

Abschlussbericht

Untersuchungen zum Einfluss von Holundertrester
auf Wachstum und antioxidative Parameter
beim früh abgesetzten Ferkel

Dr. sc. agr. Ralf Blank, Prof. Dr. med. vet. Siegfried Wolffram

Institut für Tierernährung und Stoffwechselfysiologie
Christian-Albrechts-Universität Kiel

März 2010

1 Fragestellung

Polyphenole sind sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, die ein beachtliches antioxidatives Potenzial aufweisen. Hohe Gehalte an Polyphenolen finden sich vor allem in Obst und Beerenfrüchten sowie in deren Rückständen nach dem Entsaften, den sogenannten Treestern. Als antioxidative Wirkungsmechanismen von Polyphenolen werden das Abfangen reaktiver Sauerstoffverbindungen, das Komplexieren freier Metallionen sowie das Einsparen bzw. Regenerieren physiologischer Antioxidantien wie z.B. Vitamin E diskutiert. Vitamin E ist das wichtigste lipophile Antioxidans für Mensch und Tier und wird üblicherweise in Nutztierrationen supplementiert, um den antioxidativen Status zu verbessern und eine erhöhte Lipidperoxidation im Endprodukt Fleisch zu reduzieren, was sich positiv auf die Fleischqualität auswirkt. Aufgrund geringer weltweiter Produktionsmengen ist der Preis für Vitamin E deutlich angestiegen und hat zu einem erhöhten Interesse bezüglich des Einsatzes alternativer Antioxidantien geführt, die möglicherweise einen Vitamin E-sparenden Effekt aufweisen. Das Ziel der vorliegenden Experimentes war es, den Einfluss von Holundertrester, der vor allem antioxidativ wirksame Anthocyane enthält, auf die Wachstumsleistung sowie auf Parameter des oxidativen Status beim früh abgesetzten Ferkel zu untersuchen.

2 Material und Methoden

2.1 Tiere, Herkunft und Haltung

Der Versuch wurde am Institut für Tierernährung und Stoffwechselfysiologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel durchgeführt. Für den Versuch standen 24 weibliche Ferkel (Deutsche Landrasse × Deutsches Edelschwein, Versuchsgut Hohenschulen, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel) mit einem mittleren Lebendgewicht von $7,5 \pm 0,5$ kg zur Verfügung, die mit einem Alter von 21 Tagen von der Sau abgesetzt und anschließend zum Institut für Tierernährung und Stoffwechselfysiologie transportiert wurden. Die Tiere erhielten am 1. Lebenstag eine Eiseninjektion, die am 14. Lebenstag wiederholt wurde. Vom 10. bis 21. Lebenstag hatten die Ferkel Zugang zu einem handelsüblichen Beifutter. Nach Ankunft in der Versuchseinrichtung wurden die Tiere in Gruppen von zwei Tieren in Stoffwechselkäfigen gehalten. Jeder Käfig ist mit Nippel-Tränken und einem Trockenfutterautomat ausgestattet. Die Raumtemperatur im Ferkelstall betrug in den ersten zwei Wochen nach dem Absetzen 26°C . Um die hohen Temperaturanforderungen von Absetzferkeln zu erfüllen, wurden

zusätzlich Wärmestrahler eingesetzt. Ab der dritten Woche, wurde die Temperatur wöchentlich um jeweils 1,5°C gesenkt und die Wärmestrahler entfernt. Die Luftfeuchtigkeit im Versuchsstall betrug über den gesamten Versuchszeitraum 60-70 %.

2.2 Versuchsrationen

Für den Versuch wurde eine Kontrolldiät formuliert, die sich aus Getreide (Weizen, Gerste), Sojaextraktionsschrot und Magermilchpulver zusammensetzte. Die beiden Versuchsrationen entsprachen in der Zusammensetzung der Kontrollration, wurden jedoch mit 0,4 bzw. 1,0 % Holundertrester supplementiert. Die Zulagen von Holundertrester wurden gegen entsprechende Mengen von Stärke ausgetauscht. Sojaöl wurde eingemischt um eine übermäßige Staubentwicklung des geschroteten Futters zu unterdrücken, welche die Futteraufnahme negativ beeinflussen könnte. Die Versuchsrationen wurden entsprechend den derzeit gültigen Bedarfsempfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GFE, 2006) für Absetzferkel formuliert. Das Futter wurde in Mehlform an die Versuchstiere verfüttert. Die detaillierte Zusammensetzung der Diäten ist in Tabelle 1 dargestellt. Die analysierten Nährstoffgehalte des Holundertresters sowie der Versuchsdiäten sind in der Tabelle 2 aufgeführt.

