



Aus dem Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Betreuer: Prof. Dr. Josef Pallauf

Vergleich der Bioverfügbarkeit verschiedener Zinkverbindungen beim Absetzferkel

Inaugural-Dissertation
Zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. agr.)
am Fachbereich Agrarwissenschaften,
Ökotrophologie und Umweltmanagement
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
M.Sc. agr. Felicitas Siebert
aus Selm

Gießen 2011

Dissertation am Fachbereich Agrarwissenschaften, Ökotoxikologie
und Umweltmanagement der Justus-Liebig-Universität Gießen

-Dekanin: Prof. Dr. Ingrid-Ute Leonhäuser-

Tag der mündlichen Prüfung: 12.12.2011

Prüfungskommission:

Vorsitzender: Prof. Dr. U. Wenzel

1. Gutachter: Prof. Dr. J. Pallauf

2. Gutachter: Prof. Dr. G. Erhardt

Prüfer: Prof. Dr. H. Seufert

Prüfer: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Opitz von Boberfeld

Veröffentlichungen im Zusammenhang mit dieser Arbeit:

- 1 SIEBERT, F., E. MOST, J. PALLAUF (2010): Effects of three organic zinc sources in comparison to zinc sulphate on production and physiological parameters in weaned piglets. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology **19**, 32.
- 2 SIEBERT, F., J. PALLAUF (2010): Effects of different zinc sources in weaned piglets. Posterpräsentation 3rd GGL Conference on Life Sciences, Gießen.
- 3 SIEBERT, F., G. LÜHKEN, J. PALLAUF, G. ERHARDT: Mutation in Zip4 zinc transporter influences apparent zinc absorption of piglets during a feeding trial, in Vorbereitung

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	IV
TABELLENVERZEICHNIS	V
ANHANGSTABELLENVERZEICHNIS	VIII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	IX
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURTEIL	2
2.1 Die physiologischen und biochemischen Funktionen des Zinks.....	2
2.2 Regulation der Zinkhomöostase	4
2.2.1 Verschiedene Formen der Zinktransporter.....	4
2.2.2 Zinkabsorption	6
2.2.3 Zinktransport und Aufnahme in Zielgewebe.....	9
2.2.4 Zinkexkretion.....	10
2.3 Versorgungsempfehlungen für Zn bei Ferkeln	13
2.4 Methoden zur Überprüfung der Zinkversorgung	16
2.4.1 Zinkgehalt im Plasma/Serum	16
2.4.2 Zinkgehalt im Haar	17
2.4.3 Zink im Knochen	18
2.4.4 Zink im Urin.....	18
2.4.5 Wachstum	18
2.4.6 Aktivität Zink-abhängiger Enzyme.....	19
2.4.7 Metallothionein.....	20
2.4.8 Freie Zinkbindungskapazität im Plasma.....	21
2.5 Nutritive Einflüsse auf die Bioverfügbarkeit des Zinks.....	22
2.5.1 Komplexbildner	22
2.5.2 Phytinsäure	25
2.5.3 Metall-Ionen	26
2.6 Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Zink beim Schwein.....	28
3 EXPERIMENTELLER TEIL	32
3.1 Fragestellung	32
3.2 Versuchsaufbau.....	34
3.3 Versuchsdesign.....	34
3.4 Versuchstiere.....	35

3.5	Haltung der Versuchstiere	36
3.6	Zusammensetzung der Diäten.....	37
3.6.1	Zinkvormischungen	38
3.6.2	Mineralstoff-, Aminosäuren- und Vitaminvormischungen	39
3.7	Probennahme.....	41
3.7.1	Wägung.....	41
3.7.2	Blut	41
3.7.3	Futter.....	41
3.7.4	Stoffwechselferioden	42
3.7.5	Schlachtung und Organentnahme.....	42
3.8	Analysenmethoden.....	44
3.8.1	Weender Analyse	44
3.8.2	Bestimmung des Phytinsäuregehaltes	45
3.8.3	Mineralstoffanalytik.....	46
3.8.4	Bestimmung der Plasma-Zinkkonzentration und der freien Zinkbindungskapazität.....	49
3.8.5	Aktivität der alkalischen Phosphatase	49
3.8.6	Messung der differentiellen Genexpression des Metallothioneins mittels RT-PCR.....	50
3.9	Statistische Auswertungen.....	55
4	ERGEBNISSE.....	56
4.1	Analyse der Versuchsdäten.....	56
4.1.1	Zinkgehalt der Versuchsdäten.....	56
4.1.2	Weitere Inhaltsstoffe der Versuchsdäten.....	56
4.2	Produktionsparameter.....	58
4.2.1	Futtermangabe	58
4.2.2	Lebendmasseentwicklung	59
4.2.3	Futterverwertung	61
4.3	Hämoglobingehalt und Hämatokritwert.....	63
4.4	Zink- Eisen- und Kupferbilanzen	65
4.4.1	Zinkaufnahme	65
4.4.2	Zinkexkretion	66
4.4.3	Zinkretention	67
4.4.4	Eisen- und Kupferaufnahme.....	69
4.4.5	Eisen- und Kupferexkretion	70
4.4.6	Eisen- und Kupferretention.....	72
4.5	Zinkstatus.....	74
4.5.1	Zinkgehalt im Plasma	74
4.5.2	Freie Zinkbindungskapazität im Plasma.....	75
4.5.3	Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma	76
4.5.4	Ausgewählte Spurenelementgehalte in Leber, Knochen und Borsten ...	78

4.5.5	Ausgewählte Spurenelementgehalte in den verschiedenen Dünndarmabschnitten	80
4.5.6	Expression der Metallothionein mRNA.....	83
5	DISKUSSION.....	85
5.1	Versuchsaufbau und Rationsgestaltung	85
5.2	Produktionsparameter	89
5.3	Hämoglobin und Hämatokrit.....	92
5.4	Zink-, Eisen- und Kupferbilanz	93
5.5	Zinkstatusparameter	101
5.5.1	Zinkkonzentration im Plasma	101
5.5.2	Freie Zinkbindungskapazität im Plasma.....	103
5.5.3	Alkalische Phosphatase	104
5.5.4	Spurenelementkonzentrationen in den untersuchten Organen	105
5.5.5	Expression der Metallothionein mRNA.....	109
6	SCHLUSSFOLGERUNG	110
7	ZUSAMMENFASSUNG.....	112
8	SUMMARY.....	115
	LITERATURVERZEICHNIS	117
	ANHANG.....	128

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme.....	90
Abbildung 2:	Durchschnittliche tägliche Zunahmen der Ferkel im Versuchsverlauf.....	90
Abbildung 3:	Gewichtsentwicklung der Versuchstiere im Versuchsverlauf.....	91
Abbildung 4:	Zinkaufnahme, Retention und Exkretion über Urin und Faeces in der ersten Stoffwechselperiode.....	95
Abbildung 5:	Zinkaufnahme, Retention und Exkretion über Urin und Faeces in der zweiten Stoffwechselperiode	95
Abbildung 6:	Plasma-Zinkkonzentration der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme	101
Abbildung 7:	Freie Zinkbindungskapazität der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme	103
Abbildung 8:	Zinkkonzentration im Gewebe der verschiedenen Dünndarmabschnitte	107
Abbildung 9:	Kupferkonzentration im Gewebe der verschiedenen Dünndarmabschnitte	108
Abbildung 10:	Eisenkonzentration im Gewebe der verschiedenen Dünndarmabschnitte	108

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Schematischer Versuchsablauf	35
Tabelle 2: Zusammensetzung der Versuchsdiaät	37
Tabelle 3: Zusammensetzung der Zinkvormischungen	38
Tabelle 4: Zusammensetzung der Mengenelementvormischung unter Berücksichtigung der nativen Gehalte in den Hauptkomponenten der Diät	39
Tabelle 5: Zusammensetzung der Spurenelementvormischung	40
Tabelle 6: Zusammensetzung der Vitaminvormischung	40
Tabelle 7: Zusammensetzung der Aminosäurevormischung unter Berücksichtigung der nativen Gehalte der Hauptkomponenten der Diät	40
Tabelle 8: Technische Parameter der Messung am AAS	47
Tabelle 9: Eichkurven zur Messung am Atomabsorptionsspektrometer	48
Tabelle 10: Verwendete Primer und Annealingtemperaturen sowie die Amplifikatlänge	53
Tabelle 11: Mittelwerte \pm Standardabweichungen der Zinkgehalte in den Versuchsdiaäten (mg/kg FM)	56
Tabelle 12: Mittlere Nährstoff- und Mineralstoffgehalte der Versuchsdiaäten	56
Tabelle 13: Deskriptive Statistik zur durchschnittlichen täglichen Futteraufnahme	58
Tabelle 14: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der durchschnittlichen täglichen Futteraufnahme der Ferkel im Versuchsverlauf	59
Tabelle 15: Deskriptive Statistik für die Lebendmasseentwicklung der Versuchstiere	59
Tabelle 16: Deskriptive Statistik für die durchschnittlichen täglichen Zunahmen der Versuchstiere	60
Tabelle 17: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die Lebendmasse der Versuchstiere während der 28-tägigen Versuchsperiode	60
Tabelle 18: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die täglichen Zunahmen der Versuchstiere in den einzelnen Fütterungsgruppen ..	61
Tabelle 19: Deskriptive Statistik der Futterverwertung	62
Tabelle 20: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die Futterverwertung (kg Futter/ kg Zunahme) in den vier Versuchsgruppen	62
Tabelle 21: Deskriptive Statistik des Hämoglobingehaltes und des Hämatokritwertes	63
Tabelle 22: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für Hämoglobinkonzentration (g/dL) und Hämatokritwert (%) der Versuchstiere in den vier Versuchsgruppen	64

Tabelle 23: Deskriptive Statistik für die Daten der Zinkaufnahme	65
Tabelle 24: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkaufnahme (mg) während der zwei je sieben Tage dauernden Sammelperioden für die vier Versuchsgruppen	65
Tabelle 25: Deskriptive Statistik für die Daten der Zinkausscheidung über Kot und Urin in den beiden Sammelperioden.....	66
Tabelle 26: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkausscheidung (mg) über Faeces und Urin während der zwei Sammelperioden für die vier Fütterungsgruppen.....	67
Tabelle 27: Deskriptive Statistik für die Daten der Zinkretention in den beiden Sammelperioden.....	67
Tabelle 28: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkretention während der zwei Stoffwechselperioden für die vier Fütterungsgruppen	68
Tabelle 29: Deskriptive Statistik der Daten zur Eisen- und Kupferaufnahme während den beiden Stoffwechselperioden	69
Tabelle 30: Randmittel (LS-M) sowie Standardfehler der Eisen- und Kupferaufnahme während der zwei Sammelperioden für die verschiedenen Fütterungsgruppen	69
Tabelle 31: Deskriptive Statistik der Eisen- und Kupferexkretion während der beiden Sammelperioden.....	70
Tabelle 32: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die Eisen- und Kupferexkretion über Faeces und Urin während der zwei Sammelperioden.....	71
Tabelle 33: Deskriptive Statistik der Eisenretention in mg und in % der aufgenommenen Menge in den beiden Sammelperioden.....	72
Tabelle 34: Deskriptive Statistik der Kupferretention in mg und in % der aufgenommenen Menge in den beiden Sammelperioden.....	72
Tabelle 35: Randmittel (LS-M) und Standardfehler der retinierten Eisenmenge (absolut und als % der Aufnahme) in den zwei Sammelperioden.....	73
Tabelle 36: Randmittel (LS-M) und Standardfehler der retinierten Kupfermenge (absolut und als % der Aufnahme)in den zwei Sammelperioden.....	73
Tabelle 37: Deskriptive Statistik der Plasma-Zinkkonzentration	74
Tabelle 38: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkkonzentration im Plasma der Versuchstiere in den vier Versuchsgruppen.....	75
Tabelle 39: Deskriptive Statistik der freien Zinkbindungskapazität.....	75
Tabelle 40: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die freie Zinkbindungskapazität im Plasma der Versuchstiere der vier Fütterungsgruppen	76
Tabelle 41: Deskriptive Statistik für die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma.....	76

Tabelle 42: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Plasma zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahmen	77
Tabelle 43: Deskriptive Statistik der Zn-, Fe- und Cu-Gehalte in Leber, Knochen und Borste zu Versuchsende	78
Tabelle 44: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zink-, Eisen- und Kupferkonzentrationen von Leber, Knochen und Borste zu Versuchsende.....	79
Tabelle 45: Deskriptive Statistik für die Zinkkonzentration in Duodenum, Jejunum und Ileum	80
Tabelle 46: Einfluss der Zwischensubjektfaktoren auf die Zn-, Fe- und Cu-Gehalte im Dünndarmgewebe	81
Tabelle 47: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkkonzentrationen im Gewebe von Duodenum, Jejunum und Ileum.....	82
Tabelle 48: Deskriptive Statistik für die relative Metallothionein-mRNA Expression in verschiedenen Organen.....	83
Tabelle 49: Einfluss der Zwischensubjektfaktoren auf die mRNA Konzentrationen in Duodenum, Jejunum, Ileum und Leber	83
Tabelle 50: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der relativen Expression der MT-mRNA in Leber, Duodenum, Jejunum und Ileum.....	84
Tabelle 51: PA-, Zn- und Ca Gehalte der Diät sowie deren Massen- und molares Verhältnis	87

Anhangstabellenverzeichnis

Anhangstabelle 1: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme der Versuchstiere	128
Anhangstabelle 2: Durchschnittliche tägliche Zunahmen der Versuchstiere	129
Anhangstabelle 3: Lebendmasseentwicklung der Versuchstiere im Versuchsverlauf	130
Anhangstabelle 4: Durchschnittliche Futterverwertung der Versuchstiere.....	131
Anhangstabelle 5: Hämoglobinkonzentration und Hämatokritwert der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme.....	132
Anhangstabelle 6: Zink-, Eisen und Kupferaufnahmen der Versuchstiere während der zwei Stoffwechselperioden.....	133
Anhangstabelle 7: Ausscheidung an Faeces (g TM) sowie Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration in den Faeces in den beiden Stoffwechselperioden.....	134
Anhangstabelle 8: Ausscheidung an Urin (L) sowie Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration im Urin in den beiden Stoffwechselperioden.....	135
Anhangstabelle 9: Plasma-Zinkkonzentration, freie Zinkbindungskapazität und Aktivität der alkalischen Phosphatase der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme	136
Anhangstabelle 10: Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration in Leber, Knochen und Borsten der Versuchstiere	137
Anhangstabelle 11: Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration im Gewebe von Duodenum, Jejunum und Ileum	138
Anhangstabelle 12: Relative Expression der Metallothionein mRNA in Leber, Duodenum, Jejunum und Ileum	139

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektroskopie
AP	Alkalische Phosphatase
<i>aqua bidest.</i>	Bidestilliertes Wasser
AS	Aminosäure
AT	Annealing-Temperatur
ATP	Adenosintriphosphat
cDNA	Einsträngige DNA, Kopie von mRNA
d	Tag
DEPC	Diethylpyrocarbonat
DEPC-H ₂ O	Mit DEPC behandeltes aqua bidest.
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxiribonukleosidtriphosphate
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EP	Eichpunkt
Ex	Extinktion
FM	Futtermittel
GfE	Gesellschaft für Ernährungsphysiologie
Hb	Hämoglobin
Hk	Hämatokrit
HPLC	High performance liquid chromatography
ICP-AES	Inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy
LM	Lebendmasse
M	Mittelwert
MRE	Metal response element
mRNA	Messenger RNA
MT	Metallothionein
MTF	Metal transcription factor
NIST	National Institute of Standards and Technology
NRC	National Research Council

OD	Optische Dichte
PA	Phytinsäure (Phytic acid)
PCR	Polymerase chain reaction
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse transcription PCR
SD	Standard Deviation (Standardabweichung)
SE	Standard Error (Standardfehler)
SLC	Solute linked carrier
TAE-Puffer	Tris-Acetat-EDTA-Puffer
TM	Trockenmasse
U	Umdrehung
VM	Vormischung
XA	Rohasche
XF	Rohfaser
XL	Rohfett
XP	Rohprotein
ZBK	Zinkbindungskapazität
ZIP	Zrt-, irt like proteins
Zn	Zink
ZnAc	Zinkacetat-Dihydrat
ZnGly	Glycin-Zinkchelat-Hydrat
ZnMet	Methionin-Hydroxy-Analog Zinkchelat
ZnPI	Zinkgehalt im Plasma
ZnT	Zinktransporter Familie SLC30

1 Einleitung

Zink ist ein essentielles Spurenelement und ein wichtiger Bestandteil zahlreicher Stoffwechselwege. Beim Menschen sind etwa 2800 Proteine bekannt, die Zink enthalten. Dies entspricht etwa einem Anteil von 10% der codierenden DNA, der ausschließlich zinkassoziierte Proteine codiert (ANDREINI et al. 2006). Ein großer Teil dieser Proteine ist in der Regulation der Genexpression involviert. Darüber hinaus hat Zink wichtige Funktionen als katalytisches Zentrum zahlreicher Enzyme sowie als strukturgebender Bestandteil verschiedener Proteininformationen, wie zum Beispiel im bekannten „Zinkfinger“ (COUSINS 1996).

In der Tierernährung ist Zink von großer Bedeutung. Da Pflanzen, im Besonderen Getreide und andere Körnerfrüchte, häufig hohe Konzentrationen an Phytinsäure, einem starken Komplexbildner, enthalten, ist Zink pflanzlichen Ursprungs für Monogaster zumeist schlecht verfügbar. Daher muss Zink in den meisten Rationen für Nutztiere ergänzt werden (MCDOWELL 2003). Zudem wird Zink in der Ferkelaufzucht häufig in hohen Konzentrationen von bis zu 2000 mg/kg Futtermittel als Wachstumsförderer eingesetzt. Gelangen aber über die tierischen Exkremente zu hohe Konzentrationen von Zink auf die Felder, kann dies zu Umweltproblemen führen (JONDREVILLE et al. 2003). Daher ist seit dem Jahr 2004 der Zinkgehalt in Nutzierrationen durch eine EU-Richtlinie auf maximal 150 mg Zink /kg Futter begrenzt (Europäisches Parlament und Rat 2003). Ferkel sind die Tiere unter den landwirtschaftlichen Nutztieren, die im Bezug auf die noch geringe Futteraufnahme mit 100 mg Zink/kg Futter (NRC 1998; GFE 2006) den höchsten Bedarf an Zink haben (MCDOWELL 2003). Verglichen mit den futtermittelrechtlichen Grenzwerten bleibt hier nicht viel Raum für Sicherheitszuschläge. Daher ist eine Zinkquelle mit guter Bioverfügbarkeit von höchster Bedeutung.

Die meisten Studien, die die Bioverfügbarkeit verschiedener Zinkverbindungen untersucht haben, setzten Zinkkonzentrationen im pharmakologischen Bereich ein. Da dies in der EU nun verboten ist, und da darüber hinaus die Annahme besteht, dass sich Unterschiede in der Bioverfügbarkeit von Zink besser im Bereich einer geringen Zinkversorgung nachweisen lassen (SCHLEGEL 2006), war das Ziel der vorliegenden Studie, die Bioverfügbarkeit drei verschiedener Zinkverbindungen im Vergleich zum häufig eingesetzten Zinksulfat bei Absetzferkeln zu untersuchen.

2 Literaturteil

2.1 *Die physiologischen und biochemischen Funktionen des Zinks*

Schon Ende des 19. Jahrhunderts wurde die Essentialität von Zink am Beispiel des *Aspergillus niger* nachgewiesen. Anfang des 20. Jahrhunderts zeigte sich, dass Zink essentiell für das Wachstum höherer Pflanzen (SOMMER und LIPMAN 1926) und Ratten (TODD et al. 1934) war. In den 50er Jahren berichteten TUCKER und SALMON (1955) über Parakeratose als Zinkmangelkrankheit beim Schwein.

Zink ist ein kleines, zweiwertig geladenes Ion (0,065nm) und eine starke Lewissäure, aber keine reaktive Redoxspezies. Seine Eigenschaften als Lewissäure (Elektronenakzeptor) bestimmen einen großen Teil der biochemischen Funktionen des Zinks. Es bindet stark an Thiolat- und Aminogruppen und ermöglicht einen schnellen Ligandenaustausch, der wichtig für die katalytische Funktion in Zink-Metalloenzymen ist (COUSINS 1996).

Die wichtigste Rolle des Zinks liegt in seiner Verbindung mit zahlreichen Enzymen oder Proteinen, denen es entweder als strukturgebender Bestandteil oder als Aktivator dient. Die bekanntesten Enzyme sind Carboanhydrase, Carboxypeptidase, alkalische Phosphatase, Alkoholdehydrogenase, zytosolische Superoxidismutase sowie RNA-Polymerasen. Durch seine Präsenz in zahlreichen Enzymsystemen ist das Zink-Ion in viele verschiedene Abläufe involviert; darunter der Nukleinsäurestoffwechsel, die Proteinsynthese und der Kohlenhydratstoffwechsel. Bei Zinkmangel ist die DNA-, RNA- sowie die Proteinsynthese vermindert und als Folge hiervon die Zellteilung sowie das Zellwachstum eingeschränkt (MCDOWELL 2003).

Darüber hinaus hat Zink wichtige Aufgaben in Hormonkreisläufen. Es beeinflusst oder ermöglicht die Produktion, Speicherung und Sekretion verschiedener Hormone. Ebenso beeinflusst die Zinkversorgung die Effektivität auf der Rezeptorseite und die Reaktion der Zielorgane. Zum Beispiel binden die Sexualsterioide an Transkriptionsfaktoren, welche Zink enthalten. Die Spermatogenese sowie die

Entwicklung primärer und sekundärer Geschlechtsmerkmale bei männlichen Organismen sowie alle Phasen des Reproduktionsprozesses bei weiblichen Organismen, angefangen beim Östrus über die Gravidität bis zur Laktation, können durch einen Zinkmangel beeinträchtigt sein (McDOWELL 2003). Auch bei der Insulinsynthese, Speicherung und Sekretion spielt Zink eine wichtige Rolle. Darüber hinaus verleiht es den Insulin-Hexameren Stabilität. Bei einem Zinkdefizit ist die Fähigkeit der β -Zellen zur Insulinproduktion und –sekretion vermindert. Daher ist die Zinkversorgung auch ein wichtiger Faktor bei der Entstehung von Typ 1 und 2 Diabetes (CHAUSMER 1998).

Aus biochemischer Sicht lassen sich die Funktionen des Zink-Ions in drei Kategorien einteilen, in katalytische, strukturelle und regulative Funktionen. Katalytische Funktionen erfüllt Zink als Bestandteil von über 200 verschiedenen Metalloenzymen. Zink-Metalloenzyme kommen in allen Enzymklassen vor (COUSINS 1996). Als wichtigste Vertreter seien hier die RNA-Polymerase, die alkalische Phosphatase und die Carboanhydrase genannt. Die bekannteste und wichtigste strukturelle Funktion hat Zink durch die so genannten „Zink-Finger“-Formationen in Proteinen. Der „Zink-Finger“ entsteht durch die Bindung eines Zink-Ions an vier Cystein- oder Histidinreste. Neben der Formation von DNA-bindenden Domänen in Transkriptionsfaktoren haben „Zink-Finger“ auch in zahlreichen anderen Proteinen, wie zum Beispiel den Rezeptoren für Retinolsäure und Calcitriol, sowie bei der Proteinkinase, strukturelle Funktion (DIBLEY 2001).

Die dritte grundlegende Funktion von Zink besteht in der Regulation der Expression bestimmter Gene. Besonders gut untersucht ist hier die Expression des Metallothioneins. Hier läuft die Regulation über einen „metal-binding transcription factor“ (MTF) und ein „metal response element“ (MRE) in der Promotorregion ab. Der MTF benötigt Zink aus dem Zytosol oder dem Nukleus um mit dem MRE zu interagieren und die Transkription zu stimulieren (DIBLEY 2001).

Viele der bekannten physiologischen Effekte z. B. bei Immunfunktionen, Zellapoptosis, Zellproliferation und –differenzierung, lassen sich diesen Kategorien allerdings nicht eindeutig zuordnen, da in den meisten Fällen zahlreiche Mechanismen involviert sind (COUSINS 1996).

2.2 Regulation der Zinkhomöostase

Zink als essentielles Spurenelement stellt einen wichtigen Baustein im Organismus dar. Rund 10% der menschlichen DNA codiert zinkhaltige Proteine (ANDREINI et al. 2006). Auf Grund dieser weiten Verbreitung im Körper spielen die Zinkhomöostase und der Zinktransport innerhalb des Organismus eine entscheidende Rolle.

Der Zinktransport im gesamten Organismus wird über zwei verschiedenen Arten von Zinktransportern ermöglicht, deshalb werden im Folgenden zunächst die verschiedenen Transporter vorgestellt, bevor genauer auf die Mechanismen bei Absorption, Transport und Exkretion eingegangen wird.

2.2.1 Verschiedene Formen der Zinktransporter

Da Zink als stark geladenes Ion im Organismus vorliegt, kann es biologische Membranen nicht, oder nur in sehr geringem Umfang, durch passive Diffusion durchqueren. Deshalb wird die intestinale Absorption, der Transport und die Exkretion im Wesentlichen über zwei Transporterfamilien ermöglicht (DEVIRGILIIS et al. 2007).

Die Transporter der ZnT-Familie transportieren Zn aus dem Zytoplasma in bestimmte Zellkompartimente oder aus der Zelle hinaus in den extrazellulären Raum. Möglicherweise sind sie durch eine Fähigkeit zur Protein-Protein-Interaktion auch in der Lage, Zink direkt zur Synthese zinkhaltiger Proteine bereit zu stellen (COUSINS et al. 2006). Sie werden durch Gene der Slc (solute linked carrier) 30A-Gruppe codiert, von denen beim Säuger neun Varianten bekannt sind (PALMITER und HUANG 2004). Die Expression der einzelnen Varianten ist stark vom jeweiligen Gewebe abhängig und wird darüber hinaus vom Zinkversorgungsstatus sowie von verschiedenen Hormonen und Zytokinen reguliert (COUSINS et al. 2006).

Der Transportmechanismus der den ZnT-Proteinen der Säuger zugrunde liegt, ist weitgehend unbekannt. Homologe Transporter in Bakterien zeigen einen Transportmechanismus basierend auf einem Kationenaustausch gegen K^+ - und H^+ -Ionen (GUFFANTI et al. 2002), während bei Hefen ein Transportmechanismus abhängig von ATP sowie vom Vorliegen eines Protonengradienten beobachtet wurde (MACDIARMID et al. 2002).

Strukturell weisen die Transporter der ZnT-Familie viele Homologien auf, auch wenn sie zum Teil in der Größe variieren (COUSINS et al. 2006). Die meisten Transportermoleküle weisen sechs Transmembrandomänen auf und bilden intrazellulär einen unterschiedlich großen Bogen mit zahlreichen Histidinresten, die als Ionenbindungsstelle fungieren (PALMITER und HUANG 2004).

Die Aufgabe der zweiten Transporterfamilie, der Zip- (Zrt- and Irt-like proteins) Transporter, besteht im Zinktransport aus extrazellulären Räumen oder Zellkompartimenten in das Zytoplasma hinein (EIDE 2004). Auf Grund dieser Funktion sind die Zip-Transporter an der intestinalen Zinkabsorption entscheidend beteiligt. Beim Menschen sind 14 verschiedene Zip-Transporter bekannt, wobei bislang die Zinktransportaktivität erst für Zip1 bis Zip8 sowie Zip14 nachgewiesen wurde. Die Zip-Transporter werden wiederum in vier Untergruppen eingeteilt: Zip I, Zip II, gulfA und LZT. Die meisten bei Säugetieren nachgewiesenen Transporter incl. Zip4 bis 8, Zip10 und Zip12 bis 14 gehören zur Familie der LZT (COUSINS et al. 2006). Viele Zip-Transporter verfügen über acht Transmembrandomänen, von denen zwei genetisch hoch konservierte Domänen einen Tunnel durch die Zellmembran formen, der den Zink-Ionen die Passage der Zellmembran ermöglicht. Der konkrete Transportmechanismus ist jedoch noch unbekannt. Von einigen Transportern ist bekannt, dass sie ATP-unabhängig arbeiten. Jedoch ist der Transport von der Gegenwart von HCO_3^- -Ionen abhängig, was auf einen Symport-Mechanismus hindeutet (EIDE 2004).

Die Zip-Transporter werden durch Gene der Slc39A Familie codiert. Eine besondere Rolle spielt hier der Zip4-Transporter, der vor allem für die intestinale Zinkabsorption verantwortlich ist. Für verschiedene Spezies wurden zahlreiche Mutationen nachgewiesen, die die Fähigkeit zur Zinkaufnahme zum Teil erheblich beeinträchtigen

können und ohne entsprechende Behandlung zum Tode führen können. Zunächst wurden beim Menschen Mutationen im Zip4-Transporter als Ursache für die erblich bedingte Zinkmangelkrankheit *Acrodermatitis enteropathica* nachgewiesen (KURY et al. 2002; WANG et al. 2002). Unter den Nutztieren wird sie in der wissenschaftlichen Literatur nur beim Rind (YUZBASIYAN-GURKAN und BARTLETT 2006) und bei der Ziege (KRAMETTER-FROETSCHER et al. 2005) erwähnt und dort als erbliche Form der Parakeratose bezeichnet. Darüber hinaus ist diese Krankheit bei Hunden bekannt (WHITE et al. 2001; GRIDER et al. 2007).

2.2.2 Zinkabsorption

Zum Ort der Zinkabsorption im Gastrointestinaltrakt gibt es verschiedene Untersuchungen. In Tierversuchen mit Ratten zeigte sich, dass im Ileum etwa 60% einer infundierten Zinkmenge absorbiert werden. Die Zinkabsorption im Duodenum und Jejunum hat mit 19% bzw. 20%, bei gleicher Länge der untersuchten Darmabschnitte, einen deutlich geringeren Umfang (ANTONSON et al. 1979). Andere Untersuchungen, ebenfalls bei Ratten, kommen zu dem Schluss, dass der Hauptort der Zinkabsorption das Duodenum sei (DAVIES 1980). Diffusionsstudien beim Menschen führten zu dem Schluss, dass das Jejunum die höchste Zink-Absorptionsrate hat (LEE et al. 1989). Neben dem Dünndarm findet bei Ratten auch eine Zinkabsorption im Colon statt (NAVEH et al. 1993). Verschiedenen Faktoren wie zum Beispiel die Verdaulichkeit der Nahrung, die Passagerate sowie die Anwesenheit von Komplexbildnern können den quantitativen Umfang der Zinkabsorption in den verschiedenen Darmabschnitten beeinflussen (DIBLEY 2001). In Diffusionsstudien können diese Faktoren nicht oder nur teilweise berücksichtigt werden, was möglicherweise die unterschiedlichen Resultate erklärt.

Der Gesamtumfang der Zinkabsorption wird stark durch Spezies, Zn-Versorgungsgrad und die Zinkquelle beeinflusst. Bei Ratten kann die Absorption zwischen 33% bei Überversorgung bis nahezu 100% bei Mangelversorgung schwanken (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1978). In Gegenwart antinutritiver Komponenten kann die Absorptionsrate auch auf 15% zurückgehen (MCDOWELL 2003).

Zink als hochgeladenes hydrophiles Ion ist nicht in der Lage, in größerem Umfang die Zellmembran durch bloße Diffusion zu passieren. Die Zinkaufnahme wird daher durch spezielle Transportmechanismen ermöglicht (McMAHON und COUSINS 1998a). Die Zinkabsorption geschieht auf zwei verschiedenen Wegen. Zum einen wird Zink über einen aktiven, Transporter-abhängigen Mechanismus aufgenommen, welcher sättigbar ist (DAVIES 1980). Dieser Weg der Aufnahme ist dann am effektivsten, wenn die Zinkversorgung gering ist. Zum anderen kann Zink auch über einen nicht absättigbaren Weg aufgenommen werden, möglicherweise durch parazelluläre Diffusion. Dieser Weg könnte bei guter Zinkversorgung, z.B. durch Supplementation, eine Rolle spielen (DIBLEY 2001).

Der absättigbare Prozess der Zinkabsorption kann in drei unterschiedliche Schritte geteilt werden: die Aufnahme des Zinks vom Darmlumen in die Enterozyten, der Transport innerhalb der Enterozyten sowie den Transport vom Zink aus den Enterozyten in den Kreislauf (SWINKELS et al. 1994). Für den ersten Schritt der Absorption, die Aufnahme in die Enterozyten, spielt der Zinktransporter Zip 4 eine bedeutende Rolle (MAVERAKIS et al. 2007). Schon in früheren Studien zeigte sich, dass der absättigbare Aufnahmemechanismus bei niedriger Zinkversorgung am effektivsten ist und dass eine Herunterregulierung dieses Aufnahmeweges den primären Regulationsmechanismus gegen hohe Zinkzufuhren darstellt (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1978). Neuere Studien belegen diese Ergebnisse und zeigen darüber hinaus, dass die Expression des Zip4 im Zinkmangel stark heraufreguliert wird. Dies begründet warum der transporterabhängige Absorptionsweg besonders bei marginaler Zinkversorgung eine entscheidende Rolle spielt (WEAVER et al. 2007). Nach dem Beginn einer Zinksupplementierung nimmt die Konzentration der Transporterproteine in der Zellmembran schnell wieder ab, da die Transporterproteine internalisiert und abgebaut werden. Diese Unterschiede in der Expressionsrate sind dabei nicht auf Unterschiede in der mRNA-Konzentration zurückzuführen, sondern auf Unterschiede in der mRNA-Stabilität (WEAVER et al. 2007).

Für den intrazellulären Transport spielt das Metallothionein (MT) eine entscheidende Rolle. Die Expression des MT-Genes im Intestinum ist direkt mit der Zinkaufnahme korreliert (COUSINS und LEEAMBROSE 1992). Dadurch, dass MT Zink in den Entero-

zyten bindet, bildet es einen Puffer gegen zu hohe Zinkaufnahme in den Organismus. In einer Studie von DAVIS et al. (1998) zeigte sich dies eindrucksvoll. Nach einer oralen Zinkgabe lag der Plasma-Zinkgehalt bei Mäusen mit einer MT-Überexpression deutlich niedriger als bei der normalen Kontrollgruppe. Bei MT-Knock-out Mäusen hingegen war der Plasma-Zinkgehalt um das 2,3-fache erhöht.

Die Zinkaufnahme an der basolateralen Membran der Darmmukosa ist nicht von der Zinkzufuhr abhängig, was zu der Hypothese führt, dass die Zinkabsorption an dieser Stelle nicht reguliert wird (OESTREICHER und COUSINS 1989). Der ZnT-1-Transporter ist für einen großen Anteil des Zink-Exportes auf der basolateralen Seite der Enterozyten verantwortlich. Durch Immunofluoreszenzfärbung konnte nachgewiesen werden, dass er sehr häufig auf der basolateralen Seite der Enterozyten, die die Villi des Duodenums und des Jejunums auskleiden, zu finden ist (McMAHON und COUSINS 1998b). Im Gegensatz zu den früheren Vermutungen von OESTREICHER und COUSINS (1989) zeigt sich jedoch, dass die Expression des ZnT1-Transporters auch durch die Zinkzufuhr beeinflusst wird. So ist im Intestinum von Ratten bei einem Zinkmangel die Expression des ZnT1-Transporters deutlich vermindert (LIUZZI et al. 2001), während nach einer Zinksupplementierung der Diät die mRNA des Transporters um 50% und die Proteinmenge um 10% anstieg (McMAHON und COUSINS 1998b). Nach einer akuten oralen Dosis konnte bei beiden Untersuchungen ein vielfacher Anstieg der mRNA beobachtet werden. McMAHON und COUSINS (1998b) untersuchten zusätzlich Veränderungen auf Proteinebene, fanden aber hier keinen Unterschied, was die Beobachtungen von SWINKELS et al. (1994), die keine Regulation durch Zink auf dieser Ebene finden konnten, wiederum stützt

2.2.3 Zinktransport und Aufnahme in Zielgewebe

Nach der Abgabe der Zink-Ionen aus den Enterozyten an den extrazellulären Raum wird das Zink überwiegend mit dem Pfortaderblut zur Leber transportiert. Hierbei ist Albumin das entscheidende Transportprotein (COUSINS 1985). Etwa 70% des Plasma-Zn liegen an Albumin gebunden vor. Der überwiegende Rest, etwa 20-40% des Plasma-Zn, ist an α_2 - Macroglobulin gebunden (SCOTT und BRADWELL 1983) und ein geringer Teil (<1%) an niedermolekulare Komplexe, häufig mit Histidin und Cystein. Nur etwa 0,01% des Plasma-Zn liegt ungebunden als freies Zink-Ion vor (COUSINS 1996). Albumin hat keine starke Affinität für Zink, liegt jedoch im Plasma im Überschuss vor, so dass ein großer Teil des Zinks gebunden wird. Diese häufig als „lose“ bezeichnete Bindung spielt eine entscheidende Rolle beim Zink-Austausch zwischen dem Plasma und den Zielgeweben (COUSINS 1985).

Trotz der wichtigen Rolle beim Zn-Transport stellt die Zinkmenge im Plasma nur etwa 0,1% des Zinks im gesamten Organismus dar (COUSINS 1996). Deutlich mehr Zink, etwa 80% des Gesamt-Blut-Zn ist in den zellulären Blutbestandteilen gebunden. Der größte Anteil liegt an verschiedene Enzyme gebunden in den Erythrozyten vor. Das bedeutendste Enzym ist hier die Carboanhydrase, die > 85% des Erythrozyten-Zn enthält. Weitere 5% sind als strukturgebender Bestandteil in der Cu/Zn-Superoxidismutase gebunden (COUSINS 1985). Die Zink-Konzentration im Plasma unterliegt einer strengen homöostatischen Kontrolle und liegt bei Menschen und Tieren etwa bei 1 $\mu\text{g/ml}$. Bei bestimmten physiologischen Situationen wie z.B. Stress, Infektionen, Hunger oder Zink-Supplementation sind deutliche Abweichungen möglich (COUSINS 1996).

Erreicht das Zink im Pfortaderblut die Leber, so wird etwa 30 – 40% des Zinks von der Leber aufgenommen. Hier spielt wiederum Metallothionein als Speicherprotein eine Rolle. Die MT-Synthese wird durch ankommendes Zink stimuliert (MCDOWELL 2003).

Das im Plasma verbleibende Zink wird von verschiedenen weiteren Geweben mit unterschiedlichen Absorptionsraten aufgenommen. Die Aufnahme in die Zielgewebe wird durch verschiedene Formen der schon erwähnten Zip-Transporter ermöglicht. Der Typ der Transporter ist vom Zielorgan abhängig, und die Expressionsrate wird ebenfalls gewebeabhängig teilweise durch den Zinkversorgungsstatus und/oder Hormone oder Zytokine reguliert (LIUZZI und COUSINS 2004).

Das Vorkommen der verschiedenen Transportertypen sowie deren Funktion ist längst noch nicht vollständig geklärt. Einige Transporter wie Zip 1, 2 und 3 scheinen ubiquitär vorzukommen aber nicht essentiell lebensnotwendig zu sein. So waren Zip1, 2 und 3 Triple-Knockout-Mäuse bei adäquater Zinkversorgung nicht von Kontrolltieren zu unterscheiden, zeigten sich aber gegenüber einem Zinkmangel empfindlicher (KAMBE et al. 2008). Zip 4 dagegen wurde vor allem in Geweben, die in der Absorption oder Reabsorption von Zink wichtig sind, wie Dünndarm oder Niere, in hohen Konzentrationen gefunden (LICHTEN und COUSINS 2009). Eine gut untersuchte Besonderheit stellt der Zip14 Transporter dar. Er ist vor allem in der Plasmamembran von Hepatozyten und intestinalen Enterozyten lokalisiert und seine Expression wird durch Interleukin 6 stimuliert. Er ist damit für den typischen Abfall im Zink-Plasmaspiegel, der nach Entzündungen oder Infektionen auftritt, verantwortlich (LICHTEN und COUSINS 2009). Bei vielen weiteren Typen der Zip-Familie ist die Funktion noch nicht vollständig geklärt. Auch die Mechanismen, die die Zinkaufnahme in die Zielorgane regulieren, sind überwiegend noch unbekannt.

2.2.4 Zinkexkretion

Bei der Zinkexkretion spielen die intestinale und pankreale Exkretion sowie der Verlust von Enterozyten über Faeces die größte Rolle. Eine untergeordnete Bedeutung haben Zinkverluste über Urin, Gallensäfte sowie durch Hautabschilferungen und Haarwuchs (DIBLEY 2001).

Der Umfang der faecalen Exkretion hängt eng mit der Zinkaufnahme zusammen, während die Ausscheidung mit dem Urin weniger variiert. Lediglich in Situationen mit deutlichem Zinkmangel geht die Exkretion über den Urin zurück (BAER und KING 1984). In Mangelsituationen stellt die renale Zinkexkretion jedoch trotzdem einen entscheidenden Verlustfaktor dar (WEIGAND und KIRCHGESSNER 1978).

