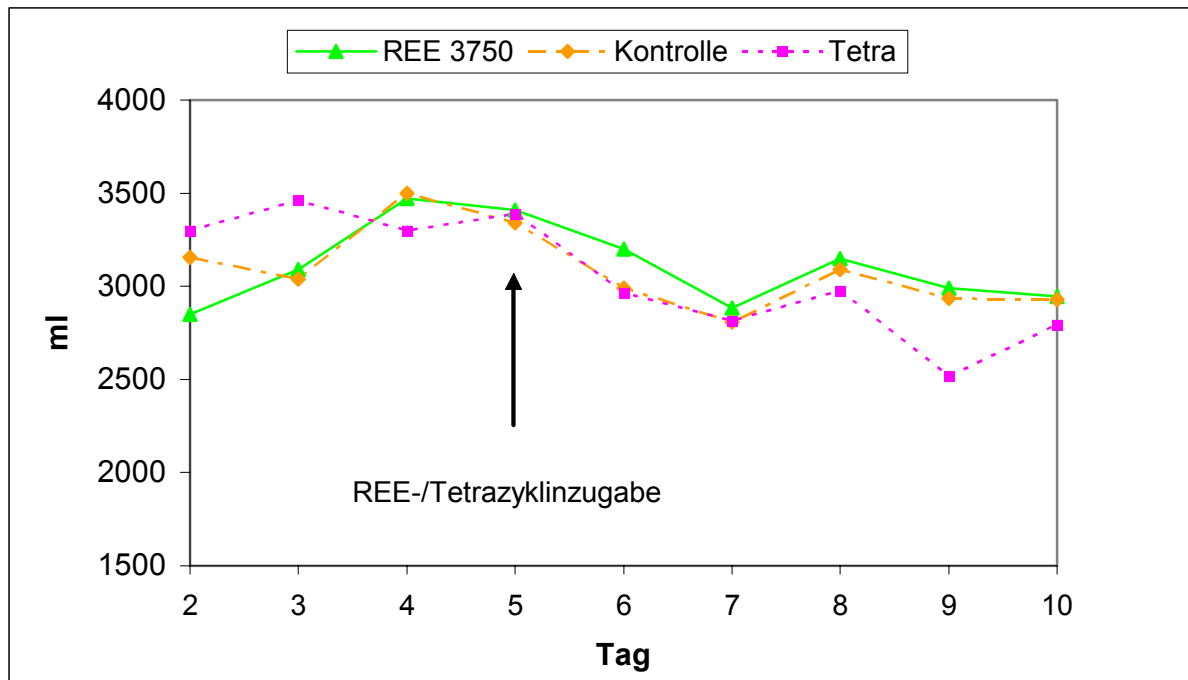


**Abbildung 12: Täglicher durchschnittlicher Iso-Valerianat-Gehalt (mmol / l) der einzelnen Rationsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum**

Generell konnte in diesem Versuch weder eine Beeinflussung Seltener Erden auf die einzelnen Konzentrationen der verschiedenen flüchtigen Fettsäuren, noch auf deren Gesamtgehalt im künstlichen Pansen gesehen werden.

### 5.2.5. Gasmenge

Die täglich gebildeten Gasmengen, welche in Abbildung 13 dargestellt sind, unterschieden sich kaum voneinander. Lediglich in der Positivkontrolle, welche Tetrazyklin erhielt, ließ sich in den letzten Tagen eine geringfügige Reduktion der Gasbildung beobachten. Dies stimmt mit der für den Einsatz von Antibiotika im Pansen beschriebenen Reduktion der Methanbildung überein (MACGREGOR und ARMSTRONG, 1982; GROPP, 1986). Auch die gegenläufige Entwicklung von Propionsäure und Methangehalten (Gasbildung) lässt sich als eine Begünstigung des Energiestoffwechsels ansehen (HUNGATE, 1967; WALLACE und NEWBOLD, 1992).



**Abbildung 13: Täglich durchschnittlich produzierte Gasmenge der einzelnen Rationsgruppen über den gesamten Versuchszeitraum**

### 5.2.6. Schlussfolgerung

Tetrazyklin fungierte als Positivkontrolle und lässt erkennen, dass die Durchführung des Versuchs und die Messmethodik korrekt sind und sich Veränderungen bei den gemessenen Parametern erzielen lassen. Die Unterschiede von Positivkontrolle zu Negativkontrolle und REE-Gruppe lassen sich deutlich in den letzten drei Tagen erkennen.

Das RUSITEC-System hat sich zu einer zuverlässigen und bewährten Standardmethode entwickelt, um den mikrobiellen Pansenstoffwechsel in vitro zu untersuchen. Es bleibt jedoch der Vorbehalt, dass auch das RUSITEC-System wie jede andere in vitro Inkubationsmethode die in vivo Fermentation nicht vollständig reproduzieren kann. Ob sich dennoch durch Supplementierung von Seltenen Erden Effekte auf die ruminale Fermentation oder auf den Gesamtorganismus beim Wiederkäuer erzielen lassen und ob ein Einsatz beim Wiederkäuer sinnvoll ist müssten Untersuchungen in vivo zeigen.

## 6. Zusammenfassung

In China werden Seltene Erden, zu denen die Elemente Lanthan, Cer und Praseodym gehören, seit mehreren Jahrzehnten in der Landwirtschaft zur Ertrags- und Leistungssteigerung eingesetzt. Eine Vielzahl von chinesischen Studien berichtet über zum Teil enorme Leistungsverbesserungen, wobei die spektakulärsten Effekte in der Geflügel- und Schweineproduktion erzielt werden konnten.

In unserer Arbeitsgruppe wurden bereits eine Reihe von Fütterungsstudien mit Seltenen Erden durchgeführt. Bisher wurden jedoch diese Mineralsalze in Chloridform eingesetzt. In der vorliegenden Arbeit wurden erstmals an unserem Institut die Effekte von Seltenen Erden-Citrat in der Ferkelaufzucht, sowie ebenfalls erstmalig am Wiederkäuer in einem in vitro Versuch untersucht.

Es wurde hierzu eine Fütterungsstudie mit 28 Ferkeln (Deutsche Landrasse x Piétrain) in 4 Rationsgruppen, zu je 7 Tieren durchgeführt. Die Tiere erhielten praxisübliche Diäten mit einem Zusatz eines Gemisches von Seltenen Erden-Citrat in Konzentrationen von 0, 50, 100 bzw. 200 mg/kg Futter über einen Zeitraum von 6 Wochen. Dabei konnte ein positiver Effekt des Seltenen Erden-Citrats auf die gemessenen Mastleistungsparameter beobachtet werden. In der Versuchsperiode waren die Tageszunahmen der beiden höher supplementierten Gruppen um 8,6 % bis 22,6 % besser als die der Kontrollgruppe, während die der niedrig dosierten Gruppe keinen Unterschied zeigten. Eine Verbesserung der Futtermittelverwertung um 2 % bis 6 % konnte bei allen mit Seltenen Erden supplementierten Gruppen verzeichnet werden. Damit konnten in der Schweinefütterung durch die Supplementierung von Seltenen Erden-Citrat noch stärkere leistungssteigernde Effekte, als bei den Studien, in denen die Chloridform eingesetzt wurde, verzeichnet werden.

Die Untersuchung von möglichen Einflüssen von Seltenen Erden-Citrat auf die ruminale Fermentation wurde am Modell des RUSITEC (Rumen Simulation Technique), einem künstlichen Pansen, vorgenommen. Dabei wurde die Wirkung von Seltenen Erden in unterschiedlichen Dosierungen gegen eine Negativkontrolle (ohne Zusatz) und eine Positivkontrolle (Tetrazyklin) verglichen. Die Untersuchungen erfolgten jeweils über einen Zeitraum von 10 Tagen. Zur Überprüfung wurde der



Einfluss auf die Parameter pH-Wert,  $\text{NH}_3$ , Redoxpotential, Fettsäuremuster und gebildete Gasmenge untersucht. Da die ruminale Fermentation durch Seltene Erden nicht beeinflusst wurde, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass die Wirkung nicht auf einer Beeinflussung der Mikroorganismen im Verdauungstrakt beruht.