2.3 Versuchsdurchführung

Die Versuch wurden im Zeitraum vom 06.11.2009 bis 03.12.2010 durchgeführt. Die Fütterung der Tiere erfolgte zweimal täglich um 8.00 Uhr und 19.00 Uhr. Das Futter stand den Tieren zur freien Aufnahme zur Verfügung. Anfallende Futterreste wurden vor der nächsten Fütterung quantitativ gesammelt, getrocknet und gewogen. Das Wiegen der Tiere erfolgte beim Einstellen, sowie nach der 1., 2., 3. und 4. Versuchswoche jeweils vor der Fütterung. Die Ferkel wurden einzeln gewogen, so dass für die täglichen Zunahmen jeweils 8 Einzeldaten je Gruppe erfasst wurden, während für die Futteraufnahme und den Futteraufwand je kg Zuwachs nur das Mittel je Käfig (2 Tiere) erfasst wurde, woraus jeweils 4 Einzeldaten je Gruppe resultieren.

Zur Erfassung eines möglichen Effektes von Holundertrester auf den oxidativen Status des Tieres wurde am Tag 0, 14 und 28, jeweils eine Blutproben aus der *Vena jugularis* entnommen. Am Ende des Versuches wurden die Tiere getötet und Gewebeprobe von Leber, Muskel (*M. longissimus dorsi*) und Rückenspeck entnommen. Neben den Gehalten an Vitamin E in Blut und Gewebeprobe wurden in den Blutpro-

ben auch Marker zur Erfassung des oxidativen Status (Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen und 8-*iso*-Prostaglandin F_{2α}) analysiert.

Tabelle 1: Zusammensetzung (g/kg) der Versuchsrationen

Komponenten (g/kg)	0,0 % Holundertrester	0,4 % Holunder- trester	1,0 % Holunder- trester
Gerste	318,0	318,0	318,0
Weizen	240,0	240,0	240,0
Sojaextraktionsschrot	180,0	180,0	180,0
Magermilchpulver	200,0	200,0	200,0
Dicalciumphosphat	25,0	25,0	25,0
Sojaöl	10,0	10,0	10,0
Mineralfutter ¹⁾	12,0	12,0	12,0
Natriumchlorid	4,9	4,9	4,9
Zinkchlorid	0,1	0,1	0,1
Stärke	10,0	6,0	0,0
Holunder	0,0	4,0	10,0

¹⁾ **Salvana Herdbuch**²³ enthält je kg: Lysin 35 g; Threonin 15 g; Methionine 15 g; Calcium 165 g; Phosphor 40 g; Natrium 70 g; Magnesium 10 g; Vitamin A 500000 IU; Vitamin D₃ 50000 IU; Vitamin E 2000 mg; Vitamin C 1875 mg; Biotin 5000 µg; Vitamin K₃ 62,5 mg; Vitamin B₁ 50 mg; Vitamin B₂ 190 mg; Nikotinsäure 800 mg; Panthotensäure 315 mg; Vitamin B₆ 125 mg; Vitamin B₁₂ 950 µg; Folsäure 37,5 mg; Cholinchlorid 5000 mg; Betain 2500 mg; Phytase 12500 FTU; Zink 2750 mg; Eisen 4375 mg; Mangan 2500 mg; Kupfer 375 mg; Jod 35 mg; Kobalt 10 mg; Selen 10 mg.

2.4 Analysen

Die Analyse der Trockensubstanz-, Rohprotein-, Rohfett-, Asche- und Rohfaser-Gehalte im Holundertrester und den Versuchsdiäten, sowie die Analyse der Vitamin E-Gehalte in den Versuchsdiäten wurden gemäß den Methoden des Verbandes Deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Naumann et al. 1997) durchgeführt (Tabelle 2). Die Analyse der Neutralen und Sauren Detergenzien Faser (NDF bzw. ADF) erfolgte nach der Methode von Van Soest et al. (1991). Die Bruttoenergiegehalte des Holundertrester und der Diäten wurde mittels eines Bombenkalorimeter (IKA[®] C200, IKA[®] Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland) bestimmt.