Die intestinale Zinkexkretion über die Enterozyten verläuft, ebenso wie die Zinkabsorption, in drei Stufen. Jedoch sind bei der Zinkexkretion andere Transporter involviert. Hier wird Zink durch den Zip5-Transporter, der an der basolateralen Seite der Enterozyten sitzt, aus dem Kreislauf in die Enterozyten transportiert. Der Zinktransporter Zip5 wird ebenso wie der Zinktransporter Zip4, der für die Zinkabsorption verantwortlich ist, durch die Zinkversorgung gesteuert aber verhält sich antagonistisch zu diesem. Bei Zinküberschuss ist der Zip5 Transporter in großer Anzahl an der basolateralen Seite von intestinalen Enterozyten sowie von exokrinen Pankreaszellen zu finden und transportiert Zink in die ausscheidenden Zellen. Während eines Zinkmangels bleibt die mRNA Menge des Zip5 unverändert, aber die Translation der mRNA in Protein ist zinkabhängig. In einer Mangelsituation verbleibt die mRNA am Polysom, während die Transporterproteine vermehrt internalisiert und abgebaut werden (WEAVER et al. 2007).

Nachdem das überschüssige Zink durch den Zip5-Transporter in die Enterozyten überführt wurde, wird es dort wiederum an Metallothionein gebunden. Die Menge an Zink, die während der Absorption und Exkretion an MT gebunden ist, macht die Verluste aus, die bei der Abschilferung von Enterozyten entstehen. Jedoch ist der Organismus auch in der Lage, Zink aktiv aus den Enterozyten heraus in das Darmlumen zu transportieren. Dies geschieht wiederum durch Transporter der ZnT-Familie. Vom ZnT5-Transporter ist bekannt, dass er unter anderem auf der apicalen Seite der Enterozyten zu finden ist, deshalb kommt ihm vermutlich eine Funktion bei der Regulation der Zn-Exkretion zu (CRAGG et al. 2002). Neuere Untersuchungen zeigen, dass er nicht nur eine Rolle bei der Zinkexkretion spielt, sondern auch an der Zinkabsorption in die Enterozyten beteiligt ist. Er funktioniert also in zwei Richtungen und nimmt damit eine Sonderstellung in der Familie der ZnT-Transporter ein (VALENTINE et al. 2007). Möglicherweise sind aber noch weitere Transporter an der intestinalen Zinkexkretion beteiligt.

Der Transporter Zip5 ist ebenfalls an der Zinkexkretion über die Pankreassäfte beteiligt, da er, wie schon erwähnt, bei Zn-Überschuss in den exokrinen Pankreaszellen stark heraufreguliert ist. Möglicherweise ist bei dem weiteren, vesikulären Transport aus den Zellen hinaus der ZnT2 beteiligt, da er in den exokrinen Pankreaszellen an der Membran von Vesikeln zu finden ist (LICHTEN und COUSINS 2009).

Über die Mechanismen, die der Exkretion von Zink über den Urin zugrunde liegen, ist bisher nicht sehr viel bekannt. Nachgewiesen wurde jedoch, dass in den Nieren die gleichen Transporter vorkommen, die auch im Intestinum für die Absorption verantwortlich sind (Zip4 und ZnT1) und in den Nieren eine Reabsorption des Zinks ermöglichen (LIUZZI und COUSINS 2004). Vom Zip4-Transporterprotein ist bekannt, dass es in Mangelsituationen in den Enterozyten heraufreguliert wird (WEAVER et al. 2007). Möglicherweise wird der Zip4-Transporter bei Zinkmangel auch in der Niere heraufreguliert, was eine höhere Reabsorptionsrate und damit eine verminderte Zinkexkretion über den Urin verursachen könnte.

2.3 Versorgungsempfehlungen für Zn bei Ferkeln

Die Versorgungsempfehlungen für Nutztiere setzen sich generell zusammen aus dem Bruttobedarf des entsprechenden Tieres und einem Sicherheitszuschlag. Der Bruttobedarf wiederum berücksichtigt den Nettobedarf, der sich aus dem Nettobedarf für Erhaltung sowie dem Nettobedarf für bestimmte Leistungen (z.B. Wachstum oder Laktation) zusammensetzt und der Effizienz, mit der der betrachtete Nährstoff vom Tier aufgenommen wird (SUTTLE 2010).

Der Zinkbedarf von Ferkeln wird von zahlreichen Faktoren seitens der Tiere, der Haltung und des Futters bestimmt. Seitens der Tiere spielt vor allem die Wachstumsrate eine Rolle. Je höher die Wachstumsrate eines Tieres ist, bzw. je mehr Protein pro aufgenommene Futtermenge angesetzt wird, desto höher ist der Zinkbedarf eines Tieres (MCDOWELL 2003). Daraus folgt, dass der Zinkbedarf bezogen auf ein Kilogramm Futter zu Beginn der Aufzucht am höchsten ist und sich mit zunehmendem Alter und abnehmender Futtermenge reduziert. Auch äußere Einflüsse beeinflussen den Zinkbedarf. Infektionen und Stress seien hier als wichtigste, den Zinkbedarf erhöhende Faktoren genannt (MCDOWELL 2003).

Darüber hinaus variiert der Zinkbedarf mit der Bezugsebene anhand der die Bedarfsdeckung definiert wird. Mögliche Maßstäbe sind hier beispielsweise das Ausbleiben von Mangelerscheinungen, die optimale Wachstumsrate oder Merkmale auf physiologischer Ebene wie maximale Enzymaktivitätsraten oder maximale Zn-Gehalte in verschiedenen Zielgeweben wie Plasma, Leber oder Knochen. Aufgrund der vielfältigen Einflussfaktoren werden im Folgenden nur die praxisüblichen Empfehlungen des NRC (1998) und der GfE (2006) und deren Herleitung erläutert.

Ein wichtiger Faktor für die Ermittlung des Zinkbedarfes einer Tierart ist die Verfügbarkeit des Zn aus den gängigen Futtermitteln. Generell ist der Zinkbedarf höher, wenn die Diät aus pflanzlichen Komponenten besteht, da Zink aus pflanzlichen Komponenten schlechter verfügbar ist als aus tierischen. Zudem verschlechtert sich die Zinkverfügbarkeit bei zunehmenden Konzentrationen an Phytinsäure und Calcium (WINDISCH und KIRCHGESSNER 1996) während sie sich durch die Zugabe von Phytase deutlich verbessert (PALLAUF et al. 1992; WINDISCH und KIRCHGESSNER 1996; WALZ und PALLAUF 2002).

WEDEKIND et al. (1994) führten einen Fütterungsversuch an Mastschweinen mit einer Basisdiät auf Grundlage von Mais und Sojaextraktionsschrot, die nativ 32 mg Zink / kg enthielt und mit 0, 5, 10, 20 und 40 mg Zink aus Zinksulfat je kg Futtermischung ergänzt wurde, durch. Sie fanden zu keiner Zeit einen Unterschied im Wachstum oder anderen Produktionsparametern. Der Zinkgehalt in Knochen und Plasma stieg jedoch bis zu einem Zinkgehalt von 47 mg/kg (Wert mit Hilfe einer nicht-linearen Regression abgeleitet) der Diät linear an, und blieb bei darüber hinaus ansteigendem Zinkgehalt auf diesem Level. Hieraus leiteten die Autoren einen Zn-Bedarf von 50 mg/kg Futter ab.

Der NRC (1998) gibt für Ferkel bis zu einem Gewicht von 10 kg 100 mg Zink und für Ferkel von 10 kg bis 20 kg 80 mg Zink je kg Futter an. Diese Empfehlungen berücksichtigen die möglichen antinutritiven Einflüsse von erhöhten Phytinsäurekonzentrationen, von Calcium sowie von anderen Elementen wie Cu, Fe, Co und Mn. In anderen Versuchen erwiesen sich jedoch sogar 80 mg Zn/kg Futter bei Ferkeln mit einem Ausgangsgewicht von 11 kg Lebendmasse, ebenfalls bei einer Mais-Sojadiät, als noch nicht optimal (HÖHLER und PALLAUF 1994).

Ausgehend von diesen Ergebnissen sowie zur Überprüfung der Grenzwerte, die 2003 vom Europäischen Rat erlassen worden sind und den Zinkgehalt auf maximal 150 mg/kg Futtermittel begrenzen (Europäisches Parlament und Rat 2003) führten REVY et al. (2006) einen weiteren auf einer Mais-Sojadiät basierenden Versuch durch. Als Versuchstiere wurden Börge mit einem Absetzalter von 26 Tagen gewählt. Die Basisdiät enthielt 33 mg Zink/kg und wurde mit 10, 25, 40, 60 und 80 mg Zn aus Zinksulfat ergänzt. Die Diät wurde insgesamt über 26 Tage gefüttert. Nur die Gruppe

mit insgesamt 43 mg Zn/kg zeigte ein eingeschränktes Wachstum, zwischen den weiteren Gruppen gab es bei den Produktionsparametern keinen Unterschied. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma, sowie die Zn-Konzentration im Plasma stiegen linear an und bildeten ein Plateau ab einem Zinkgehalt von 86 bzw. 92 mg Zn/kg Futter. Die Zinkkonzentrationen in Knochen und Leber stiegen linear zur Zinksupplementierung an, bildeten jedoch kein Plateau aus. Aus diesen Ergebnissen kommen die Autoren zu dem Schluss, dass die Ration für Ferkel unter 20 kg Körpergewicht unter Berücksichtigung eines Sicherheitszuschlages mindestens 100 – 110 mg Zink/ kg Futter enthalten sollte. Diesen Ergebnissen schließt sich die GfE an und empfiehlt für Ferkel unter 20 kg Körpergewicht eine Zinkkonzentration von 100 mg/kg Futter (GfE 2006).

Wie zu Anfang erwähnt, bestimmt vor allem der Proteinansatz je kg aufgenommenen Futters den Zn-Bedarf bezogen auf den Gehalt im Futter. Der Zuchtfortschritt in den modernen Schweinerassen beim Proteinansatzvermögen und bei der Futtermittelverwertung erklärt sicherlich teilweise diese unterschiedlichen Ergebnisse. Zugleich wird deutlich, dass auch in Zukunft davon auszugehen ist, dass weitere Steigerungen im Proteinansatzvermögen eine Erhöhung des Zinkbedarfes bei Ferkeln mit sich bringen werden.

2.4 Methoden zur Überprüfung der Zinkversorgung

Zahlreiche Parameter werden zur Überprüfung der Zinkversorgung eingesetzt. Jedoch haben sie den Nachteil gemein, dass sie im Bereich eines marginalen Mangels nicht sehr aussagekräftig sind, da in diesem Bereich körpereigene Regulationsmechanismen die meisten Parameter konstant halten (WOOD 2000; HAMBIDGE 2003).

2.4.1 Zinkgehalt im Plasma/Serum

In der Praxis wie auch in der Wissenschaft wird der Zinkgehalt im Plasma bzw. im Serum häufig zur Beurteilung der Zinkversorgung eingesetzt. Trotzdem mangelt es diesem Parameter an Sensitivität und Spezifität. Die mangelnde Sensitivität lässt sich auf die ausgeprägten Fähigkeiten des Organismus zur Regulierung der Zinkhomöostase zurückführen, die die Aufrechterhaltung einer konstanten Plasma-Zinkkonzentration ermöglichen, auch wenn die Zinkversorgung bereits marginal oder defizitär ist (HAMBIDGE 2003). Erst bei einem starken Zinkmangel fällt der Zinkgehalt im Plasma ab (GIBSON et al. 2008). Ebenso steigt der Plasma-Zinkgehalt erst über das physiologische Niveau hinaus an, wenn die Exkretionsmechanismen gesättigt sind (McDOWELL 2003). Daher sind die Reaktionen im Bereich eines marginalen Mangels inkonsistent und können leicht durch andere Effekte überlagert werden (GIBSON et al. 2008).

Der Plasma-Zinkspiegel wird neben der Zinkversorgung auch durch andere Faktoren, wie der Tageszeit, Stress, Infektionen, Nahrungskarenzen und dem Plasmaproteingehalt beeinflusst (WOOD 2000), was zur mangelnden Spezifität dieses Parameters führt. Längere Nahrungskarenzen setzen durch den damit verbundenen Abbau von Körpergeweben Zink frei, wodurch der Plasma-Zinkspiegel ansteigt. Zudem wurde postprandial ein Abfall der Plasma-Zinkkonzentration von bis zu 22% beobachtet (HAMBIDGE et al. 1989). Nichtsdestotrotz findet eine Metaanalyse von LOWE et al. (2009), die sich auf 48 Studien beruft, eine hochsignifikante Korrelation zwischen der Zinkaufnahme und dem Plasma-Zinkgehalt, und kommt zu dem Schluss, dass der Plasma-Zinkgehalt trotz zahlreicher Zink-unabhängiger

Einflussfaktoren, die zu berücksichtigen sind, aktuell der beste bekannte Indikator zur Beurteilung der Zinkversorgung ist.

2.4.2 Zinkgehalt im Haar

Möglicherweise stellt der Zinkgehalt im Haar einen geeigneten Parameter zur Überprüfung der Zinkversorgung dar, jedoch mangelt es an aussagekräftigen Analysen. Zudem ist die sogenannte Haarmineralanalyse durch eine oft unwissenschaftliche kommerzielle Anwendung in Verruf geraten (HAMBIDGE 2003). Nach einer Metaanalyse, die sich auf 48 Studien am Menschen bezieht, findet sich ein deutlicher Anstieg des Haar-Zinkgehaltes infolge von Zinksupplementationen. Um eine allgemeine Aussage zu treffen, lagen den Autoren aber zu wenige Daten vor (LOWE et al. 2009). GIBSON et al. (2008) kommen zu dem Schluss, dass bei Kindern ein niedriger Zinkgehalt in den Haaren mit einer chronischen Zinkunterversorgung korreliert, sofern ein Protein- oder Energiemangel als Störfaktor auszuschließen ist. Generell besteht die Gefahr, dass Haare durch äußere Einflüsse (z.B. Leitungswasser) Spurenelemente anreichern, oder aber Spurenelemente bei Reinigungsprozessen vor der Analyse ausgewaschen werden (HAMBIDGE et al. 1982). Bei Ratten wurde nachgewiesen, dass der Zinkgehalt in den Haaren mit dem Zinkgehalt in den Knochen, nicht aber mit den Zn-Gehalten in Blut, Leber und Niere korreliert (HAMBIDGE et al. 1982). Eine frühere Studie, die ebenfalls an Ratten durchgeführt wurde und mit kontrollierter Depletion sowie anschließender Repletion mit verschiedenen Supplementationsstufen arbeitet, kommt zu dem Ergebnis, dass Haarmineralanalysen sich weder im ausgeprägten Mangel (verminderter Haarwuchs) noch bei deutlichem Überschuss (Plateaubildung) zur Bestimmung des Zinkstatus eignen, aber dass im Bereich der marginalen bis optimalen Versorgung eine gute Korrelation zwischen der Zinkversorgung und dem Zinkgehalt im Haar erkennbar ist (PALLAUF und KIRCHGESSNER 1973).

2.4.3 Zink im Knochen

Während der Zinkgehalt in weichen Geweben relativ unbeeinflusst von der Zinkversorgung ist, zeigt sich ein Zinkmangel in niedrigen Zinkgehalten im Knochen (MOMCILOVIC 1975). Dies erklärt sich dadurch, dass der Knochen in größerem Ausmaß als andere Gewebe als Zinkspeicher fungiert. Sofern der Plasma-Zinkgehalt nach der Aufnahme von Zink deutlich ansteigt, wird der Anteil, der nicht für Erhaltung und Wachstum benötigt wird, in den Knochen eingelagert. Daher stellt der Zinkgehalt im Knochen in einer bedarfsübersteigenden Versorgungssituation einen guten Maßstab für die Zinkversorgung dar (AMMERMAN et al. 1995).

2.4.4 Zink im Urin

Verschiedene Literaturstellen ordnen der Exkretion von Zink durch den Urin eine untergeordnete Bedeutung zu (COUSINS 1996, REVY et al. 2002). In Situationen mit Zinkmangel nimmt jedoch die Zinkexkretion über den Urin ab (BAER und KING 1984).

Eine Metaanalyse, kommt zu dem Ergebnis, dass es im Bereich einer niedrigen Zinkversorgung einen engen Zusammenhang zwischen der Urin-Zinkkonzentration und der Zinkversorgung gibt (LOWE et al. 2009). Demnach könnte der Urin-Zinkgehalt einen sinnvollen Biomarker zur Überprüfung der Zinkversorgung im niedrigen Versorgungsbereich darstellen (HAMBIDGE 2003; LOWE et al. 2009).

2.4.5 Wachstum

Häufig wird bei Kindern der Länge- bzw. Größe-zu-Alter Index zur Beurteilung der Zinkversorgung eingesetzt. Kinder die mehr als 2 Standardabweichungen vom Durchschnitt aller Kinder ihres Alters in ihrer Population nach unten abweichen, leiden gehäuft an Zinkmangel. Zusätzliche Aussagekraft gewinnt dieser Index, wenn die Durchschnittsgröße der Eltern als Korrekturfaktor in die Berechnung mit einbezogen wird. Von 28 Studien die bei Kindern im Alter von 0 bis 17 Jahren durchgeführt worden sind, fanden 21 Studien eine positive Entwicklung im Wachstum infolge einer Zinksupplementierung, während 7 Studien keinen Effekt ergaben (GIBSON et al. 2008). Zum Teil ließen sich durch eine Zinksupplementierung positive Effekte auf das Wachstum erzielen, ohne dass im Plasma-Zinkgehalt ein Anstieg

messbar war (WALRAVENS et al. 1983). Bei landwirtschaftlichen Nutztieren gehört das Wachstum zu einem der ersten Indikatoren, die eingesetzt wurden, um die Effektivität verschiedener Zn-Versorgungsstufen zu beurteilen (AMMERMAN et al. 1995).

2.4.6 Aktivität Zink-abhängiger Enzyme

Verschiedene zinkabhängige Enzyme wurden auf ihre Eignung als Biomarker für die Zinkversorgung getestet. Darunter unter anderem die Plasma-Laktatdehydrogenase, Plasma-Ribonuclease, und die alkalische Phosphatase, bei denen zum Teil gute, aber teilweise auch keine Korrelationen zur Zinkversorgung nachgewiesen wurden (WOOD 2000). Eine Metaanalyse untersuchte ebenfalls die Möglichkeit, die Alkalische Phosphatase als Indikator für die Zinkversorgung einzusetzen, kommt aber zu einem negativen Resultat. Die Daten, die die analysierten Studien liefern, sind zu inkonsistent (LOWE et al. 2009).

Im Gegensatz dazu stehen Untersuchungen, die beim Ferkel aussagekräftige Korrelationen finden (REVVY et al. 2006). Allerdings wurden in diesen Studien sich deutlich voneinander unterscheidende Zinkversorgungsstufen verglichen. Ursächlich für diese abweichenden Ergebnisse könnte die Tatsache sein, dass die Zink-Metalloenzyme das Zink so fest binden, dass ihre Aktivität auch in Mangelsituationen nicht nachlässt (AMMERMAN et al. 1995). Auch GIBSON et al. (GIBSON et al. 2008) kommen zu dem Schluss, dass die Aktivität zinkabhängiger Enzyme, insbesondere der alkalischen Phosphatase, erst in starken Mangelsituationen nachlässt, von einem marginalen Mangel aber unbeeinflusst bleibt.

2.4.7 Metallothionein

Metallothionein (MT) ist ein wichtiges Zinkspeicherprotein, dessen Synthese durch die Gegenwart von Zink induziert wird (SULLIVAN et al. 1998). Es kommt vor allem in Leber, Pankreas, Niere und der intestinalen Mukosa vor (GIBSON et al. 2008). Des Weiteren ist es auch im Blutplasma mit einer Konzentration, die proportional zu der in der Leber ist, vorhanden (KING 1990). Untersuchungen beim Menschen zeigen, dass die MT-Konzentration in den Erythrozyten bereits auf einen kurzfristigen Mangel deutlich reagiert (GRIDER et al. 1990; THOMAS et al. 1992). GRIDER et al. (1990) führten im Anschluss an die Depletionsperiode eine Repletionsphase mit einer täglichen Zn-Supplementierung von 50 mg/d durch. Die Plasma-Zinkkonzentration erhöhte sich durch diese Supplementierung um 17%, während der Metallothioneingehalt in den Erythrozyten um das Siebenfache anstieg. Diese Ergebnisse werden auch durch Supplementationsstudien bestätigt, die einen signifikanten Anstieg der MT-Genexpression in Monozyten nach einer Zinksupplementierung nachweisen konnten (SULLIVAN et al. 1998).

Das im Plasma zirkulierende MT sinkt in Mangelsituationen ebenso wie der Zinkgehalt im Plasma ab. In Situationen wie Infektionen oder Stress, in denen der Plasma-Zinkgehalt ebenfalls abfällt, steigt die MT-Konzentration im Plasma jedoch an, so dass die MT-Konzentration im Plasma zusammen mit dem Plasma-Zinkgehalt ein verbessertes Instrument zur Zinkmangeldiagnostik darstellen könnte (KING 1990).

Da die Analyse des Metallothioneingehaltes aufwendig ist, stellt möglicherweise die Feststellung der MT-mRNA-Konzentration mittels quantitativer RT-PCR eine Alternative dar. In einer Depletions-/Repletionsstudie fanden ALLAN et al. (2000) eine deutliche Reaktion in der MT-Genexpression, während es im Plasma-Zinkgehalt keine messbare Reaktion gab. CAO et al. (2000) führten einen Supplementationsversuch an erwachsenen Männern durch und konnten auch hier erhöhte MT-mRNA-Konzentrationen in verschiedenen Blutzellen sowie in der totalen mRNA, die sie aus 50 µL getrocknetem Blut gewannen, finden. Auch Untersuchungen bei Ferkeln ergaben signifikante Zusammenhänge zwischen der Zinksupplementierung und der MT-mRNA-Expression in der Leber und auch in der Dünndarmmukosa (MARTINEZ et al. 2004).

2.4.8 Freie Zinkbindungskapazität im Plasma

Zur Ermittlung der freien Zinkbindungskapazität (ZBK) wird Plasma oder Serum mit einem Überschuss an Zink versetzt, so dass alle Zinkbindungsstellen abgesättigt werden. Im Anschluss wird nicht gebundenes Zink ausgefällt und der gebundene Teil gemessen. Dies ergibt die gesamte ZBK. Abzüglich der Plasma- Zinkkonzentration ergibt sich die freie ZBK, die zumeist in Prozent der gesamten ZBK angegeben wird (ROTH UND KIRCHGESSNER 1980).

Auf Grund der erwähnten Schwächen des Plasma-Zinkgehaltes in der Diagnostik marginaler Unter- bzw. Überversorgung bietet die ZBK gerade für diesen Bereich eine sinnvolle Ergänzung, und wurde auch beim Menschen häufig eingesetzt (ARGEMI et al. 1988; ROTH und KIRCHGESSNER 1999; ARCASOY et al. 2001). Ob es neben der Zinkversorgung noch weitere Einflüsse auf die freie ZBK gibt, wurde jedoch bislang nicht eingehend untersucht (RIMBACH et al. 1996)

2.5 Nutritive Einflüsse auf die Bioverfügbarkeit des Zinks

Wie im Kapitel 2.3 „Versorgungsempfehlungen für Zn beim Ferkel“ bereits erwähnt wurde, hat die Verfügbarkeit des in den Futtermitteln enthaltenen Zinks einen bedeutenden Einfluss auf den Zinkbedarf eines Organismus. Verschiedene Nahrungskomponenten können die Zinkverfügbarkeit maßgeblich beeinflussen. Eine wesentliche Rolle spielen hierbei zum einen Chelat- oder Komplexbildner, die die Bioverfügbarkeit des Zinks sowohl positiv als auch negativ beeinflussen können. Zum anderen spielen Metall-Ionen, welche in höheren Konzentrationen die Zinkabsorption negativ beeinflussen eine Rolle, da sie möglicherweise um die gleichen Transport- oder Speichermechanismen konkurrieren.

2.5.1 Komplexbildner

Eine große Anzahl von niedermolekularen Chelat- und Komplexbildnern beeinflussen die Zinkaufnahme. Je nach Substanz kann die Zinkaufnahme gefördert oder gehemmt werden. Zahlreiche Substanzen wurden untersucht. Im Folgenden erfolgt keine Auflistung aller untersuchten Substanzen, sondern es soll zunächst ein Überblick über die wesentlichen Einflussfaktoren gegeben und im Anschluss einige Stoffe beispielhaft vorgestellt werden.

Komplexe setzen sich zusammen aus einem Zentralatom (Metallatom oder -ion) welches Lücken in seiner Elektronenkonfiguration aufweist, sodass sich eine oder mehrere Liganden anlagern können, und mindestens einem Liganden. Die Liganden wiederum müssen mindestens ein freies Elektronenpaar für die Bindung zur Verfügung stellen. Diese werden als Koordinationsstellen bezeichnet. Besitzt ein Ligand mehr als eine Koordinationsstelle, die zur gleichzeitigen Koordination am gleichen Zentralatom genutzt wird, spricht man von einem Chelatkomplex. Chelatkomplexe besitzen sowohl thermodynamisch als auch kinetisch eine höhere Stabilität als Komplexe mit nur einer Koordinationsstelle (zusammengefasst in: SWINKELS et al. 1994).

Reaktionen, bei denen Metallkomplexe entstehen, sind Gleichgewichtsreaktionen. Für sie gilt das Massenwirkungsgesetz. Die Stabilität wird durch die Komplexbildungs- oder Stabilitätskonstante ausgedrückt. Sie beschreibt das Verhältnis von gebundenen und ungebundenen Bindungspartnern. Ob ein Chelat- bzw. Komplexbildner die Zinkaufnahme hemmt oder fördert, hängt maßgeblich von der Stabilität des gebildeten Komplexes bzw. Chelats ab. Ist die Verbindung zu stabil, kann das Zink nicht absorbiert werden. Ist die Bindung zu locker, dissoziiert ein großer Teil der Komplexe bereits bevor das Intestinum als Hauptabsorptionsort erreicht wird. Verschiedene Untersuchungen kommen zu dem Schluss, dass Komplexe mit Stabilitätskonstanten zwischen 11,1 und 18,2 (NIELSEN et al. 1966b) bzw. 13 und 17 (VOHRA und KRATZER 1964) die Zinkverfügbarkeit bei einer auf Sojaprotein basierenden Diät bei Geflügel signifikant verbessern.

Aufgrund seiner hohen Affinität zu Proteinen ist davon auszugehen, dass Zink im physiologischen pH-Bereich selten als Ion vorliegt, sondern überwiegend an andere Nahrungsbestandteile gebunden ist (WAPNIR et al. 1983). Deshalb spielen die übrigen Nahrungsbestandteile und deren Affinität zum Zink eine Rolle, da sie mit den zu untersuchenden Liganden um das Zink konkurrieren. So kommt es häufig zu widersprüchlichen Ergebnissen, wenn Versuche bei denen Zink mit der Nahrung gegeben wurde, mit Diffusionsstudien verglichen werden.

Untersuchungen mit Ratten, bei denen wässrige Lösungen von Zink-Methionin und Zink-EDTA-Komplexen sowie von $ZnCl_2$ in ligierte Abschnitte des Duodenums gegeben wurden, zeigten eine reduzierte Verfügbarkeit für die Komplexe (HEMPE und COUSINS 1989). Für beide Substanzen werden aber aus Versuchen, bei denen die Substanzen über die Diät verabreicht werden, positive Ergebnisse berichtet (SCOTT und ZEIGLER 1963; VOHRA und KRATZER 1964; NIELSEN et al. 1966b).

Nicht zuletzt ist das molare Verhältnis zwischen Zink und den Liganden von Bedeutung. So wirkt z.B. Histidin bei einem molare Verhältnis von 3:1 zu Zink positiv auf die Absorption, aber in einem Verhältnis von 130:1 reduziert es die Zinkverfügbarkeit um über 75% (WAPNIR et al. 1983).

Zahlreiche Substanzen können unter experimentellen Bedingungen die Bioverfügbarkeit von Zink verbessern. Hierzu gehören zum Beispiel Citrat, Piccolinat, EDTA und Aminosäuren wie Histidin und Glutaminsäure (HAMBIDGE 1986).

Auch Futtermittel in denen Chelatbildner in größerer Menge vorkommen, können die Zinkaufnahme beeinflussen. So haben Kasein, Leberextrakt, getrocknete Schlempe, Maisöl und Blutmehl einen positiven Einfluss auf die Zinkabsorption (McDOWELL 2003).

Piccolinat und Citrat sind mit die ersten Komplexbildner, die untersucht wurden. Man vermutete in ihrer Anwesenheit eine mögliche Ursache für die bessere Bioverfügbarkeit von Zink aus Muttermilch im Vergleich zur Kuhmilch. Zunächst zeigten sich positive Ergebnisse für die Piccolinsäure (EVANS 1980). In weiteren Studien zeigte sich jedoch, dass Piccolinsäure neben der erhöhten Zinkaufnahme auch eine 10fach bis 25fach erhöhte renale Zinkausscheidung bewirkte, so dass die Netto-Zn-Aufnahme nicht verbessert wurde (SEAL und HEATON 1985). Möglicherweise ist der Zn-Piccolinat-Komplex so stabil, dass er dem Organismus nicht zur Verfügung steht und als intakter Komplex wieder ausgeschieden wird. ROTH und KIRCHGESSNER (1985) wiesen letzten Endes nach, dass die verringerte Bioverfügbarkeit von Zink in Kuhmilch weder durch Piccolinat noch durch Citrat sondern durch Kasein verursacht wird.

2.5.2 Phytinsäure

Die Phytinsäure gehört mit zu den Komplexbildnern, hat jedoch für die Ernährung landwirtschaftlicher Nutztiere eine besondere Bedeutung, da sie in pflanzlichen Futtermitteln häufig in höheren Konzentrationen vorkommt. Übersteigt die Konzentration von PA in der Diät ein molares Verhältnis von 10-15:1 zum Zink (DAVIES und OLPIN 1979; MORRIS und ELLIS 1980) oder liegen Konzentrationen über 0,4% PA in der Diät vor (DAVIES und NIGHTINGALE 1975), so wirkt sich dies stark negativ auf die Zinkverfügbarkeit aus. Der Grund hierfür liegt in der molekularen Struktur der Phytinsäure, die die Ausbildung sehr stabiler Zn-Chelate ermöglicht. Zink wird von diesen Chelaten so stabil gebunden, dass es der Absorption nicht mehr zur Verfügung steht (PALLAUF und RIMBACH 1997).

Durch die Anwesenheit hoher Konzentrationen von Phytinsäure weist Zink in vielen pflanzlichen Futtermitteln verglichen mit tierischen oder mineralischen Zinkquellen nur eine deutlich geringere Bioverfügbarkeit auf. Die Anwesenheit von Calcium, z.B. aus Mineralstoffergänzungen, verstärkt diesen Effekt noch. Bildet die Phytinsäure einen Komplex mit Calcium und Zink aus, so ist dieser stabiler als ein Komplex mit nur einem der beiden (OBERLEAS 1983).

Die negativen Einflüsse der Phytinsäure auf die Zink-Bioverfügbarkeit können auf verschiedenen Wegen behoben werden. Zwei der ersten untersuchten Möglichkeiten stellen das Autoklavieren von Futtermitteln sowie der Zusatz von EDTA dar. Noch bevor bekannt war, dass Phytinsäure für die geringe Bioverfügbarkeit von Zink aus Sojaextraktionsschrot verantwortlich ist, zeigten Versuche mit EDTA-Supplementierung und Autoklavieren eine verbesserte Bioverfügbarkeit von Zink aus Sojaextraktionsschrot (KRATZER et al. 1959). Aufgrund des großen Aufwandes hat sich das Autoklavieren in der Praxis nicht bewährt. Der positive Effekt von EDTA wurde in weiteren Versuchen bestätigt (NIELSEN et al. 1966b).

Eine weitere effektive Möglichkeit, welche sich auch in der landwirtschaftlichen Praxis durchgesetzt hat, ist die Zulage von mikrobieller Phytase. Um Zink sowie andere Mineralstoffe aus einem Phytatkomplex nutzen zu können, benötigt der Organismus Phytase. Die Existenz intestinaler Phytase bei landwirtschaftlichen Nutztieren ist umstritten, gesichert ist jedoch, dass sie nicht in signifikantem Umfang

zum Abbau von Phytatkomplexen beiträgt (PALLAUF und RIMBACH 1997). Bei Wiederkäuern übernimmt die mikrobielle Phytase aus der Vormagenflora diese Aufgabe, während der Monogaster für die Nutzung der an die Phytinsäure gebundenen Mineralstoffe weitestgehend auf einen Zusatz an Phytase angewiesen ist. Zahlreiche Versuche zeigen, dass der Zusatz mikrobieller Phytase zur Ration die Bioverfügbarkeit des Zinks deutlich verbessert (PALLAUF et al. 1992; RIMBACH und PALLAUF 1992). So können bei einer Mais-Soja-Ration durch den Einsatz von 700 Einheiten mikrobieller Phytase je kg Futter etwa 32-43 mg Zink eingespart werden (REVVY et al. 2006).

2.5.3 Metall-Ionen

Ionen chemisch ähnlicher Elemente können ebenfalls einen Einfluss auf die Zinkabsorption haben. Vor allem der Einfluss von Kupfer und Eisen wurde untersucht. Es ist nicht klar, welcher Mechanismus hier zugrunde liegt. Sowohl die Konkurrenz um intraluminale Komplexbildner wie zum Beispiel die Phytinsäure, als auch die Konkurrenz um gemeinsam genutzte Abschnitte des Transportweges, möglicherweise Transport- und oder Speicherproteine, könnten hier eine Rolle spielen (SWINKELS et al. 1994).

Bei einer Studie von VAN CAMPEN (1969) wurden Ratten sowohl intraduodenal als auch intraperitoneal Kupfer- und Zinkinfusionen verabreicht. Hier zeigte sich, dass nur die duodenale Kupfergabe die Zinkabsorption hemmt. Beide Infusionsarten erzeugen jedoch die gleichen Kupferkonzentrationen in verschiedenen Geweben. Hieraus folgern die Autoren, dass die Hemmung durch eine Konkurrenz auf Ebene der intestinalen Absorption hervorgerufen wird und nicht auf Ebene des Transportes oder der Aufnahme in die Organe. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt eine Untersuchung mit Eisen, bei der eine zuvor erfolgte Eisensupplementierung keinen Einfluss auf die Zinkabsorption hatte, während die gleichzeitige Gabe von Eisen im Überschuss und Zink die Zinkabsorption deutlich negativ beeinflusste (SANDSTRÖM et al. 1985).

Häufig zeigt sich bei Versuchen mit Eisen ein negativer Effekt von hohen Eisengaben nur dann, wenn Eisen und Zink gelöst in Wasser verabreicht werden. Werden Eisen- und Zinksupplemente mit der Diät oder mit Komplexbildnern wie Histidin verabreicht,

so ist häufig kein negativer Einfluss nachzuweisen (SANDSTRÖM et al. 1985; SOLOMONS 1986). Eine weitere Untersuchung von NIELSEN et al. (1966a) findet in Anwesenheit starker Komplexbildner (phytinsäurereiche Diät auf Basis von hydrolysiertem Sojaprotein) eine positive Auswirkung auf die Zinkabsorption bei einer Erhöhung des Kupfergehaltes der Diät. Möglicherweise wurden die Zinkionen hier durch das Kupfer im Überschuss aus den Phytinsäurekomplexen gelöst und standen so den Tieren zur Aufnahme zur Verfügung. Denn Phytinsäure hat eine höhere Affinität zu Kupfer als zu Zink (OBERLEAS 1983). Dies macht deutlich, dass die Wirkung der Metall-Ionen ebenfalls im Gesamtkontext der Diät betrachtet werden muss.

2.6 Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Zink beim Schwein

Die Bioverfügbarkeit von verschiedenen Zinkverbindungen beim Schwein wurde häufig untersucht, meist jedoch ohne oder mit unklaren Ergebnissen. Möglicherweise ist dies teilweise durch die Versuchsanstellung begründet. Die Versuche unterscheiden sich in verschiedenen Punkten, welche problematisch für die Auswertung bzw. Verallgemeinerung der Ergebnisse sind.

Der erste entscheidende Punkt ist die Konzentration von Zink in der Diät. In der EU ist seit 2004 die Konzentration von Zink auf 150 mg/kg Futtermittel begrenzt (Europäisches Parlament und Rat 2003). Zuvor wurde Zink häufig als Wachstumsförderer eingesetzt. In Ländern außerhalb der EU, wie z.B. den USA ist dies weiterhin der Fall. Daher setzte der überwiegende Teil der Untersucher Zink in pharmakologisch hohen Dosierungen von 500 – 2000 mg/kg Diät ein (SCHELL und KORNEGAY 1996; CASE und CARLSON 2002; CARLSON et al. 2004; BUFF et al. 2005; HOLLIS et al. 2005; RINCKER et al. 2005; WANG et al. 2010). Häufig werden hier pharmakologisch hohe Dosen Zink (2000-3000 mg/kg Futter) aus Zinkoxid mit niedrigeren Dosen Zink aus organischen Verbindungen verglichen. Beispielhaft sei hier der Versuch von WANG et al. (2010) erwähnt. Hier wurde an 120 Absetzferkeln die Effektivität von Zn-Glycin-Chelaten im Vergleich zu Zinkoxid untersucht. Für die verschiedenen Fütterungsgruppen wurde eine Mais-Soja-Diät (nativer Zn-Gehalt 29,8 mg/kg) mit 0, 50 oder 100 mg Zn aus einem Zn-Glycin-Chelat bzw. mit 3000 mg Zn aus Zinkoxid ergänzt. Die Produktionsparameter sowie verschiedene Enzymaktivitäten zeigen eine bessere Zinkversorgung der Zinkoxidgruppe und der Gruppe welche 100 mg Zn aus Zn-Glycinat erhielt, an. Hieraus wurde abgeleitet, dass 100 mg Zn-Glycinat den Zn Bedarf der Tiere ebenso deckten, wie 3000 mg Zn aus Zinkoxid. Die Zinkexkretion der Zinkoxidgruppe war dabei deutlich erhöht. Direkte Aussagen zur Bioverfügbarkeit können aus einer solchen Versuchsanstellung jedoch nicht gewonnen werden, da ein direkter Vergleich beider Verbindungen auf der gleichen Versorgungsstufe fehlt.

Darüber hinaus sollte bei Versuchen mit pharmakologisch hohen Zinkkonzentrationen ebenfalls berücksichtigt werden, dass ein Vorteil der organischen Verbindungen zudem darin bestehen soll, dass sie Zn vor der Komplexierung durch Phytinsäure schützen. Liegen die Zinkionen bei hohen Einsatzmengen aber ohnehin im Überschuss im Vergleich zur Phytinsäure vor, spielt dieser Effekt sehr wahrscheinlich keine Rolle mehr.

Versuche, die sich nach den Versorgungsempfehlungen oder nach der EU-Verordnung richten, gibt es bislang nur vereinzelt (HILL et al. 1986; SWINKELS et al. 1996; CHENG et al. 1998; REVY et al. 2002). Eine der ersten dieser Studien im Bereich der Versorgungsempfehlungen wurde 1986 von HILL et al. (1986) veröffentlicht. Hier wurde bei je 96 und 240 Ferkeln in zwei Versuchen die Bioverfügbarkeit einer Zink-Methionin-Verbindung untersucht. Die Basisdiäten (36 bzw. 27 mg Zn/kg Futter) wurden in beiden Versuchen mit entweder 9 mg oder 12 mg Zn aus Zinksulfat bzw. der Zink-Methionin-Verbindung ergänzt. Als Parameter für die Bioverfügbarkeit wurden Produktionsparameter sowie Plasma-Zinkgehalt, Rohaschegehalt der Knochen sowie Zinkgehalt in der Knochen-Rohasche herangezogen. Es konnte aber kein durch die Zinkverbindung verursachter Unterschied in den untersuchten Parametern nachgewiesen werden.

Eine neuere Studie vergleicht ebenfalls einen Zink-Methionin-Komplex mit Zinksulfat (REVY et al. 2002). Hierfür wurden 32 Absetzferkel, zu Versuchsbeginn 28 Tage alt, im Anschluss an eine siebentägige Depletionsphase in der eine Basisdiät (28 mg Zn /kg Futter) gefüttert wurde, in sieben Fütterungsgruppen eingeteilt. Die Kontrollgruppe erhielt eine un-supplementierte Basisdiät, während die sechs Versuchsgruppen die Basisdiät ergänzt mit 10, 20 oder 30 mg Zn aus Zinksulfat bzw. Zinkmethionin erhielten. Zur Beginn der Versuchsperiode wurden vier Tiere geschlachtet um Vergleichswerte zu erhalten, so dass in jeder Fütterungsgruppe vier Tiere zugeteilt waren. Es wurden zahlreiche Parameter zur Beurteilung der Zinkversorgung herangezogen: Produktionsparameter, der Plasma-Zinkgehalt, die Aktivität der Alkalischen Phosphatase sowie der Zinkgehalt in Leber, Knochen und Schlachtkörper. Jedoch konnte bei keinem der Parameter ein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung festgestellt werden.