## 7. Summary

Carmen Knebel

### **Investigations on the effects of Rare earth Element Citrates on growth promoting parameters in pigs and on ruminal fermentation in an artificial rumen (RUSITEC)**

For decades Rare Earth Elements, such as lanthanum, cerium, and praseodymium have been used in Chinese agriculture and farming for yield increase and growth promoting effects. Many Chinese studies showed partly enormous growth promoting effects whereas the most spectacular is seen in poultry and pig production.

Several feeding trials with Rare Earth Elements were already carried out in our working group. So far mineral salt chlorides were used in previous studies. In the present study we tested for the first time the effects of Rare Earth Elements Citrate in grower pigs as well as in an in vitro trial in ruminants.

A feeding study with 28 piglets (German Landrace x Piétrain) was carried out. They were separated in 4 dietary groups, each containing 7 animals. These animals received a regular diet, supplemented with a mixture of Rare Earth Elements Citrate in concentrations of 0, 50, 100, and 200 mg/kg feed for a 6 week period. A positive effect of the Rare Earth Elements Citrate on fattening performance parameters was determined. In the trial period the daily body weight gain of the two high supplemented groups increased between 8.6 % to 22.6 % compared to the control group. The low dosage group showed no difference. An increase in the feed conversion rate from 2 % to 6 % was shown in all Rare Earth Elements supplemented groups. This indicates that within the pig feeding highly increased growth-promoting effects were determined when supplemented with Rare Earth Elements Citrate compared with the studies in which the chloride form was used.

The study on possible effects of Rare Earth Elements in ruminal fermentation was carried out with the Rumen Simulation Technique (RUSITEC), an artificial rumen. The effect of Rare Earth Elements in different dosages was compared to a negative control (without supplement) and a positive control (Tetracycline). Each trial lasted for a period of 10 days. The influence on the parameters pH-value, NH<sub>3</sub>, redox potential,

fatty acid pattern, and gas production was analysed. Since the ruminal fermentation was not influenced, the conclusion can be drawn, that in this respect microorganisms are not affected by Rare Earth Elements.

## 8. Literaturverzeichnis

**ABU-TARBOUSH, H.M., AL-SAIADY, M.Y., KEIR EL-DIN, A.H. (1996)**

Evaluation of diet containing Lactobacilli on performance, Fecal Coliform, and Lactobacilli of young dairy calves  
Anim. Feed Sci. Technol. **57**, 39-49

**ADACHI, G. (1991)**

Chemistry of Rare Earth Elements  
Sangyo Tosho, Tokyo, 1-184

**ÅMAN, P., GRAHAM, H. (1987)**

Mixed-linked (1-3), (1-4)- $\beta$ -D-glucans in the cell wall of barley and oats, chemistry and nutrition  
Scand. J. Gastroenterol. **22** (Suppl. 129), 42

**ARVELA, P. (1977)**

Toxicity of Rare-Earths  
Prog. In Pharmacology **2** (3), 69-73

**AURELI, P., CONSTANTINI, A., ZOLEA, S. (1992)**

Antimicrobial activity of some plant essential oils against *Listeria monocytogenes*  
J. Food Prot. **55**, 334-348

**BARRET, J.P., GOMEZ, P., SOLANO, I., GONZALEZ-DORREGO, M., CRISOL, F.J. (1999)**

Epidemiology and mortality of adult burns in Catalonia  
Burns **25**, 325-329

**BEDFORD, M.R. (1995)**

Mechanism of action and potential environmental benefits from the use of feed enzymes  
Anim. Feed Sci. Technol. **53**, 145-155

**BEDFORD, M.R., CLASSEN, H.L. (1992)**

Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is effected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved growth rate and food conversion efficiency of broiler chicks

J. Nutr. **122** (3), 560-569

**BEDFORD, M., MORGAN, J. (1996)**

The use of enzymes in poultry diets

Wild. Poultr. Sci. J. **52**, 61-68

**BEST, P. (2000)**

Adding acid to swine diets

Feed Manage. **51** (5), 19-22

**BIRNBAUM, E.R., GOMEZ, J.E., DARNALL, W. (1970)**

Rare earth metal ions as probes of electrostatic binding sites in proteins

J. Am. Chem. Soc. **92**, 5287-5288

**BLUME, R. (2001)**

Das Vorkommen der Lanthanoide

<http://www.chemieunterricht.de/dc2/lanthan/vorkomm.htm>

**BÖHME, H., FLECKENSTEIN, J., HU, Z.Y., SCHNUG, E. (2002a)**

Bilanzversuche zum Einsatz von Seltenen Erden in der Schweinemast

114. VDLUFA-Kongress in Leipzig, 16.-20. September 2002, Manuskript zum Vortrag

**BÖHME, H., FLECKENSTEIN, J., SCHNUG, E. (2002b)**

Einfluss von Seltenen Erden auf die Verdaulichkeit beim Schwein

Jahresbericht 2002 der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, 59-60

**BOLDUAN, G., JUNG, H., SCHNEIDER, R., BLOCK, J., KLENKE, B. (1988a)**

Die Wirkung von Propion- und Ameisensäure in der Ferkelaufzucht

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **59**, 72-78

**BOLDUAN, G., JUNG, H., SCHNEIDER, R., BLOCK, J., KLENKE, B. (1988b)**

Die Wirkung von Fumarsäure und Propandiol-Formiat in der Ferkelaufzucht

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **59**, 143-149

**BOLDUAN, G., BECK, M., SCHUBERT, C. (1993)**

Zur Wirkung von Oligosacchariden beim Ferkel

Arch. Anim. Nutr. **44**, 21-27

**BORGER, C. (2003)**

Alternative Methoden in der Schweinemast: Untersuchungen zum leistungssteigernden Potential Seltener Erden und zur Jodanreicherung im Gewebe durch die Verfütterung von Meeresalgen

München, Tierärztliche Fakultät der LMU, Dissertation

**BREVES, G., SZENTKUTI, L., SCHRÖDER, B. (2001)**

Effects of oligosaccharides on functional parameters of the intestinal tract of growing pigs

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **108**, 246-248

**BROWN, P.H., RATHJEN, A.H., GRAHAM, R.D., TRIBE, D.E. (1990)**

Rare earth elements in biological systems

In: Gschneider, JR. K.A., Eyring, L. (Hrsg.): Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths Vol. **13**, Amsterdam: Elsevier, 423-452

**BROZ, J., SCHULZE, J. (1987)**

Efficacy of citric acid as a feed additive in early weaned pigs

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **58**, 215-223

**BUDDINGTON, R.K. (2001)**

The use of non-digestible oligosaccharides to manage the gastrointestinal ecosystem

In: Piva, A., Bachknudsen, K.E., Lindberg, J.E. (Hrsg.)

Gut Environment of Pigs

The Nottingham University Press, Nottingham

**BULMAN, R.A. (2003)**

Metabolism and Toxicity of the Lanthanides

Met. Ions Biol. Syst., **40**, 683-708

**CARRO, M.D., RANILLA, M.J. (2003)**

Effect of the addition of malate on in vitro rumen fermentation of cereal grains

Br. J. Nutr. **89** (2), 181-188

**CASSONE, A., GARACI, E. (1974)**

Lanthanum staining of the intermediate region of the cell wall in Escherichia coli

EXPEA **30**, 1230-1232

**CHANG, J. (2000)**

Medicinal herbs: drugs or dietary supplements?