Der Gehalt an α -Tocopherolen im Blutplasma und den Geweben wurde mittels HPLC nach der von Podda et al. (1996) beschriebenen Methode analysiert. Die antioxidative

Kapazität des Plasmas wurde mittels der *in-vitro* Bildung von Thiobarbitursäurereaktiven Substanzen (TBARS) nach Yagi (1998) ermittelt. Die Bestimmung der 8-iso-PGF_{2α}-Konzentration im Plasma erfolgte mittels eines kommerziellen Assays (Direct 8-iso-Prostaglandin F_{2α}, Assay Designs, Michigan, USA).

Tabelle 2: Analytierte Rohnährstoffzusammensetzung (TS, %) des Holunder-trester und der im Versuch eingesetzten Diäten.

	Holunder-trester (HT)	Versuchsrationen		
		0,0 % HT	0,4 % HT	1,0 % HT
Trockensubstanz	96,10	89,92	89,80	89,92
Rohasche	2,48	8,54	8,16	8,08
Organische Substanz	97,52	91,46	91,84	91,92
Rohprotein	14,01	21,33	22,22	22,19
Rohfett	26,41	3,02	3,02	3,16
Rohfaser	44,20	5,05	4,70	5,74
N-freie Extraktstoffe	12,90	62,06	61,90	60,83
NDF	44,01	18,13	17,21	17,88
ADF	39,47	6,43	6,49	7,09
Bruttoenergie (MJ/kg TS)	26,18	17,78	17,90	18,02
<u>Tocopherole (mg/kg)</u>				
α -Tocopherol	-	28,3	26,9	26,5
β - Tocopherol	-	< 2,0	< 2,0	< 2,0
γ - Tocopherol	-	7,9	8,8	9,9
δ - Tocopherol	-	3,0	3,2	3,3

2.4 Statistische Auswertung des Versuches

Sowohl die erfassten Wachstumsparameter als auch die α-Tocopherol-Gehalte und Marker des antioxidativen Satus im Blut wurden gemäss eines Repeated Measure Designs mittels der Prozedur MIXED des Statistikpaketes SAS 9.1 analysiert. Das statistische Modell umfasste Behandlungs- und Zeiteffekte sowie deren Interaktion.

Die α-Tocopherol-Gehalte in den Geweben wurden entsprechend einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit der General Linear Model-Prozedur (Prozedur GLM) ausgewertet, wobei als unabhängige Variable nur die Behandlung in das statistische Modell aufge-

nommen wurde. Ergab die varianzanalytische Auswertung signifikante Effekte ($p < 0,05$) wurden diese anschliessend über einen Vergleich der Gruppenmittelwerte mit dem Least Significance Difference Test statistisch überprüft.

3. Ergebnisse

In den ersten 10 Tagen des Versuches trat bei allen Behandlungsgruppen leichter Durchfall auf. Die Häufigkeit und Stärke von Durchfall unterschied sich zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen jedoch nicht. Im gesamten Versuchszeitraum wurde ein Tier (0,0 % Holundertrester) aufgrund eines Abszesses am Vorderbein und ein Tier (1,0 % Holundertrester) aufgrund starken Durchfalls mit Antibiotika versorgt. In Tabelle 3 sind die Futteraufnahme, die täglichen Zunahmen, der Futteraufwand und die Lebendgewichtsentwicklung über den Versuchszeitraum dargestellt. Die Futteraufnahme der Versuchsgruppen mit Holundertrester über den gesamten Zeitraum unterschied sich nicht signifikant gegenüber der Kontrollgruppe ohne Holunder. Betrachtet man jedoch die wöchentliche Entwicklung der Futteraufnahme, so ist festzustellen, dass in der 1. Versuchswoche ein deutlicher Trend zu einer erhöhten Futteraufnahme zu Gunsten der Tiere auftrat, die Holundertrester erhielten. Im weiteren Verlauf ist dieser Unterschied weniger ausgeprägt. Es bleibt aber festzuhalten, dass die Futteraufnahme in jeder Woche bei den mit Holundertrester supplementierten Versuchsgruppen zumindest numerisch (30-70g) höher als bei der Kontrollgruppe waren. Die täglichen Zunahmen wurden im Versuch nicht signifikant durch den Zusatz von Holundertrester beeinflusst, allerdings weisen auch hier die mit Holundertrester gefütterten Tiere numerisch höhere tägliche Zunahmen im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Der Futteraufwand je kg Lebendzuwachs war durch den Zusatz von Holundertrester nicht beeinflusst. Insgesamt ergibt sich durch die tendenziell erhöhte Futteraufnahme bei Holundertrester-Fütterung und der damit einhergehenden numerisch höheren täglichen Zunahmen ein deutlicher Einfluss auf das Lebendgewicht gegen Ende des Versuches. So hatten die mit 0,4 % Holundertrester supplementierten Tiere ein um 1 kg höheres Endgewicht ($p < 0,05$) im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Tabelle 3: Einfluss von Holundertrester auf die Wachstumsleistung beim Absetzferkel.