Problematisch bei Versuchen im Bereich des Versorgungsoptimums ist, dass rund um den Bereich der optimalen Versorgung die homöostatischen Regulationsmechanismen des Organismus eingreifen und möglicherweise vorhandene Unterschiede eibnen. Daher ist es schwierig, in diesem Bereich Unterschiede in der Bioverfügbarkeit zu messen. SCHLEGEL (2006) empfiehlt daher ein Versuchsdesign mit Dosierungen oberhalb oder besser noch unterhalb der Grenzen des homöostatischen Regelmechanismus zu wählen, um eventuelle Unterschiede besser darstellen zu können. In diesem Versorgungsbereich ist eine Untersuchung veröffentlicht, bei der die Bioverfügbarkeit von organisch gebundenen Spurenelementen in Form von Chelaten und Glycinaten im Vergleich zu Sulfaten bei Ferkeln untersucht wurde (MÄNNER et al. 2006). Nach dem Absetzen durchliefen die Ferkel eine 14-tägige Depletionsperiode (24,6 mg Zn /kg Futter), an die sich eine achttägige Repletionsperiode anschloss. Während der Repletionsperiode wurden die Ferkel vier verschiedenen Futtergruppen zugeteilt: Kontrolle (weiterhin 24,6 mg Zn /kg Futter) sowie vier Versuchsgruppen deren Diät mit Zink aus Sulfat-, Proteinchelat- oder Glycinatverbindungen auf durchschnittlich 43 mg Zink /kg Futter supplementiert wurde. Die Bioverfügbarkeit wurde überwiegend anhand der scheinbaren Verdaulichkeit ermittelt. Hier zeigte sich Glycinat der Kontrolle sowie dem Sulfat signifikant überlegen (46% vs. 38,8% und 37,1% scheinbare Verdaulichkeit Zink). Die hier eingesetzten Verbindungen liegen in ihrer Dosierung deutlich unter den Empfehlungen von 100 mg Zn / kg (NRC 1998; GFE 2006). Es wird jedoch nicht von Mangelerscheinungen berichtet, was möglicherweise darauf zurückzuführen ist, dass auch das nativ enthaltene Zink in der Diät, die auf Gerste und Magermilchpulver basierte, relativ gut verfügbar war.

Ein weiterer wichtiger Punkt ist die eingesetzte Substanz. In den bisher vorliegenden Untersuchungen wurden Zinkverbindungen der Klassen Zn-Aminosäure-Chelate oder Zn-Aminosäure-Komplexe (mit spezifischen Aminosäuren, vor allem Methionin bzw. Methionin-Analoga und Lysin), Zink-Proteinat-Chelate (unspezifische Aminosäuren aus hydrolysiertem Sojaprotein) sowie Zink-Polysaccharidkomplexe geprüft. Ein wesentliches Problem ist hier, dass diese organischen Verbindungen, im Gegensatz zu anorganischen Verbindungen, die durch ihre Strukturformel eindeutig beschrieben sind, nicht eindeutig definiert sind. So ist bekannt, dass sich auch Produkte innerhalb derselben Produktklasse (z.B. Zink-Methionin-Komplexe oder

Zink-Proteinate) in ihren chemischen Eigenschaften deutlich unterscheiden können (CAO et al. 2000). Eigenschaften wie etwa die Löslichkeit einer Verbindung oder die Stabilität eines Komplexes in Lösung, spielen bei der Interpretation der Versuchsergebnisse eine entscheidende Rolle, da gewisse Zweifel bestehen, ob die Komplexe im Verdauungstrakt erhalten bleiben (BROWN und ZERINGUE 1994; SUTTLE 2010). In den vorliegenden Untersuchungen werden nur selten Angaben hierzu gemacht.

3 Experimenteller Teil

3.1 Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist der Vergleich drei verschiedener Zinkverbindungen, namentlich Zink-Glycinat, Zink-Methionin und Zinkacetat, mit Zinksulfat als Kontrollsubstanz bezüglich ihrer Bioverfügbarkeit beim wachsenden Schwein.

Als Versuchstiere wurden Absetzferkel gewählt, da diese Tiere auf Grund des starken Wachstums und der noch geringen Futteraufnahme einen hohen Zinkbedarf je kg Futter haben. Es wurden Ferkel der Kreuzung Pietrain-Eber x DAN-Zuchtsau gewählt, da sie eine übliche Endproduktkreuzung repräsentieren.

Als Dosierung wurde ein marginaler Versorgungsbereich angestrebt. Es ist davon auszugehen, dass sich in diesem Versorgungsbereich Unterschiede in der Bioverfügbarkeit eher zeigen, da die homöostatischen Regelmechanismen des Organismus auf diesem Niveau nicht begrenzend auf die Aufnahme wirken (SCHLEGEL 2006). Es wurde ein Gesamtzinkgehalt von 70 mg/kg der Diät eingesetzt, der je nach Alter der Tiere zwischen 70% und 87,5% der Versorgungsempfehlungen der GfE (2006) bzw. des NRC 1998) entsprach.

Als Diät wurde eine praxisnahe Mischung aus Mais und Sojaextraktionsschrot eingesetzt. Hierbei wurden Futtermittel mit relativ hohem Phytinsäuregehalt gewählt, da, wie im Literaturteil beschrieben, die möglichen Vorteile organisch gebundener Spurenelemente in der Gegenwart von Komplexbildnern besser hervortreten dürften. Auf den Zusatz von mikrobieller Phytase zur Versuchsdiet wurde daher verzichtet. Des Weiteren wurden die Hauptbestandteile der Diät zuvor auf ihren Zinkgehalt untersucht, um sicher zu gehen, dass der native Zinkgehalt der Diät deutlich unterhalb der angestrebten Konzentration liegt. Dies ist notwendig, damit der wesentliche Anteil des verabreichten Zinks aus den supplementierten Verbindungen stammt und somit eine Überlagerung der Effekte durch den nativen Zinkgehalt möglichst gering gehalten wird.

Als Haltungsform wurde die Aufstallung in Stoffwechselkäfigen gewählt, um eine quantitative Sammlung von Kot und Urin während zweier Stoffwechselperioden zu ermöglichen. Dies war notwendig, um Aussagen zur scheinbaren Verdaulichkeit der Zinkverbindungen treffen zu können.

3.2 Versuchsaufbau

Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn gab es eine Vorperiode von 6 Tagen um den Ferkeln eine schrittweise Adaptation an die neuen Haltungsbedingungen zu ermöglichen. Während der Vorperiode erhielten die Ferkel zunächst das Futter aus dem Herkunftsbetrieb, welches dann schrittweise mit der Basisdiät, welche identisch mit den Versuchsdiäten war, jedoch keine Zinksupplementation enthielt, verschnitten wurde. So konnten die Tiere an die Versuchsdiäten gewöhnt werden und zugleich wurden durch die fehlende Zinksupplementation möglicherweise vorhandene Zinkdepots der Ferkel verringert.

Zur Versuchsbeginn wurden vier Gruppen gebildet, denen die Basisdiät supplementiert mit je 50 mg Zink/kg Diät aus einer der Verbindungen Zinksulfat, Zink-Methionin, Zink-Glycinat sowie Zink-Acetat verabreicht wurde. Gefüttert wurde semi ad libitum, d.h. jedes mal, wenn mehr als die Hälfte der Tiere einer Gruppe eine Mahlzeit vollständig aufgenommen hatte, wurde die vorgelegte Menge zur nächsten Fütterung erhöht. Die gefressene Futtermenge wurde nach jeder Fütterung notiert. Wöchentlich wurden die Tiere gewogen und zu Versuchsbeginn, an Tag 14 sowie zu Versuchsende Blutproben genommen. Zudem wurden zwei Stoffwechselferioden von Tag 7 bis Tag 13 und von Tag 21 bis Tag 27 durchgeführt, in denen Kot und Urin quantitativ gesammelt wurden. Am Tag 28 wurden die Tiere im Anschluss an eine Betäubung durch ein Bolzenschussgerät geschlachtet und Organproben für weitere Analysen genommen. Eine Übersicht des Versuchsaufbaus ist Tabelle 1 zu entnehmen. Der Versuch wurde beim Veterinärdezernat des Regierungspräsidium Gießen angezeigt (Aktenzeichen V54-19 c 20/15 c GI19/3 Nr. A 18/2009 Datum: 06.04.2009).

3.3 Versuchsdesign

Als Versuchsdesign wurde ein „randomized complete block“-Design gewählt. Hierfür wurden die Tiere zunächst anhand ihres Körpergewichtes in neun Gruppen á vier Tiere eingeteilt (d.h. die vier schwersten Tiere waren in einer Gruppe, die nächsten vier Tiere in der zweiten Gruppe usw.). Die vier Tiere jeder Gewichtsguppe wurden dann zufällig jeweils einer der vier Fütterungsgruppen zugeteilt, so dass aus jeder

Gewichtsgruppe ein Tier in jeder Fütterungsgruppe vorhanden war. So wurde ein einheitliches Ausgangsgewicht der Versuchsgruppen sichergestellt, ohne auf eine Randomisierung zu verzichten.

Tabelle 1: Schematischer Versuchsablauf

Tag	Vorperiode	Versuchsperiode		
0 ⋮	Schrittweise Umstellung der Futterrations			
4 5	Umstellung in Stoffwechsellkäfige			
0 ⋮				
7 ⋮		Stoffwechsel- periode	Wiegen	
14 ⋮			Wiegen	Blutproben
21 ⋮		Stoffwechsel- periode	Wiegen	
28		Schlachtung	Wiegen	Blutproben

3.4 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden 40 männliche kastrierte Hybridferkel der Endproduktkreuzung DAN-Zucht Hybridsau x Pietraineber ausgewählt, von denen 36 Tiere im Versuch eingesetzt wurden. Die restlichen vier Tiere sollten als Ersatztiere für eventuelle Ausfälle dienen. Da es während des Versuches aber nicht zu gravierenden Erkrankungen oder Tierverlusten kam, wurden die Ersatztiere nicht eingesetzt.

Das durchschnittliche Alter der Ferkel betrug zur Einstallung 21 Tage und zu Versuchsbeginn 27 Tage bei einer durchschnittlichen Lebendmasse von $6,46 \pm 0,56$ kg. Die Tiere wurden direkt nach dem Absetzen vom Erzeugerbetrieb Udo Kornmann aus Romrod-Zell erworben. Zur Identifikation erhielten die Ferkel neben der Betriebsohrmarke eine weitere Ohrmarke, welche von 1 bis 40 durchgehend nummeriert war.

3.5 Haltung der Versuchstiere

Während der ersten vier Tage der Vorperiode wurden die Tiere in drei Gruppen mit je 13 bzw. 14 Tieren im Quarantänestall des Instituts für Tierernährung und Ernährungsphysiologie gehalten. In dieser Zeit wurde das Futter schrittweise umgestellt. Am Tag der Einstallung erhielten die Ferkel ausschließlich Futter des Erzeugerbetriebes. An den folgenden drei Tagen wurde dies mit 25%, 50%, und 75% der Basisdiät verschnitten. Die Fütterung erfolgte ad libitum aus einem Rundtrog je Bucht. Zudem waren je Bucht zwei Edelstahltränken angebracht, in denen entionisiertes Wasser zur freien Aufnahme zur Verfügung stand. Der Quarantänestall war vollklimatisiert und wurde durchgehend auf einer Temperatur von 28°C bei einer Luftfeuchte von durchschnittlich 60% gehalten.

An Tag 4 der Vorperiode erfolgte für 36 Versuchstiere die Umstellung in die Stoffwechselkäfige (Fa. EBEKO Eisen- und Metallverarbeitung, Castrop-Rauxel), um vor Versuchsbeginn eine Adaptation der Tiere an diese Haltung zu ermöglichen. Der Versuchsstall war ebenfalls vollklimatisiert und wurde auf eine Temperatur von 26°C und eine relative Luftfeuchte von 60% eingestellt. Für jede Gruppe wurde ein Reservetier weiterhin im Quarantänestall gehalten. Auch die Reservetiere wurden ab Tag 4 der Vorperiode in Einzelbuchten gehalten.

Ab Beginn der Versuchsperiode erhielten die Tiere die Versuchsdiäten. Entionisiertes Wasser aus Edelstahltränken stand den ganzen Versuchszeitraum über zur freien Verfügung.

3.6 Zusammensetzung der Diäten

Als Basisdiät wurde eine praxisnahe Mais-Soja-Diät gewählt. Die Zusammensetzung ist Tabelle 2 zu entnehmen. Als Grundlage zur Rationsgestaltung dienten die Versorgungsempfehlungen des NRC (1998) und der GfE (2006). Um ernährungsbedingte Änderungen im Versuchszeitraum zu vermeiden, wurde über den gesamten Zeitraum eine Diät mit der gleichen Zusammensetzung gefüttert.

Aufgrund der angestrebten geringen nativen Gehalte an verfügbarem Zink in der Basisdiät, wurden Maisflocken und Sojaextraktionsschrot als Hauptkomponenten gewählt und mit Süßmolkepulver (Bayolan, Bayrische Milchindustrie, Zapfendorf), Sojaöl (Fa. Heidenreich, Mannheim), Cellulose (Vitacel R200 Fa. Rettenmaier & Söhne, Rosenberg) sowie Vitamin-, Spurenelement-, Mengenelement- und Aminosäurevormischungen ergänzt. Auf den Zusatz von Phytase wurde verzichtet, damit die Zinkversorgung im marginalen Bereich bleibt.

Tabelle 2: Zusammensetzung der Versuchsdiät

Komponente	g/kg Diät
Maisflocken 9,6% XP	498
Sojaextraktionsschrot Normtyp 44% XP	300
Molkepulver	100
Sojaöl	30
Rohfaserkonzentrat	20
Mineralstoffvormischung	30
Aminosäurevormischung	15
Vitaminvormischung	4
Spurenelementvormischung	1
Zinkvormischung	2
Summe	1000

Die Ration wurde in einem zweidimensional mischenden Edelstahlpräzisionsmischer (Typ 250, Fa. Dierks & Söhne, Osnabrück) gemischt. Zuerst wurden die trockenen Komponenten 12 min miteinander vermischt, anschließend wurde das Sojaöl hinzu gegeben und weitere 12 min eingemischt. Da für den Pelletierprozeß ein höherer Feuchtegehalt benötigt wird, wurden im Anschluss 5% entionisiertes Wasser untergemischt.

Hierbei wurde der Zerhacker zugeschaltet um Verklumpungen zu vermeiden. Direkt im Anschluss an das Mischen wurde die Diät in einer Pelletierpresse der Fa. Simon Heesen, Niederlande, in Pellets von 3mm Durchmesser gepresst.

3.6.1 Zinkvormischungen

Als Zinkverbindungen wurden Glycin-Zinkchelate-Hydrat (Firma Cognis), Methionin-Hydroxyanalog-Zink-Chelat (Hersteller Anonym) und Zinkacetat Dihydrat ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \times 2\text{H}_2\text{O}$, Anta^{Plus}Zn, Firma Dr. Eckel) verwendet. Als Vergleichssubstanz wurde Zinksulfat-Heptahydrat ($\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$) der Firma Merck in reinst-Qualität eingesetzt. Zinksulfat-Heptahydrat ist eine in der Fütterung häufig eingesetzte anorganische Verbindung von hoher Bioverfügbarkeit und wird in der Literatur häufig als Kontrollstandard verwendet (vgl. u.a. SWINKELS et al. 1996; REVY et al. 2002).

Die Hauptkomponenten der Diät, Maisflocken, Sojaextraktionsschrot und Molkenpulver sowie die Mineralstoffvormischung, wurden auf ihren Zinkgehalt analysiert, und die Zinkvormischungen so konzentriert, dass ein Gesamtzinkgehalt von 70 mg der Diät zu erwarten war. Tabelle 3 zeigt den Zinkgehalt der vier eingesetzten Substanzen sowie die verwendeten Konzentrationen. Alle Zinkvormischungen wurden auf Basis von Maisstärke hergestellt. Hergestellt wurden die Zinkvormischungen in einem Horizontallabormischer (Typ M20GREI, Fa. Lödige, Paderborn).

Tabelle 3: Zusammensetzung der Zinkvormischungen

Gruppe	Name	Zinkgehalt	Eingesetzte Menge	
		(%)	(g/kg Vormischung)	(g/kg Diät)
ZnSO ₄	Zinksulfat-Heptahydrat	22,7	110,1	0,220
ZnGly	Glycin-Zinkchelate-Hydrat	26,9	92,9	0,186
ZnMet	Zink-Methionin	15,0	166,7	0,333
ZnAc	Zink-Acetate	29,0	86,2	0,172

3.6.2 Mineralstoff-, Spurenelement-, Aminosäuren- und Vitaminvormischungen

Die Mineralstoff-, Aminosäuren- und Vitaminvormischungen wurden ebenfalls auf Maisstärkebasis hergestellt. Bei der Erstellung der Mengenelement- und Aminosäurevormischungen wurden die nativen Gehalte laut Nährstofftabellen (NRC 1998; SOUCI et al. 2007) berücksichtigt. Die Spurenelementvormischung wurde so angesetzt, dass sie den Bedarf (NRC 1998; GFE 2006) komplett deckte. Die Vitaminvormischung deckte ebenfalls für sich den Bedarf und enthielt darüber hinaus einen Sicherheitszuschlag von 15%, um eventuelle Aktivitätsverluste, die durch den Misch- und Pelletierprozess entstehen können, zu kompensieren.

Die Spurenelement- und die Vitaminvormischung wurde in einem Horizontal-Labormischer (Typ M20GREI, Fa. Lödige, Paderborn) angemischt. Die Mengenelementvormischung und die Aminosäurevormischung wurden auf Grund der größeren Menge in einem zweidimensional mischenden Präzisionsmischer (250, Fa. Dierks & Söhne, Osnabrück) angemischt. Die Zusammensetzung der einzelnen Vormischungen ist den Tabellen 4 bis 7 zu entnehmen.

Tabelle 4: Zusammensetzung der Mengenelementvormischung unter Berücksichtigung der nativen Gehalte in den Hauptkomponenten der Diät

Element	Fehlbedarf (g/kg Diät)	Verbindung	Molekulargewicht (g/Mol)	Elementgehalt (%)	eingesetzte Menge (g/kg VM)
Ca	3,88	(CaHPO ₄	172,05	23,29	539,22
P	3,00	x 2H ₂ O)		18,00	
Ca	2,82	CaCO ₃	100,1	40,00	227,95
Na	1,00	NaCl	58,44	39,32	82,28
Cl	1,54	NaCl	58,44	60,66	

Tabelle 5: Zusammensetzung der Spurenelementvormischung

Spurenelement	Zusatz (mg/kg Diät)	Verbindung	Molekulargewicht (g/Mol)	Elementgehalt (%)	eingesetzte Menge (mg/kg VM)
I	0,2	KI	166,00	76,45	0,119
Se	0,3	Na ₂ SeO ₃	188,93	41,80	0,326
Cu	6	CuSO ₄ x 5 H ₂ O	249,70	25,45	10,716
Mn	15	MnSO ₄ x 4 H ₂ O	223,06	24,63	27,682
Fe	100	FeSO ₄ x 7 H ₂ O	278,00	20,08	226,367

Tabelle 6: Zusammensetzung der Vitaminvormischung

Vitamin	Zusatz / kg Diät*	Verbindung	eingesetzte Menge g/kg VM
Folsäure (mg)	0,380	Microvit B9 Supra 100, 97%	0,098
D3 (IE)	575	Microvit D3 Promix 500, 500.000 IE/g	0,288
B1 (mg)	1,96	Microvit B1 Promix Thiamine Mono, 98%	0,499
K3 (mg)	0,575	Microvit K3 Promix MNB 96%, 43,7%	0,329
B6 (mg)	3,45	Microvit B6 Promix Pyridoxine 99%	0,871
B12 (mg)	0,046	Microvit B12 Promix 1000 0,1%	1,15
A, IE	4600	Microvit A Promix1000, 1.000.000IE/g	1,15
Biotin (H) (mg)	0,104	Microvit H Promix Biotin, 2%	1,29
B2 (mg)	5,06	Microvit B2 Supra 80, 80%	1,58
Pantothensre (mg)	15,0	Microvit B5 Promix D-Calpan 98%	3,81
Nikotinsre (mg)	23,0	Microvit B3 Promix Niacin 99,5%	5,78
E (IE)	18,4	Rovimix E 50 - AS 50% (500 mg E/g)	9,20
Cholinchlorid (g)	1,15	Cholin 50%	575,00

* GfE-Empfehlungen (GfE 2006) plus 15 % Sicherheitszuschlag

Tabelle 7: Zusammensetzung der Aminosäurevormischung unter Berücksichtigung der nativen Gehalte der Hauptkomponenten der Diät

Verbindung	eingesetzte Menge der Verbindung		
	Fehlbedarf AS (g/kg Diät)	(g/kg Diät)	(g/kg VM)
Tryptophan (98%)	0,3	0,31	20,67
L-Threonin (98%)	0,94	0,96	64,00
DL-Methionin (98%)	1,25	1,28	85,33
Lysin- HCl (78% Lysin)	9	11,54	769,23

3.7 Probennahme

3.7.1 Wägung

Alle Tiere wurden einmal zu Versuchsbeginn und von da an in wöchentlichem Rhythmus gewogen, um die Zunahmen zu überwachen. Die Waage (EB35EDE, Fa. Sartorius, Göttingen) besaß eine spezielle Funktion zur Tierwägung, mit welcher der Mittelwert aus 10 Wiegungen ermittelt wird, um durch Tierbewegungen bedingte Schwankungen auszugleichen. Die Wiegung erfolgte jeweils morgens nach 14-stündiger Nüchterung.

3.7.2 Blut

An Tag 0, Tag 14 und Tag 28 wurden nach 14-stündiger Nüchterung Blutproben genommen. Hierbei wurde unter manueller Fixation der Ferkel das Blut mit 70 mm x 0,9 mm Kanülen und heparinisierten Monovetten (Fa. Sarstedt) aus der *Vena jugularis* entnommen. Aus dem heparinisierten Vollblut wurden Proben zur Bestimmung des Hämoglobin- und Hämatokritgehalts entnommen. Anschließend wurde das Vollblut 10 min bei 2.540 x g und 4 °C zentrifugiert (Varifuge RF, Hareaus, Hanau) und das Plasma abgenommen.

3.7.3 Futter

Von jedem Mischdurchgang wurde eine repräsentative Probe gezogen. Zink wurde in jeder dieser Proben analysiert. Für die Weender Analyse und die weiteren Mineralstoffuntersuchungen wurde aus den Einzelproben jeder Ration eine Poolprobe erstellt.

3.7.4 Stoffwechselperiode

Während der beiden Stoffwechselperioden von Versuchstag 7 bis 13 und von Versuchstag 21 bis 27 wurden Kot und Urin tierindividuell und quantitativ gesammelt. Beginn und Ende jeder Sammelperiode war jeweils 7:30 Uhr morgens vor der ersten Fütterung. Der Kot wurde täglich komplett entnommen und eingefroren. Am Ende der Sammelperiode wurden die Kotproben der einzelnen Tage gewogen, homogenisiert und eine Mischprobe je Tier und Stoffwechselperiode gebildet. Der Urin wurde zweimal täglich gesammelt und filtriert, um ihn von Futterresten und Borsten zu trennen. Es wurde bei jeder Sammlung ein Aliquot von jeweils 10% entnommen und einer individuellen Poolprobe zugeführt. Die Kot- und Urinproben wurden bis zum Beginn der Analysen bei -20 °C gelagert.

3.7.5 Schlachtung und Organentnahme

Am 28. Versuchstag wurden die Tiere geschlachtet, nachdem sie über Nacht genüchert worden waren. Die Betäubung erfolgte mit einem Bolzenschussapparat. Anschließend wurden die Tiere durch Eröffnung der *Vena cava cranialis* entblutet. Unmittelbar nach Eintreten des Todes wurden die Organe entnommen. Die Organe wurden mit physiologischer NaCl-Lösung gereinigt und folgende Proben eingefroren: Das Pankreas wurde aufgrund der geringen Größe komplett eingefroren. Duodenum und Ileum wurden jeweils in vier gleichlange Abschnitte eingeteilt. Vom Jejunum wurden aufgrund der größeren Länge die mittleren 40 cm in vier Abschnitte eingeteilt. Für die Mineralstoffanalysen wurde jeweils immer der erste Abschnitt verwendet, von den zweiten und dritten Abschnitten wurde mit Hilfe eines Objekträgers die Mucosa abgetragen und in autoklavierten Cups für die spätere MT-mRNA-Expressionsbestimmung eingefroren. Der vierte Abschnitt wurde als Rückstellprobe für eventuelle Nachmessungen ebenfalls eingefroren. Der rechte Leberlappen wurde jeweils für die Mineralstoffanalytik eingefroren, und der linke Leberlappen wurde mittig geteilt, um direkt an der Schnittstelle zwei Proben für die mRNA-Extraktion zu entnehmen. Die Borsten wurden mit einer Edelstahlklinge am Rücken hinter den Schulterblättern entnommen.

Als Knochen für die Mineralstoffanalytik wurde der *Os metacarpus IV* der rechten Klaue verwendet. Zunächst wurde die komplette Klaue eingefroren und in einen zweiten Schritt der Knochen entnommen, von sämtlichen Geweberesten befreit und für die Herstellung der Aschelösung im Muffelofen bei 550°C verascht. Alle Proben wurden bis zum Beginn der Analysen bei -80°C gelagert.

3.8 Analysenmethoden

3.8.1 Weender Analyse

Alle Einzelanalysen der Rohnährstoffe der Versuchsdäten erfolgten nach dem Methodenhandbuch des Verbandes Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (BASSLER 1976).

Trockenmasse (TM) und Rohasche (XA)

Die Trockenmasse wurde durch die Trocknung von 3 g Probe bei 103°C über Nacht bestimmt. Zur Bestimmung der Rohasche wurde eine Einwage von 3 g bei 550°C über Nacht verascht.

Rohprotein (XP)

Der Stickstoffgehalt wurde nach dem Kjeldahl-Verfahren ermittelt. Hierfür wurde 1 g der Versuchsdät mit konzentrierter Schwefelsäure und Katalysatoren gekocht, wodurch der organisch gebundene Stickstoff in Ammoniumsulfat überführt wurde. Nach Zugabe von Natronlauge wurde der Stickstoff als Ammoniak flüchtig und mit Hilfe einer Destillationsapparatur in einer Vorlage von 20 ml Schwefelsäure als Ammoniumsulfat gebunden. Der nicht zur Ammoniakbindung verbrauchte Säureanteil wurde titrimetrisch mit Natronlauge bestimmt. In einem weiteren Schritt wurde die Stickstoffmenge und damit der Eiweißgehalt rechnerisch mit dem Faktor 6,25 bestimmt.

Rohfett (XL)

Für die Rohfettbestimmung wurden 3 g Probe mit siedender 4 N HCl für 1 h aufgeschlossen, abgekühlt und nach Zusetzen von Kieselgur (Celite 545, Roth) filtriert. Der getrocknete Rückstand wurde mit n-Hexan 2,5 h in einem Extraktionsapparat (Extraction System B-811, Büchi, Schweiz) nach dem Prinzip einer Soxhlet-Henkel-Apparatur extrahiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurde der Rückstand für 1,5 h bei 100 °C getrocknet, ausgekühlt und zurückgewogen.

Rohfaser (XF)

Für die Rohfaserbestimmung wurden 3 g Probe nacheinander mit siedender 5%iger H_2SO_4 und 5%iger KOH behandelt. Der jeweilige Rückstand wurde mit Aluminiumoxidwatte filtriert und mit heißem Wasser ausgespült. Die Aluminiumoxidwatte wurde zweimal mit Aceton gewaschen, bei 140 °C getrocknet, gewogen, 2 h bei 700 °C verascht und wieder gewogen. Der Masseverlust beim Veraschen entspricht dem Rohfasergehalt der Probe

3.8.2 Bestimmung des Phytinsäuregehaltes

Der Phytinsäuregehalt wurde mittels „high performance liquid“ Chromatographie (HPLC) bestimmt (NEUSSER und PALLAUF 1988). Um die Phytinsäure (PA) in Lösung zu bringen, wurden je 2 g Futterprobe gemahlen und mit 2,4% iger HCl inkubiert. Diese Suspension wurde filtriert und das Filtrat auf Anionenaustauschersäulen (Adsorbex, Fa. Varian Inc.) gegeben, um die PA von weiteren Stoffen zu separieren. Durch Zugabe einer definierten Menge 0,5 M Phosphatpuffer wurde die PA aus den Säulen eluiert und die Konzentration in einem weiteren Arbeitsschritt mittels HPLC bestimmt.

3.8.3 Mineralstoffanalytik

Nassveraschung

Die Proben der verschiedenen Organe sowie die Borsten wurden zur Vorbereitung der Mineralstoffanalyse nass verascht. Hierfür wurden von Leber, Pankreas, Duodenum, Jejunum und Ileum jeweils 1 g und von den Borsten 0,5 g eingewogen und in konzentrierter HNO_3 verascht. Im Anschluss daran wurden die Lösungen über aschefreie Blaubandfilter filtriert und auf 25 – 50 ml aufgefüllt, so dass die Konzentration der Säure 2,8 N HNO_3 entsprach.

Trockenveraschung

Die Diäten sowie die Knochen wurden nach einer Vortrocknung bei 103°C über Nacht bei 550°C im Muffelofen verascht. Die Kotproben wurden vor der Veraschung, die ebenfalls bei 550°C durchgeführt wurde, gefriergetrocknet und vermahlen. Die Asche wurde in 2,5 -5 mL 3N HNO_3 gelöst und über einen aschefreien Blaubandfilter filtriert und im Anschluss daran um den Faktor 10 verdünnt.

Harn

Zur AAS-Messung wurden 2,5 mL Harn in ein Reagenzröhrchen pipettiert und im Eisbad 1,8 mL 69%ige HNO_3 sowie 5,7 mL aqua bidest. hinzugegeben. Um Schwebstoffe zu entfernen, wurden die Proben bei 4 °C und 5000 U/min für 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde für die Messung am AAS verwandt.

Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-AES)

Die Messung der Ca-, P-, Mg-, Fe-, Cu-, Zn- und Mn-Gehalte in der Diät, den Faeces sowie in allen Organproben erfolgte durch ICP-AES (Unicam 701 Emission Spectrometer). Zur Messung wurden die zuvor beschriebenen Aufschlüsse eingesetzt. Nach jeweils 10 Messungen erfolgte eine Überprüfungsmessung an einem Standard, um die Wiederfindungsraten für die folgenden Proben zu ermitteln. Zudem wurden zu Beginn jedes Durchlaufs zur Qualitätssicherung NIST-Standards sowie institutseigene Standards, welche zuvor mit NIST-Standards abgeglichen worden waren, gemessen.

Atomabsorptionspektrometrie (AAS)

Da verschiedene Komplikationen bei der ICP-AES Messung auftraten, wurden einige Proben zur Kontrolle mit dem AAS (Atomabsorptionsspektrometrie; Gerät: Thermo S2 AA System) gemessen. Besonders beim Harn machten Schwebeteilchen in der Lösung die Messung am ICP-AES unmöglich und beim Knochen kam es zu Problemen durch die hohen Ca- und P-Konzentrationen. Nachmessungen erfolgten bei den Elementen Zn, Fe und Cu.

Zur Messung am AAS wurden dieselben Lösungen verwendet wie für die Messungen am ICP-AES. Die Proben wurden zur Messung direkt von dem Gerät eingesaugt und in einer Luft-Acetylen-Flamme bei 700 °C atomisiert. Die Messung der Absorption der verschiedenen Elemente erfolgte bei den in Tabelle 8 angegebenen Wellenlängen und sonstigen Einstellungen.

Tabelle 8: Technische Parameter der Messung am AAS

Element	Wellenlänge (nm)	Spaltbreite (nm)	Lampenstrom (mA)	Brenner (mm)	Durchfluss (L/min)	Brennerhöhe
Zn	213,9	0,5	7,5	100	1,1	4
Fe	248,4	0,2	7,5	100	1	3
Cu	324,8	0,5	7,5	100	1,1	3,9

Die Konzentration wurde anhand der in Tabelle 9 beschriebenen Eichkurven berechnet. Zur Qualitätskontrolle wurden des Weiteren NIST-Standards oder institutseigene Referenzproben, die zuvor mit NIST-Standards abgeglichen worden waren, mitgemessen.

Tabelle 9: Eichkurven zur Messung am Atomabsorptionsspektrometer

Probenmatrix	Element	Eichpunkte (mg/L)				
		EP 1	EP 2	EP 3	EP 4	EP 5
Knochen	Zn	0,5	1	3	-	-
	Fe	0,1	0,3	0,5	1	-
	Cu	0,025	0,05	0,075	1	-
Urin	Zn	0,1	0,2	0,3	0,5	-
	Fe	0,05	0,1	0,2	0,3	-
	Cu	0,025	0,05	0,075	0,1	-
Leber	Zn	0,5	1	2	3	5
	Cu	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5
Pankreas	Zn	0,5	1	2	-	-
Jejunum	Zn	0,5	1	2	-	-
	Cu	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5
Ileum	Fe	0,1	0,3	0,5	1	-
Borsten	Fe	0,1	0,3	0,5	1	-
	Cu	0,05	0,1	0,2	0,3	0,5

3.8.4 Bestimmung der Plasma-Zinkkonzentration und der freien Zinkbindungskapazität

Die Bestimmung der freien Zinkbindungskapazität als prozentualer Anteil der gesamten Zinkbindungskapazität wurde mit leichten Modifikationen nach der Methode von KINCAID und CRONRATH (1979) durchgeführt. Hierfür wurden parallel einmal 0,1 mL und einmal 0,2 mL Blutplasma eingesetzt. Im ersten Ansatz wurde nach 1:1 Verdünnung durch 0,1 M HCl die Zinkkonzentration direkt photometrisch am Atom-Absorptions-Spektrometer (AAS) bestimmt. Dem zweiten Ansatz wurden 0,2 mL ZnCl₂-Lösung zugesetzt, so dass freie Zinkbindungsstellen im Plasma abgesättigt wurden. Nicht gebundenes Zink wurde im Anschluss durch die Zugabe von 30 mg Magnesiumhydroxidcarbonat ausgefällt und abzentrifugiert. Vom Überstand wurden 0,2 mL abgenommen, mit 1,8 mL 0,1 molarer HCL verdünnt, um die gesamte Zinkbindungskapazität am AAS zu bestimmen. Die freie Zinkbindungskapazität berechnet sich nach der folgenden Formel aus dem Zinkgehalt des Plasmas (ZnPI) und der gesamten Zinkbindungskapazität (ZBK):

$$\text{Freie ZBK (\%)} = [(ZBK - \text{ZnPI}) * 100] / ZBK$$

3.8.5 Aktivität der alkalischen Phosphatase

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase (AP) wurde mit einer Methode basierend auf den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR KLINISCHE CHEMIE 1972) bestimmt. Der Nachweis beruht auf folgender Reaktion, die durch die AP katalysiert wird:



Die Konzentration des gelbgefärbten Endproduktes p-Nitrophenol ist photometrisch bestimmbar. Die Extinktion wird bei 405 nm und 25 °C viermal in einem Abstand von je einer Minute gemessen und damit die durchschnittliche Extinktionszunahme je Minute ($\Delta E_{(405\text{nm})}/\text{min}$) errechnet. Die Berechnung der Enzymaktivität erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{mU/mL (25 °C)} = 2757 * \Delta E_{(405\text{nm})}/\text{min}$$

Für jede Probe wurde der Durchschnittswert aus je drei parallelen Messungen herangezogen. Eine Dreifachmessung wurde akzeptiert, wenn der Variationskoeffizient innerhalb der Messung unter 5% lag.

3.8.6 Messung der differentiellen Genexpression des Metallothioneins mittels RT-PCR

Die Untersuchung der Genexpression erfolgt mittels zweistufiger RT-PCR, die als erste Stufe die reverse Transkription (RT) der mRNA in cDNA und als zweite Stufe die genspezifische Amplifikation der cDNA mittels PCR umfasst. Zunächst musste für die Durchführung RNA aus den entsprechenden Geweben isoliert werden.

Da RNA sehr schnell durch RNAsen abgebaut wird, wurde nach der Trennung der RNA vom Guanidinpuffer (dieser hemmt RNAsen) bis zum Abschluss der Transkription auf Eis gearbeitet, und es wurden ausschließlich RNase-freie Einwegmaterialien und sterilisierte Geräte verwendet. Alle in diesem Bereich verwendeten Lösungen wurden mit Diethylpyrocarbonat behandeltem Wasser (DEPC-H₂O) angesetzt.

RNA-Isolierung nach CHOMCZYNSKI und SACCHI (1987)

Die RNA-Extraktion erfolgte nach einer miniaturisierten Variante der sauren Phenol-Chloroform-Guanidinthiocyanat-Methode (CHOMCZYNSKI und SACCHI 1987), welche am Institut für Tierernährung weiterentwickelt wurde.

Hierfür wurden 1,3 bis 2,3 mg des tiefgefrorenen Probenmaterials in autoklavierte 2 mL Cups eingewogen, mit 600 µL eines Guanidinpuffers versetzt und mit einem Ultrathurax (Art-Micra D-8) homogenisiert. Im Anschluss daran wurden 60 µL 2 M Natriumacetat-Lösung (pH 4,0), 600 µL gesättigte Phenollösung und 225 µL Chloroform-Isoamyl-Gemisch (49:1) hinzugegeben und die Probe mit Hilfe eines Vortex für eine Minute gründlich durchmischt. Danach wurde das Gemisch für 15 min auf Eis ruhen gelassen und für 40 min in einer gekühlten Eppendorf-Cupzentrifuge (Labofuge 400R von Heraeus Instruments) bei 2°C und 8.500 U/min zentrifugiert.

Die zentrifugierte Probe weist drei Phasen auf, bei denen die oberste, wässrige Phase die RNA enthält. Die RNA-haltige Phase wurde in ein neues Cup überführt, zur Ausfällung mit 600µL eisgekühltem Isopropanol versetzt und bei -20°C über Nacht eingefroren. Am nächsten Tag wurde die ausgefällte RNA für 30 min in einer gekühlten Eppendorf-Cupzentrifuge abzentrifugiert und nach Abgießen der überständigen Isopropanolphase das RNA-Pellet durch zweimaliges Überspülen mit eisgekühltem Ethanol gereinigt. Das RNA-Pellet wurde im Anschluss daran in einer Vakuumzentrifuge (Radiant Cover RC110B; Savant) für 30 min getrocknet, und je nach Pelletgröße mit 15 – 30 µL DEPC-H₂O gelöst.

Die Konzentration und Reinheit der gewonnenen RNA wurde photometrisch überprüft, indem 2,5 µL der RNA-Lösung mit 1000 µL DEPC-H₂O verdünnt und die Extinktion bei 260 nm und 280 nm gegen DEPC-H₂O als Blindwert gemessen wurden. Die Reinheit der RNA ergibt sich aus dem Quotienten beider Extinktionen, der zwischen 1,6 und 1,8 liegen sollte. Die RNA-Konzentration wurde dann mit folgender Formel berechnet:

$$\text{RNA-Konzentration } (\mu\text{g} / \mu\text{L}) = \text{Ex}_{260} * V * F$$

(F = Multiplikationsfaktor der RNA-Messung = 0,04
V = Verdünnung = 401)

Anschließend wurden aus DEPC-H₂O und der gelösten RNA neue Lösungen mit einer definierten RNA-Konzentration von 1,5 µg/µL hergestellt.

Zur Beurteilung der Intaktheit der RNA wurden Teile der Proben mit einem Denaturierungsansatz in einem 1,5% igen Agarosegel elektrophoretisch aufgetrennt. Hierzu wurden 5 µg RNA mit 3,5 µL Formaldehyd, 10,0 µL Formamid und 2,0 µL 50xTAE-Puffer im Thermocycler für 10 min bei 70°C denaturiert und anschließend auf Eis abgeschreckt. Die RNA wurde mit 2 µL Ethidiumbromidlösung (1 mg/mL) angefärbt und mit Hilfe von glycerin- und bromphenolhaltigem Ladepuffer in ein 1,5%iges Agarosegel gegeben und bei 120V für 60 min aufgetrennt.

Reverse Transkription

Um aus der zuvor gewonnenen RNA nun cDNA (copy DNA) zu erzeugen, wurde ein cDNA Synthesekit der Fa. MBI Fermentas eingesetzt (K 1622), das mit der Reversen Transkriptase „Revert Aid“ arbeitet. Das Kit wurde gemäß den Herstellerangaben angewandt. Von den Proben wurde eine jeweils 5 µg RNA enthaltende Menge eingesetzt. Zum Start der Transkription wurden unspezifisch bindende oligo(dT)Primer eingesetzt, so dass die komplette mRNA transkribiert wurde.