Biochem. Pharmacol. **59** (3), 211-219

**CHANG, J., ZHU, W., ZHANG, L., XIONG, J., ZHANG, J., HU, Z. (1998)**

Study on environmental effects of rare earth elements

2<sup>nd</sup> International Symposium on Trace Elements and Food Chain, 15.-17. November 1998, Wuhan, China, 24

**CHEN, H.F. (1997)**

Influence of rare earth compounds on the growth of pigs

J. Chin. Rare Earth Soc. **15**, 441-443

**CHEN, W.J., TAO, Y., GU, Y.H., ZHAO, G.W. (2001)**

Effect of lanthanide chloride on photosynthesis and dry matter accumulation in tobacco seedlings

Biol. Trace Elem. Res. **79** (2), 169-176

**CHESSON, A., STEWART, C.S. (2001)**

Modulation of the gut microflora by enzyme addition

In: Piva, A., Bachknudsen, K.E., Lindberg, J.E.: Gut Environment of Pigs

The Nottingham University Press, Nottingham

**CHOCT, M., HUGHES, R.J., WANG, J., BEDFORD, M.R., MORGAN, A.J., ANNISON, G. (1996)**

Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti nutritive activity of non starch polysaccharides in chicken

Br. Poult. Sci. **37**, 609-621

**CLASSEN, H.L., BEDFORD, M.R. (1991)**

The use of enzyme to improve the nutritive value of poultry feed

In. Haresign, W., Cole, D.J.A. (Hrsg.): Recent advances in animal nutrition. University of Nottingham, School of Agriculture, Butterworths, London, 95-116

**CLASSEN, H.L., CAMPBELL, G.L., ROSSNAGEL, R.G., BHATTY, R., REICHERT, D.R. (1985)**

Studies on the use of hulled barley in chicken diets: Deleterious effects and methods of alleviation

Can. J. Anim. Sci. **65**, 725-733

**COLLINS, M.D., GIBSON, G.R. (1999)**

Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut

Am. J. Clin. Nutr. **69** (suppl) 1052-1057

**CORPET, D.E. (1999)**

Mechanism of antimicrobial growth promoters used in animal feed

Comptes Rendus de l'Academie d'Agriculture de France **85** (7), 197-205

**COTTON, F.A., WILKINSON, G. (1966)**

Advanced inorganic chemistry

Interscience Publishers, Wiley & Sons (Hrsg.)



**COX, S.D., MANN, C.M., MARKHAM, J.L., BELL, H.C., GUSTAFSON, J.E., WARMINGTON, J.R., WYLLIE, S.G. (2000)**

The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)

J. Appl. Microbiol. **88**, 170-175

**CRAIG, W. (1999)**

Health-promoting properties of common herbs

Am. J. Clin. Nutr. **70** (Suppl.), 491-499

**CZERKAWSKI, J.W., BRECKENRIDGE, G. (1977)**

Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec)

Br. J. Nutr. **38**, 371-384

**CZERKAWSKI, J.W., BRECKENRIDGE, G. (1979)**

Experiments with the long-term rumen simulation technique (RUSITEC): Use of soluble food and an inert solid matrix

Br. J. Nutr. **42**, 229-244

**DAMMENT, S.J.P., WEBSTER, I. (2003)**

The pharmacology of lanthanum carbonate (Fosrenol®): a novel non-aluminium-, non-calcium-based phosphate binder

Poster, 36. annual meeting of the American Society of Nephrology, San Diego, USA

**DAMMENT, S.J.P., WEBSTER, I., SHEN, V. (2002)**

Bone mineralisation defect with high doses of phosphate binders in uraemic rats – an artefact of phosphate depletion?

Poster, 39. congress of the European Renal Association – European Dialysis & Transplantation Association (ERA-EDTA), Copenhagen, Denmark, 14.-17. Juli 2002

**DAS, T., SHARMA, A., TALUKDER, G. (1988)**

Effects of Lanthanum in Cellular Systems

Biol. Trace Elem. Res. **18**, 201-228

**DEDL, H., ELSSENWENGER, T. (2000)**

Phytogetic feed additives - an alternative?

Intern. Pig Topics, **15** (6), 1-2

**DIATLOFF, E., ASHER, C.J., SMITH, F.W. (1999)**

Foliar application of rare earth elements to maize and mungbean

Austr. J. Exp. Agric. **39** (2), 189-194

**DLG (1991)**

DLG-Futterwerttabellen-Schweine

6. erweiterte Auflage. DLG Verlag Frankfurt am Main

**DORMAN, H.J.D., DEANS, S.G. (2000)**

Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils

J. Appl. Microbiol. **88**, 308-316

**DURBIN, P.W., WILLIAMS, M.H., GEE, M., NEWMAN, R.H., HAMILTON, J.G. (1956)**

Metabolism of the Lanthanons in the Rat

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **91**, 78-85

**EAPEN, J., KARTHA, C., RATHINAM, K., VALIATHAN, M. (1996)**

Levels of cerium in the tissues of rats fed a magnesium-restricted and cerium-adulterated diet

Bull. Environ. Contam. Toxicol. **56**, 178-182

**ECKEL, B., KIRCHGESSNER, M., ROTH, F.X. (1992a)**

Zum Einfluss von Ameisensäure auf tägliche Zunahmen, Futteraufnahme, Futterverwertung und Verdaulichkeit

J. Physiol. Anim. Nutr. **67**, 93-100

**ECKEL, B., KIRCHGESSNER, M., ROTH, F.X, EIDELSBURGER, U. (1992b)**

Zum Einfluss von Ameisensäure auf die Konzentrationen an Ammoniak und biogenen Aminen im Gastrointestinaltrakt

J. Physiol. Anim. Nutr. **67**, 198-205

**EDMONDS, M.S., IZQUIERDO, O.A., BAKER, D.H. (1985)**

Feed additives studies with newly weaned pigs: efficacy of supplemental copper, antibiotics and organic acids

J. Anim. Sci. **60**, 462-469

**EIDELSBURGER, U. (1998)**

Feeding short-chain acids to pigs

Recent Adv. Anim. Nutr. **6**, 93-106

**EISELE, N. (2003)**

Untersuchungen zum Einsatz Seltener Erden als Leistungsförderer beim Schwein  
München, Tierärztliche Fakultät der LMU, Dissertation

**ELLIS, K.J. (1977)**

The lanthanide elements in biochemistry, biology, and medicine

Inorg. Perspect. Biol. Med. **1**, 101-135

**ELWINGER, K., SÄTERBY, B. (1986)**

The use of  $\beta$ -glucanase in practical broiler diets containing barley or oats

Swed. J. Agric. Res. **17**, 133-140

**ELWINGER, K., TEGLÖF, B. (1991)**

Performance of broiler chickens as influenced by a dietary enzyme complex with and without antibiotic supplementation

Arch. Geflügelk. **55**, 60-73

**EVANS, C.H. (1983)**

Interesting and useful properties of lanthanides

Trends Biochem. Sci. **8**, 445-449

**EVANS, C.H. (1990)**

Biochemistry of the lanthanides  
Plenum Press, New York and London, 1990

**FAITHFULL, N.T. (1984)**

The in vitro digestibility of feedstuffs - a century of ferment  
J. Sci. Fd. Agric. **35**, 819-826

**FALKOWSKI, J., AHERNE, F.X. (1984)**

Fumaric and citric acid as feed additives in starter pig nutrition  
J. Anim. Sci. **58**, 935-938

**FARAG, R.S., DAW, Z.Y., HEWEDI, F.M., BAROTY, G.S.A. (1989)**

Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils  
J. Food Prot. **52**, 665-667

**FASHUI, H., LING, W., XIANGXUAN, M., ZHENG, W., GUIWEN, Z. (2002)**

The effect of cerium (III) on the chlorophyll formation in spinach  
Biol. Trace Elem. Res. **89** (3), 263-276

**FAWZI, A.B., MCNEILL, J.H. (1985)**

Effect of Lanthanum on the inotropic response of isoproterenol: role of the superficially bound calcium  
Can. J. Physiol. Pharmacol. **63**, 1106-1112

**FENGLER, A.I., MARQUARDT, R.R. (1988)**

Water-soluble pentosans from rye. II. Effects on rate of dialysis and on the retention of nutrients by the chick.  
Cereal Chem. **65**, 298-302