	<u>Holundertrester</u>			SEM	p
	0 %	0,4 %	1 %		

Futtermaufnahme (g/d)

1. Woche	256 ^a	328 ^b	329 ^b	27	0,1014
2. Woche	553	592	618	27	0,2380
3. Woche	866	927	890	27	0,2796
4. Woche	1175	1227	1244	27	0,1818
1. – 4. Woche	768	833	815	29	0,3234

Tägliche Zunahme (g)

1. Woche	106	174	160	31	0,2637
2. Woche	347	350	337	31	0,9462
3. Woche	479	510	497	31	0,7642
4. Woche	604	631	636	31	0,7374
1. – 4. Woche	384	416	407	16	0,3369

Futterm Aufwand (kg/kg)

1. Woche	2,01	2,07	2,30	0,19	0,5342
2. Woche	1,61	1,70	1,89	0,19	0,5709
3. Woche	1,81	1,83	1,82	0,19	0,9976
4. Woche	1,96	1,96	1,96	0,19	0,9998
1. – 4. Woche	1,86	1,85	1,89	0,05	0,8140

Lebendgewicht (kg)

Tag 0	7,33	7,57	7,55	0,35	0,8694
Tag 7	8,08	8,78	8,67	0,35	0,3141
Tag 14	10,51	11,24	11,03	0,35	0,3234
Tag 21	13,86 ^a	14,81 ^b	14,51 ^{ab}	0,35	0,1544
Tag 28	18,09 ^a	19,23 ^b	18,96 ^{ab}	0,35	0,0631

In Tabelle 4 sind die Konzentrationen der Thiobarbitursäurereaktiven Substanzen (TBARS) sowie von 8-*iso*-Prostaglandin F_{2α} zu Beginn, Halbzeit und Ende des Versuches dargestellt. Die Konzentration an TBARS im Blutplasma nahm in allen Versuchsgruppen über den Versuchszeitraum deutlich ab. Ein Einfluss von Holunderextrakt auf die TBARS ließ sich nicht nachweisen.

Tabelle 4: Einfluss von Holundertrester auf Markersubstanzen des antioxidativen Status und Vitamin E-Konzentrationen im Blut und verschiedenen Geweben.

	Holundertrester			SEM	p
	0,0 %	0,4 %	1,0 %		
TBARS ($\mu\text{mol MDAE/l}$)¹					
Tag 0	0,30	0,34	0,30	0,03	0,5195
Tag 14	0,28	0,30	0,30	0,03	0,7790
Tag 28	0,18	0,17	0,17	0,03	0,9726
8-iso-Prostaglandin F₂α (pg/ml)					
Tag 0	80,6	96,1	85,6	16,7	0,7996
Tag 14	203,7	209,2	227,9	16,7	0,5669
Tag 28	71,0	100,0	88,3	16,7	0,4740
Vitamin E					
Blutplasma ($\mu\text{g/ml}$)					
α - Tocopherol, Tag 0	1,54 ^a	1,19 ^b	1,27 ^b	0,10	0,0384
α - Tocopherol, Tag 14	0,38	0,36	0,27	0,10	0,6958
α - Tocopherol, Tag 28	0,57	0,59	0,44	0,10	0,4765
Leber					
α - Tocopherol (frisch, $\mu\text{g/g}$)	8,78	9,29	6,53	1,03	0,1525
α - Tocopherol (trocken, $\mu\text{g/g}$)	34,84	37,13	25,90	4,14	0,1525
Muskel (<i>M. longissimus dorsi</i>)					
α - Tocopherol (frisch, $\mu\text{g/g}$)	3,76	2,86	3,04	0,66	0,5975
α - Tocopherol (trocken, $\mu\text{g/g}$)	14,14	12,23	13,26	3,07	0,5022
Rückenspeck					
α - Tocopherol (frisch, $\mu\text{g/g}$)	6,84	6,01	6,04	0,66	0,6100
α - Tocopherol (trocken, $\mu\text{g/g}$)	17,06	13,62	13,93	1,71	0,3132