Im ersten Reaktionsschritt kommt es zur Denaturierung der RNA und zur Anlagerung der Primer. Hierfür wurde die RNA zusammen mit den Primern und DEPC-behandeltem Wasser im Thermocycler für 5 min auf 70°C erhitzt und anschließend schnell auf Eis abgekühlt. Im nächsten Schritt werden ein Reaktionspuffer, ein Ribonucleasehemmer und ein dNTP-Mix auf die Proben gegeben und auf 37°C erhitzt. Wenn die Temperatur erreicht ist, wird das Enzym zur reversen Transkription „Revert Aid“ hinzu gegeben. Für die Synthese werden die Reaktionsansätze nun für 60 min auf 42°C erhitzt. Zur Beendigung der Reaktion wurden die Proben dann noch einmal für 10 min auf 70°C erhitzt und anschließend zügig auf 4°C abgekühlt.

Die so gewonnene cDNA wurde dann bis zu den weiteren Analysen bei -80°C gelagert.

Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Für die semiquantitative PCR wurde β -Actin als „Housekeeping-Gene“ eingesetzt, da bekannt ist, dass es beim Schwein in den zu untersuchenden Geweben auf konstantem Niveau exprimiert wird (NYGARD et al. 2007). Zur PCR wurde das Kit „peqGOLD Taq-DNA-Polymerase all inclusive“ der Firma Peqlab eingesetzt, das Polymerase, Magnesiumchlorid, einen Reaktionspuffer sowie einen Nucleotidmix enthält.

Die für die Reaktion benötigten Primer wurden mit der freien Software „Primer3“ erstellt (Metallothionein) bzw. der Publikation von NYGARD et al. (2007) entnommen (β -Actin). Hierbei wurde beachtet, dass die Länge der zu amplifizierenden Sequenzen sowie die Schmelztemperaturen der beiden Primerpaare ähnlich waren.

Die verwendeten Primer sowie die Länge des entstehenden Produktes und die verwendete Annealingtemperatur sind in Tabelle 10 zu finden.

Tabelle 10: Verwendete Primer und Annealingtemperaturen sowie die Amplifikatlänge

mRNA	Primer	Amplifikatlänge	Annealingtemperatur
β-Actin	fw cac gcc atc ctg cgt ctg ga	380 bp	61 °C
	rev agc acc gtg ttg gcg tag ag		
Metallothionein	fw ctc tct gct tgg tct cac ct	322 bp	58 °C
	rev tca cag aaa aag gga tgt agc		

Zur Durchführung der PCR wurde je nach Gewebe 1-2 µL cDNA und folgender PCR-Ansatz verwendet:

2,5 µL	10fach Puffer
2 µL	MgCl ₂
1,9 µL	dNTP-Mix
1,25 µL	Vorwärts-Primer
1,25 µL	Rückwärts-Primer
0,14 µL	Taq Polymerase
Ad 25 µL	DEPC-H ₂ O.

Zur Inkubation im Thermocycler wurde folgende Temperaturfolge gewählt:

Initiale Denaturierung:	95 °C	2:00 min
Denaturierung:	95 °C	0:30 min
30x Annealing:	s.Tab.10	0:35 min
Elongation:	72 °C	0:45 min
Finale Elongation:	72 °C	2:00 min.

Auswertung

Zur Auswertung wurden die PCR-Produkte in 1,5%igen Agarosegelen mit 0,024% Ethidiumbromid bei 80 Volt für etwa 30 Minuten elektrophoretisch aufgetrennt. Die durch das Ethidiumbromid markierten und im UV-Licht fluoreszierenden Banden konnten im Phosphorimager mit Hilfe eines computergestützten Kamerasystems (SynGene, Gene Flash) aufgenommen werden.

Die optische Dichte (OD) der einzelnen Banden wurde mit Hilfe einer speziellen Software (SynGene, GeneTools) erfasst. Zur Auswertung wurde für jede Probe ein Quotient aus der OD des Metallothioneins und der OD des Housekeeping Gens β -Actin gebildet, der die relative OD des Metallothioneins angibt.

3.9 Statistische Auswertungen

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm IBM SPSS Statistics 19 verwendet. Die Prozedur „explorative Datenanalyse“ wurde verwendet um die Daten auf ihre Verteilung zu untersuchen. Zur Überprüfung der Normalverteilung wurden die Tests KLOMOGOROW-SMIRNOW und SHAPIRO-WILK verwendet, sowie Box-Plot Diagramme visuell ausgewertet (JANSSEN und LAATZ 2007).

Zur statistischen Auswertung eine einfache Varianzanalyse gewählt, für die die GLM-Prozedur verwendet wurde. Mit Ausnahme der im Folgenden erwähnten Sonderfälle, wurde für alle anderen Daten folgendes Modell zugrunde gelegt:

$$y_{hij} = \mu + gew_h + diät_i + e_{ij},$$

mit y_{ij} = gemessenes Merkmal des Individuums

μ = Mittelwert,

gew = Ausgangsgewicht als Kovariable, wenn signifikant

$diät_i$ = fixer Effekt der Diät i ($i = ZnSO_4, ZnGly, ZnMet, ZnAc$)

e_{ij} = zufälliger Restfehler.

Das Ausgangsgewicht zeigte nur bei der Entwicklung der Lebendmasse einen signifikanten Einfluss und wurde daher bei den anderen Merkmalen aus dem Modell entfernt. Die Daten für die Expression der MT-mRNA und die Mineralstoffgehalte in den Dünndarmabschnitten wurden mit folgendem Modell ausgewertet:

$$Y_{ijk} = \mu + diät_i + darm_j + diät_i * darm_j + e_{ijk}$$

mit $\mu, diät_i, e_{ijk} = s.o.$,

$darm_j$ = Darmabschnitt ($j = Duodenum, Jejunum, Ileum$) sowie

$diät_i * darm_j$ = Interaktion zwischen Diät und Darmabschnitt

Die Prüfung auf Vorliegen der Varianzhomogenität erfolgte durch den LEVENE-Test ($p \geq 0,05$). Signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen wurden im Falle homogener Varianzen mit dem TUKEY-Test ermittelt. Bei fehlender Varianzhomogenität wurde der GAMES-HOWELL-Test verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Analyse der Versuchsdäten

4.1.1 Zinkgehalt der Versuchsdäten

Die Zinkgehalte der Versuchsdäten sowie der native Zinkgehalt der Ration sind in Tabelle 1 aufgeführt. Die Zinkgehalte der ZnSO₄- der ZnGly- sowie der ZnAc-Gruppe liegen nahe am angestrebten Bereich von 70 mg Zn je kg Futter. In der ZnMet-Gruppe gibt es mit 76,5 mg eine merkliche Abweichung nach oben.

Tabelle 11: Mittelwerte ± Standardabweichungen der Zinkgehalte in den Versuchsdäten (mg/kg FM)

	Zinkgehalt (mg/kg FM)				
	Nativ	ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc
Zn (mg / kg)	20,21 ± 0,19	68,59 ± 1,54	68,52 ± 4,24	76,47 ± 1,35	69,03 ± 0,69

4.1.2 Weitere Inhaltsstoffe der Versuchsdäten

Tabelle 12 zeigt die Ergebnisse der Weender Analyse, den Phytinsäuregehalt der Diäten sowie die Gehalte der wichtigsten Mengen- und Spurenelemente. Die Werte lagen im Wesentlichen in den angestrebten Bereichen.

Tabelle 12: Mittlere Nährstoff- und Mineralstoffgehalte der Versuchsdäten

Analysierte Parameter in der Diät	g/kg FM		mg/kg FM
Trockenmasse (TM)	884,9	Eisen	176,8
Rohprotein (XP)	186,6	Mangan	26,5
Rohfaser (XF)	38,1	Kupfer	12,0
Rohfett (XL)	43,7		
Rohasche (XA)	49,2		
Phosphor	6,0		
Phytinsäure	5,5		
Calcium	7,7		
Magnesium	1,2		

Die analytisch bestimmten Gehalte von Rohfaser und Rohfett lagen mit 38,1 bzw. 43,7 g/kg etwas niedriger als die auf Grundlage verschiedener Tabellenwerte erwarteten Konzentrationen von 44,1 bzw. 50,3 g/kg (NRC 1998; GfE 2006; SOUCI et al. 2007). Auch die Gehalte an Calcium und Phosphor lagen etwas unter den erwarteten Werten, erfüllten aber trotzdem die Versorgungsempfehlungen nach GfE und NRC (GfE 2006; NRC 1998).

4.2 Produktionsparameter

4.2.1 Futteraufnahme

Die Mittelwerte (\bar{x}), Standardabweichungen (SD) sowie Minima und Maxima der Futteraufnahme in den einzelnen Versuchswochen sowie in der gesamten Versuchsperiode sind in Tabelle 13 wiedergegeben. Die Tiere Nr. 4 und 5 (beide Gruppe ZnSO₄) zeigten in der ersten Woche eine sehr niedrige Futteraufnahme. Da sie in der Blutuntersuchung deutlich erniedrigte Hämoglobinkonzentrationen zeigten, wurde die Ferkelanämie als Ursache für die niedrige Futteraufnahme angesehen. Die Ferkel erhielten eine Eiseninjektion, wurden aber von der statistischen Analyse zu diesem Zeitpunkt ausgeschlossen. Im folgenden Versuchsablauf gab es keine weiteren Ausschlüsse.

Tabelle 13: Deskriptive Statistik zur durchschnittlichen täglichen Futteraufnahme

Zeit	Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme (kg)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Woche 1	34	0,158	0,0288	0,081	0,204
Woche 2	36	0,288	0,0558	0,181	0,408
Woche 3	36	0,345	0,0715	0,180	0,457
Woche 4	36	0,550	0,1164	0,329	0,741
Gesamter Zeitraum	36	0,334	0,0619	0,209	0,426

Die Daten waren zu allen Zeitpunkten normal verteilt und die Varianzen in den einzelnen Gruppen homogen. Die korrigierten Randmittel, die Standardfehler und die Ergebnisse des F-Testes aus der Varianzanalyse sind in Tabelle 14 dargestellt. In der zweiten Versuchswoche zeigen sich signifikante Einflüsse der Zinkverbindung auf die Futteraufnahme. Die Futteraufnahme in den Gruppen ZnGly und ZnAc war signifikant höher als in der Zinksulfatgruppe. Bei Betrachtung des gesamten Versuchszeitraumes bleibt die Überlegenheit der ZnGly-Gruppe signifikant.

Tabelle 14: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der durchschnittlichen täglichen Futtermittelaufnahme der Ferkel im Versuchsverlauf

Zeit		Durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme (kg)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
Woche 1	LS-M	0,1384	0,1642	0,1602	0,1629	p = 0,274
	SE	0,0107	0,0095	0,0095	0,0095	
Woche 2	LS-M	0,2404 ^a	0,3281 ^b	0,2831 ^{ab}	0,3019 ^b	p = 0,004
	SE	0,0158	0,0158	0,0158	0,0158	
Woche 3	LS-M	0,3178	0,3904	0,3127	0,3604	p = 0,058
	SE	0,0222	0,0222	0,0222	0,0222	
Woche 4	LS-M	0,4844	0,5922	0,5344	0,5887	p = 0,156
	SE	0,0374	0,0374	0,0374	0,0374	
Gesamter Zeitraum	LS-M	0,2913 ^a	0,3688 ^b	0,3226 ^{ab}	0,3536 ^{ab}	p = 0,032
	SE	0,0188	0,0188	0,0188	0,0188	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$ nach Tukey an.

4.2.2 Lebendmasseentwicklung

Einen Überblick über die Daten zur Lebendmasseentwicklung der Ferkel sowie zu den durchschnittlichen täglichen Zunahmen geben Tabellen 15 und 16. Zu der Analyse der Gewichte vom 21. Versuchstag sowie für die täglichen Zunahmen der dritten Versuchswoche wurde das Tier 23 (ZnMet-Gruppe) ausgeschlossen, da es in dieser Woche an einem fiebrigen Infekt erkrankt war und dementsprechend niedrige Zunahmen aufwies. Die Daten der Gewichte waren zu allen Zeitpunkten annähernd normalverteilt und die Varianzen in den Gruppen homogen. Bei den durchschnittlichen täglichen Zunahmen waren mit Ausnahme der Daten am Ende der ersten Versuchswoche ebenfalls alle Daten normalverteilt.

Tabelle 15: Deskriptive Statistik für die Lebendmasseentwicklung der Versuchstiere

Versuchstag (d)	Lebendmasse (kg)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
d 0	36	6,46	0,565	5,19	7,36
d 7	36	7,28	0,661	5,62	8,29
d14	36	8,81	0,857	6,97	10,34
d 21	35	10,83	1,108	8,63	12,46
d 28	36	13,85	1,787	10,51	16,45

Tabelle 16: Deskriptive Statistik für die durchschnittlichen täglichen Zunahmen der Versuchstiere

Zeit	Durchschnittliche tägliche Zunahmen (kg)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Woche 1	34	0,124	0,0390	0,031	0,174
Woche 2	36	0,217	0,0622	0,077	0,329
Woche 3	35	0,286	0,0603	0,165	0,380
Woche 4	36	0,441	0,1099	0,123	0,633
Gesamter Zeitraum	36	0,264	0,0568	0,136	0,355

Die Ergebnisse der Varianzanalyse sind in den Tabellen 17 und 18 dargestellt. Bei der statistischen Analyse der Lebendmasse wurde zusätzlich das Ausgangsgewicht als Kovariable berücksichtigt. Ab der Wägung an Tag 14 sind die Ferkel in der ZnGly-Gruppe signifikant schwerer als in der Kontrollgruppe. Diese Entwicklung bleibt über den gesamten Versuchszeitraum bestehen. Bei Versuchsende beträgt der Gewichtsunterschied zwischen diesen beiden Gruppen nahezu zwei Kilogramm, wie Tabelle 17 zeigt.

Tabelle 17: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die Lebendmasse der Versuchstiere während der 28-tägigen Versuchsperiode

Versuchstag (d)		Lebendmasse (kg)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
d7	LS-M	7,05	7,42	7,39	7,29	p = 0,085
	SE	0,107	0,107	0,107	0,107	
d14	LS-M	8,32 ^a	9,29 ^b	8,80 ^{ab}	8,82 ^{ab}	p = 0,012
	SE	0,190	0,190	0,190	0,190	
d21	LS-M	10,16 ^a	11,48 ^b	10,52 ^{ab}	10,90 ^{ab}	p = 0,010
	SE	0,285	0,285	0,285	0,286	
d28	LS-M	12,81 ^a	14,78 ^b	13,57 ^{ab}	14,23 ^{ab}	p = 0,043
	SE	0,487	0,487	0,487	0,487	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$ nach Bonferroni an.

Erläuternd zu Tabelle 17 zeigt Tabelle 18 die durchschnittlichen täglichen Zunahmen in den vier Versuchswochen und im Gesamtzeitraum. An diesen Daten wird noch einmal deutlich, dass die Gewichtsunterschiede zwischen der ZnGly- und der ZnSO₄-Gruppe durch höhere Zunahmen in der 2. Versuchswoche verursacht werden.

Tabelle 18: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die täglichen Zunahmen der Versuchstiere in den einzelnen Fütterungsgruppen

Zeit		Durchschnittliche tägliche Zunahmen (kg)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	Gruppe ZnMet	ZnAc	
Woche 1 ¹	LS-M	0,1073	0,1359	0,1322	0,1174	p = 0,444
	SE	0,0148	0,0131	0,0131	0,0131	
Woche 2	LS-M	0,1818 ^a	0,2669 ^b	0,2013 ^{ab}	0,2190 ^{ab}	p = 0,019
	SE	0,0186	0,0186	0,0186	0,0186	
Woche 3	LS-M	0,2628	0,3139	0,2654	0,2986	p = 0,207
	SE	0,0196	0,0196	0,0208	0,0196	
Woche 4	LS-M	0,3784	0,4709	0,4347	0,4781	p = 0,202
	SE	0,0357	0,0357	0,0357	0,0357	
Gesamter Zeitraum	LS-M	0,2267 ^a	0,2970 ^b	0,2531 ^{ab}	0,2783 ^{ab}	p = 0,042
	SE	0,0175	0,0175	0,0175	0,0175	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$ nach Tukey an.

¹ Die Daten zu diesem Zeitpunkt sind nicht normalverteilt.

4.2.3 Futtermittelverwertung

Tabelle 19 beschreibt die Daten für die Futtermittelverwertung. Es sind Mittelwerte, Standardabweichungen sowie Minima und Maxima angegeben. In den ersten zwei Wochen waren die Daten nicht normalverteilt. In Woche drei wurde Tier Nr. 23 (Gruppe ZnMet) wie auch bei den vorherigen Analysen aufgrund der Erkrankung ausgeschlossen. In Woche vier und auch bei der Analyse des Gesamtzeitraumes zeigte Tier 5 (Gruppe ZnSO₄) eine sehr schlechte Futtermittelverwertung. Bei der Schlachtung zeigte sich, dass es an einer fibrinösen Pneumonie litt. Daher wurde es ebenfalls von der statistischen Auswertung in diesen Zeiträumen ausgeschlossen.

Tabelle 19: Deskriptive Statistik der Futtermittelverwertung

Zeit	Futtermittelverwertung (kg Futter / kg Zuwachs)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Woche 1	36	1,482	0,8140	0,922	5,276
Woche 2	36	1,401	0,3662	0,980	3,040
Woche 3	35	1,237	0,1242	1,000	1,490
Woche 4	35	1,243	0,1033	1,020	1,480
Gesamter Zeitraum	35	1,268	0,0887	1,130	1,470

Die Ergebnisse der Varianzanalyse in Tabelle 20 zeigen deutlich, dass die Zinkverbindung keinen Einfluss auf die Futtermittelverwertung hat.

Tabelle 20: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die Futtermittelverwertung (kg Futter/ kg Zunahme) in den vier Versuchsgruppen

Zeit		Futtermittelverwertung (kg Futter / kg Zuwachs)				F-Test
		Gruppe				
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
Woche 1	LS-M	1,449	1,236	1,377	1,738	p = 0,620 ¹
	SE	0,3094	0,2729	0,2729	0,2729	
Woche 2	LS-M	1,498	1,239	1,470	1,398	p = 0,454 ¹
	SE	0,1226	0,1226	0,1226	0,1226	
Woche 3	LS-M	1,224	1,253	1,254	1,217	p = 0,898
	SE	0,0430	0,0430	0,0456	0,0430	
Woche 4	LS-M	1,235	1,273	1,227	1,234	p = 0,790
	SE	0,0376	0,0355	0,0355	0,0355	
Gesamter Zeitraum	LS-M	1,261	1,248	1,287	1,274	p = 0,825
	SE	0,0324	0,0305	0,0305	0,0305	

¹ Diese Daten sind nicht normalverteilt.

4.3 Hämoglobingehalt und Hämatokritwert

Die Ergebnisse der Blutuntersuchungen mit Mittelwerten, Standardabweichungen sowie Minima und Maxima sind in Tabelle 21 dargestellt. Die Tiere Nr. 4 und 5 aus der ZnSO₄-Gruppe fielen bei der ersten Blutuntersuchung durch deutlich erniedrigte Hämoglobingehalte und Hämatokritwerte auf (Tier 4: Hb = 7,9 g/dL, Hk = 25%; Tier 5: Hb = 4,6 g/dL, Hk = 19%). Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist dies auf eine mangelnde Eisenzufuhr im Herkunftsbetrieb zurückzuführen. Daher wurden diese Tiere aus der statistischen Auswertung ausgeschlossen. Im Anschluss an die erste Blutentnahme wurde diesen Tieren in der ersten Versuchswoche eine Eiseninjektion verabreicht. Neben der Analyse der Hämoglobin- und Hämatokritgehalte der ersten Blutentnahme wurden diese Tiere daher auch für die späteren Analysen des Eisengehaltes verschiedener Organe ausgeschlossen. Die entsprechenden Werte sind jedoch in den Anhangstabellen zu finden.

Tabelle 21: Deskriptive Statistik des Hämoglobingehaltes und des Hämatokritwertes

Versuchstag (d)	Hämoglobin (g/dL)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
d 0	34	11,42	0,995	7,83	13,67
d14	36	10,31	0,904	7,94	11,89
d 28	36	9,37	0,848	7,57	11,06
Versuchstag (d)	Hämatokrit (%)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
d 0	34	37,55	2,866	29,00	45,33
d14	36	32,88	2,586	26,33	38,00
d 28	36	31,15	2,141	26,33	35,67

In Tabelle 22 sind die Randmittel der verschiedenen Gruppen und die Ergebnisse des F-Testes der Varianzanalyse dargestellt. Es zeigt sich, dass bei der dritten Blutentnahme der Hämoglobinwert der Gruppen ZnGly und ZnAc tendenziell höher als in der Gruppe ZnMet ist.

Tabelle 22: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für Hämoglobinkonzentration (g/dL) und Hämatokritwert (%) der Versuchstiere in den vier Versuchsgruppen

Versuchstag (d)		Hämoglobin (g/dL)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
d0	LS-M	11,48	11,40	11,48	11,33	p = 0,988
	SE	0,393	0,347	0,347	0,347	
d14	LS-M	10,32	10,27	10,22	10,44	p = 0,965
	SE	0,314	0,314	0,314	0,314	
d28	LS-M	9,22	9,73	8,82	9,74	p = 0,053
	SE	0,263	0,263	0,263	0,263	
Versuchstag (d)		Hämatokrit (%)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
d0	LS-M	38,90	37,67	37,46	36,48	p = 0,433
	SE	1,086	0,958	0,958	0,958	
d14	LS-M	33,31	34,33	31,93	31,96	p = 0,139
	SE	0,828	0,828	0,828	0,828	
d28	LS-M	31,19	31,96	29,74	31,70	p = 0,117
	SE	0,682	0,682	0,682	0,682	

4.4 Zink- Eisen- und Kupferbilanzen

4.4.1 Zinkaufnahme

Tabelle 23 gibt einen Überblick über die ermittelten Daten zur Zinkaufnahme während der zwei siebentägigen Stoffwechselperioden von Versuchstag 7 bis 14 sowie von Versuchstag 21 bis 28. Die Daten sind homogen und normalverteilt nach SHAPIRO-WILK und KOLMOGOROV-SMIRNOV. Es wurden keine Ausreißer ausgeschlossen.

Tabelle 23: Deskriptive Statistik für die Daten der Zinkaufnahme

Zeitpunkt	Zinkaufnahme (mg / 7 Tage)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Periode 1	36	140,6	25,5	89,2	186,5
Periode 2	36	275,8	59,0	163,0	362,8

In Tabelle 24 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse dargestellt. Es zeigt sich in der ersten Stoffwechselperiode ein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung. Er spiegelt im Wesentlichen die Unterschiede in der Futteraufnahme wieder. Die ZnGly- sowie die ZnMet-Gruppe hatten eine signifikant höhere Zinkaufnahme als die ZnSO₄-Gruppe. Im Gegensatz zur Futteraufnahme war die Zinkaufnahme in der ZnMet-Gruppe jedoch höher als in der ZnAc-Gruppe. Dies ist durch den leicht höheren Zinkgehalt der ZnMet-Diät begründet.

Tabelle 24: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkaufnahme (mg) während der zwei je sieben Tage dauernden Sammelperioden für die vier Versuchsgruppen

Zeitpunkt		Zinkaufnahme (mg / 7Tage)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
Periode 1	LS-M	118,6 ^a	150,0 ^b	149,1 ^b	144,6 ^{ab}	p < 0,001
	SE	7,65	7,65	7,65	7,65	
Periode 2	LS-M	233,7	295,4	286,1	288,1	p = 0,095
	SE	18,65	18,65	18,65	18,65	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von p<0,05 nach Tukey an.

4.4.2 Zinkexkretion

Die Daten der Zinkexkretion über Faeces und Urin sind in Tabelle 25 dargestellt. Die Daten sind normalverteilt nach SHAPIRO-WILK und KOLMOGOROV-SMIRNOV und die Varianzen der Daten zwischen den verschiedenen Gruppen sind homogen. Es wurden keine Ausreißer ausgeschlossen.

Tabelle 25: Deskriptive Statistik für die Daten der Zinkausscheidung über Kot und Urin in den beiden Sammelperioden

	Zinkausscheidung (mg)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Faeces					
Periode 1	36	102,5	23,90	64,4	162,3
Periode 2	36	180,0	44,26	92,7	262,7
Urin					
Periode 1	36	1,745	0,3423	0,970	2,550
Periode 2	36	2,670	0,5331	1,620	3,630

Die Ergebnisse der Varianzanalyse (Tabelle 26) zeigen für die Zinkausscheidung über die Faeces, ebenso wie bei der Zinkaufnahme, dass in der ersten Stoffwechselperiode ein signifikanter Einfluss der gefütterten Zinkverbindung besteht. Die Gruppen in denen ZnGly bzw. ZnMet gefüttert wurde, haben im Vergleich zur ZnSO₄-Gruppe signifikant höhere Mengen an Zink aufgenommen, scheiden aber auch signifikant höhere Mengen aus. Die Zinkausscheidung über den Urin zeigt im Gegensatz dazu nur in der zweiten Stoffwechselperiode einen signifikanten Einfluss der Zinkverbindung. Hier ist die ausgeschiedene Menge für die ZnSO₄-Gruppe signifikant niedriger als für die ZnGly-Gruppe.

Tabelle 26: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkausscheidung (mg) über Faeces und Urin während der zwei Sammelperioden für die vier Fütterungsgruppen

		Zinkausscheidung (mg)				
		Gruppe				
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	F-Test
Faeces						
Periode 1	LS-M	82,18 ^a	112,93 ^b	110,11 ^b	104,89 ^{ab}	p < 0,001
	SE	7,15	7,15	7,15	7,15	
Periode 2	LS-M	166,83	189,93	169,86	193,48	p = 0,482
	SE	14,86	14,86	14,86	14,86	
Urin						
Periode 1	LS-M	1,64	2,08	1,76	1,71	p = 0,162
	SE	0,14	0,14	0,14	0,14	
Periode 2	LS-M	2,21 ^a	2,94 ^b	2,74 ^{ab}	2,80 ^{ab}	p = 0,014
	SE	0,16	0,16	0,16	0,16	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von p<0,05 nach Tukey an.

4.4.3 Zinkretention

In Tabelle 27 sind die Ergebnisse der Zinkretention als absolute Menge (mg), als prozentualer Anteil des aufgenommenen Zinks und als mg Zink je kg Zuwachs an Lebendmasse dargestellt. Alle Daten sind normalverteilt und die Varianzen zwischen den Gruppen homogen. Es wurden keine Tiere von der Analyse ausgeschlossen.

Tabelle 27: Deskriptive Statistik für die Daten der Zinkretention in den beiden Sammelperioden

	Zinkretention				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Absolut (mg)					
Periode 1	36	36,23	14,12	1,02	66,14
Periode 2	36	93,15	29,77	35,32	157,29
Prozentual (%)					
Periode 1	36	25,97	9,06	0,61	48,57
Periode 2	36	33,70	8,32	19,45	57,95
mg je kg Zuwachs					
Periode 1	36	25,57	11,92	0,55	63,97
Periode 2	36	30,55	7,49	18,63	48,35

Im Gegensatz zur Zinkaufnahme und Zinkausscheidung zeigt sich bei der Varianzanalyse der Retention (Tab. 28) in der ersten Periode kein Einfluss der verabreichten Zinkquelle. Dies macht deutlich, dass sich die Effekte bei Zinkaufnahme und Zinkausscheidung in Periode 1 ausgleichen und damit die retinierte Menge Zink nicht beeinflusst wird.

In der zweiten Periode hingegen zeigt sich ein signifikanter Einfluss. Die absolute Zinkretention steigt in der Reihenfolge $\text{ZnSO}_4 < \text{ZnAc} < \text{ZnGly} < \text{ZnMet}$ deutlich an. Bei der Zinkretention in % der Aufnahme zeigt sich mit einem signifikanten Anstieg von ZnSO_4 (27,3%) über ZnAc (32,6%) und ZnGly (34,4%) bis zu ZnMet (40,4%) die gleiche Reihenfolge. Bei der Zinkretention je kg Körperzuwachs zeigt sich in Periode 1 kein klarer Trend. In der zweiten Periode zeigt sich jedoch ebenso wie bei den anderen Bezugsgrößen ein klarer Anstieg.

Von der ersten zur zweiten Stoffwechselperiode steigt die Menge an retiniertem Zink deutlich an, sowohl bei der absoluten als auch bei der relativen Menge.

Tabelle 28: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkretention während der zwei Stoffwechselperioden für die vier Fütterungsgruppen

		Zinkretention				
		Gruppe				
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	F-Test
Absolut (mg)						
Periode 1	LS-M	34,74	34,99	37,18	38,02	p = 0,954
	SE	4,899	4,899	4,899	4,899	
Periode 2	LS-M	64,68 ^a	102,56 ^b	113,54 ^b	91,82 ^{ab}	p = 0,001
	SE	8,160	8,160	8,160	8,160	
Prozentual (%)						
Periode 1	LS-M	29,24	23,20	24,83	26,61	p = 0,550
	SE	3,058	3,058	3,058	3,058	
Periode 2	LS-M	27,30 ^a	34,42 ^{ab}	40,45 ^b	32,62 ^{ab}	p = 0,005
	SE	2,377	2,377	2,377	2,377	
mg je kg Zuwachs						
Periode 1	LS-M	30,67	18,63	27,06	25,91	p = 0,184
	SE	3,858	3,858	3,858	3,858	
Periode 2	LS-M	25,58 ^a	31,02 ^{ab}	37,48 ^b	28,14 ^{ab}	p = 0,002
	SE	2,085	2,085	2,085	2,085	

4.4.4 Eisen- und Kupferaufnahme

In Tabelle 29 sind die Daten für die Eisen- und Kupferaufnahme dargestellt. Die Daten sind normalverteilt nach SHAPIRO-WILK und KOLMOGOROV-SMIRNOV. Die Varianzen der Daten zwischen den verschiedenen Gruppen sind homogen. Es wurden keine Ausreißer ausgeschlossen.

Tabelle 29: Deskriptive Statistik der Daten zur Eisen- und Kupferaufnahme während den beiden Stoffwechselperioden

	Eisen- und Kupferaufnahme (mg)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Fe					
Periode 1	36	357,0	69,1	224,0	505,2
Periode 2	36	680,6	144,1	407,0	917,5
Cu					
Periode 1	36	23,63	4,57	14,83	33,44
Periode 2	36	45,04	9,54	26,93	60,71

Es zeigt sich für beide Spurenelemente ein signifikanter Einfluss der Fütterungsgruppe in der ersten Sammelperiode (Tab. 30). Die Unterschiede spiegeln im Wesentlichen die Unterschiede in der Futteraufnahme wieder.

Tabelle 30: Randmittel (LS-M) sowie Standardfehler der Eisen- und Kupferaufnahme während der zwei Sammelperioden für die verschiedenen Fütterungsgruppen

		Eisen- und Kupferaufnahme (mg)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	Gruppe ZnMet	ZnAc	
Fe						
Periode 1	LS-M	297,65 ^a	406,25 ^b	350,48 ^{ab}	373,40 ^b	p = 0,004
	SE	19,61	19,61	19,61	19,61	
Periode 2	LS-M	599,46	732,72	661,56	728,58	p = 0,157
	SE	46,36	46,36	46,36	46,36	
Cu						
Periode 1	LS-M	19,70 ^a	26,89 ^b	23,20 ^{ab}	24,72 ^b	p = 0,004
	SE	1,30	1,30	1,30	1,30	
Periode 2	LS-M	39,67	48,49	43,78	48,21	p = 0,157
	SE	3,07	3,07	3,07	3,07	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$ nach Tukey an.

4.4.5 Eisen- und Kupferexkretion

Die Mittelwerte und Standardabweichungen für die Eisen- und Kupferexkretion über Faeces und Urin sind in Tabelle 31 dargestellt. Die Eisen- und Kupferausscheidungen über die Faeces sind zu beiden Zeitpunkten normalverteilt, es bestand aber in der zweiten Periode bei beiden Elementen keine Varianzhomogenität. Die Daten zur Eisen- und Kupferexkretion über den Urin wiesen in der zweiten Periode einige Ausreißer auf, so wurden bei der Eisenexkretion zu diesem Zeitpunkt die Tiere 14 und 16 (Gruppe ZnGly) und bei der Kupferexkretion das Tier 1 (Gruppe ZnSO₄) nicht mit in die Untersuchung einbezogen. Möglicherweise wurden diese Ausreißer durch Verunreinigungen mit Kot oder Futterresten verursacht. Die Daten waren aber mit Ausnahme der renalen Eisenexkretion in der zweiten Stoffwechselperiode normalverteilt und die Varianzen der einzelnen Gruppen homogen.

Tabelle 31: Deskriptive Statistik der Eisen- und Kupferexkretion während der beiden Sammelperioden

	Eisenexkretion (mg)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Faeces					
Periode 1	36	255,1	62,04	153,6	399,7
Periode 2	36	451,1	117,63	220,3	719,6
Urin					
Periode 1	36	0,167	0,0823	0,039	0,431
Periode 2	34	0,229	0,1373	0,038	0,527
	Kupferexkretion (mg)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Faeces					
Periode 1	36	17,2	4,08	10,8	28,6
Periode 2	36	30,5	7,71	15,8	44,3
Urin					
Periode 1	36	0,039	0,0107	0,017	0,056
Periode 2	35	0,011	0,0048	0,001	0,022

Die Ergebnisse der Varianzanalyse (Tab. 32) zeigen für die Eisen- sowie für die Kupferexkretion über den Kot in der ersten Stoffwechselperiode einen signifikanten Einfluss der gefütterten Zinkverbindung. In der zweiten Stoffwechselperiode lässt sich hingegen kein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung feststellen. Bei der renalen Exkretion zeigt sich nur hinsichtlich der Eisenexkretion in der ersten Stoffwechselperiode eine signifikante Erhöhung durch ZnGly.

Tabelle 32: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die Eisen- und Kupferexkretion über Faeces und Urin während der zwei Sammelperioden

		Eisen- und Kupferexkretion (mg)				
		ZnSO ₄	ZnGly	Gruppe ZnMet	ZnAc	F-Test
Eisen						
Faeces						
Periode 1	LS-M	297,65 ^a	406,25 ^b	350,48 ^{ab}	373,40 ^{ab}	p = 0,025
	SE	19,61	19,61	19,61	19,61	
Periode 2	LS-M	419,63	483,11	397,76	503,76	p = 0,174
	SE	37,99	37,99	37,99	37,99	
Urin						
Periode 1	LS-M	0,13	0,20	0,16	0,17	p = 0,395
	SE	0,03	0,03	0,03	0,03	
Periode 2	LS-M	0,17 ^a	0,39 ^b	0,21 ^a	0,19 ^a	p = 0,003
	SE	0,04	0,04	0,04	0,04	
Kupfer						
Faeces						
Periode 1	LS-M	14,15 ^a	20,36 ^b	16,97 ^{ab}	17,35 ^{ab}	p = 0,009
	SE	1,19	1,19	1,19	1,19	
Periode 2	LS-M	28,03	33,59	27,18	33,06	p = 0,169
	SE	2,49	2,49	2,49	2,49	
Urin						
Periode 1	LS-M	0,0399	0,0413	0,0333	0,0412	p = 0,343
	SE	0,0035	0,0035	0,0035	0,0035	
Periode 2	LS-M	0,0129	0,0115	0,0117	0,0093	p = 0,508
	SE	0,0017	0,0016	0,0016	0,0016	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$ nach Tukey an.

4.4.6 Eisen- und Kupferretention

Die Daten zur Eisen- und Kupferretention sind in Tabelle 33 und 34 aufgeführt. Sowohl die Eisen- als auch die Kupferretention steigen von der ersten zur zweiten Stoffwechselperiode im absoluten Umfang deutlich an. Auch die Retention in % steigt im Mittel an. Die Daten sind zu beiden Zeitpunkten normalverteilt, und die Varianzen zwischen den Versuchsgruppen homogen. Es wurden keine Ausreißer ausgeschlossen.

Tabelle 33: Deskriptive Statistik der Eisenretention in mg und in % der aufgenommenen Menge in den beiden Sammelperioden

	Eisenretention				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Absolut (mg)					
Periode 1	36	101,73	40,74	-1,53	216,77
Periode 2	36	229,27	66,54	88,98	358,36
Prozentual (%)					
Periode 1	36	28,63	9,58	-0,38	49,27
Periode 2	36	33,92	8,15	15,80	54,69

Tabelle 34: Deskriptive Statistik der Kupferretention in mg und in % der aufgenommenen Menge in den beiden Sammelperioden

	Kupferretention				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Absolut (mg)					
Periode 1	36	6,38	2,68	1,21	12,98
Periode 2	36	14,53	4,42	6,72	26,12
Prozentual (%)					
Periode 1	36	27,00	9,58	4,05	51,28
Periode 2	36	32,44	7,92	20,53	47,48

Die Randmittelwerte und Standardfehler der Eisenretention für alle Fütterungsgruppen sind in Tabelle 35 zu sehen. In der ersten Stoffwechselperiode zeigt sich kein Effekt der verabreichten Zinkverbindung. In der zweiten Stoffwechselperiode ist die Eisenretention in der ZnMet-Gruppe jedoch signifikant höher als in der ZnSO₄- Vergleichsgruppe. Die bezieht sich sowohl auf die absolut retinierte Menge als auch auf die Retention in Prozent der Eisenaufnahme.

Tabelle 35: Randmittel (LS-M) und Standardfehler der retinierten Eisenmenge (absolut und als % der Aufnahme) in den zwei Sammelperioden

		Eisenretention				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
Absolut (mg)						
Periode 1	LS-M	93,66	124,19	90,56	98,51	p = 0,289
	SE	13,405	13,405	13,405	13,405	
Periode 2	LS-M	179,67 ^a	249,18 ^{ab}	263,59 ^b	224,62 ^{ab}	p = 0,033
	SE	20,280	20,280	20,280	20,280	
Prozentual (%)						
Periode 1	LS-M	31,31	30,47	25,77	26,95	p = 0,567
	SE	3,236	3,236	3,236	3,236	
Periode 2	LS-M	29,38 ^a	33,58 ^{ab}	40,49 ^b	32,24 ^{ab}	p = 0,021
	SE	2,447	2,447	2,447	2,447	

In Tabelle 36 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse für die Kupferretention wiedergegeben. Hier zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei der Eisenretention. Die Unterschiede in der zweiten Stoffwechselperiode sind nicht signifikant, deuten sich aber tendenziell an.

Tabelle 36: Randmittel (LS-M) und Standardfehler der retinierten Kupfermenge (absolut und als % der Aufnahme) in den zwei Sammelperioden

		Kupferretention				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
Absolut (mg)						
Periode 1	LS-M	5,51	6,48	6,20	7,32	p = 0,567
	SE	0,905	0,905	0,905	0,905	
Periode 2	LS-M	11,59	14,84	16,56	15,12	p = 0,102
	SE	1,399	1,399	1,399	1,399	
Prozentual (%)						
Periode 1	LS-M	27,70	23,88	26,41	30,01	p = 0,606
	SE	3,246	3,246	3,246	3,246	
Periode 2	LS-M	28,81	30,46	38,23	32,25	p = 0,056
	SE	2,459	2,459	2,459	2,459	

4.5 Zinkstatus

4.5.1 Zinkgehalt im Plasma

In Tabelle 37 sind die Mittelwerte, Standardabweichungen sowie Minima und Maxima des Plasma-Zinkgehaltes zu den verschiedenen Zeitpunkten aufgeführt. Die Daten sind normalverteilt und die Varianzen der einzelnen Gruppen bis auf die Daten von Tag 14 homogen.

Tabelle 37: Deskriptive Statistik der Plasma-Zinkkonzentration

Versuchstag (d)	Plasma-Zinkkonzentration (mg/L)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
d 0	36	0,618	0,077	0,453	0,741
d14	36	0,534	0,081	0,385	0,747
d 28	36	0,656	0,114	0,416	0,915

Tabelle 38 zeigt die Ergebnisse der Varianzanalyse für den Plasma-Zinkgehalt. Da die Fehlervarianzen an Tag 14 nicht homogen waren, wurde die Signifikanz der Unterschiede zwischen den Fütterungsgruppen zu diesem Zeitpunkt nach GAMES-HOWELL getestet, an den anderen Zeitpunkten dagegen nach TUKEY.

Am Tag 14 ist die Plasma-Zinkkonzentration der Ferkel in der ZnMet-Gruppe signifikant höher als die der Ferkel in der ZnSO₄-Gruppe. Am Tag 28 hingegen, dem Versuchsende, ist die Plasma-Zinkkonzentration bei den Ferkeln der ZnAc-Gruppe erhöht. Generell wird deutlich, dass die Plasma-Zinkkonzentration zur Versuchsmitte hin abgefallen und am Ende wieder angestiegen ist.