**FISHBEIN, L., KAPLAN, M., GOUGH, M. (1988)**

Fructo-oligosaccharides: a review  
Vet. Hum. Toxicol. **30**, 104-107

**FLACHOWSKY, G., DAENICKE, R. (1996)**

Probiotika in der Rinderfütterung

Übers. Tierernährg. **24**, 62-68

**FOREMAN, J.C., MONGAR, J.L. (1973)**

The action of lanthanum and manganese on anaphylactic histamine secretion

Br. J. Pharmacol. **48** (3), 527-537

**FOX, S.M. (1988)**

Probiotics intestinal inoculants for production animals

Vet. Med. **83**, 806-830

**FREITAG, M., HENSCHKE, H.-U.; SCHULTE-SIENBECK, H., REICHEL, B. (1999)**

Biologische Effekte konventioneller und alternativer Leistungsförderer

Krafftutter **2**, 49-57

**FULLER, R. (1989)**

Probiotics in man and animals

J. Appl. Bact. **66**, 365-378

**FULLER, R. (1999)**

Probiotics for farm animals

In: Tannock, G.W. (Hrsg.): Probiotics: a General Review

Horizon Scientific Press, Wymondham, UK, 15-22

**FULLER, R., GIBSON, G.R. (1997)**

Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics

Scand. J. Gastroenterol. **32** (Suppl. 222), 28-31

**Futtermittelrecht (2004)**

Das geltende Futtermittelrecht 2004. Die aktuellen Gesetze und Verordnungen aus Bundes und Gemeinschaftsrecht

Grüne Broschüre TE, 15. Auflage, AMS-Verlag

**GEDEK, B. (1993)**

Probiotika zur Regulierung der Darmflora

Tierärztl. Umschau **48**, 97-104

**GEDEK, B. (1994)**

Probiotika

Übers. Tierernährg. **22**, 134-140

**GEIER, U., OSTER, A. (2001)**

Kräuter-Eine Alternative zu antibiotischen Leistungsförderern

Landesanstalt für Schweinezucht Forchheim, Fachinformationen Schweinemast

**GIBSON, G.R., ROBERFROID, M.B. (1995)**

Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics

J. Nutr. **125**, 1401-1412

**GÖRKE, B. (2000)**

Untersuchung der Schleimhautmorphologie in Dünn- und Dickdarm nach oraler Applikation von *Saccharomyces boulardii* und *Bacillus cereus* var. *toyoi* beim Schwein  
Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

**GÖRKE, B., LIEBLER-TENORIO, E. (2001)**

Probiotika: Gibt es wissenschaftliche Grundlagen für ihre Wirkung?

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **108**, 249-251

**GOLLNISCH, K., WALD, C., BERK, A. (2001)**

Effect of various essential oils on the performance of piglets

Proc. Soc. Nutr. Physiol. **10**, 155

**GRAY, F.V., WELLER, R.A., PILGRIM, A.F., JONES, G.B. (1962)**

A stringent test for the artificial rumen

Aust. J. Agric. Res. **13**, 343-349

**GREIFE, H.A., BERSCHAUER, F. (1988)**

Heutige Leistungsförderer vor dem Hintergrund neuer Entwicklungen  
Krafffutter **1**, 18-22

**GREISBERG, J.K., WOLF, J.M., WYMAN, J., ZOU, L., TEREK, R.M. (2001)**

Gadolinium inhibits thymidine incorporation and induces apoptosis in chondrocytes  
J. Orthop. Res. **19** (5), 797-801

**GRELA, E.R., KRUSINSKA, R., MATRAS, J. (1998)**

Efficacy of diets with antibiotic and herb mixture additives in feeding of growing pigs  
J. Anim. Feed Sci. **7** (1), 171-175

**GRIFFITHS, T.W. (1967)**

The evaluation of an improved artificial rumen technique for the study of rumen  
fermentation

J. Agric. Sci. **69**, 355-366

**GROPP, J. (1986)**

Leistungsförderer: Wirkung und Einsatz beim Nutztier  
VDLUFA-Schriftenreihe, 20, Kongressband, 112-137

**GSCHNEIDNER, K.A. (1978)**

Handbook on the Physics and chemistry of rare earths  
Eyring, L.R., Gschneidner, K.A. (Hrsg.)  
Amsterdam, North Holland Publ. Co., 1978

**GÜNTHER, K.D., BOSSOW, H. (1998)**

The effect of etheric oil from oreganum vulgaris in the feed ration of weaned pigs on  
their daily feed intake, daily gains and food utilization

In: 15<sup>th</sup> Int. Vet. Pig Soc. Congr., Birmingham, Proc., 223

**GUO, B.S., ZHU, W.M., XIONG, B.K. (1988)**

Rare earth elements in agriculture  
Chinese Agriculture Press, Beijing, 117-119

**HABERER, B., SCHULZ, E. (1998)**

Zum Einfluss NSP-hydrolysierender Enzyme in der Schweinefütterung

Übers. Tierernährg. **26**, 25-64

**HALEY, T.J. (1979)**

Toxicity

In: Handbook on the Physics and chemistry of rare earths, Vol. **4**;

Eyring, L.R., Gschneidner, K.A. (Hrsg.)

Amsterdam, Elsevier/North Holland Publ. Co., 553-585

**HALEY, T.J. (1985)**

Toxicity of Rare Earths

In: Xu, G., Xiao, J. (Hrsg.): New frontiers in rare earth science and applications, Proceeding of the international conference on rare earth development and applications

**HALLE, I. (2001)**

Einfluss von ätherischen Ölen und von Kräutermischungen auf das Wachstum von Broilern

Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier, 8. Symposium, 26.-27. September, Jena/Thüringen

**HALLE, I., FLECKENSTEIN, J., HU, Z.Y., FLACHOWSKY, G., SCHNUG, E. (2002)**

Untersuchungen zum Einfluss von Seltenen Erden auf das Wachstum und die Schlachtleistung von Broilern

114. VDLUFA-Kongress in Leipzig, 16.-20. September 2002, Manuskript zum Vortrag

**HE, M.L., WANG, Y.Z., XU, Z.R., CHEN, M.L., RAMBECK, W.A. (2003)**

Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **87**, 1-7



**HEBELER, D., KULLA, S., WINKENWERDER, F., KAPHUES, J., AMTSBERG, G. (2000)**

Besondere Konfektionierung von Säuren in der Prophylaxe von Erkrankungen der Absatzferkel

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **107**, 377-378

**HESSELMAN, K., ÅMAN, P. (1986)**

The effect of  $\beta$ -glucanase on the utilization of starch and nitrogen by broiler chickens fed on barley of low or high viscosity

Anim. Feed Sci. Tech. **15**, 83-93

**HOBBER, R., SPAETH, R.A. (1914)**

Über den Einfluss Seltener Erden auf die Kontraktilität des Muskels

Arch. Ges. Physiol. **159**, 433-453

**HÖLTERSINKEN, M., PLITT, U., TAMMEN, F.C., HOFFMANN, P., SCHOLZ, H. (1997)**

Einfluss von verpilztem Gras auf die intraruminale Fermentation und Thiaminstoffwechsel des Rindes (in-vitro)

Dtsch. Tierärztl. Wochenschr. **104**, 17-22

**HONG, W.M., DUAN, X.B., GOA, Z.S., HU, C.P., ZHENG, W., QU, H.J. (1996)**

Long-term location test of REE on agriculture and REE residual analysis in wheat seeds

Proceeding of the first Sino-Dutch Workshop on the Environmental Behavior and Ecotoxicology of Rare Earth Elements, Beijing, 83-87

**HOPPENBROCK, K.H. (1998)**

Der natürliche Verdauungsförderer Sangrovit - eine Alternative zu antibiotischen Wachstumsförderern?

Landw. Wochenbl. Westf.-Lippe **1**, 28-29

**HU, Z., WANG, J., YANG, Y., MA, Y. (1999)**

Effect of REE on the nutrients digestibility for growing pigs

Feed World **11** (1), 29-31

**HUNGATE, R.E. (1967)**

Hydrogen as an intermediate in the rumen fermentation

Arch. Mikrobiol. **59**, 158-164

**ISOLAURI, E., MAJAMAA, H., ARVOLA, T., RANTALA, I., VIRTANEN, E.,  
ARVILOMMI, H. (1993)**

Lactobacillus casei strain GG reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats

Gastroenterol. **105**, 1643-1650

**ISOLAURI, E., SUTAS, Y., KANKAANPAA, P. ARVILOMMI, H., SALMINEN, S.  
(2001)**

Probiotics: effects on immunity

Am. J. Clin. Nutr. **73** (2), 444-450

**JALČ, D., LAUKOVÁ, A. (2002)**

Effect of nisin and monensin on rumen fermentation in artificial rumen

Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr. **115**, 6-10

**JANSEN, G.J., VAN DER WAAIJ, D. (1995)**

Review of the internal discussion

In: Fuller, R., Heidt, P.J., Rusch, V., van der Waaij, D. (Hrsg.)