¹ MDAE: Malondialdehyde Äquivalente

Für die 8-iso-Prostaglandin F₂ α -Konzentrationen im Blutplasma ließ sich ein vorübergehender Anstieg in den ersten zwei Wochen des Versuches feststellen. Wobei jedoch zwischen den verschiedenen Behandlungen kein Unterschied bestand. Die α -Tocopherol-Konzentration im Plasma waren zu Beginn des Versuches in der Kontrollgruppe signifikant höher als in den beiden mit Holundertrester supplementierten Gruppen. In den ersten beiden Untersuchungswochen nahmen die Konzentrationen

an α -Tocopherol vorübergehend ab und stiegen zum Ende des Versuches wieder leicht an. Die Supplementierung von Holundertrester hatte keinen Einfluss auf die α -Tocopherol-Gehalte im Blutplasma. Die höheren Gehalte an Vitamin E im Blutplasma zu Beginn des Versuches bei allen Versuchsgruppen dürfte vor allem darauf zurückzuführen sein, dass die Tiere schon während der Säugezeit ein Beifutter erhielten, welches üblicherweise höhere Gehalte an Vitamin E aufweist als die Versuchsrationen. Die in den Geweben gemessenen Gehalte an Vitamin E reagieren recht unterschiedlich. Während die Gehalte im Muskel und Rückenspeck nicht durch eine Holundertrester-Zulage beeinflusst wurden, waren die Gehalte in der Leber insbesondere bei Zulage von 1% Holundertrester tendenziell reduziert ($p = 0,15$). Insgesamt weisen die Ergebnisse zum oxidativen Status darauf hin, dass die in Holundertrester enthaltenen Anthocyane keinen Vitamin E-sparenden Effekt aufweisen. Bei höherer Dosierung von Holundertrester dürfte möglicherweise sogar mit einer gegenteiligen Reaktion zu rechnen sein, da Holundertrester relativ hohe Fettgehalte mit hohen Anteilen mehrfach ungesättigter Fettsäuren aufweist.

4. Schlussfolgerung

Zusammenfassend weisen die Ergebnisse darauf hin, dass die gewählten Dosierungen des Holundertresters in der Ration sich tendenziell positiv auf die Gewichtsentwicklung beim Absetzferkel auswirken, was vor allem auf einer tendenziell höheren Futteraufnahme beruht, die ihrerseits möglicherweise auf einer höheren Schmackhaftigkeit des Futters zurück zu führen ist. Dies müsste jedoch in einem Futterwahlversuch getestet werden. Die im Holundertrester enthaltenen *in vitro* antioxidativ wirksamen Anthocyane scheinen insgesamt keinen Vitamin E-sparenden Effekt zu haben. Hierfür dürfte zum einen deren relativ geringe Bioverfügbarkeit verantwortlich sein, zum anderen enthält Holundertrester höhere Anteile an ungesättigten Fettsäuren, die eher zu einer Erhöhung des Vitamin E-Bedarfes führen.

5. Literatur

Gesellschaft für Ernährungsphysiologie, (2006): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Schweinen. DLG Verlag, Frankfurt am Main

Naumann C, Bassler R, Seibold R, Barth C, (1997). Die chemische Untersuchung von Futtermitteln, VDLUFA (Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten) Verlag, Darmstadt, Germany.

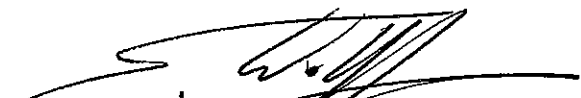
Podda M, Weber C, Traber MG, Packer L (1996). Simultaneous determination of tissue tocopherols, tocotrienols, ubiquinol and ubiquinone. J Lipid Res 37: 893-901

Van Soest PJ; Robertson JB; Lewis BA (1991). Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. J. Dairy Sci. 74, 3583-3597

Yagi K (1998). Simple assay for the level of total lipid peroxides in serum or plasma. Meth Mol Biol 108: 101-106



Dr. sc. agr. Ralf Blank



Prof. Dr. med. vet. Siegfried Wolfram