Tabelle 38: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkkonzentration im Plasma der Versuchstiere in den vier Versuchsgruppen

Versuchstag (d)		Plasma-Zinkkonzentration (mg/L)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	Gruppe ZnMet	ZnAc	
d0	LS-M	0,61	0,62	0,60	0,64	p = 0,799
	SE	0,027	0,027	0,027	0,027	
d14 ^{x)}	LS-M	0,47 ^a	0,53 ^{ab}	0,57 ^b	0,56 ^{ab}	p = 0,021
	SE	0,024	0,024	0,024	0,024	
d28 ^{xx)}	LS-M	0,58 ^a	0,67 ^{ab}	0,66 ^{ab}	0,75 ^b	p = 0,043
	SE	0,039	0,039	0,039	0,039	

^{x)} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$ nach Games-Howell an.

^{xx)} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von $p < 0,05$ nach Tukey an.

4.5.2 Freie Zinkbindungskapazität im Plasma

Die Ergebnisse der freien Zinkbindungskapazität im Plasma der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahmen zeigt Tabelle 39. Die Daten sind normalverteilt und die Varianzen zwischen den Gruppen homogen. Es wurden keine Tiere von der Analyse ausgeschlossen.

Tabelle 39: Deskriptive Statistik der freien Zinkbindungskapazität

Versuchstag (d)	Freie Zinkbindungskapazität (%)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
d 0	36	81,92	2,748	76,38	87,56
d14	36	83,24	3,585	72,99	88,10
d 28	36	80,61	3,188	71,99	85,46

Die Ergebnisse der Varianzanalyse sind in Tabelle 40 dargelegt. Zu Versuchsbeginn gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Am Versuchstag 14 ist die Sättigung der Zinkbindekazität in den Gruppen ZnMet und ZnAc signifikant höher als in der Kontrollgruppe Zinksulfat. Am Versuchsende (Tag 28) sind jedoch keine Unterschiede zwischen den Gruppen nachweisbar.

Die Gruppen ZnSO₄ und ZnGly haben zur Versuchsmitte hin einen deutlichen Anstieg in der freien ZBK was auf einen leichten Zinkmangel hinweist, bei den Gruppen, die ZnMet und ZnAc als Zinkquelle erhielten, bleibt diese Erhöhung aus.

Tabelle 40: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) für die freie Zinkbindungs-kapazität im Plasma der Versuchstiere der vier Fütterungsgruppen

Versuchstag (d)		Freie Zinkbindungskapazität (%)				F-Test
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	
d0	LS-M	81,88	81,23	82,86	81,72	p = 0,661
	SE	0,935	0,935	0,935	0,935	
d14	LS-M	86,82 ^c	84,43 ^{bc}	80,39 ^a	81,31 ^{ab}	p < 0,001
	SE	0,864	0,864	0,864	0,864	
d28	LS-M	81,57	81,34	79,40	80,15	p = 0,444
	SE	1,066	1,066	1,066	1,066	

^{a,b} Verschiedene Hochbuchstaben zu einem Zeitpunkt zeigen signifikante Unterschiede von p<0,05 nach Tukey an.

4.5.3 Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahmen zeigt die Tabelle 41. Die Daten sind zu allen Zeitpunkten normalverteilt und die Varianzen in den einzelnen Gruppen homogen. Zum Zeitpunkt der 2. Blutentnahme wurde bei Tier Nr. 14 (Gruppe ZnGly) eine extrem hohe Aktivität gemessen. Da das Tier bei den anderen beiden Zeitpunkten unauffällig war, wurde dieser Wert als Messfehler ausgeschlossen.

Tabelle 41: Deskriptive Statistik für die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Plasma

Versuchstag (d)	Aktivität der alkalischen Phosphatase (U/L)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
d 0	36	509	124,4	291	712
d14	35	318	93,2	173	591
d 28	36	281	64,6	176	432

In Tabelle 42 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse angegeben. Die vorliegenden Daten zeigen deutlich, dass die gefütterte Zinkverbindung keinen Einfluss auf die Aktivität der alkalischen Phosphatase hat. Darüber hinaus zeigt sich generell ein deutlicher Abfall der Aktivität im Versuchsverlauf, wie er für wachsende Organismen typisch ist.

Tabelle 42: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Aktivität der Alkalischen Phosphatase im Plasma zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahmen

Versuchstag (d)		Aktivität der alkalischen Phosphatase (U/L)				
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc	F-Test
d0	LS-M	522	512	550	451	p = 0,401
	SE	41,4	41,4	41,4	41,4	
d14	LS-M	331	331	313	298	p = 0,872
	SE	32,2	34,1	32,2	32,2	
d28	LS-M	303	267	276	277	p = 0,682
	SE	22,0	22,0	22,0	22,0	

4.5.4 Ausgewählte Spurenelementgehalte in Leber, Knochen und Borsten

Tabelle 43 zeigt die Zink-, Eisen- und Kupferkonzentrationen in Leber, Niere und Knochen der Versuchstiere. Die Daten sind annähernd normalverteilt und die Varianzen zwischen den Gruppen homogen. Vereinzelt fielen Proben durch extrem hohe Werte auf, die möglicherweise durch eine Kontamination der Proben verursacht wurden, und wurden deshalb aus den Analysen ausgeschlossen (Tier 5 bei Zinkgehalt Leber, Tier 1 bei Zinkgehalt Borste). Des Weiteren wurden die Tiere 4 und 5, die in der ersten Versuchswoche eine Eiseninjektion erhielten, von der Auswertung ausgeschlossen, da sie in allen untersuchten Organen durch hohe Fe-Werte auffielen.

Tabelle 43: Deskriptive Statistik der Zn-, Fe- und Cu-Gehalte in Leber, Knochen und Borste zu Versuchsende

	Zink-, Eisen- und Kupferkonzentrationen				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Zink					
Leber (mg/kg TM)	35	149	28,6	84,9	210,4
Knochen (mg/kg XA)	36	151	34,4	100,8	213,7
Borste (mg/kg TM)	35	197	14,08	163,6	232,1
Eisen					
Leber (mg/kg TM)	34	264	109	114	572
Knochen (mg/kg XA)	34	66,0	19,3	34,7	119,3
Borste (mg/kg TM)	34	Messwerte unterhalb Eichkurve			
Kupfer					
Leber (mg/kg TM)	36	59,7	27,6	19,2	134,2
Knochen (mg/kg XA)	36	2,57	0,76	1,43	4,24
Borste (mg/kg TM)	36	Messwerte unterhalb Eichkurve			

In Tabelle 44 sind die Ergebnisse der Varianzanalyse dargestellt. Die Daten zeigen deutlich, dass die verabreichte Zinkverbindung weder Einfluss auf den Zinkgehalt noch auch den Eisen- oder Kupfergehalt von Leber und Knochen hat. Auch die Zinkkonzentration der Borsten zeigte keine Abhängigkeit von der gefütterten Zinkverbindung.

Tabelle 44: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zink-, Eisen- und Kupferkonzentrationen von Leber, Knochen und Borste zu Versuchsende

		Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration				F-Test
		ZnS04	ZnGly	Gruppe ZnMet	ZnAc	
Zink						
Leber	LS-M	146,8	140,5	159,8	147,4	p = 0,559
(mg /kg TM)	SE	10,23	9,64	9,64	9,64	
Knochen	LS-M	165,3	146,2	142,5	150,8	p = 0,535
(mg / kg XA)	SE	11,59	11,59	11,59	11,59	
Borste	LS-M	201,8	193,6	195,5	196,7	p = 0,687
(mg / kg TM)	SE	5,093	4,802	4,802	4,802	
Eisen						
Leber	LS-M	283,1	223,2	279,8	273,7	p = 0,645
(mg /kg TM)	SE	41,86	36,92	36,92	36,92	
Knochen	LS-M	66,16	68,57	55,61	63,48	p = 0,371
(mg / kg XA)	SE	6,071	5,354	5,354	5,354	
Borste	LS-M	Messwerte unterhalb Eichkurve				
(mg / kg TM)	SE					
Kupfer						
Leber	LS-M	55,73	55,44	72,67	55,01	p = 0,465
(mg /kg TM)	SE	9,243	9,243	9,243	9,243	
Knochen	LS-M	2,690	2,962	2,260	2,373	p = 0,192
(mg / kg XA)	SE	0,2456	0,2456	0,2456	0,2456	
Borste	LS-M	Messwerte unterhalb Eichkurve				
(mg / kg TM)	SE					

4.5.5 Ausgewählte Spurenelementgehalte in den verschiedenen Dünndarmabschnitten

Mittelwerte, Standardabweichungen, Minima und Maxima der Zn-, Fe- und Cu-Gehalte in Duodenum, Jejunum und Ileum sind in Tabelle 45 aufgeführt. Vermutlich aufgrund von unzureichender Reinigung der Darmabschnitte oder Verunreinigungen im Analyseprozess zeigten einige Proben deutlich erhöhte Werte. Diese wurden von der statistischen Analyse ausgeschlossen. Die ausgeschlossenen Proben sind in den Anhangstabellen angegeben und entsprechend gekennzeichnet.

Tabelle 45: Deskriptive Statistik für die Zinkkonzentration in Duodenum, Jejunum und Ileum

	Zinkkonzentration im Dünndarmgewebe (mg/kg TM)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Zink					
Duodenum	30	89,85	18,75	53,65	146,4
Jejunum	36	96,01	7,44	78,78	110,6
Ileum	36	89,08	10,47	67,12	113,0
Eisen					
Duodenum	32	251,0	85,15	109,0	420,2
Jejunum	31	67,13	16,49	49,88	113,5
Ileum	33	45,69	8,61	33,47	68,22
Kupfer					
Duodenum	35	28,54	9,91	14,41	55,05
Jejunum	35	16,98	6,05	8,24	31,57
Ileum	32	45,69	8,61	33,47	68,22

Im Gegensatz zu den vorherigen Parametern wurde für die Analyse der Spurenelementgehalte im Dünndarm ein anderes statistisches Modell verwendet, das neben der Gruppe auch den Dünndarmabschnitt als fixen Effekt berücksichtigt. So wurde neben der Berechnung des Einflusses der verschiedenen Fütterungsgruppen auch die Berechnung des Einfluss des Dünndarmabschnittes sowie der Interaktion zwischen Dünndarmabschnitt und Fütterungsgruppe ermöglicht. Die Ergebnisse sind in Tabelle 46 abgebildet. Sowohl der Darmabschnitt, aus dem die Probe stammt, als auch die gefütterte Zinkverbindung haben einen signifikanten Einfluss auf die Konzentrationen von Zink, Eisen und Kupfer im

Darmgewebe. Bei Zink und Kupfer zeigte sich auch eine signifikante Wechselwirkung zwischen Zinkverbindung und Darmabschnitt.

Tabelle 46: Einfluss der Zwischensubjektfaktoren auf die Zn-, Fe- und Cu-Gehalte im Dünndarmgewebe

	Zwischensubjektfaktor	F-Test (p-Wert)
Zink	Gruppe	0,010
	Darmabschnitt	0,045
	Gruppe x Darmabschnitt	0,017
Eisen	Gruppe	0,047
	Darmabschnitt	< 0,001
	Gruppe x Darmabschnitt	0,272
Kupfer	Gruppe	0,001
	Darmabschnitt	<0,001
	Gruppe x Darmabschnitt	<0,001

Die Randmittelwerte der analysierten Konzentrationen an Zink, Eisen und Kupfer in den verschiedenen Darmabschnitten sind in Tabelle 47 aufgeführt. Zinksulfat verursachte die höchsten Zinkkonzentrationen direkt im Duodenum, während die anderen Verbindungen erst im Jejunum oder Ileum ihr Maximum erreichten. Auffällig ist, dass die Eisenkonzentrationen im Dünndarmgewebe aller drei Abschnitte für die Zinksulfatgruppe tendenziell erhöht waren.

Tabelle 47: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der Zinkkonzentrationen im Gewebe von Duodenum, Jejunum und Ileum

		Zinkkonzentration (mg/kg TM)			
		Gruppe			
		ZnSO ₄	ZnGly	ZnMet	ZnAc
Zink					
Duodenum	LS-M	105,21	91,94	91,69	77,85
	SE	5,235	4,425	3,902	3,902
Jejunum	LS-M	94,30	96,57	102,41	90,78
	SE	3,902	3,902	3,902	3,902
Ileum	LS-M	92,08	83,08	90,25	90,90
	SE	3,902	3,902	3,902	3,902
Eisen					
Duodenum	LS-M	313,4	231,2	241,2	228,6
	SE	18,34	17,15	17,15	16,17
Jejunum	LS-M	82,03	64,75	64,39	61,80
	SE	19,81	18,34	16,17	16,17
Ileum	LS-M	49,36	47,03	44,08	41,85
	SE	17,15	16,17	16,17	18,34
Kupfer					
Duodenum	LS-M	38,33	30,06	25,82	21,03
	SE	1,778	1,676	1,676	1,676
Jejunum	LS-M	9,48	24,36	18,05	15,19
	SE	1,778	1,676	1,676	1,676
Ileum	LS-M	5,862	5,688	5,939	6,642
	SE	1,778	1,901	1,778	1,676

4.5.6 Expression der Metallothionein mRNA

Die Mittelwerte, Standardabweichungen sowie Minima und Maxima sind in Tabelle 48 für die MT-mRNA Konzentrationen der Leber und der verschiedenen Dünndarmabschnitte dargestellt. Die Daten waren normalverteilt und zwischen den einzelnen Gruppen homogen in Bezug auf die Fehlervarianzen. Tier Nr. 31 (Gruppe ZnAc) musste aufgrund eines Messfehlers bei den Ergebnissen für das Ileum ausgeschlossen werden.

Tabelle 48: Deskriptive Statistik für die relative Metallothionein-mRNA Expression in verschiedenen Organen

Organ	Relative MT-mRNA-Expression (OD)				
	n	\bar{x}	SD	Min	Max
Leber	36	1,237	0,352	0,498	2,183
Duodenum	36	0,749	0,225	0,284	1,382
Jejunum	36	0,240	0,148	0,001	0,605
Ileum	35	0,357	0,235	0,037	1,066

Bei der statistischen Analyse der Expression der Metallothionein-mRNA wurde wie auch bei den Mineralstoffgehalten der Darmabschnitt als fixer Effekt betrachtet. Tabelle 49 zeigt die Signifikanz der Zwischensubjektfaktoren.

Tabelle 49: Einfluss der Zwischensubjektfaktoren auf die mRNA Konzentrationen in Duodenum, Jejunum, Ileum und Leber

Zwischensubjektfaktor	F-Test (p-Wert)
Dünndarm	
Gruppe	0,051
Darmabschnitt	0,001
Gruppe x Darmabschnitt	0,813
Leber	
Gruppe	0,121

Die Randmittelwerte als Ergebnisse der Varianzanalyse sind in Tabelle 50 wiedergegeben. Es zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Darmabschnitten. Die Zinkquelle hat jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die mRNA-Konzentration. Tendenziell zeigt sich aber, dass die mRNA-Konzentration in der ZnAc-Gruppe in zwei von drei Darmabschnitten am höchsten und in der ZnSO₄-Gruppe in allen drei Abschnitten am niedrigsten ist.

Tabelle 50: Randmittel (LS-M) und Standardfehler (SE) der relativen Expression der MT-mRNA in Leber, Duodenum, Jejunum und Ileum

Organ		Relative Metallothionein-mRNA-Expression (OD)			
		Gruppe			
		ZnS04	ZnGly	ZnMet	ZnAc
Leber	LS-M	1,455	1,223	1,064	1,207
	SE	0,112	0,112	0,112	0,112
Duodenum	LS-M	0,644	0,778	0,772	0,800
	SE	0,068	0,060	0,068	0,068
Jejunum	LS-M	0,207	0,223	0,254	0,270
	SE	0,068	0,060	0,068	0,068
Ileum	LS-M	0,237	0,302	0,459	0,437
	SE	0,068	0,068	0,068	0,072

5 Diskussion

5.1 Versuchsaufbau und Rationsgestaltung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Durchführung eines Fütterungsversuches mit praxisnaher Ration. Auf eine praxisnahe Haltung wurde verzichtet. Stattdessen wurden die Tiere in Stoffwechsellkäfigen gehalten, was eine genaue Berechnung der Zinkbilanzen und der scheinbaren Zinkverdaulichkeit ermöglichte.

Die Zinkzulage sollte im Bereich unterhalb der optimalen Versorgung liegen. Eine Nullgruppe wurde nicht eingerichtet. Eine Nullgruppe ohne Zinkzulage hätte zwar zu einer zusätzlichen Validierung der Meßmethoden und der Zinkempfindlichkeit der gewählten Meßparameter beitragen können. Da aber zu den eingesetzten Parametern der Zinkstatusmessung bereits umfangreiche Untersuchungen vorliegen (siehe Kapitel 2.4), und zudem in einer Mangelgruppe schwere Zinkmangelsymptome und damit eine erhebliche Beeinträchtigung der Tiergesundheit zu erwarten waren, wurde darauf verzichtet.

Bei der Rationsgestaltung wurde eine Zinkversorgung im marginalen Bereich angestrebt. Es wurde ein Gesamtzinkgehalt von 70 mg/kg der Diät eingesetzt, der je nach Alter der Tiere zwischen 70% und 87,5% der Versorgungsempfehlungen der GfE (GfE 2006) bzw. des NRC (NRC 1998) entsprach. Als bester verfügbarer Standard zur Überprüfung der Zinkversorgung gilt der Zinkgehalt im Plasma. Die Referenzwerte für den Plasma-Zinkgehalt liegen beim Schwein zwischen 10,71 und 22,95 µmol/L, was etwa 0,7-1,5 mg/L entspricht. Hierbei ist zu beachten, dass die Zinkkonzentration im Plasma bei Ferkeln am unteren Rand dieser Spanne liegt (PULS 1994; NERBAS 2008). In der vorliegenden Untersuchung lagen die Zinkgehalte im Plasma mit einer Ausnahme knapp unterhalb der Referenzwerte für Schweine. Das Ziel der marginalen Versorgung wurde also erreicht. Es zeigt sich zudem deutlich, dass das Defizit am 14. Versuchstag größer ist als am Versuchsende (Tag 28). Dies stimmt mit dem geringeren Versorgungsgrad zu Versuchsbeginn (70% der Versorgungsempfehlungen, später 87,5%) gut überein.

Bei der freien Zinkbindekapazität zeigt sich ein ähnliches Bild. Sie steigt zur Versuchsmitte hin an, was ein größeres Zinkdefizit zu diesem Zeitpunkt anzeigt. Bemerkenswert ist, dass die Produktionsparameter, im Besonderen die tägliche Zunahme, ebenfalls um den Zeitpunkt der Versuchsmitte signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen aufweisen, die gegen Versuchsende nicht mehr nachzuweisen sind. Dies stützt die allgemeine Hypothese, dass Unterschiede in der Verwertbarkeit verschiedener Zinkquellen im suboptimalen Versorgungsbereich besser nachzuweisen sind als bei ausreichender Versorgung.

Viele der Parameter, die erst am Versuchsende ermittelt wurden (z.B. Mineralstoffgehalte in den Organen), zeigen durchweg keinen Einfluss der Fütterungsgruppe. Möglicherweise hätten sich auch hier Unterschiede gezeigt, wenn der Versuch bereits nach zwei Wochen beendet worden wäre, oder zu diesem Zeitpunkt zumindest ein Teil der Tiere geschlachtet worden wäre. Eine weitere Lösung für dieses Problem hätte der Einsatz einer zweiten Ration mit reduziertem Zinkgehalt zum Versuchsende hin geboten. Dann wiederum läge der Zinkgehalt aber auf einem Niveau, bei dem der Anteil des zugesetzten Zinks in Relation zum nativen Zinkgehalt deutlich zurückgehen würde. Wird gegen Versuchsende ein Zinkbedarf von 80 mg/kg Futter unterstellt, und sollte der Versorgungsgrad von 70% wie zu Versuchsanfang betragen, so läge der Zinkgehalt der Diät bei 56 mg/kg. Die supplementierte Zinkverbindung würde dann jedoch nur noch einen Anteil von 63% des Gesamtzinks betragen, und mögliche Effekte könnten durch den nativen Zinkgehalt nivelliert werden. Daher wurde auf eine zweite Ration mit reduziertem Zn-Gehalt verzichtet.

Bei der Beurteilung der Bioverfügbarkeit von Spurenelementen spielt zudem die Zusammensetzung der Diät eine große Rolle. Besonderes Augenmerk sollte hier auf die Konzentration von komplexbildenden Substanzen und Antagonisten in der Diät gelegt werden. Bei Zink spielt vor allem die Phytinsäure (PA) als starker Komplexbildner eine entscheidende Rolle. Phytinsäure bindet die Zink-Ionen so fest, dass sie dem Organismus nicht mehr zur Absorption oder Reabsorption zur Verfügung stehen. Ab einem Gesamtgehalt von 0,5% der Ration oder einem molaren PA:Zn-Verhältnis von 10-15:1 kann die Anwesenheit von PA die Zinkabsorption beeinträchtigen (DAVIES und OLPIN 1979). Die Stabilität der PA-Zn-Komplexe wird durch die Anwesenheit von Calcium noch deutlich verstärkt.

Bei einem pH-Wert von 6, wie er im Dünndarm vorliegt, liegen bei einem molaren Verhältnis von 2:1:1 für Ca:PA:Zn bereits 98% des Zinks gebunden vor (OBERLEAS 1983).

Organisch gebundenes Zink soll in der Theorie zumindest zu einem Teil vor dieser Komplexierung geschützt sein. Daher wurden bei Studien über die Bioverfügbarkeit organischer Zinkverbindungen den Versuchsdiäten zum Teil Phytinsäure oder Komponenten mit hohem Phytinsäuregehalt, wie Weizenkleie, welche um die vorhandene Phytase zu deaktivieren zusätzlich autoklaviert wurde, zugesetzt (REYV et al. 2004; SCHLEGEL und WINDISCH 2006). In der vorliegenden Arbeit wurde bewusst auf einen solchen Zusatz verzichtet, um praxisrelevante Ergebnisse zu erhalten. Beim Zusatz von Calcium sowie möglicher Antagonisten wie Kupfer und Eisen wurden die Versorgungsempfehlungen berücksichtigt. Auf hohe Sicherheitszuschläge wurde verzichtet, um mögliche Verfälschungen der Ergebnisse zu verhindern. In Tabelle 51 sind die PA-, Zn-, und Calciumgehalte der Versuchsdiät sowie deren molare und Massenverhältnisse aufgeführt. Es wird deutlich, dass auch ohne Zusätze die Phytinsäure- und Calciumgehalte in einem Bereich liegen, bei dem mit erheblicher Beeinträchtigung der Zinkabsorption zu rechnen ist.

Tabelle 51: PA-, Zn- und Ca Gehalte der Diät sowie deren Massen- und molares Verhältnis

	Gehalt in der Diät (g/kg)	Massen- verhältnis		Molekular- gewicht (g/mol)	Gehalt in der Diät (mmol/kg)	Molares Verhältnis	
		:Zn ges.	:Zn nativ			:Zn ges.	:Zn nativ
PA	5,50	77,46	272,28	660,08	8,33	7,68	26,98
Ca	7,69	108,31	380,69	40,08	191,88	176,77	621,31
Zn nativ	0,02		1,00	65,41	0,31		1,00
Zn total	0,07	1,00		65,41	1,09	1,00	

Die analytisch bestimmten Inhaltsstoffe entsprachen im Wesentlichen den rechnerisch erwarteten. Eine Ausnahme bildet der Zinkgehalt in der Diät der Zink-Met Gruppe. Hier weicht der analytisch festgestellte Zinkgehalt deutlich nach oben ab. Möglicherweise handelt es sich jedoch um einen Fehler der durch mangelnde Mischgenauigkeit verursacht wurde. Durch ein Coating war das Zinkmethionin-Supplement deutlich schwerer vermahlbar. Da die Abweichung weniger als 10% betrug, wurde sie akzeptiert, aber in den weiterführenden Berechnungen zur Zinkbilanz entsprechend berücksichtigt.

5.2 Produktionsparameter

Die Futteraufnahme sowie tägliche Zunahmen und die Gewichtsentwicklung zeigen eine stetige Zunahme im Versuchsverlauf. Verglichen mit anderen Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit verschiedener Zinkverbindungen (WEDEKIND et al. 1994; REVY et al. 2002) liegen die Zunahmen und die Lebendmasse auf einem leicht niedrigeren Niveau. Auch im Vergleich mit Studien, die in denselben Räumlichkeiten durchgeführt wurden (KAUER 2006), liegen die Zunahmen dieses Versuches etwas niedriger. Ein negativer Einfluss der Haltungform oder der Räumlichkeiten ist also eher unwahrscheinlich. Ebenso sind Wachstumseinschränkungen durch eine zu niedrige Zinkversorgung auszuschließen. Eine aktuelle Studie (REVY et al. 2006), für die Ferkel gleichen Alters und eine ähnliche Ration verwendet wurden, zeigt, dass ab einer Zinkkonzentration von 58 mg Zink /kg Diät durch zusätzliche Zinkzulagen keine weiteren positiven Effekte auf die Zunahmen zu erwarten sind. Eine Ursache für die eher niedrigen Zunahmen liegt jedoch im geringen Ausgangsgewicht der Ferkel ($6,46 \pm 0,565$ kg) und in der kurzen Versuchsdauer von 28 Tagen.

Im Bezug auf die Bioverfügbarkeit der geprüften Zinkverbindungen zeigen die Ergebnisse der Futteraufnahme, der täglichen Zunahme und auch der Lebendmasseentwicklung einen deutlichen Einfluss. Bei der Futteraufnahme (Abb. 1) zeigen sich signifikante Unterschiede in der zweiten Versuchswoche. Die Tiere in der ZnGly- und ZnAc-Gruppe haben eine signifikant höhere Futteraufnahme als die Tiere in der ZnSO₄-Vergleichsgruppe. Für die ZnGly-Gruppe bleibt dieser Vorsprung auch über den gesamten Versuchszeitraum hinweg betrachtet, signifikant.

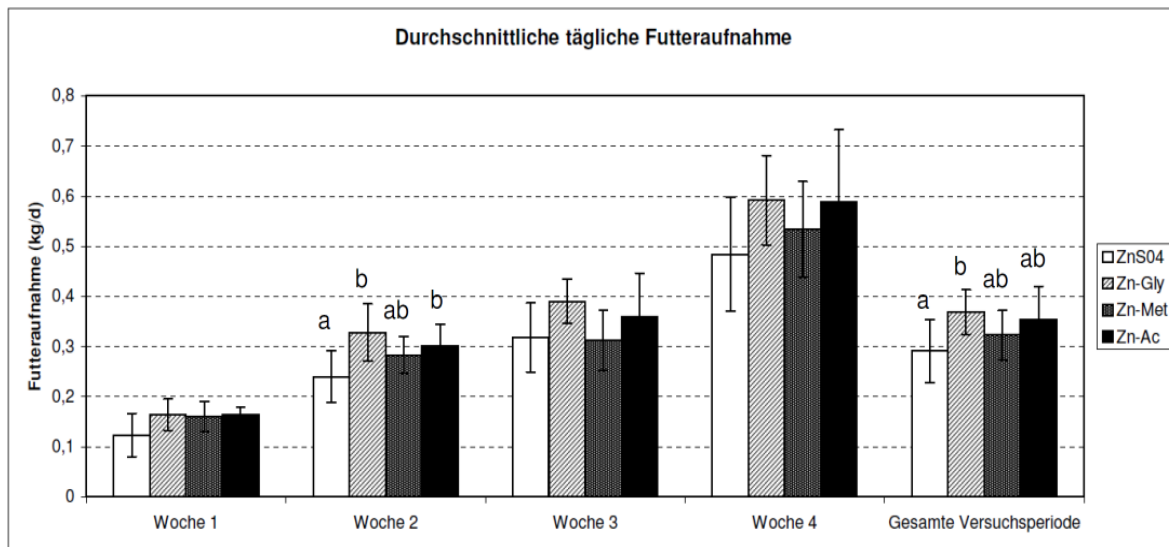


Abbildung 1: Durchschnittliche tägliche Futtermittelaufnahme

Die verbesserte Futtermittelaufnahme führt auch zu einer höheren täglichen Zunahme (Abb. 2).

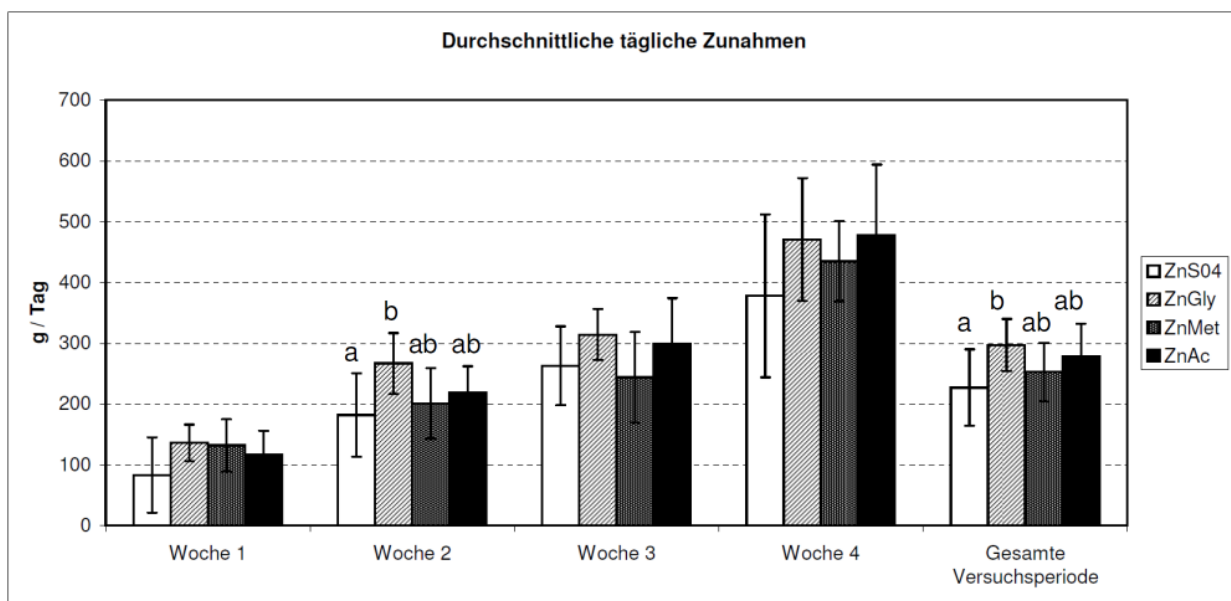


Abbildung 2: Durchschnittliche tägliche Zunahmen der Ferkel im Versuchsverlauf

Die Futtermittelaufnahme hingegen wird von der Form der gefütterten Zinkverbindung nicht beeinflusst. Mit $1,268 \pm 0,089$ kg Futter je kg Gewichtszunahme lag sie jedoch während der Versuchsperiode in einem sehr guten Bereich. Sie lag damit etwa in dem Bereich vergleichbarer Versuche mit ähnlichen Altersabschnitten, vergleichbarer Diät und Haltung in Stoffwechselkäfigen (REVY et al. 2002; REVY et al. 2006).

In der ersten Woche weist die Futtermittelverwertung eine hohe Varianz auf. Dies ist offenbar darauf zurückzuführen, dass die Tiere Probleme mit der Adaptation an die Haltungsbedingungen in den Stoffwechselläufigen hatten.

Durch die höheren Zunahmen ist das Körpergewicht der Ferkel in der ZnGly-Gruppe ab dem 14. Versuchstag signifikant höher als in der ZnSO₄- Vergleichsgruppe (Abb. 3).

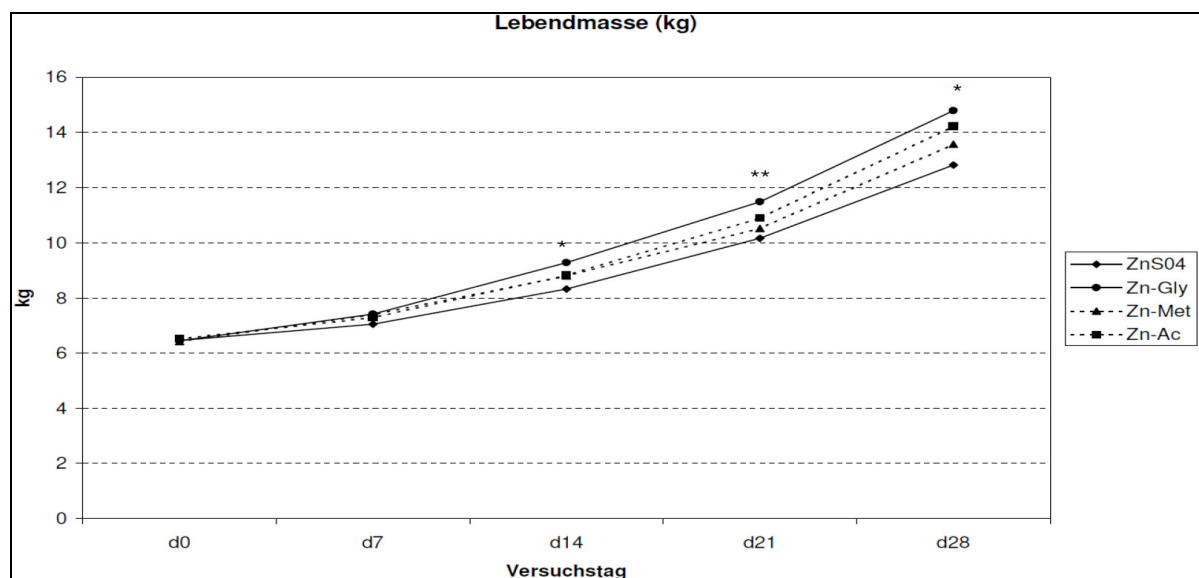


Abbildung 3: Gewichtsentwicklung der Versuchstiere im Versuchsverlauf
(* $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$)

Die signifikanten Unterschiede in Futteraufnahme und Zunahmen in der zweiten Versuchswoche stützten die These, dass Unterschiede in der Bioverfügbarkeit im marginalen Versorgungsbereich möglicherweise besser nachzuweisen sind. Zu Versuchsbeginn war die relative Zinkversorgung deutlich niedriger als gegen Ende des Versuches.

5.3 Hämoglobin und Hämatokrit

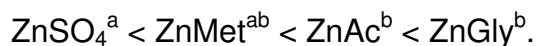
Der Hämoglobingehalt und der Hämatokritwert waren zu allen Zeitpunkten der Blutentnahme unbeeinflusst von der verabreichten Zinkverbindung. Lediglich am Versuchsende zeigten sich beide Werte in der ZnMet-Gruppe leicht erniedrigt. Dieses Ergebnis war jedoch nicht signifikant. Das Alter hatte aber einen deutlichen Einfluss auf Hämoglobingehalt und Hämatokritwert. Beide Werte fielen im Versuchsverlauf merklich ab. Die Hb-Werte lagen am Versuchsende mit rund 9,5 g/dL bereits leicht unterhalb des unteren Richtwertes von 11,0 g/dL für eine normale Eisenversorgung (HEINRITZI und PLONAIT 2004)

Mögliche Einflüsse der Zinkverbindung auf die Erythropoese hätten durch eine Konkurrenz bei der intestinalen Absorption von Zink und Eisen bestehen können (s. Kapitel 2.5.3). Da der Zinkgehalt aber sehr niedrig und in allen Gruppen mit gleicher Konzentration eingesetzt war, war eine Beeinträchtigung nicht zu erwarten. Trotzdem hat sich in diesem Versuch die Erfassung dieser Werte im Bezug auf die Diagnose einer Eisenmangelanämie, die bei zwei Tieren zu Versuchsbeginn auftrat, bewährt.

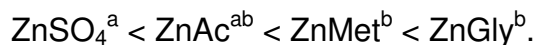
5.4 Zink-, Eisen- und Kupferbilanz

Zur Erstellung der Spurenelementbilanzen wurden die zwei Stoffwechselferioden, die in Versuchswoche zwei und vier durchgeführt worden sind, ausgewertet. Die Zinkaufnahme steigt, bedingt durch die steigende Futteraufnahme, von der ersten zur zweiten Stoffwechselferioden deutlich an.

In der ersten Stoffwechselferioden wurde die Futteraufnahme signifikant durch die verabreichte Zinkverbindung beeinflusst, was sich auch in der Zinkaufnahme zeigt. Bei den Berechnungen wurde berücksichtigt, dass die ZnMet-Diät einen leicht höheren Zinkgehalt hat als die anderen Diäten (siehe Kap. 4.1.1), daher verschiebt sich die Rangfolge zwischen den Gruppen leicht. Bei der Futteraufnahme zeigt sich folgende Reihenfolge:



Bei der Zinkaufnahme hingegen ergibt sich, bedingt durch die leicht erhöhte Zinkkonzentrationen in der ZnMet-Diät, die folgende Reihenfolge:



Da die Futteraufnahmen in vergleichbaren Versuchen auf Grund älterer Versuchstiere meist etwas höher liegen, liegt auch die Zinkaufnahme bei vergleichbaren Zinkkonzentrationen leicht höher (REY et al. 2006). In den meisten Versuchen, die sich mit der Bioverfügbarkeit von verschiedenen Zinkverbindungen beschäftigen wurden jedoch auch deutlich höhere Zinkkonzentrationen eingesetzt (SCHELL und KORNEGAY 1996; CASE und CARLSON 2002; CARLSON et al. 2004; BUFF et al. 2005; HOLLIS et al. 2005; RINCKER et al. 2005; WANG et al. 2010), so dass ein direkter Vergleich nur eingeschränkt möglich ist.

Die Zinkausscheidung über den Urin macht nur einen sehr geringen Teil der gesamten Zinkausscheidung aus, wie Abbildung 6 und 7 deutlich zeigen. Die Zinkausscheidung auf diesem Wege nimmt von Stoffwechselperiode eins zu Periode zwei ebenfalls zu, was sowohl an einer höheren Zinkkonzentration im Urin als auch an einer größeren Menge an ausgeschiedenem Urin liegt.

Im Gegensatz zu der Zinkaufnahme zeigt sich bei der Zinkausscheidung über den Urin in der ersten Stoffwechselperiode kein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung. In der zweiten Stoffwechselperiode hingegen zeigt sich ein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung auf die Zinkausscheidung über den Urin. Hier ist die renale Zinkexkretion der Gruppe ZnGly signifikant höher als die der ZnSO₄ Gruppe. Die renale Zinkexkretion ist jedoch im Bezug auf die gesamte Zinkexkretion mengenmäßig eher zu vernachlässigen.

Verschiedene Autoren berichten, dass die Zinkausscheidung über den Urin im Bereich der optimalen Versorgung weitgehend unabhängig von der Höhe der Zinkversorgung ist, bei niedriger Versorgung oder in einem Zinkmangel jedoch einen wertvollen Marker darstellt (HAMBIDGE 2003; LOWE et al. 2009). Die Ursache hierfür ist, dass die Zinkabgabe über den Urin bei Zinkmangel eingeschränkt wird (BAER und KING 1984). Dies dürfte der Grund dafür sein, dass die Zinkkonzentration im Urin in der ersten Stoffwechselperiode, als die Zinkversorgung relativ zum Bedarf geringer war, niedriger war als in der zweiten Periode.

Die signifikant niedrigere renale Zinkausscheidung der ZnSO₄-Gruppe in der zweiten Stoffwechselperiode könnte ein Hinweis auf eine schlechtere Zinkversorgung sein. Allerdings sind diese Ergebnisse mit Vorsicht zu betrachten, da eine leichte Verunreinigung des Urins mit Kot oder Futter aufgrund von Tierbewegungen nicht vollkommen ausgeschlossen werden kann. Da die Zinkkonzentrationen in Futter und Kot deutlich höher lagen als im Urin, könnte so eine Verfälschung der Versuchsergebnisse stattgefunden haben.