Old Herborn University Seminar Monograph 8. Probiotics: Prospects of use in opportunistic infection, 173-184

**JEROCH, H. (1991)**

Enzyme in der Geflügelernährung

In: Schubert, R., Flachowsky, G., Bitsch, R. (Hrsg.): Vitamine und weitere Zusatzstoffe bei Mensch und Tier; 3. Symp. 26. bis 27. September 1991 Jena/Thüringen, 334-341

**JI, Y. (1985)**

Toxicological study on safety evaluation of rare earth elements used in agriculture

In: Xu, G., Xiao, J. (Hrsg.): New frontiers in rare earth science and application; Proceedings of the international conference on rare earth development and application

**JONES, G. (2001)**

High-performing livestock and consumer protection are not contradictory, impact of a phytogenic additive

Feed Magazine **12**, 468-473

**JOST, M. (1996)**

Einsatz von Knoblauchpulver im Ferkelaufzuchtfutter

Agrarforschung **3**, 479-481

**KAMPHUES, J. (1999)**

Leistungsförderer – Der Status Quo aus Sicht der Tierernährung

Übers. Tierernährg. **27**, 1-28

**KARTHA, C.C., EAPEN, J.T., RADHAKUMARY, C., KUTTY, V..R., RAMANI, K., LAL, A.V. (1998)**

Pattern of cardiac fibrosis in rabbits periodically fed a magnesium-restricted diet and administered rare earth chloride drinking water

Biol. Trace Elem. Res. **63** (1), 19-30

**KELLY, I.C. (1996)**

Vergleich der Fermentation isoenergetischer Rationen mit Kartoffeln, Futterrüben und Zuckerrübenschnitzeln im Pansensimulationssystem RUSITEC

Zürich, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

**KIRCHGESSNER, M., ROTH-MAIER, D.A. (1975)**

Zum Einsatz von Zitronensäure in der Ferkelaufzucht

Züchtungskunde **47**, 329-335

**KIRCHGESSNER, M., ROTH, F.X. (1976)**

Zum Einsatz von Fumarsäure in der Ferkelaufzucht

Züchtungskunde **48**, 402-406

**KIRCHGESSNER, M., ROTH, F.X. (1988)**

Ergotrope Effekte durch organische Säuren in der Ferkelaufzucht und der Schweinemast

Übers. Tierernährg. **16**, 93-108

**KIRCHGESSNER, M., ROTH, F.X., PAULICKS, B.R. (1995)**

Zur nutritiven Wirksamkeit von Sorbinsäure in der Ferkelaufzucht

J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. **74**, 235-242

**KIRCHGESSNER, M. (1997)**

Mineral- und Wirkstoffe

In: Kirchgessner, M. (Hrsg.): Tierernährung, 10. Auflage, Verlags Union Agrar, 142-207

**KRAFT, W., DÜRR, U.M., BOSTEDT, H., HEINRITZI, K. (1997)**

Leber

In: Kraft, W., Dürr, U.M., Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, **4.** Auflage, Schattauer, Stuttgart, 120-121

**KRAMSCH, D.M., ASPEN, A.J., APSTEIN, C.S. (1980)**

Suppression of experimental atherosclerosis by the Ca<sup>2+</sup>-antagonist lanthanum

J. Clin. Invest. **65**, 967-981

**KRAMSCH, D.M., ASPEN, A.J., ROZLER, L.J. (1981)**

Atherosclerosis: Prevention by Agents Not Affecting Abnormal Levels of Blood Lipids

Science **213**, 1511-1512

**KUNG, L.JR., KRECK, E.M., TUNG, R.S., HESSION, A.O., SHEPERD, A.C., COHEN, M.A., SWAIN, H.E., LEEDLE, J.A. (1997)**

Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows

J. Dairy Sci. **80**, 2045-2051

**KYKER, G.C., CRESS, E.A., SIVARAMAKRISHNAN, V.M., STEFFEE, C.H., STEWART, M. (1957)**

Fatty infiltration due to rare earths

Fed. Proc. **16**, 207

**LEEDLE, J.A.Z., BRYANT, M.P., HESPELL, R.B. (1982)**

Diurnal variations in bacterial numbers and fluid parameters in ruminal contents of animal fed low- or high forage diets

Appl. Environ. Microbiol. **44**, 402-412

**LI, D., SHE, W., GONG, L., YANG, W., YANG, S. (1992)**

Effects of rare earth element on the growth and nitrogen balance of growing pigs

Feed BoLan **4**, 3-4

**LINSALATA, P., MORSE, R.S., FORD, H., EISENBUD, M., FRANCA, E.P., DE CASTRO, M.B., LOBAO, N., SACHETT, I., CARLOS, M. (1989)**

An assessment of soil-to-plant concentration ratios for some natural analogues of the transuranic elements

Health Phys. **56** (1), 33-46

**LIU, H., YUAN, L., XIAODA, Y., WANG, K. (2003)**

La<sup>3+</sup>, Gd<sup>3+</sup> and Yb<sup>3+</sup> induced changes in mitochondrial structure, membrane permeability, cytochrome c release and intracellular ROS level

Chem. Biol. Interact. **146**, 27-37

**LÖWE, R. (1999)**

Sicherung und Verbesserung des Hygiene-Status in Mischfutterwerken durch Einsatz von organischen Säuren

Die Mühle u. Mischfuttertechn. **136**, 321-325

**MACGREGOR, R.C., ARMSTRONG, D.G. (1982)**

Mode of action of the feed antibiotic Avoparcin in sheep

BSAP Winter Meeting, paper No. 55

**MÄNNER, K., BRONSCH, K. (1987)**

Mineralstoffe und Blut

In: Scheunert, A., Trautmann, A., Wittke, G. (Hrsg.): Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7. Auflage, Parey Buchverlag Berlin, 93-119, 160-205

**MAGNUSSON, G. (1963)**

The behavior of certain lanthanons in rats

Acta Pharmacol. Toxicol. **20** (3), 1-95

**MAHESWARAN, J., MEEHAN, B., REDDY, N., PEVERILL, K., BUCKINGHAM, S. (2001)**

Impact of Rare Earth Elements on plant physiology and productivity

RIRDC Publication, 1/145, 1-3

**MANSFIELD, H.R., ENDRES, M.T., STERN, M.D. (1995)**

Comparison of microbial fermentation in the rumen of dairy cows and dual flow continuous culture

Anim. Feed Sci. Technol. **55**, 47-66

**MCDUGALL, E.I. (1948)**

Studies on ruminant saliva

Biochem. J. **43**, 99

**MEIXNER, B., FLACHOWSKY, G. (1990)**

Ergotropikaeinsatz in der Tierernährung. Teil 1: Antibiotika, Chemobiotika, Probiotika, Organische Säuren, Puffersubstanzen, Pansenfermoregulatoren.