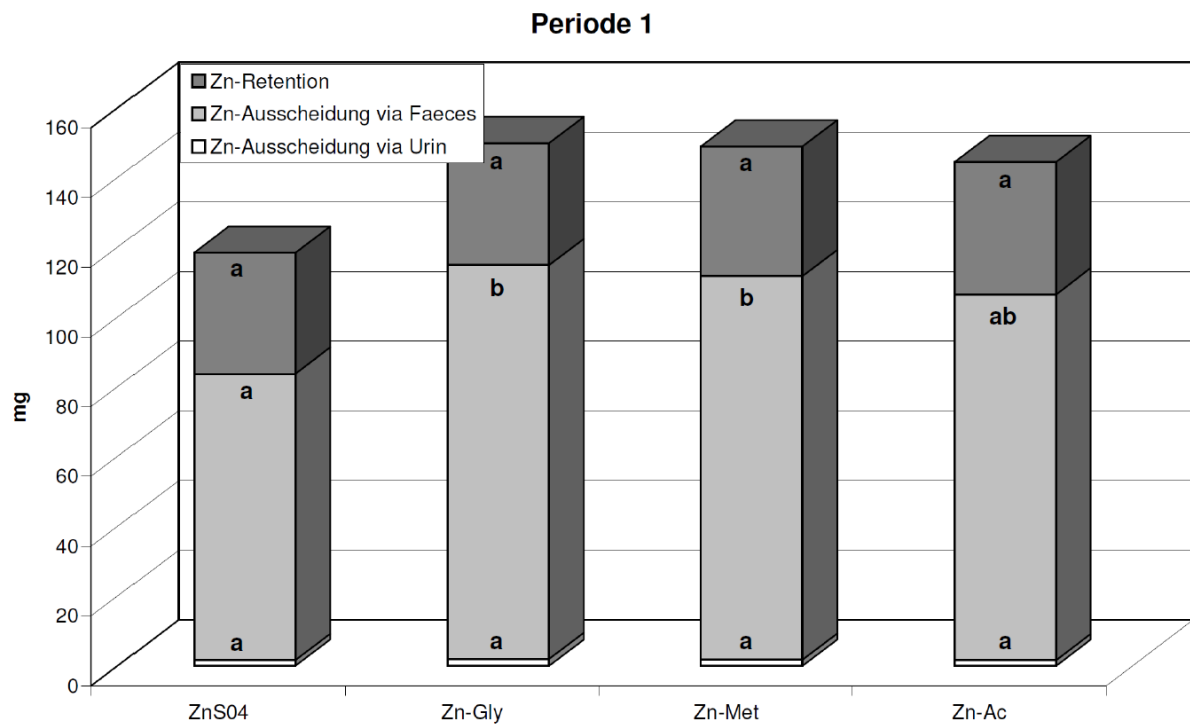


Abbildung 4: Zinkaufnahme, Retention und Exkretion über Urin und Faeces in der ersten Stoffwechselperiode (in mg je 7 Tage). Unterschiedliche Buchstaben bei einem Parameter zeigen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ an.

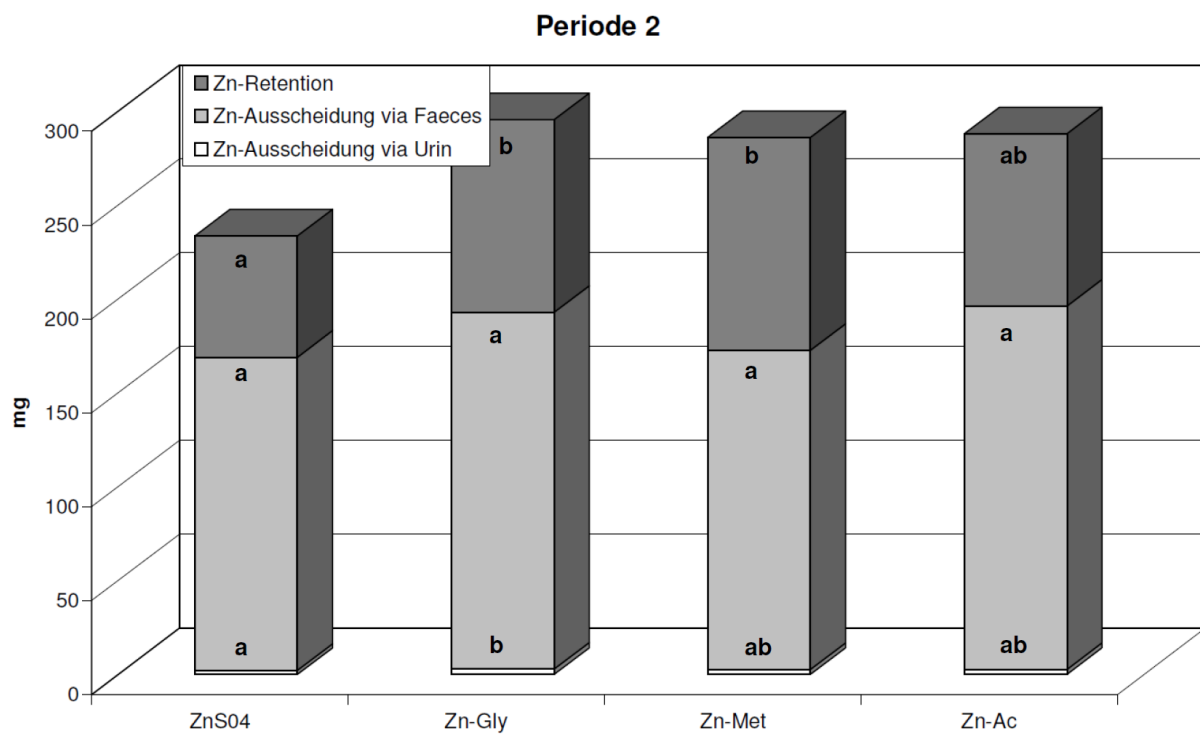


Abbildung 5: Zinkaufnahme, Retention und Exkretion über Urin und Faeces in der zweiten Stoffwechselperiode (in mg je 7 Tage). Unterschiedliche Buchstaben bei einem Parameter zeigen signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$ an.

Das mit den Faeces ausgeschiedene Zink hat drei wesentliche Herkünfte. Zu einem Teil handelt es sich um nicht absorbiertes Futterzink. Zum anderen handelt es sich um endogene Zinkausscheidungen, die der Organismus über die Verdauungssäfte oder über die Enterozyten zur Aufrechterhaltung der Zinkhomöostase abgibt (DIBLEY 2001). Die Zinkausscheidung über die Faeces steigt von der ersten zur zweiten Stoffwechselperiode deutlich an. Dies ist im Wesentlichen auf die ansteigende Futteraufnahme und die damit steigende Zinkaufnahme zurückzuführen. Da in der zweiten Stoffwechselperiode im Vergleich zur ersten eine bessere Zinkversorgung vorliegt, ist auch denkbar, dass die endogene Zinkausscheidung zur Regulation der Zinkhomöostase ebenfalls zunimmt. Des Weiteren steigt mit zunehmender Futteraufnahme auch die Sekretion an Pancreas- und Gallensäften an, so dass die Zinkverluste auf diesem Wege ebenfalls zunehmen.

In der ersten Stoffwechselperiode zeigt sich, wie bei der Zinkaufnahme, ein signifikanter Effekt der Zinkverbindung auf die faecale Zinkausscheidung. Die Gruppen, welche die Zinkverbindungen ZnGly und ZnMet erhielten hatten eine signifikant höhere Zinkausscheidung als die ZnSO₄ Vergleichsgruppe. Diese Unterschiede in der faecalen Zinkausscheidung sind sehr wahrscheinlich auf die unterschiedlich hohen Zinkaufnahmen zurückzuführen. In der zweiten Stoffwechselperiode besteht kein Einfluss der Zinkverbindung auf die faecale Zinkexkretion.

Die Zinkretention berechnet sich folgendermaßen:

$$\text{Zn-Retention} = \text{Zn-Aufnahme} - (\text{Zn-Exkretion}_{\text{Faeces}} + \text{Zn-Exkretion}_{\text{Urin}}).$$

Im Gegensatz zur scheinbaren Verdaulichkeit wird die Zinkexkretion über den Urin hier berücksichtigt. Da, wie in den Abbildungen 4 und 5 deutlich zu erkennen ist, die renale Zinkausscheidung nur einen minimalen Teil der Gesamtexkretion ausmacht, wurde darauf verzichtet, zusätzlich die Ergebnisse für die scheinbare Verdaulichkeit anzugeben.

Die Zinkretention steigt sowohl absolut als auch relativ zur aufgenommenen Zinkmenge von der ersten zur zweiten Stoffwechselfperiode an. Auch die Zinkretention je kg Lebendmassezunahme steigt von der ersten zur zweiten Periode an. Der Anstieg der absolut retinierten Zinkmenge ist auf die höhere Futteraufnahme und die höheren Wachstumsraten zurückzuführen.

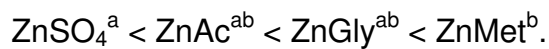
Die in dieser Studie gemessenen relativen Zinkretentionen variieren von 23% bis 40%. In diesem Bereich liegen auch die Ergebnisse anderer Untersuchungen (REVY et al. 2002; RINCKER et al. 2005). Im Hinblick auf die relative Zinkversorgung wäre anzunehmen, dass die relative Zinkretention von der ersten zur zweiten Periode zurückgeht, da sich die Zinkversorgung verbessert hat. Die relative Absorption steigt jedoch von der ersten zur zweiten Stoffwechselfperiode hin an. Die Erhöhung der relativen Zinkretention könnte damit zusammenhängen, dass durch das Körperwachstum die Länge des Dünndarms deutlich zugenommen hat. Humanstudien zeigen, dass bereits Frühgeborene ausgereifte Mechanismen zur Zinkaufnahme haben. Die Gesamteffizienz der Absorption ist bei Säuglingen (4 Monate) und Frühgeborenen (33. Woche nach der Konzeption) deutlich niedriger als bei Erwachsenen. Korrigiert man aber die Menge aufgenommenes Zink für die Darmlänge, so ist die Effizienz der Zinkaufnahme vergleichbar mit der von Erwachsenen. Dies macht deutlich, dass Unterschiede in der Effizienz der Zinkabsorption im Laufe der Entwicklung vor allem auf die Unterschiede in der Länge des Dünndarms zurückzuführen sind (HAMBIDGE et al. 2006).

Im Gegensatz zur Zinkaufnahme und der faecalen Zinkexkretion zeigt sich bei der Zinkretention kein signifikanter Unterschied in der ersten Stoffwechselfperiode. Dies gilt für alle drei Bezugsgrößen. Sowohl bei der absoluten als auch bei der relativen Zinkretention und bei der Retention je kg Körpermassezuwachs gibt es keinen signifikanten Einfluss der Zinkquelle. Dies macht deutlich, dass die höhere Zinkaufnahme in der ZnGly-Gruppe durch eine ebenfalls erhöhte Zinkausscheidung ausgeglichen wird. Für die vorliegende Studie bedeutet dies, dass nicht eindeutig erwiesen wurde, ob die zur Versuchsmittle gemessene deutliche Verbesserung des Wachstums der ZnGly-Gruppe auf eine verbesserte Zinkversorgung zurückzuführen ist.

In der zweiten Stoffwechselperiode zeigt sich jedoch ein signifikanter Einfluss der gefütterten Zinkverbindung. Die Ferkel der ZnMet-Gruppe haben eine signifikant höhere Zinkretention als die Ferkel in der ZnSO₄- Vergleichsgruppe. Hier zeigt sich eine andere Rangfolge als bei der Zinkaufnahme. Während die Zinkaufnahme über die Gruppen in folgender Reihenfolge anstieg:



verhält sich die Rangfolge bei der Zinkretention folgendermaßen:



Die Bilanzen der Spurenelemente Eisen und Kupfer verhalten sich ähnlich der des Zinks. Die Aufnahme beider Spurenelemente steigt von der ersten zur zweiten Stoffwechselperiode hin deutlich an. Ebenso wie beim Zink zeigt sich hier in der ersten Stoffwechselperiode ein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung auf die Eisen- und Kupferaufnahme, welcher durch die Unterschiede in der Futteraufnahme verursacht wird. Die Exkretion von Eisen und Kupfer über die Faeces zeigt in der ersten Stoffwechselperiode ebenfalls einen signifikanten Einfluss der verabreichten Zinkverbindung. Die Unterschiede bei Aufnahme und Exkretion in der ersten Stoffwechselperiode gleichen sich jedoch aus, so dass es keinen signifikanten Effekt für die retinierte Eisen- bzw. Kupfermenge gibt.

Die Eisen- und Kupferausscheidung über den Urin ist, wie auch beim Zink, von der Größenordnung her zu vernachlässigen. Bei der Eisenexkretion über den Urin zeigt sich in der zweiten Stoffwechselperiode eine signifikant erhöhte Eisenausscheidung für die ZnMet-Gruppe im Vergleich zur ZnSO₄- Gruppe, die sich jedoch physiologisch nicht erklären lässt, und möglicherweise durch Verunreinigungen mit Futter oder Kot verursacht wurde.

Die Eisenretention, die auf Grund der sehr niedrigen renalen Eisenexkretion mit der scheinbaren Eisenabsorption vergleichbar ist, liegt mit durchschnittlich 28,6% in der ersten und 33,9% in der zweiten Periode in einem Bereich, wie er auch in anderen Untersuchungen erreicht wurde (PALLAUF et al. 1992; MÄNNER et al. 2006; ETTLE et

al. 2008). Auch die Kupferretention liegt mit 27,0% in der ersten und 32,44% in der zweiten Stoffwechselperiode im Bereich anderer Studien, wobei diese mit Retentionen bzw. scheinbaren Verdaulichkeiten im Bereich von 19,3 – 21,4% (PALLAUF et al. 1992) bis 39 – 57% (RINCKER et al. 2005) erhebliche Schwankungen aufweisen.

In der zweiten Stoffwechselperiode gibt es weder bei der Aufnahme, noch bei der faecalen Exkretion von Eisen und Kupfer einen signifikanten Effekt der gefütterten Zinkverbindung. Im Gegensatz dazu zeigt aber die retinierte Eisenmenge sowohl absolut als auch in Prozent des aufgenommenen Eisens gemessen, einen signifikanten Einfluss der verabreichten Zinkverbindung. Die ZnMet-Gruppe hat eine höhere Menge Eisen angesetzt als die ZnSO₄-Kontrollgruppe. Bei der Kupferretention zeigt sich eine ähnliche Tendenz. Wie erwähnt, ist in dieser Gruppe ebenfalls die Zinkretention erhöht.

Diese Ergebnisse machen deutlich, dass die höhere Zinkretention im vorliegenden Versuch die Eisen- und Kupferaufnahme nicht behinderte, auch wenn Autoren von einem Antagonismus von Zink und Kupfer bzw. Zink und Eisen auf der Ebene der Absorption bei Ratten berichten (VAN CAMPEN 1969; SANDSTRÖM et al. 1985). Allerdings wurden diese Effekte bei intestinalen Infusionen beobachtet und konnten zumindest für Eisen bei gleichzeitiger Gabe mit der Diät nicht bestätigt werden. Eine weitere Studie über den Einsatz organischer Spurenelemente bei Broilern kommt zu dem Ergebnis, dass deren Einsatz die antagonistischen Effekte zwischen Zink und Kupfer vermeidet (Ao et al. 2009).

In der vorliegenden Studie bleibt es jedoch nicht bei einem Ausbleiben von negativen Effekten, sondern es zeigt sich ein deutlicher positiver Effekt der ZnMet-Gabe auf die Eisen- und Kupferretention.

Dieser Effekt kann anhand der erhobenen Daten nicht vollständig erklärt werden und wird möglicherweise durch andere, nicht untersuchte positive Effekte des ZnMet verursacht. Allerdings führt die erhöhte Eisenretention nicht zu einer gesteigerten Hämoglobinsynthese. Im Gegenteil, die Hämoglobingehalte am Versuchsende sind in der ZnMet-Gruppe tendenziell niedriger als in der ZnGly- und der ZnAc-Gruppe ($p = 0,053$). Es lassen sich nach der zweiten Stoffwechselferioden ebenfalls keine Unterschiede in den Spurenelementgehalten der Organe erkennen. Allerdings zeigen die freie Zinkbindungskapazität an Tag 28 und der Plasma-Zinkgehalt an Tag 14 positive Effekte für das Zinkmethionin.

5.5 Zinkstatusparameter

5.5.1 Zinkkonzentration im Plasma

Bei der Beurteilung der Zinkversorgung stellt sich allgemein das Problem, dass der Zinkgehalt in allen Geweben durch körpereigene Regulationsmechanismen zunächst weitgehend konstant gehalten wird. Nur bei hohen Überschüssen oder deutlichen Defiziten in der Versorgung werden diese Regulationsmechanismen überfordert. Versorgungsunterschiede im Versorgungsbereich rund um das Optimum sind daher schwer zu erkennen (WOOD 2000; HAMBIDGE 2003). Trotz dieser Problematik gilt der Plasma-Zinkgehalt als der beste zurzeit verfügbare Indikator der Zinkversorgung (LOWE et al. 2009).

In der vorliegenden Studie liegen die gemessenen Werte (Abb. 6) leicht unterhalb der Referenzwerte für den Plasma-Zinkgehalt beim Schwein, die mit einer Spanne von 0,7 bis 1,5 mg Zn /L angegeben werden. Allerdings liegt die Zinkkonzentration im Plasma bei Ferkeln normalerweise ohnehin am unteren Rand dieser Spanne (PULS 1994; NERBAS 2008).

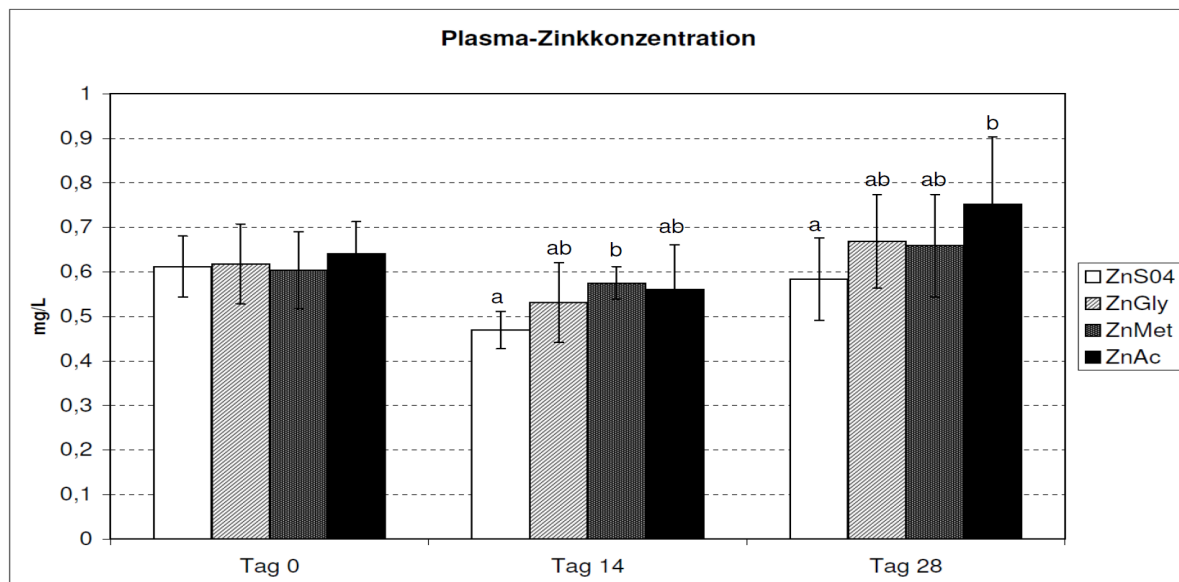


Abbildung 6: Plasma-Zinkkonzentration der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme

Die Plasma-Zinkkonzentration fällt im Mittel zur Versuchsmitte hin ab, was einen Hinweis auf eine niedrigere Zinkversorgung zu diesem Zeitpunkt gibt. An den Versuchstagen 14 und 28 zeigen sich signifikante Effekte der Zinkverbindung. An Versuchstag 14 weist die ZnMet-Gruppe eine signifikant höhere Plasma-Zinkkonzentration auf als die Vergleichsgruppe ZnSO₄. In Sammelperiode 1, die dem Blutentnahmetag an Tag 14 vorausging, zeigte sich jedoch kein signifikanter Effekt der Zinkverbindung auf die retinierte Zinkmenge. Der positive Einfluss von ZnMet auf den Zinkspiegel im Plasma scheint damit nicht durch die leicht erhöhte Zinkkonzentration in der ZnMet-Diät zu erklären zu sein.

Zur Blutentnahme an Tag 28 zeigt die Gruppe ZnAc einen im Vergleich zur ZnSO₄-Gruppe signifikant erhöhten Zinkgehalt im Plasma. Die Zinkretention in der unmittelbar vorausgegangenen zweiten Stoffwechselperiode ist in der ZnAc-Gruppe gegenüber der ZnSO₄-Gruppe zwar tendenziell erhöht (siehe Tabelle 28), liegt aber unter denen der anderen Gruppen.

5.5.2 Freie Zinkbindungskapazität im Plasma

Bei der freien Zinkbindungskapazität zeigt sich ein ähnliches Bild wie beim Zinkspiegel im Blutplasma. Auch hier steigen die Werte zur Versuchsmitte hin an (Abb. 7), was wiederum bestätigt, dass die Zinkversorgung zur Versuchsmitte hin geringer ist. Zum Versuchsende hin fällt die freie ZBK wieder ab, als Zeichen einer im Vergleich zum Bedarf verbesserten Zinkversorgung.

An Versuchstag 14 ist die freie ZBK der ZnMet-Gruppe signifikant niedriger als in allen anderen Gruppen. Wie zuvor erwähnt, ist die Plasma-Zinkkonzentration zu diesem Zeitpunkt in der ZnMet-Gruppe erhöht. Beide Parameter zusammen ergeben einen aussagekräftigen Hinweis auf eine verbesserte Zn-Versorgung zu diesem Zeitpunkt. Der positive Effekt der sich bei der Plasma-Zinkkonzentration am Versuchstag 28 für die ZnAc-Gruppe findet, lässt sich hier jedoch nicht bestätigen, da sich am Versuchstag 28 kein signifikanter Effekt der gefütterten Zinkverbindung zeigt. Nominal ist zu diesem Zeitpunkt, die freie ZBK in der ZnMet-Gruppe am niedrigsten, was vermutlich auf die höhere Zinkretention in dieser in der zweiten Stoffwechselferioden (Versuchswoche 4) zurückzuführen ist.

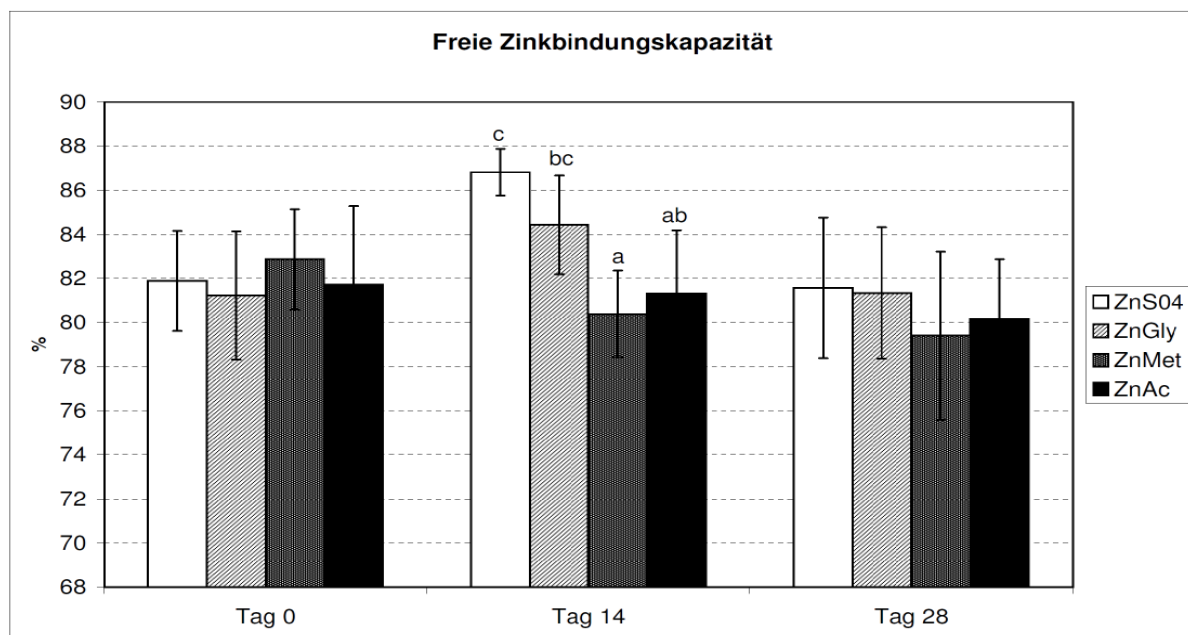


Abbildung 7: Freie Zinkbindungskapazität der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme

Für das Schwein finden sich keine veröffentlichten Referenzwerte zur Interpretation der freien Zinkbindungskapazität. Fütterungsversuche mit variierender Zinkversorgung zeigen, dass sich bei ausreichender Zinkversorgung ein Wert zwischen 60 und 70% ergibt, der auch bei höherer Zinkzufuhr nicht abnimmt. Bei Zinkmangel steigt die freie Zinkbindungskapazität bis auf 89% an (ROTH und KIRCHGESSNER 1980). Studien an Kälbern kommen aber mit 72% freie ZBK bei Zinkmangel und 41% freie ZBK bei Zinküberschuss zu anderen Ergebnissen (KINCAID und CRONRATH 1979). Dies zeigt, dass Speziesunterschiede bestehen und sich somit Ergebnisse verschiedener Tierarten nur schwer miteinander vergleichen lassen.

5.5.3 Alkalische Phosphatase

Die Aktivität der alkalischen Phosphatase fällt im Versuchsverlauf deutlich ab, wie dies für wachsende Ferkel bekannt ist. Die Werte liegen in einem Bereich, der vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen ist (REVY et al. 2006). Es zeigt sich aber kein Einfluss der Zinkverbindung. Bei REVY et al. (2006) zeigte sich hingegen ein klarer Zusammenhang zwischen der Zinkversorgung und der Aktivität der alkalischen Phosphatase. Allerdings wurden in dieser Studie auch deutlich voneinander abweichende Zinkdosierungen eingesetzt. Weitere Studien und Metaanalysen kommen im Gegensatz dazu zu dem Schluss, dass die Aktivität der alkalischen Phosphatase nicht zur Beurteilung von marginalen Versorgungssituationen geeignet ist (GIBSON et al. 2008; LOWE et al. 2009).

5.5.4 Spurenelementkonzentrationen in den untersuchten Organen

Die Zinkgehalte in Leber und Knochen entsprechen weitgehend den bisher in der Literatur veröffentlichten Gehalten (WEDEKIND et al. 1992; CHENG et al. 1998; REVY et al. 2002; VAN HEUGTEN et al. 2003; REVY et al. 2006). Auch die Kupfergehalte in der Leber entsprechen den Ergebnissen früherer Untersuchungen (SWINKELS et al. 1996; CHENG et al. 1998; REVY et al. 2006). Es gibt jedoch auch Untersuchungen mit deutlich höheren Kupferkonzentrationen in der Leber (RINCKER et al. 2005). Bei dem Eisengehalt in der Leber zeigt sich das gleiche Bild. Eine Studie weist Eisengehalte auf dem Niveau der vorliegenden Studie nach (SWINKELS et al. 1996), während die Eisenkonzentrationen in der Leber bei anderen Versuchen häufig höher lagen (CHENG et al. 1998; RINCKER et al. 2005). Sehr wahrscheinlich sind die deutlich höheren Eisen- und Kupferkonzentrationen in den von den zitierten Autoren eingesetzten Versuchsdiäten die Ursache hierfür. Zu den Spurenelementgehalten in Schweineborsten liegen leider bislang keine Referenzwerte vor.

Weder bei den Zink- und Eisen-, noch bei den Kupfergehalten in Leber, Knochen und Borste zeigte sich ein Einfluss der Zinkverbindung. Wie schon in Kapitel 5.1 erwähnt wurde, lässt sich dies möglicherweise dadurch begründen, dass der Zinkbedarf der Ferkel je kg Futter im Versuchsverlauf sinkt und die Versorgungslage am Versuchsende so gut ist, dass eine eventuelle Überversorgung durch die körpereigenen Regulationsmechanismen ausgeglichen werden kann.

Die Werte für die Zinkkonzentrationen im Dünndarm (Abb.8) liegen in einem mit den Ergebnissen anderer Autoren vergleichbaren Bereich (CARLSON et al. 2007), obwohl sich die Form der Probenentnahme leicht unterscheidet. In der vorliegenden Studie wurde das gesamte Dünndarmgewebe, einschließlich der Muskelschicht analysiert, während sich die zitierte Untersuchung ausschließlich auf die Mukosaschicht des Ileums bezieht. Bei den Kupferwerten liegen die Referenzwerte aus der Literatur (CARLSON et al. 2007) hingegen deutlich unter den in dieser Studie gemessenen, was möglicherweise auch durch die deutliche höheren Zn-Gehalte in der Versuchsdiät verursacht wurde.

Im Dünndarm zeigt sich sowohl für den Zinkgehalt als auch für den Eisen- und Kupfergehalt ein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung und auch ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Dünndarmabschnitten. Für den Zink- und Kupfergehalt zeigt sich auch eine signifikante Interaktion zwischen den Darmabschnitten und der verabreichten Zinkverbindung. Dies zeigt, dass trotz des Argumentes, zahlreiche organische Spurenelementverbindungen blieben im Verdauungstrakt nicht stabil (BROWN und ZERINGUE 1994) offenbar ein Einfluss auf den Ort der Absorption besteht.

Der Effekt auf die Zinkabsorption ließe sich hypothetisch folgendermaßen erklären: Im Duodenum, in dem der Nahrungsbrei noch relativ sauer ist, liegt das Zink aus dem Zinksulfat als freies Ion vor, während die anderen Zinkverbindungen in ihren Komplexen stabil sind. Daher wird Zink aus $ZnSO_4$ im Duodenum wahrscheinlich vermehrt absorbiert (siehe Abb. 8). Wird der Nahrungsbrei nun im Verlaufe der Darmpassage neutralisiert, steigt die Komplexbildung der freien Zink-Ionen durch die im Futter vorhandene Phytinsäure an (OBERLEAS 1983). In Jejunum und Ileum ist also in der $ZnSO_4$ -Gruppe ein großer Anteil der ehemals freien Zink-Ionen durch die Phytinsäure komplexiert, während in den Gruppen mit organischen Zinkverbindungen das Zink in diesen organischen Komplexen verbleibt. Da die organischen Zinkverbindungen eine geringere Komplexstabilität haben als die Komplexe der Phytinsäure, ist das Zink aus diesen Verbindungen in Jejunum und Ileum besser verfügbar und führt daher möglicherweise zu der höheren Konzentration in den entsprechenden Dünndarmgeweben.

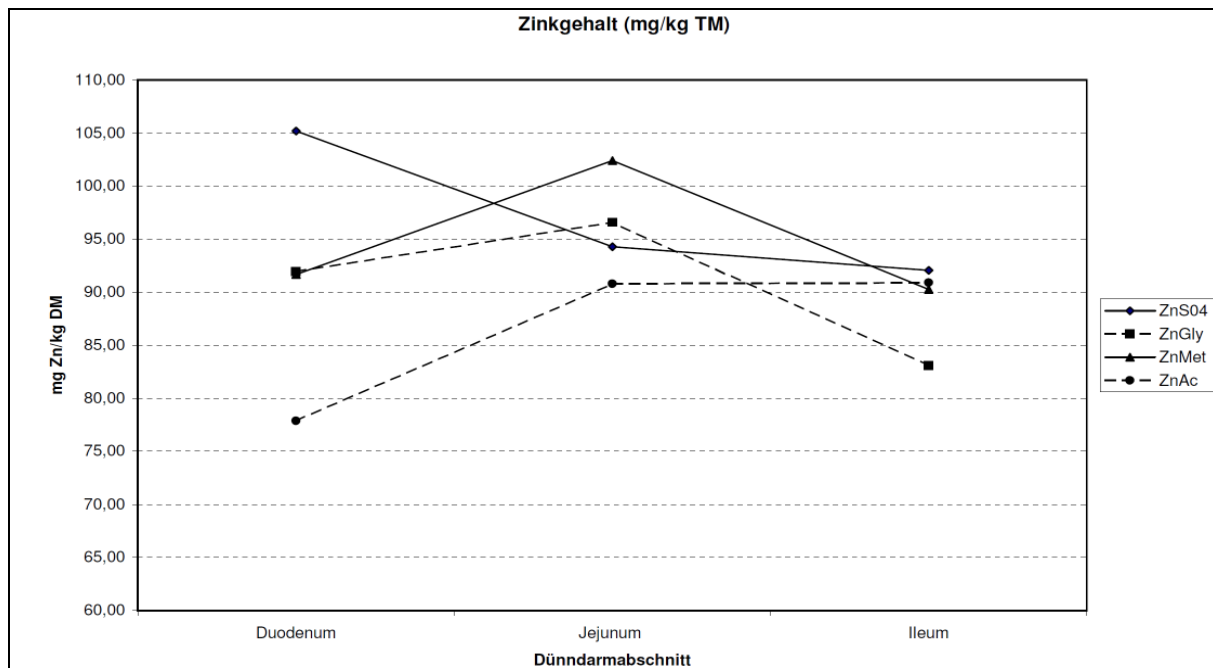


Abbildung 8: Zinkkonzentration im Gewebe der verschiedenen Dünndarmabschnitte

Bei der Kupferkonzentration im Dünndarmgewebe (Abb. 9) zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei den Zinkkonzentrationen. Eine mögliche Ursache hierfür sind synergistische Effekte bei der Zink- und Kupferabsorption, die über Metallothionein vermittelt werden. So zeigt eine Studie zu den Effekten von organisch gebundenem Zink und Kupfer bei Broilern, dass bei höheren Zinksupplementierungen auch der Kupfergehalt der Darmmukosa ansteigt. Als Ursache hierfür wird eine durch die höheren Zinkgaben gesteigerte Metallothioneinkonzentration in der Darmmukosa vermutet, durch die vermehrt Kupfer in der Darmmukosa gespeichert wird (AO et al. 2009). Ein weiterer Erklärungsansatz wäre eine mögliche Dissoziation der Zink-Komplexe im Verdauungstrakt, so dass die Komplexbildner neue Verbindungen mit den Kupfer- und Eisen-Ionen eingehen könnten, denn zahlreiche Verbindungen zeigen unter physiologischen Bedingungen, wie sie im Verdauungstrakt der Monogaster vorherrschen, keine ausreichende Komplexstabilität (BROWN und ZERINGUE 1994; CAO et al. 2000).

Wie bereits erwähnt, weisen die Tiere der ZnSO_4 -Gruppe erhöhte Zink- und Kupferkonzentrationen im Gewebe des Duodenums auf. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass es sich beim Duodeum um den kürzesten Abschnitt des Dünndarms handelt, und dass aus diesen Daten keine Rückschlüsse auf die Quantität der Gesamtabsorption gezogen werden können.

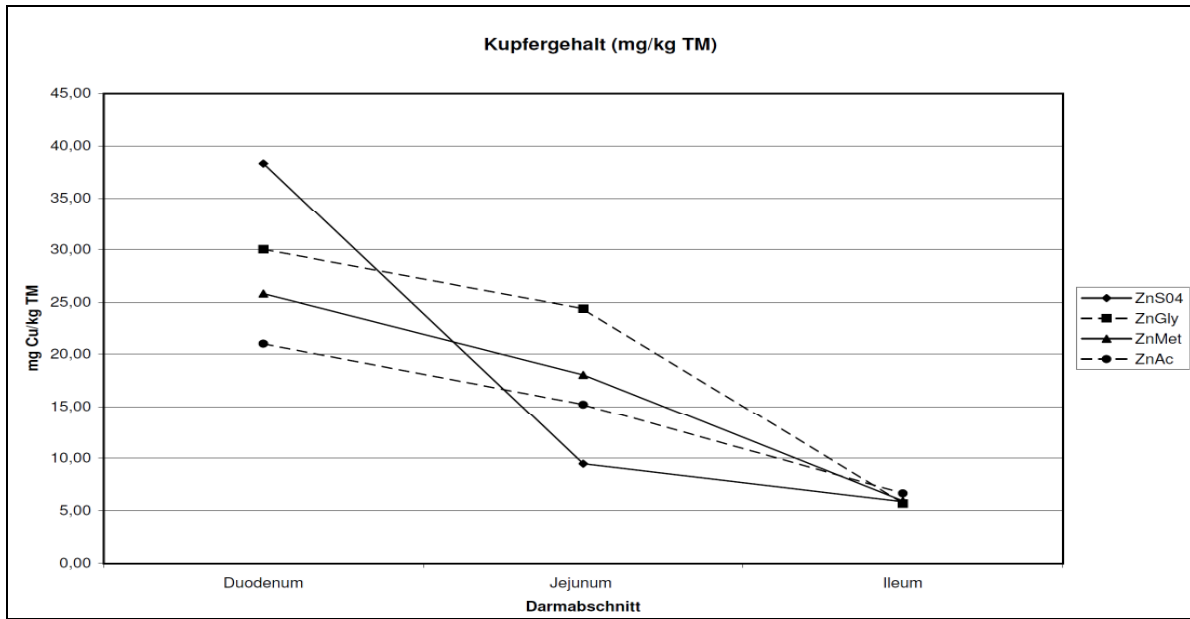


Abbildung 9: Kupferkonzentration im Gewebe der verschiedenen Dünndarmabschnitte

Interessanterweise hat die verabreichte Zinkverbindung auch einen Einfluss auf die Eisenkonzentration im Dünndarmgewebe (Abb. 10). Eine Interaktion zwischen der verabreichten Zinkverbindung und dem Dünndarmabschnitt lag jedoch nicht vor.

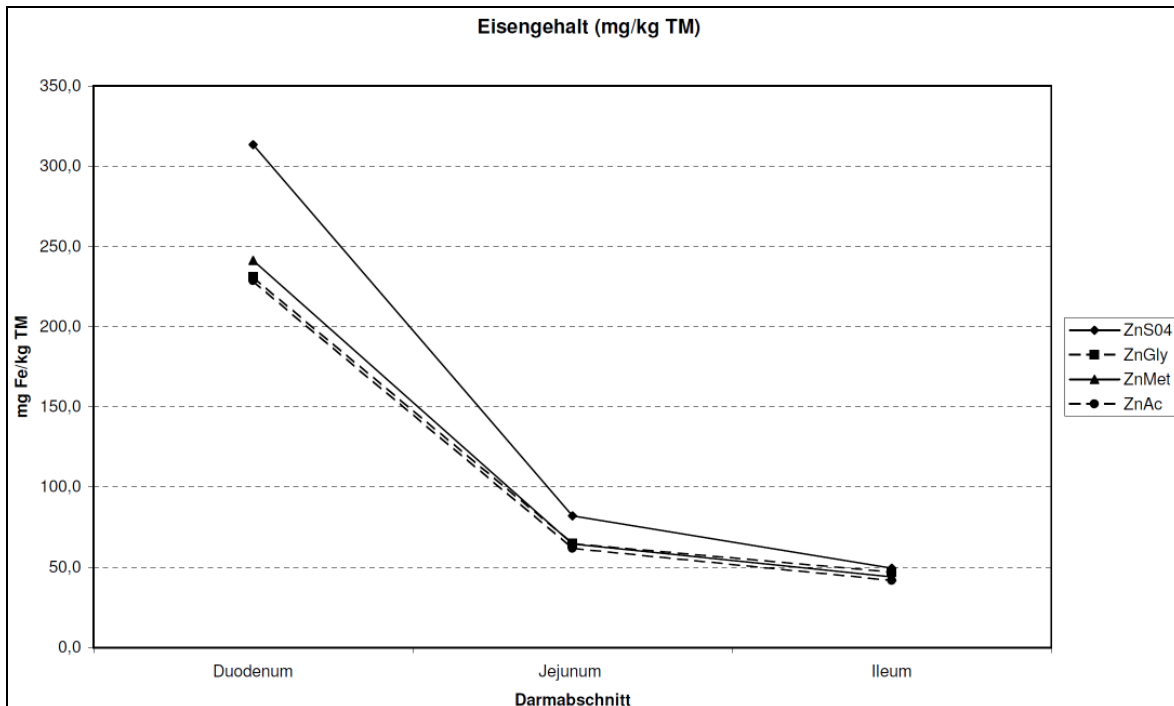


Abbildung 10: Eisenkonzentration im Gewebe der verschiedenen Dünndarmabschnitte

5.5.5 Expression der Metallothionein mRNA

Anhand der Expressionsanalyse der Metallothionein mRNA lässt sich weder in der Leber noch in den verschiedenen Abschnitten der Dünndarmmukosa ein signifikanter Einfluss der verabreichten Zinkverbindung erkennen. Möglicherweise war die Sensitivität des gewählten Verfahrens der semi-quantitativen PCR nicht ausreichend, um Unterschiede darzustellen. Die signifikant unterschiedlichen Zink- und Kupferkonzentrationen lassen es nämlich sehr wahrscheinlich erscheinen, dass es auch Unterschiede in der Konzentration des Metallspeicherproteins Metallothionein gab, zumal dessen m-RNA Expression durch die Anwesenheit von Zink in den Enterozyten induziert wird (COUSINS 1994).

In einem Fütterungsversuch an Ferkeln bei dem unterschiedliche und zum Teil deutlich höhere Zinkkonzentrationen (150-2000 mg/kg Diät) eingesetzt wurden, zeigte sich ein signifikanter Einfluss auf die MT-mRNA Konzentration in Leber und Dünndarm (MARTINEZ et al. 2004). Eine weitere Studie, zur Bioverfügbarkeit organischer Zinverbindungen beim Broiler setzte die MT-mRNA Konzentration im Pancreas als Messparameter ein. Hier konnte ein signifikanter Einfluss der Zinkverbindung auf die mRNA-Konzentration nachgewiesen werden (HUANG et al. 2009) In dieser Studie wurden zum einen die MT-mRNA in Pankreasproben gemessen und zum anderen wurde die quantitative Realtime-PCR, ein deutlich sensitiveres Nachweisverfahren eingesetzt. Dies könnte die positiven Ergebnisse, im Vergleich zur vorliegenden Studie, erklären.

6 Schlussfolgerung

Beim Vergleich der vier verabreichten Zinkverbindungen zeigten sich in der zweiten Versuchswoche bei der ZnGly-Gruppe signifikant höhere Futteraufnahmen und signifikant höhere Zunahmen als in der ZnSO₄- Vergleichsgruppe. Die Lebendmasse war ab dem 14. Versuchstag bis zum Versuchsende in dieser Gruppe signifikant höher als in der ZnSO₄-Gruppe. Besonders ausgeprägt war dieser Effekt in der Versuchsmitte, dem Zeitpunkt, zu dem das Zinkdefizit am größten war, wie das Absinken der Plasma-Zinkkonzentration und der Anstieg der freien Zinkbindekapazität zu diesem Zeitpunkt deutlich machen. Dies bestätigt auch die Versuchshypothese, dass in einem marginalen Versorgungsbereich die Unterschiede in der Bioverfügbarkeit stärker hervortreten.

Die positiven Effekte des Zink-Glycinats auf die Produktionsparameter ließen sich durch die weiteren ermittelten Daten zu Zink- und Mineralstoffbilanzen allerdings nicht erklären. Die Stoffwechselbilanzen von Zink, Eisen und Kupfer ließen keine erhöhte Aufnahme des Zinks in der ZnGly-Gruppe erkennen. In der zweiten Stoffwechselperiode hingegen zeigte sich für die ZnMet-Gruppe eine im Vergleich zur Kontrollsubstanz ZnSO₄ signifikant verbesserte Retention von Zink und Eisen. Bei dem gewählten Versorgungsniveau lassen sich somit keine Anzeichen antagonistischer Effekte einer verbesserten Zinkretention auf die Eisen- und Kupferretention erkennen, da die Eisen- und Kupferretention zu diesem Zeitpunkt in der ZnMet-Gruppe ebenfalls erhöht ist.

Auch die Mineralstoffgehalte in Leber, Knochen und Borsten trugen nicht zur Erklärung der positiven Effekte des ZnGly bei. Es ließen sich in keinem dieser untersuchten Organe Einflüsse der verabreichten Zinkverbindung auf die Zink-, Eisen- oder Kupferkonzentration nachweisen. Eine mögliche Ursache ist hier, dass die Zinkversorgung am Versuchsende bereits ein Niveau erreicht hatte, bei dem mögliche Unterschiede in der Bioverfügbarkeit bereits durch die körpereigenen Regulationsmechanismen ausgeglichen wurden.

Die Mineralstoffanalytik im Gewebe der einzelnen Dünndarmabschnitte zeigt hingegen, dass es eine signifikante Interaktion zwischen der verabreichten Zinkverbindung und dem Ort der Absorption gibt. In der ZnSO_4 -Gruppe sind die Zink-, Kupfer- und Eisenkonzentrationen im Duodenum im Vergleich zu den anderen Gruppen leicht erhöht. Dies könnte einen Hinweis darauf geben, dass die bei Dissoziation des ZnSO_4 schnell freigesetzten Zn-Ionen im Duodenum vermehrt absorbiert werden, während die komplexierten Zink-Ionen in den späteren Abschnitten aufgenommen werden. Die Messung der Genexpression des Metallothioneins spiegelt diese Unterschiede allerdings nicht wieder. Die Ursache hierfür dürfte die eingesetzte Methode der semiquantitativen PCR sein. Mit exakteren Methoden wie der quantitativen Realtime-PCR ließen sich hier vermutlich differenziertere Erkenntnisse gewinnen.

Im Bezug auf die landwirtschaftliche Praxis lässt sich aus den Ergebnissen der vorliegenden Studie ableiten, dass der Einsatz von Zinkglycinat in Situationen defizitärer Zinkversorgung einen positiven Effekt auf die Futteraufnahme und das Wachstum haben kann. Die bisherigen Ergebnisse lassen jedoch nicht eindeutig erkennen, auf welchem Stoffwechselwege diese positiven Effekte vermittelt werden.

7 Zusammenfassung

In der Vergangenheit wurden Studien, welche die Bioverfügbarkeit organischer Zinkverbindungen untersuchten, überwiegend mit pharmakologisch hohen Zinkkonzentrationen durchgeführt, da hochdosiertes Zink in der Ferkelaufzucht auch als Wachstumsförderer eingesetzt werden kann. Seit dem Jahr 2004 ist der Einsatz von Zink in den Rationen landwirtschaftlicher Nutztiere jedoch auf maximal 150 mg/kg Futtermittel begrenzt. Zudem besteht die Vermutung, dass sich Unterschiede in der Bioverfügbarkeit im Bereich der suboptimalen Zinkversorgung besser nachweisen lassen. Aus diesem Grund war das Ziel der vorliegenden Arbeit ein Vergleich der Bioverfügbarkeit dreier Zinkverbindungen mit Zinksulfat als Kontrollsubstanz in einem Fütterungsversuch mit praxisnaher Ration und marginaler Zinkversorgung (70% der Versorgungsempfehlungen). Als Zinkverbindungen wurden Glycin-Zinkchelate-Hydrat (ZnGly), Methionin-Hydroxyanalog-Zink-Chelat (ZnMet), Zinkacetat-Dihydrat (ZnAc) und Zinksulfat-Heptahydrat (ZnSO₄) eingesetzt.

Als Versuchstiere wurden 36 männliche, kastrierte Ferkel der Endproduktkreuzung Pietrain x DAN-Zucht im Alter von 27 Tagen und mit einer durchschnittlichen Körpermasse von $6,46 \pm 0,56$ kg eingesetzt. Für eine Versuchsdauer von 28 Tagen wurden die Tiere in Stoffwechsellkäfigen aus Edelstahl gehalten, die eine getrennte Sammlung von Kot und Urin ermöglichten. Die Tiere wurden, ihrem Ausgangsgewicht entsprechend, mittels Blockrandomisierung einer der vier Versuchsgruppen mit je 9 Ferkeln zugeteilt. Jede Gruppe erhielt eine Diät auf Basis von Mais und Sojaextraktionsschrot ohne Phytasezusatz, mit einem nativen Zinkgehalt von 20,2 mg/kg, die mit 50 mg Zink /kg Diät aus einer der vier Zinkverbindungen ergänzt wurde. Die Ration wurde dreimal täglich semi ad libitum vorgelegt und die Futteraufnahme täglich erfasst. Die Tiere wurden zu Versuchsbeginn und im Anschluss daran wöchentlich gewogen. Die täglichen Zunahmen sowie die Futterverwertung wurden mit Hilfe dieser Daten errechnet. Blutproben wurden ebenfalls zu Versuchsbeginn sowie an den Versuchstagen 14 und 28 genommen. In der zweiten und vierten Versuchswoche wurden Kot und Urin für die Mineralstoffbilanzen gesammelt. Zu Versuchsende wurden die Tiere durch einen Bolzenschussapparat betäubt und durch Ausbluten getötet. Proben von Darm, Leber, Knochen und Borsten wurden unmittelbar nach der Schlachtung entnommen und auf

Trockeneis gekühlt. In Futter, Kot und Urin sowie in den Organproben wurden die Zink-, Eisen- und Kupferkonzentrationen mittels Atomabsorptionsspektrometrie sowie Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma analysiert. Im Blutplasma wurden die Zinkkonzentration, die freie Zinkbindekapazität und die Aktivität der alkalischen Phosphatase gemessen. Darüber hinaus wurde in der Leber und der Mukosa verschiedener Dünndarmabschnitte die Expression der Metallothionein-mRNA gemessen.

Die Ferkel der ZnGly-Gruppe hatten in der zweiten Versuchswoche signifikant erhöhte Futteraufnahmen und tägliche Zunahmen und ab dem 14. Versuchstag eine signifikant höhere Lebendmasse im Vergleich zur ZnSO₄-Vergleichsgruppe. Die Futterverwertung blieb unbeeinflusst. Die positiven Effekte des ZnGly auf die Produktionsparameter spiegeln sich jedoch in den Daten der Zink- und Mineralstoffbilanzen nicht wider. Am 14. Versuchstag zeigte die Plasma-Zinkkonzentration und am 28. Tag (Versuchsende) die freie Zinkbindungskapazität hingegen eine signifikant verbesserte Zinkversorgung der ZnMet-Gruppe im Vergleich zu ZnSO₄ an. In der ersten Stoffwechselperiode gibt es keinen Einfluss der Zinkverbindung auf die Zinkbilanz. In der zweiten Stoffwechselperiode zeigte sich für die ZnMet-Gruppe eine im Vergleich zu ZnSO₄ als Kontrollsubstanz signifikant verbesserte Retention von Zink und Eisen. Die Ergebnisse der zweiten Stoffwechselperiode zeigen auch, dass sich bei dem gewählten Versorgungsniveau keine antagonistischen Effekte einer verbesserten Zinkretention auf die Eisen- und Kupferretention abzeichnen. Bei der Messung der Aktivität der alkalischen Phosphatase, sowie bei der Analyse der Zinkkonzentrationen in Leber, Knochen und Borsten ergaben sich keine signifikanten Einflüsse der verabreichten Zinkverbindung. Auch der Expression der Metallothionein-mRNA in Leber und den verschiedenen Dünndarmabschnitten zeigt keinen Einfluss der verabreichten Zinkverbindung.

Die Plasma-Zinkkonzentrationen liegen am unteren Rand der Richtwerte für Ferkel. Zudem fallen sie zur Versuchsmitte hin ab. Dies macht deutlich, dass das gesteckte Ziel einer marginalen Versorgung erreicht wurde, insbesondere zur Versuchsmitte hin. Die positiven Effekte der ZnGly Gruppe waren in der Versuchsmitte ebenfalls besonders ausgeprägt, was die Vermutung bestätigt, dass sich Unterschiede in der Bioverfügbarkeit im Bereich der suboptimalen Versorgung besser darstellen lassen.

Die Versuchsergebnisse lassen erkennen, dass der Einsatz von Zink-Glycinat in Situationen mit suboptimaler Zinkversorgung positive Effekte auf die Futteraufnahme und das Wachstum haben kann. Der Nachweis, dass diese positiven Effekte auch eindeutig auf einer verbesserten Zinkversorgung beruhen, konnte unter den geprüften Bedingungen jedoch nicht eindeutig erbracht werden.

8 Summary

The bioavailability of different organic zinc sources has been investigated in several studies. Due to the growth promoting effects of high zinc doses in piglet nutrition, most of the studies using piglets as experimental animals were conducted with pharmacologically high concentrations. However, differences in bioavailability may be more pronounced in situations with marginal zinc supply. Therefore, the aim of the present study was to compare the effects of three different organic zinc sources (glycine zinc chelate hydrate (ZnGly), zinc methionine hydroxyl analogue chelate (ZnMet), and zinc acetate dihydrate (ZnAc) to $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ in a feeding trial using a non-synthetic diet with marginal zinc supply (70% of the recommended amount).

A 28 day feeding trial was conducted with 36 weaned barrows of the commercial crossing Pietrain x DAN breed with an average age of 27 days and 6.46 ± 0.56 kg body weight. The experimental design was a randomized complete block design. Animals were blocked by weight and assigned to one of four experimental groups. Each group of nine piglets received a diet based on corn and soybean meal without supplemental phytase, containing a native zinc concentration of 20.2 mg/kg, which was supplemented with 50 mg/kg zinc from one of the four zinc sources. The diet was fed three times daily semi ad libitum, and feed intake was recorded daily. Animals were weighed weekly. Blood samples were taken three times, at the start (d 0), after week two (d 14), and at the end of the trial (d 28). In weeks 2 and 4 of the trial, faeces and urine were collected in total. At the end of the trial, animals were sacrificed by exsanguination after captive bolt stunning. Samples of liver, intestine, bone and bristles were taken immediately and cooled on dry ice. Diet, faeces, urine and organ samples were analysed for zinc, iron and copper concentration by atomic absorption spectrometry and atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma. In blood plasma, zinc concentration, free zinc binding capacity and alkaline phosphatase activity were measured. Furthermore, hepatic tissue and mucosal tissue of the small intestine were analysed for metallothionein mRNA-Expression.

Piglets which received ZnGly had a significantly higher average feed intake and average daily growth in the second week of the trial, and from day 14 on their body weight was significantly higher, compared to the ZnSO_4 -group. These positive results

were however not reflected by the other data. In contrast, the zinc plasma concentration on d 14 and the free zinc binding capacity on d 28 indicated a significantly improved zinc status in the ZnMet-group compared to the ZnSO₄-group. There was no effect of zinc source in the first collection period. However, the results of the second metabolism period also indicate a significantly higher retention of Zn, Fe and Cu in the ZnMet-group. These results also show that there was no antagonism in retention of Zn, Fe and Cu at the chosen level of supply of these trace elements.

The plasma zinc concentration was at the lower end of the recommendations for piglets. Additionally, there was a decrease in plasma zinc concentration on d 14. This indicates that the aim of conducting a study with marginal zinc supply was met, and that the zinc deficit was higher in the middle of the trial than at the beginning or the end. This observation is accompanied by significant differences in production data at this time, which supports the hypothesis that differences in bioavailability are more pronounced in situations of suboptimal zinc supply.

Practical implications from this trial are that in situations of low zinc supply the use of ZnGly might have beneficial effects on feed intake and growth rate. However, under the tested conditions, it was not possible to determine whether these effects are directly caused by an improved zinc supply.

Literaturverzeichnis

- ALLAN, A. K., G. M. HAWKSWORTH, L. R. WOODHOUSE, B. SUTHERLAND, J. C. KING, J. H. BEATTIE (2000): Lymphocyte metallothionein mRNA responds to marginal zinc intake in human volunteers. *British Journal of Nutrition* **84**:747–756.
- AMMERMAN, C. B., D. H. BAKER, A. J. LEWIS (1995): Bioavailability of Nutrients for Animals. Amino Acids, Minerals, and Vitamins. San Diego, California: Academic Press.
- ANDREINI, C., L. BANCİ, I. BERTINI, A. ROSATO (2006): Counting the zinc-proteins encoded in the human genome. *Journal of Proteome Research* **5**:196–201.
- ANTONSON, D. L., A. J. BARAK, J. A. VANDERHOOF (1979): Determination of the site of zinc-absorption in rat small-intestine. *The Journal of Nutrition* **109**:142–147.
- AO, T., J. L. PIERCE, R. POWER, A. J. PESCATORE, A. H. CANTOR, K. A. DAWSON, M. J. FORD (2009): Effects of feeding different forms of zinc and copper on the performance and tissue mineral content of chicks. *Poultry Science* **88**:2171–2175.
- ARCASOY, A., T. YILDIRMAK, Y. YILDIRMAK, S. TUNC, B. SINAV, L. KUTLUAY (2001): A test in the diagnosis of marginal zinc deficiency in the geriatric people: serum zinc binding capacity. *Trace Elements and Electrolytes* **18**:139–141.
- ARGEMI, J., J. SERRANO, M. C. GUTIERREZ, M. S. RUIZ, A. GIL (1988): Serum zinc-binding capacity in pregnant women. *Annals of Nutrition and Metabolism* **32**:121–126.
- BAER, M. T., J. C. KING (1984): Tissue zinc levels and zinc excretion during experimental zinc depletion in young men. *American Journal of Clinical Nutrition* **39**:556–570.
- BASSLER, R. (1976): Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 3.Aufl. Darmstadt: VDLUFA-Verlag.
- BROWN, T. F., L. K. ZERINGUE (1994): Laboratory evaluations of solubility and structural integrity of complexed and chelated trace mineral supplements. *Journal of Dairy Science* **77**:181–189.
- BUFF, C. E., D. W. BOLLINGER, M. R. ELLERSIECK, W. A. BROMMELSIEK, T. L. VEUM (2005): Comparison of growth performance and zinc absorption, retention, and excretion in weanling pigs fed diets supplemented with zinc-polysaccharide or zinc oxide. *Journal of Animal Science* **83**:2380–2386.
- CAO, J., P. R. HENRY, R. GUO, R. K. HOLWERDA, J. P. TOTH, R. C. LITTELL, R. D. MILES, C. B. AMMERMAN (2000): Chemical characteristics and relative bioavailability of supplemental organic zinc sources for poultry and ruminants. *Journal of Animal Science* **78**:2039–2054.

- CARLSON, D., J. H. BEATTIE, H. D. POULSEN (2007): Assessment of zinc and copper status in weaned piglets in relation to dietary zinc and copper supply. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **91**:19–28.
- CARLSON, M. S., C. A. BOREN, C. WU, C. E. HUNTINGTON, D. W. BOLLINGER, T. L. VEUM (2004): Evaluation of various inclusion rates of organic zinc either as polysaccharide or proteinate complex on the growth performance, plasma, and excretion of nursery pigs. *Journal of Animal Science* **82**:1359–1366.
- CASE, C. L., M. S. CARLSON (2002): Effect of feeding organic and inorganic sources of additional zinc on growth performance and zinc balance in nursery pigs. *Journal of Animal Science* **80**:1917–1924.
- CHAUSMER, A. B. (1998): Zinc, insulin and diabetes. *Journal of the American College of Nutrition* **17**:109–115.
- CHENG, J., E. T. KORNEGAY, T. SCHELL (1998): Influence of dietary lysine on the utilization of zinc from zinc sulfate and a zinc-lysine complex by young pigs. *Journal of Animal Science* **76**:1064–1074.
- CHOMCZYNSKI, P., N. SACCHI (1987): Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate phenol chloroform extraction. *Analytical Biochemistry* **162**:156–159.
- COUSINS, R. J. (1985): Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc - special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiological Reviews* **65**:238–309.
- COUSINS, R. J. (1994): Metal elements and gene-expression. *Annual Review of Nutrition* **14**:449–469.
- COUSINS, R. J., L. M. LEEAMBROSE (1992): Nuclear zinc uptake and interactions and metallothionein gene-expression are influenced by dietary zinc in rats. *Journal of Nutrition* **122**:56–64.
- COUSINS, R. J., J. P. LIUZZI, L. A. LICHTEN (2006): Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *Journal of Biological Chemistry* **281**:24085–24089.
- COUSINS, R. J. (1996): Zinc. In: Ziegler, E. E, L. J. Filer (Hg.): *Present Knowledge in Nutrition*. 7. Aufl. Washington, D.C: ILSI Press International Life Sciences Institute :293–306.
- CRAGG, R. A., G. R. CHRISTIE, S. R. PHILLIPS, R. M. RUSSI, S. KURY, J. C. MATHERS, P. M. TAYLOR, D. FORD (2002): A novel zinc-regulated human zinc transporter, hZTL1, is localized to the enterocyte apical membrane. *Journal of Biological Chemistry* **277**:22789–22797.
- DAVIES, N. T. (1980): Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *British Journal of Nutrition* **43**:189–203.

- DAVIES, N. T., R. NIGHTINGALE (1975): Effects of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc, and whole-body retention of Zn, copper, iron and manganese in rats. *British Journal of Nutrition* **34**:243–258.
- DAVIES, N. T., S. E. OLPIN (1979): Studies on the phytate-zinc molar ratio contents in diets as a determinant of Zn availability in young rats. *British Journal of Nutrition* **41**:591–603.
- DAVIS, S. R., R. J. MCMAHON, R. J. COUSINS (1998): Metallothionein knockout and transgenic mice exhibit altered intestinal processing of zinc with uniform zinc-dependent zinc transporter-1 expression. *Journal of Nutrition* **128**:825–831.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR KLINISCHE CHEMIE (1972): Standardisierung von Methoden zur Bestimmung von Enzymaktivitäten in biologischen Flüssigkeiten. Standard-Methode zur Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase (AP). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* **10**:182–192.
- DEVIRGILIIS, C., P. D. ZALEWSKI, G. PEROZZI, C. MURGIA (2007): Zinc fluxes and zinc transporter genes in chronic diseases. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **622**:84–93.
- DIBLEY, M. J. (2001): Zinc. In: Bowman, B. A.; Russell, R. M. (Hg.): *Present Knowledge in Nutrition*. 8th Ed. Washington, D.C: ILSI Press International Life Sciences Institute :329–343.
- EIDE, D. J. (2004): The SLC39 family of metal ion transporters. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* **447**:796–800.
- ETTLE, T., P. SCHLEGEL, F. X. ROTH (2008): Investigations on iron bioavailability of different sources and supply levels in piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **92**:35-43.
- EUROPÄISCHES PARLAMENT UND RAT (2003): Verordnung (EG) 1831/2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung.
- EVANS (1980) zitiert in: SWINKELS, J.W.G.M., E. T. KORNEGAY, W. ZHOU, M. D. LINDEMANN, K. E. WEBB, M. W. A. VERSTEGEN (1996): Effectiveness of a zinc amino acid chelate and zinc sulfate in restoring serum and soft tissue zinc concentrations when fed to zinc-depleted pigs. *Journal of Animal Science* **74**:2420–2430.
- GfE (2006): Empfehlungen zur Energie- und Nährstoffversorgung von Schweinen. Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie Frankfurt am Main: DLG-Verlag.
- GIBSON, R. S., S. Y. HESS, C. HOTZ, K. H. BROWN (2008): Indicators of zinc status at the population level: a review of the evidence. *British Journal of Nutrition* **99**:S14-S23.

- GRIDER, A., L. B. BAILEY, R. J. COUSINS (1990): Erythrocyte metallothionein as an index of zinc status in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **87**:1259–1262.
- GRIDER, A., M. F. MOUAT, E. A. MAULDIN, M. L. CASAL (2007): Analysis of the liver soluble proteome from bull terriers affected with inherited lethal acrodermatitis. *Molecular Genetics and Metabolism* **92**:249–257.
- GUFFANTI, A. A., Y. WEI, S. V. ROOD, T. A. KRULWICH (2002): An antiport mechanism for a member of the cation diffusion facilitator family: divalent cations efflux in exchange for K⁺ and H⁺. *Molecular Microbiology* **45**:145–153.
- HAMBIDGE (1986) zitiert in: MCDOWELL, L.R. (2003): Minerals in Animal and Human Nutrition. 2. ed. Amsterdam: Elsevier.
- HAMBIDGE, K. M. (2003): Biomarkers of trace mineral intake and status. *Journal of Nutrition* **133**:948S-955S.
- HAMBIDGE, K. M., M. J. GOODALL, C. STALL, J. PRITTS (1989): Post-prandial and daily changes in plasma zinc. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease* **3**:55–57.
- HAMBIDGE, K. M., N. F. KREBS, C. C. LYLE, M. A. JACOBS, S. A. MYLET (1982): Zinc nutritional-status during pregnancy. *Federation Proceedings* **41**:348-348.
- HAMBIDGE, K. M., N. F. KREBS, J. E. WESTCOTT, L. V. MILLER (2006): Changes in zinc absorption during development. *Journal of Pediatrics* **149**:S64-S68.
- HEINRITZI, K., H. PLONAIT (2004): Blutkrankheiten. In: Waldmann, K.-H.; Wendt, M. (Hg.): *Lehrbuch der Schweinekrankheiten*. 4. Aufl. Stuttgart: Parey .
- HEMPE, J. M., R. J. COUSINS (1989): Effect of EDTA and zinc-methionine complex on zinc absorption by rat intestine. *Journal of Nutrition* **119**:1179–1187.
- HILL, D. A., E. R. J. PEO, A. J. LEWIS, J. D. CRENSHAW (1986): Zinc-amino acid complexes for swine. *Journal of Animal Science* **63**:121–130.
- HÖHLER, D., J. PALLAUF (1994): Effects of Zn-supply and addition of citric-acid to a maize-soya diet on the nutritional efficiency and absorption of minerals in piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **71**:189–199.
- HOLLIS, G. R., S. D. CARTER, T. R. CLINE, T. D. CRENSHAW, G. L. CROMWELL, G. M. HILL, S. W. KIM, A. J. LEWIS, D. C. MAHAN, P. S. MILLER, H. H. STEIN, T. L. VEUM (2005): Effects of replacing pharmacological levels of dietary zinc oxide with lower dietary levels of various organic zinc sources for weanling pigs. *Journal of Animal Science* **83**:2123–2129.
- HUANG, Y. L., L. LU, S. F. LI, X. G. LUO, B. LIU (2009): Relative bioavailabilities of organic zinc sources with different chelation strengths for broilers fed a conventional corn-soybean meal diet. *Journal of Animal Science* **87**:2038–2046.

- JANSSEN, J., W. LAATZ (2007): Statistische Datenanalyse mit SPSS für Windows. 6.Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- JONDREVILLE, C., P. S. REVY, J. Y. DOURMAD (2003): Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter. *Livestock Production Science* **84**:147–156.
- KAMBE, T., J. GEISER, B. LAHNER, DE SALT, G. K. ANDREWS (2008): Slc39a1 to 3 (subfamily II) Zip genes in mice have unique cell-specific functions during adaptation to zinc deficiency. *American Journal of Physiology* **294**:R1474-R1481.
- KAPS, M.; LAMBERSON, W. R. (Hg.) (2009): Biostatistics for animal science. 2nd ed. Wallingford Oxfordshire, Cambridge MA: CABI Publishing.
- KAUER, C. (2006): Auswirkungen suboptimaler Manganversorgung auf biochemische Parameter, Mangan-Versorgungsstatus und Chondropoese beim Ferkel. Untersuchungen zur optimalen Manganversorgung. Inaugural-Dissertation zum Dr .med. vet., Justus-Liebig-Universität Gießen, Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie.
- KINCAID, R. L., J. D. CRONRATH (1979): Effects of dietary zinc upon tissue zinc and percent unsaturated plasma-zinc binding-capacity. *Journal of Dairy Science* **62**:572–576.
- KING, J. C. (1990): Assessment of zinc status. *Journal of Nutrition* **120**:1474–1479.
- KRAMETTER-FROETSCHER, R., S. HAUSER, W. BAUMGARTNER (2005): Zinc-responsive dermatosis in goats suggestive of hereditary malabsorption: two field cases. *Veterinary Dermatology* **16**:269–275.
- KRATZER, F. H., J. B. ALLRED, P. N. DAVIES, B. J. MARSHALL, P. VOHRA (1959): The effect of autoclaving soybean protein and the addition of ethylenediaminetetracetic acid on the biological availability of dietary zinc for turkey poults. *Journal of Nutrition* **68**:313–322.
- KURY, S., B. DRENO, S. BEZIEAU, S. GIRAUDET, M. KHARFI, R. KAMOUN, J. P. MOISAN (2002): Identification of SLC39A4, a gene involved in acrodermatitis enteropathica. *Nature Genetics* **31**:239–240.
- LEE, H. H., A. S. PRASAD, G. J. BREWER, C. OWYANG (1989): Zinc-absorption in human small-intestine. *American Journal of Physiology* **256**:G87-G91.
- LICHTEN, L. A., R. J. COUSINS (2009): Mammalian zinc transporters: Nutritional and physiologic regulation. *Annual Review of Nutrition* **29**:153–176.
- LIUZZI, J. P., R. K. BLANCHARD, R. J. COUSINS (2001): Differential regulation of zinc transporter 1, 2, and 4 mRNA expression by dietary zinc in rats. *Journal of Nutrition* **131**:46–52.

- LIUZZI, J. P., R. J. COUSINS (2004): Mammalian zinc transporters. *Annual Review of Nutrition* **24**:151–172.
- LOWE, N. M., K. FEKETE, T. DECSI (2009): Methods of assessment of zinc status in humans: a systematic review. *American Journal of Clinical Nutrition* **89**:2040S–2051.
- MACDIARMID, C. W., M. A. MILANICK, D. J. EIDE (2002): Biochemical properties of vacuolar zinc transport systems of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biological Chemistry* **277**:39187–39194.
- MÄNNER, K., O. SIMON, P. SCHLEGEL (2006): Effects of different iron, manganese, zinc and copper sources (sulphates, chelates, glycinate) on their bioavailability in early weaned piglets. In: Rodehutschord, M. (Hg.): *9. Tagung Schweine- und Geflügelernährung*. Tagungsband ; 28.-30.11.2006. Halle: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften.
- MARTINEZ, M. M., G. M. HILL, J. E. LINK, N. E. RANEY, R. J. TEMPELMAN, C. W. ERNST (2004): Pharmacological zinc and phytase supplementation enhance metallothionein mRNA abundance and protein concentration in newly weaned pigs. *Journal of Nutrition* **134**:538–544.
- MAVERAKIS, E., M. A. FUNG, P. J. LYNCH, M. DRAZNIN, D. J. MICHAEL, B. RUBEN, N. FAZEL (2007): Acrodermatitis enteropathica and an overview of zinc metabolism. *Journal of the American Academy of Dermatology* **56**:116–124.
- MCDOWELL, L. R. (2003): *Minerals in Animal and Human Nutrition*. 2. ed. Amsterdam: Elsevier.
- MCCMAHON, R. J., R. J. COUSINS (1998a): Mammalian zinc transporters. *Journal of Nutrition* **128**:667–670.
- MCCMAHON, R. J., R. J. COUSINS (1998b): Regulation of the zinc transporter ZnT-1 by dietary zinc. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* **95**:4841–4846.
- MOMCILOVIC (1975) zitiert in: AMMERMAN, C.B., D. H. BAKER, A. J. LEWIS (1995): *Bioavailability of Nutrients for Animals. Amino Acids, Minerals, and Vitamins*. San Diego, California: Academic Press.
- MORRIS, E. R., R. ELLIS (1980): Effect of dietary phytate-zinc molar ratio on growth and bone zinc response of rats fed semipurified diets. *Journal of Nutrition* **110**:1037–1045.
- NAVEH, Y., L. M. LEEAMBROSE, D. A. SAMUELSON, R. J. COUSINS (1993): Malabsorption of zinc in rats with acetic acid-induced enteritis and colitis. *Journal of Nutrition* **123**:1389–1395.
- NERBAS, E. (2008): Aktualisierung von Blutparametern beim Schwein. Inaugural-Dissertation zum Dr. med. vet., Tierärztliche Hochschule Hannover.

- NEUSSER, H., J. PALLAUF (1988): Determination of myo-inositol-1,2,3,4,5,6-hexakisdihydrogenposphate in feeds and faeces using high-performance liquid-chromatography. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **60**:20.
- NIELSEN, F. H., M. L. SUNDE, W. G. HOEKSTRA (1966a): Effect of dietary amino acid source on the zinc-deficiency syndrome in the chick. *Journal of Nutrition* **89**:24–34.
- NIELSEN, F. H., M. L. SUNDE, W. G. HOEKSTRA (1966b): Effect of some dietary synthetic and natural chelating agents on the zinc-deficiency syndrome in the chick. *Journal of Nutrition* **89**:35–42.
- NRC (1998): Nutrient Requirements of Swine. 10th rev. ed. Washington, DC: National Academy Press.
- NYGARD, A. B., C. B. JORGENSEN, S. CIRERA, M. FREDHOLM (2007): Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR. *BMC Molecular Biology* **8**: Onlinepublikation.
- OBERLEAS, D. (1983): The role of phytate in zinc bioavailability and homeostasis. In: Inglett, George E. (Hg.): *Nutritional Bioavailability of Zinc*. Washington, DC: American Chemical Society (ACS Symposium Series, 210), Bd. **210**:145–158.
- OESTREICHER, P. & COUSINS, R. J. (1989). Zinc uptake by basolateral membrane vesicles from rat small intestine. *Journal of Nutrition* **119**: 639-646.
- PALLAUF, J., D. HÖHLER, G. RIMBACH (1992): Effect of microbial phytase supplementation to a maize-soya diet on the apparent absorption of Mg, Fe, Cu, Mn and Zn and parameters of Zn-status in piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **68**:1–9.
- PALLAUF, J., M. KIRCHGESSNER (1973): Zinkkonzentration des Rattenhaares bei Zinkdepletion und –repletion – Zur Eignung des Haares als Indikator für die Zinkversorgung. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A* **20**:100–109.
- PALLAUF, J., G. RIMBACH (1997): Nutritional significance of phytic acid and phytase. *Archives of Animal Nutrition* **50**:301–319.
- PALMITER, R. D., L. P. HUANG (2004): Efflux and compartmentalization of zinc by members of the SLC30 family of solute carriers. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* **447**:744–751.
- PULS, R. (1994): Mineral Levels in Animal Health. 2nd. Ed. Clearbrook, B.C.
- REVY, P. S., C. JONDREVILLE, J. Y. DOURMAD, F. GUINOTTE, Y. NYS (2002): Bioavailability of two sources of zinc in weanling pigs. *Animal Research* **51**:315–326.
- REVY, P. S., C. JONDREVILLE, J. Y. DOURMAD, Y. NYS (2006): Assessment of dietary zinc requirement of weaned piglets fed diets with or without microbial phytase. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **90**:50–59.

- REY, R., C. JONDREVILLE, J. Y. DOURMAD, Y. NYS (2004): Effect of zinc supplemented as either an organic or an inorganic source and of microbial phytase on zinc and other minerals utilisation by weanling pigs. *Animal Feed Science and Technology* **116**:93–112.
- RIMBACH, G., A. MARKANT, J. PALLAUF, K. KRÄMER (1996): Zinc - Update of an essential trace element. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* **35**:123–142.
- RIMBACH, G., J. PALLAUF (1992): Effect of an addition of microbial phytase on zinc availability. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft* **31**:269–277.
- RIMBACH, G., A. WALTER, E. MOST, J. PALLAUF (1998): Effect of microbial phytase on zinc bioavailability and cadmium and lead accumulation in growing rats. *Food and chemical toxicology* **36**:7–12.
- RINCKER, M. J., G. M. HILL, J. E. LINK, A. M. MEYER, J. E. ROWNTREE (2005): Effects of dietary zinc and iron supplementation on mineral excretion, body composition, and mineral status of nursery pigs. *Journal of Animal Science* **83**:2762–2774.
- ROTH, H. P., M. KIRCHGESSNER (1980): Zn-binding capacity of serum - a parameter for diagnosing marginal Zn deficiency. *Research in Experimental Medicine* **177**:213–219.
- ROTH, H. P., M. KIRCHGESSNER (1985): Utilization of zinc from picolinic or citric-acid complexes in relation to dietary protein source in rats. *Journal of Nutrition* **115**:1641–1649.
- ROTH, H. P., M. KIRCHGESSNER (1999): Diagnosis of zinc deficiency. *Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie* **32**:55–63.
- SANDSTRÖM, B., L. DAVIDSON, A. CEDERBLAD, B. LÖNNERDAL (1985): Oral iron, dietary ligands and zinc-absorption. *Journal of Nutrition* **115**:411–414.
- SHELL, T. C., E. T. KORNEGAY (1996): Zinc concentration in tissues and performance of weanling pigs fed pharmacological levels of zinc from ZnO, Zn-methionine, Zn-lysine, or ZnSO₄. *Journal of Animal Science* **74**:1584–1593.
- SCHLEGEL, P. (2006): Experimental designs to study organic trace mineral sources in animal nutrition. In: Windisch, W. (Hrsg.): *Experimentelle Modelle der Spurenelementforschung*. München: Utz (Schriftenreihe der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e.V.).
- SCHLEGEL, P., W. WINDISCH (2006): Bioavailability of zinc glycinate in comparison with zinc sulphate in the presence of dietary phytate in an animal model with Zn-65 labelled rats. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **90**:216–222.
- SCOTT, B. J., A. R. BRADWELL (1983): Identification of the serum binding-proteins for iron, zinc, cadmium, nickel, and calcium. *Clinical Chemistry* **29**:629–633.
- SCOTT, M. L., T. R. ZEIGLER (1963): Evidence for natural chelates which aid in utilization of zinc by chicks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **11**:123–125.

- SEAL, C.J., F. W. HEATON (1985): Effect of dietary picolinic-acid on the metabolism of exogenous and endogenous zinc in the rat. *Journal of Nutrition* **115**:986–993.
- SOLOMONS, N. W. (1986): Competitive interactions of iron and zinc in the diet - consequences for human nutrition. *Journal of Nutrition* **116**:927–935.
- SOMMER, A. L., C. B. LIPMAN (1926): Evidence of indispensable nature of zinc and boron for higher green plants. *Plant Physiology* **1**:231–249.
- SOUCI, S. W., W. FACHMANN, H. KRAUT (2007): Food composition and nutrition tables. 7. Aufl. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishing.
- SULLIVAN, V. K., F. R. BURNETT, R. J. COUSINS (1998): Metallothionein expression is increased in monocytes and erythrocytes of young men during zinc supplementation. *Journal of Nutrition* **128**:707–713.
- SUTTLE, N. F. (2010): Mineral Nutrition of Livestock. 4. ed. Wallingford, Oxfordshire: CABI.
- SWINKELS, J. W. G. M., E. T. KORNEGAY, W. ZHOU, M. D. LINDEMANN, K. E. WEBB, M. W. A. VERSTEGEN (1996): Effectiveness of a zinc amino acid chelate and zinc sulfate in restoring serum and soft tissue zinc concentrations when fed to zinc-depleted pigs. *Journal of Animal Science* **74**:2420–2430.
- SWINKELS, J. W. G. M., E. T. KORNEGAY, M. W. A. VERSTEGEN (1994): Biology of zinc and biological value of dietary organic zinc complexes and chelates. *Nutrition Research Reviews* **7**:129–149.
- THOMAS, E. A., L. B. BAILEY, G. A. KAUWELL, D. Y. LEE, R. J. COUSINS (1992): Erythrocyte metallothionein response to dietary zinc in humans. *The Journal of Nutrition* **122**:2408–2414.
- TODD, W. R., C. A. ELVEHJEM, E. B. HART (1934): Zinc in the nutrition of the rat. *American Journal of Physiology* 146–156.
- TUCKER, H. F., W. D. SALMON (1955): Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **88**:613–616.
- VALENTINE, R. A., K. A. JACKSON, G. R. CHRISTIE, J. C. MATHERS, P. M. TAYLOR, D. FORD (2007): ZnT5 variant B is a bidirectional zinc transporter and mediates zinc uptake in human intestinal Caco-2 cells. *Journal of Biological Chemistry* **282**:14389–14393.
- VAN CAMPEN, D. R. (1969): Copper interference with the intestinal absorption of zinc-65 by rats. *Journal of Nutrition* **97**:104–108.
- VAN HEUGTEN, E., J. W. SPEARS, E. B. KEGLEY, J. D. WARD, M. A. QURESHI (2003): Effects of organic forms of zinc on growth performance, tissue zinc distribution, and immune response of weanling pigs. *Journal of Animal Science* **81**:2063–2071.

- VOHRA, P., F. H. KRATZER (1964): Influence of various chelating agents on availability of zinc. *Journal of Nutrition* **82**:249–256.
- WALRAVENS, P. A., N. F. KREBS, K. M. HAMBIDGE (1983): Linear growth of low income preschool-children receiving a zinc supplement. *American Journal of Clinical Nutrition* **38**:195–201.
- WALZ, O. P., J. PALLAUF (2002): Microbial phytase combined with amino acid supplementation reduces P and N excretion of growing and finishing pigs without loss of performance. *International Journal of Food Science and Technology* **37**:835–848.
- WANG, K., B. ZHOU, Y. M. KUO, J. ZEMANSKY, J. GITSCHIER (2002): A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica. *American Journal of Human Genetics* **71**:66–73.
- WANG, Y., J. W. TANG, W. Q. MA, J. FENG, J. FENG (2010): Dietary zinc glycine chelate on growth performance, tissue mineral concentrations, and serum enzyme activity in weanling piglets. *Biological Trace Element Research* **133**:325–334.
- WAPNIR, R. A., D. E. KHANI, M. A. BAYNE, F. LIFSHITZ (1983): Absorption of zinc by the rat ileum - effects of histidine and other low-molecular-weight ligands. *Journal of Nutrition* **113**:1346–1354.
- WEAVER, B. P., J. D. BEATTIE, T. KAMBE, G. K. ANDREWS (2007): Novel zinc-responsive post-transcriptional mechanisms reciprocally regulate expression of the mouse Slc39a4 and Slc39a5 zinc transporters (Zip4 and Zip5). *Biological Chemistry* **388**:1301–1312.
- WEDEKIND, K. J., A. E. HORTIN, D. H. BAKER (1992): Methodology for assessing zinc bioavailability - efficacy estimates for zinc-methionine, zinc-sulfate, and zinc-oxide. *Journal of Animal Science* **70**:178–187.
- WEDEKIND, K. J., A. J. LEWIS, M. A. GIESEMANN, P. S. MILLER (1994): Bioavailability of zinc from inorganic and organic sources for pigs fed corn-soybean meal diets. *Journal of Animal Science* **72**:2681–2689.
- WEIGAND, E., M. KIRCHGESSNER (1978): Homeostatic adjustments in zinc digestion to widely varying dietary zinc intake. *Nutrition and Metabolism* **22**:101–112.
- WHITE, S. D., P. BOURDEAU, R. A. ROSYCHUK, B. COHEN, T. BONENBERGER, K. V. FIESELER, P. IHRKE, P. L. CHAPMAN, P. SCHULTHEISS, G. ZUR, A. CANNON, C. OUTERBRIDGE (2001): Zinc-responsive dermatosis in dogs: 41 cases and literature review. *Veterinary Dermatology* **12**:101–109.
- WINDISCH, W., M. KIRCHGESSNER (1996): Effect of phytase on apparent digestibility and gross utilization of Fe, Cu, Zn and Mn at different levels of calcium supply in piglets and broilers. *Agribiological Research* **49**:23–29.
- WOOD, R. J. (2000): Assessment of marginal zinc status in humans. *Journal of Nutrition* **130**:1350S-1354S.