Akadem. Landw. **28**, 8

**MELLOR, S. (2000)**

Herbs and spices promote health and growth

Pig Progress **16**, 27-30

**MESSERLI, P. (1999)**

Wirkung verschiedener Ketoseschutzmittel auf die Fermentationsvorgänge im Pansensimulationssystem RUSITEC und bei fistulierten Kühen

Zürich, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

**MIKKELSEN, L.L., JAKOBSEN, M., JENSEN, B.B. (2003)**

Effects of dietary oligosaccharides on microbial diversity and fructo-oligosaccharide degrading bacteria in faeces of piglets post-weaning

Anim. Feed Sci. Technol. **109**, 133-150

**MIR, Z. (1989)**

Monensin Chlortetrazycline und Tylosin effects on performance and digestion in lambs fed a ground alfalfa diet

Can. J. Anim. Sci. **69** (2), 505-508

**MORRAL, F.R. (1990)**

A history of the rare earth elements

CIM Bull. **83**, 97-101

**MÜLLER-ÖZKAN, E. (2002)**

Untersuchungen zu möglichen Auswirkungen anionischer Futterzusätze auf den Kohlenhydratstoffwechsel im Pansen des Rindes (in vitro)

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

**MUL, A.J., PERRY, F.G. (1994)**

The role of fructo-oligosaccharides in animal nutrition

In: Garnsworthy, P.C., Cole, D.J.A. (Hrsg.): Recent advances in animal nutrition, Nottingham University Press, Loughborough, 57-79

**MURALIDHARA, K.S., SANDINE, W.E., ENGLAND, D.C., ELLIKER, P.R. (1973)**

Colonization of *E.coli* and *Lactobacillus* in the intestines of pigs

J. Dairy Sci. **56**, 1973-1980

**MUROMA, A. (1958)**

Studies on the bactericidal action of salts of certain rare earth metals

Ann. Med. Exp. Biol. Fenn. **36** (6), 1-54

**MURRAY, A.G., FULLER, M.F., PIRIE, A.R. (1977)**

The effect of fibre in the form of various polysaccharides on the apparent digestibility of protein in the pig

Anim. Prod. **24**, 139-144

**NAKAMURA, Y., TSUMURA, Y., SHIBATA, T, ITO, Y. (1997)**

Differences in behavior among the chlorides of seven rare earth elements administered intravenously to rats

Fundam. Appl. Toxicol. **37**, 106-116

**NATHANSON, J.A., FREEDMAN, R., HOFFER, B.J. (1976)**

Lanthanum inhibits brain adenylate cyclase and blocks noradrenergic depression of Purkinje cell discharge independent of calcium

Nature **261**, 330-332

**NELSON, T.S., SHIEH, R.R., WODZINSKI, R.J., WARE, J.H. (1971)**

Effect of supplemental phytase on the utilization of phytate phosphorus by chicks

J. Nutr. **101**, 1289-1294



**NEMERY, B. (1990)**

Metal toxicity and the respiratory tract

Eur. Respir. J. **3**, 202-219

**NI, J (1995)**

Bioinorganic Chemistry of Rare Earth Elements

Science Press, Beijing

**NING, J.B., XIAO, S.L. (1989)**

Effects of rare earth elements application on day lily

Chinese Rare Earth **10** (5), 52-54

**OZAWA, A., FRETER, R. (1964)**

Ecological mechanisms controlling growth of *Escherichia coli* in continuous flow culture and in mouse intestine

J. Inf. Dis. **114**, 235-242

**PAI, S.T., PLATT, M.W. (1995)**

Antifungal effects of *Allium sativum* (garlic) extract against the *Aspergillus* species involved in otomycosis

Lett. Appl. Microbiol. **20**, 14-18

**PANG, X., LI, D., PENG, A. (2002)**

Application of rare-earth elements in the agriculture of china and its environmental behaviour in soil

Environ. Sci. Poll. Res. **9** (2), 143-148

**PARTANEN, K., MROZ, Z. (1999)**

Organic acids for performance enhancement in pig diets

Nutr. Res. Rev. **12** (1), 117-145

**PASTER, N., JUVEN, B.J., SHAAYA, E. (1990)**

Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and food borne bacteria

Lett. Appl. Microbiol. **11**, 33-37

**PIVA, G., BELLADONNA, S., FUSCONI, G., SICBALDI, F. (1993)**

Effects of yeast on dairy cow performance, ruminal fermentation, blood components, and milk manufacturing properties

J. Dairy Sci. **76**, 2717-2722

**PORRU, S., PLACIDI, D., QUARTA, C., SABBIONI, E., PIETRA, R., FORTANER, S. (2000)**

The potential role of rare earths in the pathogenesis of interstitial lung disease: a case report of movie projectionist as investigated by neutron activation analysis

J. Trace Elem. Med. Biol. **14**, 232-236

**PRZYWARA, D., BHAVE, S., BHAVE, A., CHOWDHURY, P., WAKADE, T., WAKADE, A. (1992)**

Activation of K<sup>+</sup> channels by lanthanum contributes to the block of neurotransmitter release in chick and rat sympathetic neurons

J. Membr. Biol. **125**, 155-162

**RAMBECK, W.A., HE, M.L., CHANG, J., ARNOLD, R., HENKELMANN, R., SÜSS, A. (1999)**

Possible role of rare earth elements as growth promoters

Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier, 7. Symposium, 22.-23. September 1999, Jena/Thüringen, 311-317

**ROBERFROID, M.B. (1998)**

Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties

Br. J. Nutr. **80** (4), 197-202

**ROTH, H. (1997)**

Tiergesundheit fördern – mit Leistungsförderern und Bioregulatoren

Krafftutter **4**, 154-159

**ROTH, F.X., KIRCHGESSNER, M. (1998)**

Organic acids as feed additives for young pigs: Nutritional and gastrointestinal effects

J. Anim. Feed a. Feed Sci. **7**, 25-33

**ROTH, F.X., KIRCHGESSNER, M., EIDELSBURGER, U. (1993)**

Zur nutritiven Wirksamkeit von Milchsäure in der Ferkelaufzucht

Agribiol. Res. **46**, 229-239

**ROTH, F.X., WINDISCH, W. (2000)**

Organische Säuren in der Schweinefütterung: Konservierungsmittel mit leistungsförderndem Potential

In: 6. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, 21.- 23. November 2000, Wittenberg, 51-56

**RÜBSAMEN, H., HESS, G.P., ELDEFRAWI, A.T., ELDEFRAWI, M.E. (1978)**

Interaction between calcium and ligand-binding sites of the purified acetylcholine receptor studied by use of a fluorescent lanthanide

Biochem. Biophys. Res. Commun. **68**, 56-62

**SABBIONI, E., PIETRA, R., GAGLIONE, P. (1982)**

Long-term occupational risk of rare-earth pneumoconiosis: A case report as investigated by neutron activation analysis

Sci. Tot. Environ. **26**, 19-32

**SALMINEN, S., OUWEHAND, Y.B., LEE, Y.K. (1999)**

Probiotics: how should they be defined?

Trend Food Sci. Technol. **10**, 107-110

**SANDINE, W.E. (1979)**

Roles of Lactobacillus in the intestinal tract

J. Food Prot. **42**, 259-262

**SCHMIEDL, A., BACH, F., FEHRENBACH, H., SCHNABEL, P.A., RICHTER, J. (1995)**

Cellular distribution patterns of lanthanum and morphometry of rat hearts exposed to different degrees of ischemic stress

Anat. Rec. **243** (4), 496-508

**SCHOLZ-AHRENS, K.E., SCHAAFSMA, G., VAN DEN HEUVEL, E., SCHREZENMEIR, J. (2001)**

Effects of prebiotics on mineral metabolism

Am. J. Clin. Nutr. **73** (2), 459-464

**SCHREZENMEIR, J., DE VRESE, M. (2001)**

Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition

Am. J. Clin. Nutr. **73** (Suppl.), 361-364

**SCHULLER, S. (2001)**

Seltene Erden als Leistungsförderer beim Geflügel. Untersuchungen an Broilern und Japanischen Wachtel

München, Tierärztliche Fakultät der LMU, Dissertation

**SCHULLER, S., BORGER, C., HE, M.L., HENKELMANN, R., JADAMUS, A., SIMON, O., RAMBECK, W.A. (2002)**

Untersuchungen zur Wirkung Seltener Erden als mögliche Alternative zu Leistungsförderern bei Schweinen und Geflügel

Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **115**, 16-23

**SCHURZ, M. (1997)**

Zum Einsatz von Enzymen in der Tierernährung

Handbuch der tierischen Veredlung, Kamlage Verlag, Osnabrück, 154-163

**SIMON, O. (1997)**

Einfluss von Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP) auf die Verdauung und Resorption bei Geflügelernährung und Schweinen

In: 4. Tagung Schweine- und Geflügelernährung (1996), Halle (Saale), Wissenschaftlicher Fachverlag Dr. Fleck, Niederkleen, 90-101

**SNYDER, F., CRESS, E.A., KYKER, G.C. (1959)**

Liver lipid response to intravenous rare earth in rats

J. Lipid. Res. **1**, 125-131

**SNYDER, F., CRESS, E.A., KYKER, G.C. (1960)**

Rare-earth fatty liver

Nature **185**, 480-481

**STEWART, C.S., HILLMANN, K., MAXWELL, F., KELLY, D., KING, T.P. (1995)**

Die neuesten Fortschritte in der Probiotik beim Schwein: Beobachtungen zur Mikrobiologie des Schweinedarms

Übers. Tierernährg. **23**, 1-26

**STRAUB, R. (2003)**

Einfluss dreier unterschiedlicher Konzentrationen von chinesischem Rhabarber auf die Nährstoff- und Energieverwertung wachsender Schweine

Zürich, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

**SULOTTO, F., ROMANO, C., BERRA, A., BOTTA, G.C., RUBINO, G.F., SABBIONI, E., PIETRA, R. (1986)**

Rare-earth pneumoconiosis: A new case

Am. J. Ind. Med. **9**, 567-575

**SUN, J., ZHAO, H., WANG, Y. (1994)**

Study of the contents of trace rare earth elements and their distribution in wheat and rice samples

J. Radioanal. Nucl. Chem. **179**, 377-383

**SUTAS, Y., HURME, M., ISOLAURI, E. (1996)**

Down-regulation of anti-CD3 antibody-induced IL-4 production by bovine caseins hydrolysed with Lactobacillus GG-derived enzymes

Scand. J. Immunol. **43**, 687-689

**SWANN, M.M. (1969)**

Report of the Joint Committee on the use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine, London, Stationary Office

**TALBURT, D.E., JOHNSON, G.T. (1967)**

Some effects of Rare Earth Elements and Yttrium on Microbial Growth

Mycol. **59**, 493-503

**THOMKE, S. (1972)**

On the influence of different stages of ripeness on the productive value of barley fed to chickens, laying hens, rats and mice

Acta Agric. Scand. **22**, 107-120

**TORITSUKA, N., DAIMON, H., SAWADA, S., SAGAMI, F., TIRONE, P., MORISETTI, A., BUSSI, S., FASSIO, F. (1999)**

Mutagenicity study of gadobenate dimeglumine formulation (E7155) (3)-Micronucleus test in rat bone marrow cells

J. Toxicol. Sci. **24** (Suppl.1), 103-106

**TURNER, J.L., DRITZ, S.S., HIGGINS, J.J., MINTON, J.E. (2002)**

Effects of *Asophyllum nodosum* extract on growth performance and immune function of young pigs challenged with *Salmonella typhimurium*

J. Anim. Sci. **80**, 1947-1953

**ULTEE, A., KETS, E.P.W., SMID, E.J. (1999)**

Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*

Appl. Environ. Microbiol. **65**, 4606-4610

**VACCARI, A., SABA, P., MOCCI, I., RUIU, S. (1999)**

Lanthanides stimulate (3H) tyramine binding in the rat striatum

Neurosci. Lett. **261**, 49-52

**VAHJEN, W., GLÄSER, K., SCHÄFER, K., SIMON, O. (1998)**

Influence of xylanase supplemented feed on the development of selected bacterial groups in the intestinal tract of broiler chicks

J. Agric. Sci. **130**, 489-500

**VAN DER LAARSE, W. VAN NOORT, P., SIMONIDES, W., DIGENBACH, P., LEE DE GROOT, M., VAN HARDEVELD, C. (1995)**

Histochemistry of sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase using dysprosium as capturing agent

Histochem. J. **27** (9), 702-714

**VAN DER PEET-SCHWERING, C.M.C., SWINKLELS, J.W.G.M. (2000)**

Enteroguard as an alternative feed additive to antibiotics in weanling pig diets

J. Anim. Sci. **78** (1), 184

**VAN DER WALT, J.G. (1977)**

Volatile fatty acid metabolism in sheep: 2. Correlation between the volatile fatty acid production and concentration during the course of a feeding cycle

Onderstepoort J. Vet. Res. **44**, 7-12

**WADKINS, T., BENZ, J. BRINER, W. (1998)**

The effect of lanthanum administration during neural tube formation on the emergence of swimming behavior

Met. Ions Biol. Med. **5**, 168-171

**WALD, C., KLUTH, H., RODEHUTSCORD, M. (2001)**

Effects of different essential oils on the growth performance of piglets

Proc. Soc. Nutr. Physiol. **10**, 156

**WALLACE, R.J., CZERKAWSKI, J.W., BRECKENRIDGE, G. (1981)**

Effect of monensin on the fermentation of basal rations in the RumenSimulation Technique (Rusitec)

Br. J. Nutr. **46** (1), 131-148

**WALLACE, R.J., NEWBOLD, C.J. (1992)**

Probiotics for ruminants

In: Fuller, R. (Hrsg.): Probiotics: The Scientific Basis, 317-353

**WAN, Q., TIAN, J., PENG, H., ZHANG, X., LEE, D., WOO, C., RYU, J., PARK, C. (1998)**

The effects of rare earth on increasing yield, improving quality and reducing agricultural chemical remained in crop products

2<sup>nd</sup> International Symposium on Trace Elements and Food Chain, 12.-15. November 1998, Wuhan, China, 25

**WANG, L.X., XU, Z., WU, X.Y. (1985)**

Effects of rare earth elements on photosynthesis of fixing-nitrogen alga

J. Chin. Rare Earth Soc. **3** (3), 72-75

**WANG, Y., MCALLISTER, T.A., RODE, L.M., BEAUCHEMIN, K.A., MORGAVI, D.P., NSEREKO, V.L., IWAASA, A.D., YANG, W. (2001)**

Effects of an exogenous enzyme preparation on microbial protein synthesis, enzyme activity and attachment to feed in the Rumen Simulation Technique (Rusitec)

Br. J. Nutr. **85**, 325-332

**WANG, M.Q., XU, Z.R. (2003)**

Effect of supplemental lanthanum on growth performance of pigs and its security as a feed additive

Chin. J. Vet. Sci. **23** (1), 88-90

**WANNER, M. (1999)**

Antimikrobielle Leistungsförderer – Rückblick und Alternativen

Schweiz. Arch. Tierheilkd. **141**, 93-97

**WARRING, P.M., WATTLING, R.J. (1990)**

Rare earth deposits in a deceased movie projectionist

Med. J. Aust. **153**, 726-730

**WASSERMANN, A.J., MONTICELLO, T.M., FELDMAN, R.S., GITLITZ, P.H., DURHAM, S.K. (1996)**

Utilization of electron probe microanalysis in gadolinium-treated mice

Toxicol. Pathol. **24** (5), 588-594



**WATANABE, T. (1963)**

Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria

Bacteriol. Rev. **27**, 87-115

**WEISBURGER, J.H. (1999)**

Mechanism of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea

Food Chem. Toxicol. **37**, 943-948

**WEISS, G.B., GOODMAN, F.R. (1963)**

Effects of lanthanum on contraction, calcium distribution, and Ca movement in intestinal smooth muscle

J. Pharm. Exp. Ther. **169**, 46-55

**WHEELER, G.E., WILSON, D., AGRAWALA, S.K. (1999)**

Effect of herbal animal feed supplement "Livol" on growth of pigs

Indian J. Anim. Health **38** (1), 47-50

**WIEMER, F. (1999)**

Untersuchungen zur Salmonellenprävalenz in Ferkelerzeugerbetrieben sowie erste Ergebnisse der Behandlung porziner Salmonelleninfektionen mit Laktulose

Hannover, Tierärztliche Hochschule, Dissertation

**WILLIAMS, P.F., TURTLE, J.R. (1984)**

Terbium, a fluorescent probe for insulin receptor binding. Evidence for a conformational change in the receptor protein due to insulin binding

Diabet. **33**, 1106-1111

**WOHLT, J.E., CORCIONE, T.T., ZAJAC, P.K. (1998)**

Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation

J. Dairy Sci. **81**, 1345-1352

**WOLTER, R. (1982)**

Ernährungsbedingte Krankheiten

In: Mornet, P., Tournet, J., Toma, B. (Hrsg.): Das Schwein und seine Krankheiten, Schober Verlags GmbH, 308-325

**WU, Z.M., TANG, X.K., JIA, Z.W., GAO, X.X. (1984)**

Studies on the effect of rare earth elements on the increasement of yield in agriculture: 2.Effects of rare earth element on physiological metabolism in crops

J. Rare Earth Soc. **2** (2), 75-79

**WU, J., ZHANG, Z., YAN, J. (1994)**

A initial study on effect of adding rare-earth element on productivity of egg-laying breeder hens

NingXia Science and Technology of Farming and Forestry **4**, 36-38

**XIE, J., XIA, Z., WANG, Z. (1995)**

Studies on the effects of Rare earth compound added to diets of Guanxi Broiler Chickens

Chinese, unpublished

**XIE, J., WANG, Z. (1998)**

The effect of organic rare-earth compounds on production performance of chicken

2<sup>nd</sup> International Symposium on Trace Elements and Food Chain, 12.-15. November 1998, Wuhan, China, 74

**XU, Z.R., CHEN, L.M., WANG, M.Q. (1998)**

Effect of Lanthanum on growth, digestion, and carcass composition of growing pigs

J. Zhejiang Agricultural Univ. **24**, 395-397

**XU, Z., WANG, M., CHEN, L. (1999)**

Growth response of pigs fed supplemental lanthanum and approach of mechanism

J. Chin. Rare Earth Soc. **17**, 53-59

**XU, Z.R., HU, C.H., XIA, M.S., ZHAN, X.A., WANG, M.Q. (2003)**

Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers

Poult. Sci. **82** (6), 1030-1036

**YANG, J.P., ZHANG, S.Y. (1986)**

Studies on rare earth elements enhancement defending stress of wheat

J. Chinese Rare Earth Society **4** (4), 67-70

**YU, Z., CHEN, M. (1995)**

Rare earth elements and their applications.

Metallurgical Industry Press, Beijing, 286-291

**ZANI, J.L., WEYKAMP DA CRUZ, F., FREITAS DOS SANTOS, A., GIL-TURNES, C. (1998)**

Effect of probiotic CenBiot on the control of diarrhoea and feed efficiency in pigs

J. Appl. Microbiol. **84**, 68-71

**ZHANG, Y., LIU, Z., ZHANG, J. (1988)**

The Effect and Technique of Rare Earth Application in Agriculture

Proceedings of the First International Conference on the Metallurgy and Materials Science of Tungsten, Titanium, Rare Earths and Antimony **1**, 1275-1280

**ZHANG, B., SHAO, L. (1995)**

Effect of inorganic REE on growth performance of broilers

Chin. J. Husbandry **31** (3), 38-39

**ZHANG, H., FENG, J., ZHU, W.F. (1999)**

Bacteriostatic effect of cerium Humic acid complex

Chin. Rare Earths **20**, 23-25

**ZHANG, H., FENG, J., ZHU, W.F., LIU, C., GU, J. (2000)**

Bacteriostatic effect of cerium-humic acid complex: An experimental study

Biol. Trace Elem. Res. **73** (1), 29-36

**ZINN, R.A. (1993)**

Influence of oral antibiotics on digestive function in Holstein steers fed a 71 percent concentrate diet

J. Anim. Sci. **71** (1), 213-217

## 9. Anhang

Zusatzstoff	Handelsname	Bezugsquelle
Calciumpropionat	Luprosil-Salz	Fa. BASF, Ludwigshafen
Monocalciumphosphat	Cefkaphos F	Fa. BASF, Ludwigshafen
Calciumcarbonat	CaCO	Fa. BASF, Ludwigshafen
Natriumchlorid	NaCl	Fa. Merck, Darmstadt
L-Lysin	L-Lysin-HCl	Fa. Eurolysine S.A. Japan
DL-Methionin	L-Methionin	Fa. Diamalt, München
Eisensulfat	FeSO <sub>4</sub> x 7 H <sub>2</sub> O	Fa. Merck, Darmstadt
Kupfersulfat	CuSO <sub>4</sub> x 5 H <sub>2</sub> O	Fa. Merck, Darmstadt
Mangansulfat	MnSO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O	Fa. Merck, Darmstadt
Natriumselenit	NaSeO <sub>4</sub>	Fa. Merck, Darmstadt
Zinksulfat	ZnSO <sub>4</sub>	Fa. Merck, Darmstadt
L-Ascorbinsäure	Lutavit C, kristallin (99%)	Fa. BASF, Ludwigshafen
Ascorbinsäure	Rovimix Stay-C (25%)	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Retinol	Rovimix A-500	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Cholecalciferol	Rovimix D-500	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
a-DL-Tocopherolacetat	Rovimix E-50 AS	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Menadion	Vit. K-Reinsubstanz	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Thiamin	Vit. B-Mononitrat	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Riboflavin	Rovimix B 80 SD	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Pyridoxin	Vit. B-Reinsubstanz	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Folsäure	Rovimix Folsäure 80 SD	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Calciumpantothenat	Rovimix Calpan	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Nikotinsäure	Rovimix Niacin	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Cobalamin	Vit. B	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Cholinchlorid	Cholin-Chlorid	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
Biotin	Rovimix H-2	Fa. Hoffman-La-Roche, Basel
REE-Citrat-Gemisch	/	Fa. Zehentmayer AG, Berg, CH

## 10. Danksagung

Allen voran möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Prof. Dr. W.A. Rambeck für die Überlassung dieses Themas und die wirklich jederzeit hervorragende Betreuung bedanken.

Ein großer Dank gilt Herrn Prof. Dr. M. Wanner und seinen Mitarbeitern, insbesondere Brigitte Küffer und Barbara Schneider, die mir die Durchführung des RUSITEC-Versuchs und den Aufenthalt in Zürich ermöglicht und verschönert haben.

Ebenfalls ganz herzlich möchte ich mich bei der II. Medizinischen Tierklinik, und damit bei Herrn Prof. Dr. K. Heinritzi und vor allem bei seinen Mitarbeitern, bei Herrn Dr. Mathias Ritzmann und insbesondere Frau Marion Kixmüller, die mir bei jeder Frage und jedem Problem hinsichtlich des Schweineversuches jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Ein großes Dankeschön an Dr. Uli Wehr für sein offenes Ohr und seinen Rat in allen Fragen.

Bei Frau Elke Kleiner und Herrn Hesselbach möchte ich mich ebenfalls ganz herzlich für die hilfreiche Betreuung im Labor und bei Frau Stadler für das Mischen des Futters bedanken.

Ein grosser Dank gilt den Präparatoren aus dem Institut für Tierpathologie, die mir sehr am Ende des Schweineversuches geholfen haben.

Meinem Freund, meinen Eltern, meinen Geschwistern und meiner Tante möchte ich ganz herzlich für die liebe Unterstützung danken.

Ganz lieben Dank an Nicola, Katrin, Judith, Jakob, Astrid, Sandra, Regine und Laura für Eure moralische Unterstützung, Motivation und dass ihr mich ausgehalten habt...

## 11. Lebenslauf

*Name:* Carmen Knebel

*Geburtsdatum:* 20.03.1977

*Geburtsort:* Biberach an der Riss

*Eltern:* Claudia Knebel, geb. Bologna  
Dr. Martin Knebel

*Geschwister:* Stefanie Knebel  
Constanze Knebel  
Nicolas Knebel

*Schulbildung:* 1983-1987 Grundschule Berneckschule Schramberg  
1987-1994 Allgemeinbildendes Gymnasium Schramberg  
1994-1996 Allgemeinbildendes Gymnasium der  
Zinzendorfschulen Königfeld im Schwarzwald

*Oktober 1996:* Aufnahme des Studiums der Tiermedizin an der Ludwig-  
Maximilians-Universität München

*Staatsexamen:* 29. Juli 2002

*Approbation:* September 2002

*August 2002-*

*Dezember 2002:* Arbeit mit Zellkulturen am Institut für Tierschutz,  
Verhaltenskunde und Tierhygiene der Ludwig-Maximilians-  
Universität München

*Januar 2003-*

*April 2004:* Anfertigung der vorliegenden Doktorarbeit am Institut für  
Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der  
Ludwig-Maximilians-Universität München, Lehrstuhl für  
Tierernährung und Diätetik unter Prof. Dr. W.A. Rambeck

*August 2003-*

*Dezember 2003:* Ausführung des 2. Versuchs der vorliegenden Doktorarbeit am  
Departement für Veterinärphysiologie und Tierernährung,  
Tierspital der Universität Zürich, Schweiz