- YUZBASIYAN-GURKAN, V., E. BARTLETT (2006): Identification of a unique splice site variant in SLC39A4 in bovine hereditary zinc deficiency, lethal trait A46: An animal model of acrodermatitis enteropathica. *Genomics* **88**:521–526.
- ZEECK, A.; S. GROND; I. PAPASTAVROU, S. C. ZEECK (Hg.) (2010): Chemie für Mediziner. 7. Aufl. München: Elsevier Urban & Fischer.

Anhang

Anhangstabelle 1: Durchschnittliche tägliche Futteraufnahme der Versuchstiere

Gruppe	Tier Nr.	Futteraufnahme (kg)				Gesamt-Zeitraum
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	
ZnSO ₄	1	0,081	0,232	0,257	0,414	0,246
	2	0,099	0,231	0,267	0,451	0,262
	3	0,162	0,341	0,417	0,642	0,391
	4	<i>0,061</i>	0,184	0,259	0,374	0,219
	5	<i>0,076</i>	0,204	0,343	0,338	0,240
	6	0,166	0,280	0,380	0,550	0,344
	7	0,141	0,235	0,331	0,567	0,318
	8	0,163	0,181	0,221	0,400	0,241
	9	0,157	0,276	0,385	0,624	0,361
	MW	0,123	0,240	0,318	0,484	0,291
	SD	0,043	0,051	0,069	0,113	0,063
ZnGly	10	0,137	0,335	0,429	0,640	0,385
	11	0,152	0,251	0,306	0,455	0,291
	12	0,180	0,361	0,386	0,706	0,408
	13	0,143	0,269	0,348	0,615	0,344
	14	0,179	0,408	0,445	0,647	0,420
	15	0,109	0,310	0,378	0,540	0,334
	16	0,172	0,365	0,382	0,516	0,359
	17	0,202	0,387	0,416	0,699	0,426
	18	0,204	0,267	0,424	0,512	0,352
	MW	0,164	0,328	0,390	0,592	0,369
	SD	0,031	0,057	0,044	0,089	0,045
ZnMet	19	0,180	0,241	0,313	0,630	0,341
	20	0,151	0,325	0,343	0,529	0,337
	21	0,143	0,268	0,261	0,430	0,275
	22	0,181	0,277	0,361	0,578	0,349
	23	0,093	0,236	0,180	0,329	0,209
	24	0,162	0,275	0,371	0,555	0,341
	25	0,191	0,299	0,309	0,584	0,346
	26	0,180	0,277	0,318	0,584	0,340
	27	0,161	0,350	0,358	0,591	0,365
	MW	0,160	0,283	0,313	0,534	0,323
	SD	0,030	0,037	0,060	0,095	0,049
ZnAc	28	0,154	0,272	0,246	0,387	0,265
	29	0,152	0,294	0,315	0,431	0,298
	30	0,153	0,203	0,206	0,402	0,241
	31	0,184	0,332	0,457	0,607	0,395
	32	0,192	0,322	0,392	0,631	0,384
	33	0,145	0,338	0,404	0,672	0,390
	34	0,170	0,326	0,379	0,691	0,392
	35	0,161	0,309	0,438	0,741	0,412
	36	0,155	0,321	0,407	0,736	0,405
	MW	0,163	0,302	0,360	0,589	0,354
	SD	0,016	0,042	0,086	0,144	0,066

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 2: Durchschnittliche tägliche Zunahmen der Versuchstiere

Gruppe	Tier Nr.	Zunahmen (kg)				Gesamt-Zeitraum
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	
ZnSO ₄	1	0,062	0,193	0,238	0,330	0,206
	2	0,080	0,235	0,217	0,373	0,226
	3	0,129	0,258	0,373	0,566	0,331
	4	<i>0,024</i>	0,157	0,179	0,330	0,173
	5	<i>-0,024</i>	0,139	0,306	0,123	0,136
	6	0,135	0,260	0,270	0,450	0,279
	7	0,049	0,077	0,316	0,426	0,217
	8	0,168	0,091	0,179	0,281	0,180
	9	0,128	0,226	0,287	0,527	0,292
	MW	0,083	0,182	0,263	0,378	0,227
	SD	0,062	0,069	0,065	0,134	0,063
ZnGly	10	0,149	0,300	0,378	0,531	0,340
	11	0,144	0,225	0,243	0,360	0,243
	12	0,172	0,308	0,306	0,633	0,355
	13	0,086	0,209	0,324	0,434	0,263
	14	0,160	0,329	0,336	0,566	0,348
	15	0,087	0,272	0,310	0,427	0,274
	16	0,138	0,267	0,285	0,396	0,272
	17	0,140	0,305	0,279	0,544	0,317
	18	0,147	0,187	0,364	0,347	0,261
	MW	0,136	0,267	0,314	0,471	0,297
	SD	0,030	0,050	0,042	0,101	0,043
ZnMet	19	0,165	0,161	0,312	0,506	0,286
	20	0,112	0,283	0,244	0,423	0,265
	21	0,141	0,199	0,208	0,394	0,236
	22	0,159	0,128	0,279	0,409	0,244
	23	0,033	0,165	<i>0,076</i>	0,301	0,144
	24	0,144	0,165	0,314	0,416	0,260
	25	0,110	0,225	0,215	0,479	0,257
	26	0,152	0,187	0,247	0,480	0,266
	27	0,174	0,299	0,304	0,504	0,320
	MW	0,132	0,201	0,244	0,435	0,253
	SD	0,043	0,058	0,075	0,066	0,048
ZnAc	28	0,114	0,175	0,183	0,284	0,189
	29	0,142	0,208	0,294	0,353	0,249
	30	0,096	0,125	0,165	0,393	0,195
	31	0,153	0,239	0,363	0,457	0,303
	32	0,168	0,255	0,331	0,529	0,321
	33	0,112	0,251	0,380	0,524	0,317
	34	0,121	0,238	0,305	0,529	0,298
	35	0,031	0,242	0,335	0,624	0,308
	36	0,120	0,238	0,331	0,610	0,325
	MW	0,117	0,219	0,299	0,478	0,278
	SD	0,039	0,043	0,075	0,116	0,054

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 3: Lebendmasseentwicklung der Versuchstiere im Versuchsverlauf

Gruppe	Tier Nr.	Lebendmasse (kg)				
		Tag 0	Tag 7	Tag 14	Tag 21	Tag 28
ZnSO ₄	1	5,19	5,62	6,97	8,63	10,94
	2	5,62	6,18	7,82	9,34	11,95
	3	6,37	7,27	9,08	11,69	15,65
	4	6,55	6,72	7,82	9,07	11,38
	5	6,70	6,53	7,51	9,65	10,51
	6	6,70	7,65	9,47	11,36	14,51
	7	6,85	7,19	7,73	9,94	12,92
	8	6,95	8,13	8,76	10,01	11,98
	9	7,18	8,08	9,66	11,67	15,36
	MW	6,46	7,04	8,31	10,15	12,80
	SD	0,65	0,85	0,95	1,15	1,93
ZnGly	10	5,43	6,47	8,58	11,22	14,94
	11	5,61	6,62	8,19	9,89	12,41
	12	6,38	7,58	9,74	11,88	16,31
	13	6,36	6,96	8,42	10,69	13,73
	14	6,50	7,62	9,92	12,27	16,23
	15	6,71	7,32	9,23	11,40	14,39
	16	6,80	7,77	9,64	11,64	14,41
	17	7,02	8,00	10,14	12,09	15,90
	18	7,27	8,29	9,60	12,15	14,58
	MW	6,45	7,40	9,27	11,47	14,77
	SD	0,61	0,62	0,71	0,78	1,26
ZnMet	19	5,45	6,61	7,73	9,92	13,46
	20	5,70	6,48	8,46	10,17	13,13
	21	6,23	7,22	8,62	10,07	12,83
	22	6,42	7,53	8,43	10,38	13,24
	23	6,50	6,73	7,89	8,42	10,53
	24	6,74	7,75	8,91	11,11	14,02
	25	6,84	7,61	9,19	10,69	14,04
	26	6,92	7,98	9,29	11,02	14,38
	27	7,03	8,25	10,34	12,46	15,99
	MW	6,43	7,35	8,76	10,47	13,51
	SD	0,55	0,63	0,79	1,09	1,46
ZnAc	28	5,56	6,35	7,58	8,86	10,85
	29	6,02	7,02	8,47	10,53	13,00
	30	6,12	6,79	7,66	8,82	11,57
	31	6,56	7,63	9,30	11,84	15,04
	32	6,53	7,70	9,49	11,81	15,51
	33	6,72	7,51	9,26	11,92	15,59
	34	6,85	7,70	9,37	11,50	15,20
	35	6,98	7,19	8,88	11,23	15,60
	36	7,36	8,20	9,86	12,18	16,45
	MW	6,52	7,34	8,87	10,97	14,31
	SD	0,55	0,56	0,81	1,30	2,00

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 4: Durchschnittliche Futterverwertung der Versuchstiere

Gruppe	Tier Nr.	Futterverwertung (kg Futter /kg Zunahme)				Gesamt-Zeitraum
		Woche 1	Woche 2	Woche 3	Woche 4	
ZnSO ₄	1	1,32	1,21	1,08	1,25	1,20
	2	1,23	0,98	1,23	1,21	1,16
	3	1,25	1,32	1,12	1,14	1,18
	4	2,59	1,17	1,45	1,13	1,27
	5	-3,24	1,46	1,12	2,75	1,76
	6	1,23	1,08	1,41	1,22	1,23
	7	2,91	3,04	1,05	1,33	1,47
	8	0,97	2,00	1,22	1,42	1,34
	9	1,23	1,22	1,34	1,18	1,24
	MW	1,05	1,50	1,22	1,40	1,32
	SD	1,75	0,65	0,15	0,51	0,19
ZnGly	10	0,92	1,12	1,13	1,20	1,13
	11	1,06	1,12	1,26	1,26	1,20
	12	1,04	1,17	1,26	1,12	1,15
	13	1,66	1,29	1,07	1,42	1,31
	14	1,12	1,24	1,35	1,14	1,21
	15	1,25	1,14	1,22	1,26	1,22
	16	1,24	1,37	1,34	1,30	1,32
	17	1,44	1,27	1,49	1,28	1,34
	18	1,39	1,43	1,16	1,48	1,35
	MW	1,24	1,24	1,25	1,27	1,25
	SD	0,23	0,11	0,13	0,12	0,08
ZnMet	19	1,09	1,50	1,00	1,25	1,19
	20	1,35	1,15	1,40	1,25	1,27
	21	1,02	1,34	1,25	1,09	1,17
	22	1,14	2,16	1,29	1,41	1,43
	23	2,83	1,43	2,35	1,09	1,45
	24	1,12	1,66	1,18	1,34	1,31
	25	1,73	1,33	1,44	1,22	1,34
	26	1,18	1,49	1,29	1,22	1,28
	27	0,93	1,17	1,18	1,17	1,14
	MW	1,38	1,47	1,38	1,23	1,29
	SD	0,59	0,30	0,39	0,10	0,11
ZnAc	28	1,35	1,55	1,35	1,36	1,40
	29	1,07	1,41	1,07	1,22	1,20
	30	1,60	1,62	1,25	1,02	1,24
	31	1,20	1,39	1,26	1,33	1,30
	32	1,14	1,26	1,18	1,19	1,20
	33	1,30	1,35	1,06	1,28	1,23
	34	1,41	1,37	1,24	1,31	1,31
	35	5,28	1,28	1,31	1,19	1,34
	36	1,29	1,35	1,23	1,21	1,25
	MW	1,74	1,40	1,22	1,23	1,27
	SD	1,34	0,12	0,10	0,10	0,07

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 5: Hämoglobinkonzentration und Hämatokritwert der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme

Gruppe	Tier Nr.	Hämoglobingehalt (g/dL)			Hämatokritwert (%)		
		Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 0	Tag 14	Tag 28
ZnSO ₄	1	12,59	11,30	10,14	40,00	36,33	33,00
	2	13,67	11,58	9,07	45,33	38,00	29,67
	3	11,06	10,07	9,70	38,00	35,00	32,33
	4	7,76	8,16	8,62	25,00	28,00	30,33
	5	4,59	10,49	7,81	18,67	26,33	28,00
	6	10,75	9,96	9,22	38,33	35,33	30,67
	7	10,07	11,24	10,03	36,00	34,00	34,00
	8	10,23	10,06	8,97	34,67	32,50	31,00
	9	11,98	10,03	9,43	40,00	34,33	31,67
	MW	10,30	10,32	9,22	35,11	33,31	31,19
	SD	2,72	1,03	0,73	8,25	3,83	1,81
ZnGly	10	11,60	9,68	8,89	37,33	34,33	29,33
	11	10,52	9,62	7,57	37,33	32,00	26,33
	12	11,41	10,55	9,64	39,67	34,67	32,00
	13	12,34	7,94	10,83	40,33	34,00	33,67
	14	10,68	10,87	10,48	37,33	33,67	35,33
	15	11,15	10,25	9,62	38,67	34,00	32,67
	16	11,42	10,81	9,25	32,00	35,33	30,33
	17	10,86	10,78	10,19	34,67	33,00	32,33
	18	12,60	11,89	11,06	41,67	38,00	35,67
	MW	11,40	10,27	9,73	37,67	34,33	31,96
	SD	0,71	1,11	1,08	2,95	1,67	2,96
ZnMet	19	12,36	10,92	9,03	39,67	34,67	30,33
	20	11,36	9,31	8,27	38,33	30,00	28,67
	21	11,76	10,06	8,33	38,00	30,67	30,33
	22	11,83	9,90	8,88	35,67	31,33	30,33
	23	11,06	10,73	8,94	35,67	30,67	30,33
	24	10,89	10,24	8,93	38,00	32,00	28,33
	25	10,59	11,63	10,39	35,50	37,00	32,67
	26	11,49	9,75	8,41	38,33	31,00	28,33
	27	12,01	9,43	8,17	38,00	30,00	28,33
	MW	11,48	10,22	8,82	37,46	31,93	29,74
	SD	0,57	0,75	0,68	1,48	2,37	1,46
ZnAc	28	11,31	9,30	9,70	36,00	30,00	32,00
	29	12,38	10,21	10,38	39,67	33,00	32,67
	30	7,83	8,99	8,59	29,00	31,33	28,67
	31	11,16	11,15	10,43	34,67	31,67	34,00
	32	12,33	11,35	9,92	40,00	31,67	31,67
	33	11,48	11,30	9,16	36,00	32,00	30,33
	34	11,47	10,46	9,65	36,33	30,67	30,67
	35	12,17	10,50	9,84	38,67	33,67	32,33
	36	11,83	10,68	9,95	38,00	33,67	33,00
	MW	11,33	10,44	9,74	36,48	31,96	31,70
	SD	1,39	0,84	0,57	3,34	1,27	1,60

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 6: Zink-, Eisen und Kupferaufnahmen der Versuchtiere während der zwei Stoffwechselferioden

Gruppe	Tier Nr.	Spurenelementaufnahme Sammelperiode 1 (mg)			Spurenelementaufnahme Sammelperiode 2 (mg)		
		Zn	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu
ZnSO ₄	1	114	287	19,0	200	512	33,9
	2	114	286	18,9	217	558	36,9
	3	168	422	28,0	310	795	52,6
	4	91	227	15,0	181	463	30,6
	5	101	252	16,7	163	418	27,7
	6	138	347	23,0	265	681	45,0
	7	116	291	19,2	273	701	46,4
	8	89	224	14,8	193	495	32,7
	9	136	342	22,6	301	773	51,1
	MW	119	298	19,7	234	599	39,7
	SD	25,45	63,90	4,230	54,65	140	9,275
ZnGly	10	153	415	27,5	319	792	52,4
	11	115	311	20,6	227	563	37,2
	12	165	447	29,6	352	873	57,8
	13	123	333	22,1	307	761	50,3
	14	187	505	33,4	323	800	53,0
	15	142	384	25,4	269	668	44,2
	16	167	452	29,9	257	638	42,2
	17	177	479	31,7	349	865	57,2
	18	122	330	21,9	256	634	42,0
	MW	150	406	26,9	295	733	48,5
	SD	25,96	70,32	4,655	44,59	111	7,314
ZnMet	19	127	298	19,7	337	780	51,6
	20	171	402	26,6	283	655	43,3
	21	141	332	21,9	230	532	35,2
	22	146	343	22,7	309	715	47,3
	23	124	292	19,3	176	407	26,9
	24	145	340	22,5	297	687	45,5
	25	157	370	24,5	313	723	47,9
	26	146	343	22,7	313	723	47,9
	27	184	434	28,7	316	732	48,4
	MW	149	350	23,2	286	662	43,8
	SD	19,41	45,64	3,021	51,09	118	7,816
ZnAc	28	130	336	22,3	189	479	31,7
	29	141	364	24,1	211	533	35,3
	30	97	251	16,6	197	498	32,9
	31	159	410	27,2	297	752	49,7
	32	154	398	26,4	309	780	51,6
	33	162	418	27,7	329	832	55,0
	34	156	403	26,7	338	855	56,6
	35	148	382	25,3	363	917	60,7
	36	154	397	26,3	360	911	60,3
	MW	145	373	24,7	288	729	48,2
	SD	20,26	52,31	3,463	70,25	178	11,758

Anhangstabelle 7: Ausscheidung an Faeces (g TM) sowie Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration in den Faeces in den beiden Stoffwechselperioden

Gruppe	Tier Nr.	Sammelperiode 1				Sammelperiode 2			
		Faeces (g TM)	Spurenelement- konzentration (mg/kg TM)			Faeces (g TM)	Spurenelement- konzentration (mg/kg TM)		
			Zn	Fe	Cu		Zn	Fe	Cu
ZnSO ₄	1	113	568	1925	95	209	621	1590	105
	2	138	570	1423	96	345	482	1210	82
	3	179	671	1591	108	327	652	1590	103
	4	94	726	1695	128	175	692	1810	118
	5	174	375	881	67	201	627	1640	103
	6	152	638	1473	108	298	621	1530	100
	7	175	454	1065	76	338	601	1470	107
	8	111	604	1489	105	240	641	1590	108
	9	168	586	1456	112	407	500	1290	87
	MW	145	577	1444	99	282	604	1524	101
	SD	32	107	312	19	79	69	182	11
ZnGly	10	228	487	1253	96	314	574	1460	101
	11	140	594	1481	103	279	585	1540	101
	12	234	517	1314	96	413	549	1440	104
	13	208	498	1328	90	402	520	1310	95
	14	209	570	1378	98	302	633	1520	113
	15	205	553	1348	107	349	463	1220	86
	16	325	500	1229	88	330	493	1290	88
	17	294	418	1066	70	496	473	1160	79
	18	158	504	1152	90	302	597	1510	96
	MW	222	516	1283	93	354	543	1383	96
	SD	59	52	124	11	70	59	141	10
ZnMet	19	174	592	1356	92	307	720	1640	114
	20	274	409	1026	60	360	507	1170	72
	21	153	558	1340	89	175	542	1380	106
	22	187	546	1282	87	353	538	1270	88
	23	147	586	1403	96	177	524	1250	89
	24	225	566	1325	92	383	556	1300	94
	25	193	553	1309	83	319	536	1270	82
	26	193	650	1504	91	293	617	1450	91
	27	191	748	1722	114	276	663	1550	105
	MW	193	579	1363	89	294	578	1364	94
	SD	38	90	186	14	75	73	154	13
ZnAc	28	126	518	1350	86	224	480	1220	80
	29	178	551	1390	98	256	549	1390	100
	30	159	452	1110	72	265	456	1070	72
	31	218	521	1260	90	417	525	1250	92
	32	216	624	1850	99	307	669	1710	117
	33	202	561	1530	91	309	548	1530	94
	34	210	554	1430	87	514	507	1400	85
	35	205	562	1410	88	407	645	1680	107
	36	197	586	1550	104	428	599	1630	104
	MW	190	547	1431	91	347	553	1431	95
	SD	31	48	206	9	98	72	223	14

Anhangstabelle 8: Ausscheidung an Urin (L) sowie Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration im Urin in den beiden Stoffwechselperioden

Gruppe	Tier Nr.	Sammelperiode 1				Sammelperiode 2			
		Urin (L)	Spurenelementkonzentration (mg/L)			Urin (L)	Spurenelementkonzentration (mg/L)		
			Zn	Fe	Cu		Zn	Fe	Cu
ZnSO₄	1	1,46	0,960	0,113	0,0202	2,21	0,793	0,135	0,0314
	2	0,85	1,858	0,175	0,0371	2,53	0,994	0,073	0,0174
	3	2,74	0,639	0,086	0,0152	4,57	0,537	0,036	0,0123
	4	1,16	1,160	0,033	0,0188	2,79	0,647	0,050	0,0150
	5	0,86	2,026	0,176	0,0612	2,52	0,644	0,073	0,0217
	6	2,02	0,917	0,048	0,0218	3,86	0,701	0,047	0,0101
	7	1,06	1,855	0,181	0,0511	4,48	0,501	0,027	0,0065
	8	1,88	0,624	0,066	0,0280	4,75	0,358	0,020	0,0086
	9	1,47	1,312	0,037	0,0221	4,04	0,761	0,036	0,0114
	MW	1,50	1,261	0,102	0,0306	3,53	0,660	0,055	0,0149
	SD	0,62	0,537	0,062	0,0160	1,01	0,185	0,035	0,0077
ZnGly	10	2,09	0,938	0,106	0,0269	3,97	0,662	0,065	0,0136
	11	1,78	0,942	0,054	0,0224	4,13	0,635	0,100	0,0145
	12	2,22	0,893	0,072	0,0172	4,06	0,701	0,127	0,0129
	13	1,21	1,416	0,092	0,0412	3,27	1,014	0,089	0,0159
	14	4,28	0,282	0,057	0,0062	7,76	0,366	0,086	0,0066
	15	3,09	0,727	0,032	0,0088	5,58	0,466	0,072	0,0091
	16	5,13	0,684	0,084	0,0093	4,45	0,645	0,124	0,0140
	17	2,60	0,905	0,084	0,0191	7,47	0,417	0,068	0,0078
	18	2,76	0,740	0,081	0,0134	5,87	0,612	0,055	0,0094
	MW	2,79	0,836	0,073	0,0183	5,17	0,613	0,087	0,0115
	SD	1,23	0,299	0,023	0,0109	1,60	0,191	0,026	0,0033
ZnMet	19	1,12	1,360	0,064	0,0163	4,86	0,659	0,013	0,0050
	20	1,20	1,185	0,127	0,0258	3,20	0,984	0,090	0,0099
	21	1,29	1,185	0,191	0,0314	1,92	0,984	0,085	0,0187
	22	3,35	0,642	0,071	0,0052	4,82	0,574	0,038	0,0066
	23	2,90	0,597	0,060	0,0104	2,42	0,966	0,098	0,0205
	24	1,18	1,359	0,090	0,0348	2,57	1,080	0,085	0,0161
	25	2,24	0,938	0,090	0,0199	4,55	0,710	0,111	0,0098
	26	1,68	1,008	0,074	0,0241	3,92	0,689	0,035	0,0093
	27	1,52	1,357	0,074	0,0246	2,89	0,910	0,032	0,0092
	MW	1,83	1,070	0,093	0,0214	3,46	0,839	0,065	0,0117
	SD	0,82	0,297	0,042	0,0095	1,11	0,181	0,036	0,0054
ZnAc	28	2,21	0,759	0,169	0,0227	3,49	0,998	0,064	0,0110
	29	1,49	1,161	0,088	0,0277	2,21	1,642	0,054	0,0077
	30	0,80	1,644	0,197	0,0605	2,25	0,955	0,118	0,0178
	31	2,64	0,967	0,081	0,0187	5,86	0,542	0,030	0,0081
	32	2,80	0,574	0,059	0,0094	4,47	0,640	0,008	0,0069
	33	1,21	0,799	0,045	0,0235	2,56	0,916	0,055	0,0172
	34	1,40	1,328	0,076	0,0234	4,16	0,523	0,031	0,0074
	35	1,70	1,169	0,076	0,0230	6,31	0,484	0,012	0,0008
	36	2,00	0,838	0,117	0,0281	6,34	0,363	0,083	0,0075
	MW	1,80	1,027	0,101	0,0263	4,18	0,785	0,051	0,0093
	SD	0,66	0,331	0,051	0,0139	1,69	0,394	0,035	0,0053

Anhangstabelle 9: Plasma-Zinkkonzentration, freie Zinkbindungskapazität und Aktivität der alkalischen Phosphatase der Versuchstiere zu den drei Zeitpunkten der Blutentnahme

Gruppe	Tier Nr.	Plasma-Zinkkonzentration (mg/L)			Freie Zinkbindungskapazität (%)			Alkalische Phosphatase (U/L)		
		Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 0	Tag 14	Tag 28	Tag 0	Tag 14	Tag 28
ZnSO₄	1	0,562	0,528	0,564	84,7	86,7	83,1	594	550	432
	2	0,617	0,445	0,628	80,0	88,1	79,2	439	428	344
	3	0,597	0,440	0,481	82,0	88,1	85,5	593	311	312
	4	0,603	0,400	0,622	81,2	86,3	75,8	459	293	235
	5	0,480	0,475	0,416	86,4	85,5	84,8	355	290	191
	6	0,605	0,471	0,570	81,3	86,6	80,6	342	388	314
	7	0,666	0,519	0,699	79,5	85,2	79,2	712	373	383
	8	0,653	0,440	0,583	81,6	87,7	84,4	685	173	328
	9	0,724	0,501	0,696	80,3	87,3	81,5	522	175	194
MW		0,612	0,469	0,584	81,9	86,8	81,6	522	331	304
SD		0,068	0,042	0,093	2,27	1,05	3,19	134	120	83
ZnGly	10	0,555	0,457	0,619	83,7	87,6	85,4	291	257	214
	11	0,489	0,431	0,489	84,8	86,5	82,8	297	263	221
	12	0,741	0,503	0,718	78,0	84,2	78,0	646	360	254
	13	0,711	0,385	0,737	76,4	87,6	82,5	505	192	242
	14	0,551	0,626	0,633	83,1	82,2	83,6	421	734	318
	15	0,618	0,625	0,832	81,3	82,4	81,3	646	591	382
	16	0,721	0,587	0,612	78,6	83,0	80,7	699	392	268
	17	0,553	0,573	0,598	83,0	84,0	82,3	463	265	222
	18	0,623	0,593	0,770	82,2	82,4	75,6	644	334	285
MW		0,618	0,531	0,668	81,2	84,4	81,3	512	376	267
SD		0,089	0,090	0,105	2,91	2,24	2,98	156	177	55
ZnMet	19	0,679	0,597	0,836	81,1	82,5	72,0	710	315	309
	20	0,493	0,588	0,559	83,2	79,9	81,9	675	324	292
	21	0,453	0,593	0,677	85,7	80,1	78,3	633	400	269
	22	0,677	0,586	0,839	83,3	77,7	74,9	517	270	278
	23	0,585	0,572	0,532	84,1	77,6	79,5	628	345	201
	24	0,589	0,525	0,614	83,3	81,3	80,8	347	197	176
	25	0,707	0,578	0,623	78,9	82,1	83,1	499	331	281
	26	0,651	0,508	0,698	80,6	82,9	80,6	560	312	397
	27	0,602	0,626	0,551	85,6	79,6	83,5	386	329	289
MW		0,604	0,575	0,659	82,9	80,4	79,4	551	314	277
SD		0,086	0,037	0,115	2,27	1,96	3,82	126	55	63
ZnAc	28	0,672	0,568	0,587	77,7	79,4	78,5	385	219	245
	29	0,719	0,747	0,639	77,2	73,0	80,3	534	327	290
	30	0,638	0,565	0,624	80,0	81,0	79,8	506	441	397
	31	0,563	0,533	0,723	86,8	81,8	81,4	408	233	198
	32	0,728	0,694	0,633	81,7	77,6	83,7	505	287	224
	33	0,591	0,503	0,857	87,6	84,2	82,6	375	326	311
	34	0,588	0,486	1,024	81,2	84,6	74,6	399	261	317
	35	0,541	0,431	0,769	82,5	85,2	81,7	450	366	277
	36	0,719	0,510	0,915	80,8	85,1	78,8	503	230	234
MW		0,640	0,560	0,752	81,7	81,3	80,1	452	299	277
SD		0,073	0,101	0,151	3,56	4,11	2,71	61	74	60

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 10: Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration in Leber, Knochen und Borsten der Versuchstiere

		Spurenelementkonzentration						
Gruppe	Tier Nr.	Leber (mg/kg TM)			Knochen (mg/kg XA)			Borste (mg/kg FM)
		Zn	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn
ZnSO ₄	1	131	528	82,3	202	82,2	3,22	360
	2	85	289	38,4	118	52,7	1,96	201
	3	107	156	33,8	152	75,1	2,74	232
	4	203	913	21,8	186	103,1	2,78	213
	5	321	844	72,4	199	119,3	3,71	192
	6	188	332	77,3	131	59,5	1,66	191
	7	172	145	44,3	204	80,2	3,10	199
	8	138	248	64,7	121	39,2	2,16	194
	9	151	284	66,5	175	74,3	2,88	191
	MW	166	415	55,7	165	76,2	2,69	219
	SD	69	286	21,5	35	24,6	0,65	54
ZnGly	10	130	245	42,4	129	56,0	2,34	210
	11	158	344	19,2	117	63,4	2,73	192
	12	124	260	97,7	208	65,2	4,24	164
	13	128	203	93,4	165	97,6	3,32	197
	14	115	177	19,6	187	76,1	4,14	178
	15	167	145	27,7	116	51,3	1,88	208
	16	171	193	35,4	136	64,5	2,85	175
	17	137	281	58,4	110	62,2	1,43	209
	18	135	161	105,2	147	81,0	3,73	210
	MW	141	223	55,4	146	68,6	2,96	194
	SD	20	64	34,7	34	14,2	0,98	18
ZnMet	19	174	467	34,5	173	61,1	2,50	175
	20	125	351	70,9	177	75,8	2,89	213
	21	160	384	116,3	131	46,8	2,25	193
	22	148	216	27,2	118	34,7	1,73	197
	23	210	191	134,2	125	40,9	2,13	199
	24	117	309	79,8	139	74,6	3,36	215
	25	121	237	56,7	175	61,0	1,82	196
	26	194	194	53,3	110	48,6	1,52	180
	27	188	170	81,1	135	57,0	2,14	191
	MW	160	280	72,7	143	55,6	2,26	195
	SD	34	103	35,3	26	14,2	0,58	13
ZnAc	28	139	384	33,6	169	102,9	2,93	209
	29	134	573	75,5	106	46,3	1,86	194
	30	170	114	50,5	175	45,9	2,20	192
	31	131	223	47,8	101	57,5	1,55	175
	32	162	301	48,5	128	47,2	2,09	192
	33	123	182	66,4	122	68,3	1,78	203
	34	160	178	47,8	214	80,7	3,51	191
	35	158	284	62,3	138	51,7	2,34	199
	36	149	225	62,8	206	70,8	3,10	216
	MW	147	274	55,0	151	63,5	2,37	197
	SD	16	137	12,7	42	19,3	0,66	12

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 11: Zink-, Eisen- und Kupferkonzentration im Gewebe von Duodenum, Jejunum und Ileum

Gruppe	Tier Nr.	Spurenelementkonzentrationen (mg/kg TM)								
		Duodenum			Jejunum			Ileum		
		Zn	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu	Zn	Fe	Cu
ZnSO₄	1	101,9	369	34,65	91,2	<i>113,5</i>	9,95	113,0	59,24	6,34
	2	84,6	304	16,08	86,8	78,3	8,24	86,8	54,07	5,14
	3	<i>164,5</i>	<i>588</i>	25,81	91,3	<i>162,9</i>	10,92	85,2	46,61	5,45
	4	103,8	<i>420</i>	46,84	95,8	71,4	9,65	86,2	61,41	7,38
	5	<i>245,8</i>	337	47,46	104,3	53,2	9,27	82,8	33,47	6,73
	6	146,4	259	38,42	89,4	--	--	77,1	43,52	3,82
	7	<i>730,6</i>	329	<i>65,87</i>	98,9	101,4	9,34	92,4	40,67	5,66
	8	89,4	176	42,34	87,1	74,4	9,09	109,7	<i>170,63</i>	<i>22,00</i>
	9	<i>428,6</i>	367	55,05	103,9	<i>152,1</i>	9,36	95,5	55,91	6,37
MW		232,8	350	41,39	94,3	100,9	9,48	92,1	62,84	7,66
SD		216,4	114	14,96	6,8	39,6	0,76	12,1	41,46	5,48
ZnGly	10	93,2	373	26,56	100,6	60,1	22,02	80,1	43,35	6,14
	11	74,9	257	30,58	105,3	67,2	23,20	83,4	47,70	6,35
	12	88,9	186	25,07	99,6	55,1	21,40	82,0	43,31	5,42
	13	89,8	<i>441</i>	36,14	93,9	107,2	26,27	86,3	44,49	6,02
	14	98,2	324	23,86	97,5	<i>114,5</i>	31,57	82,1	42,46	4,86
	15	118,6	208	23,65	91,6	61,2	25,19	93,2	50,90	<i>12,13</i>
	16	<i>193,1</i>	172	29,00	88,4	52,1	18,01	82,6	36,08	5,45
	17	80,0	181	37,29	88,9	60,6	23,09	67,1	56,31	5,59
	18	<i>182,7</i>	150	38,37	103,2	97,0	28,46	90,8	58,64	<i>15,40</i>
MW		113,3	255	30,06	96,6	75,0	24,36	83,1	47,03	7,48
SD		44,1	102	5,88	6,2	24,2	4,04	7,4	7,17	3,68
ZnMet	19	93,6	667	15,00	110,6	67,2	16,23	91,4	46,99	5,31
	20	84,4	219	35,16	101,6	64,6	20,56	102,6	50,13	<i>13,18</i>
	21	87,4	252	26,93	107,8	56,4	16,96	73,3	35,76	4,05
	22	81,2	284	19,91	101,3	66,9	19,59	109,2	68,22	8,27
	23	78,4	210	32,48	96,8	62,2	14,49	93,0	41,45	7,66
	24	99,5	259	38,18	99,5	56,7	23,57	83,1	40,91	5,74
	25	93,0	294	20,74	107,8	60,2	16,02	85,0	41,17	5,27
	26	133,1	122	25,13	96,5	90,0	19,83	85,1	38,26	5,83
	27	74,5	288	18,87	99,6	55,3	15,24	89,7	33,80	5,39
MW		91,7	288	25,82	102,4	64,4	18,05	90,3	44,08	6,74
SD		17,5	152	8,00	5,1	10,6	2,99	10,7	10,38	2,73
ZnAc	28	66,0	127	20,24	83,1	58,0	14,36	96,2	42,61	6,59
	29	67,2	240	19,73	96,2	54,2	17,11	99,0	<i>89,92</i>	6,31
	30	53,6	109	22,60	96,8	52,7	14,01	93,1	35,57	6,56
	31	76,0	146	20,32	85,0	71,9	17,99	89,9	37,64	6,32
	32	82,2	417	14,41	78,8	53,2	11,46	87,1	44,21	5,83
	33	95,4	172	21,12	98,6	53,2	12,60	78,8	42,26	6,70
	34	97,9	329	22,46	94,5	49,9	12,92	80,0	38,95	5,36
	35	76,7	289	22,87	96,2	65,6	17,04	111,2	<i>85,20</i>	7,35
	36	85,6	230	25,49	87,7	97,6	19,21	82,7	51,71	8,77
MW		77,9	229	21,03	90,8	61,8	15,19	90,9	52,01	6,64
SD		14,3	103	3,05	7,2	15,2	2,71	10,4	20,71	0,97

Kursiv gedruckte Werte wurden als Ausreißer von der statistischen Analyse ausgeschlossen

Anhangstabelle 12: Relative Expression der Metallothionein mRNA in Leber, Duodenum, Jejunum und Ileum

Gruppe	Tier Nr.	Relative Metallothionen mRNA Expression (OD)			
		Leber	Duodenum	Jejunum	Ileum
ZnSO ₄	1	0,991	0,772	0,400	0,178
	2	1,337	0,609	0,242	0,249
	3	1,377	0,516	0,355	0,219
	4	1,040	0,852	0,169	0,504
	5	2,183	0,822	0,205	0,496
	6	1,433	0,950	0,224	0,148
	7	1,302	0,566	0,106	0,206
	8	1,449	0,429	0,072	0,066
	9	1,987	0,284	0,088	0,070
	MW	1,455	0,644	0,207	0,237
	SD	0,394	0,219	0,114	0,161
ZnGly	10	0,928	0,771	0,455	0,037
	11	1,590	0,885	0,199	0,085
	12	0,498	0,830	0,267	0,740
	13	1,372	0,726	0,253	0,733
	14	0,987	1,104	0,285	0,344
	15	1,268	0,908	0,329	0,145
	16	1,026	0,402	0,124	0,326
	17	1,637	0,482	0,084	0,089
	18	1,701	0,891	0,059	0,221
	MW	1,223	0,778	0,228	0,302
	SD	0,398	0,218	0,127	0,268
ZnMet	19	1,029	0,428	0,440	0,361
	20	0,938	0,645	0,213	0,354
	21	1,152	0,917	0,605	0,460
	22	0,604	0,841	0,202	1,066
	23	1,166	0,717	0,334	0,646
	24	0,983	0,927	0,288	0,288
	25	0,941	0,428	0,000	0,138
	26	1,230	0,664	0,095	0,607
	27	1,530	1,382	0,106	0,214
	MW	1,064	0,772	0,254	0,459
	SD	0,253	0,294	0,188	0,282
ZnAc	28	0,968	0,959	0,357	0,342
	29	0,885	0,890	0,251	0,317
	30	1,366	0,754	0,592	0,583
	31	1,123	0,881	0,189	--
	32	1,047	0,763	0,240	0,635
	33	1,307	0,980	0,437	0,460
	34	0,963	0,500	0,222	0,559
	35	1,576	0,711	0,092	0,192
	36	1,626	0,760	0,052	0,410
	MW	1,207	0,800	0,270	0,437
	SD	0,274	0,148	0,169	0,151

Versicherung

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Miltenberg, Juli 2011

Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Pallauf möchte ich für die Überlassung des Themas, so wie für die gute Betreuung auch über seine aktive Dienstzeit hinaus, sehr herzlich danken. Die vielen guten Ratschläge und den Freiraum zur persönlichen Entwicklung werde ich in guter Erinnerung behalten.

Mein herzlicher Dank gilt auch Herrn Prof. Erhardt für die Übernahme des Koreferates und ebenso dafür, dass mir ermöglicht wurde, durch die Anstellung am Institut für Tierzucht diese Arbeit fertig zu stellen und zu gleich interessante Einblicke im Gebiet der Tierzucht zu erhalten.

Bei den Mitarbeitern des Instituts für Tierernährung und des Instituts für Tierzucht und Haustiergenetik möchte ich mich für die gute Unterstützung und die schöne Zeit sowie die netten Gespräche am Rande der Wissenschaft bedanken.

Ganz besonderer Dank gilt an dieser Stelle Annika Fischer, Silke Hees und Marco Jäger für Ihren Einsatz bei der Durchführung des Tierversuches und die gute Pflege der Versuchstiere, insbesondere von Fridolin. Ebenso danke ich Agnes Wescher und Joachim Fischer für die tierärztliche Betreuung der Versuchstiere. Frau Dr. Most und sowie Martina Schneider und Frauke Frank gilt mein Dank für die Durchführung der aufwändigen Mineralstoffanalysen. Anja Marx danke ich für die Unterstützung bei den molekulargenetischen Arbeiten und Helmut Henzel für die Weender Analysen.

Herrn Prof. Horst Brandt und Herrn Dr. Johannes Herrmann möchte ich an dieser Stelle für die Beratung in statistischen Fragen danken.

Herrn K.T. v. G. danke ich dafür, dass er meine Mitmenschen dazu veranlasst hat, mir zahlreiche, gut gemeinte Ratschläge zur Bedeutung des Literaturverzeichnisses mit auf den Weg zu geben.

Meinen Eltern möchte ich für die große Unterstützung an vielen Punkten meines Lebensweges danken, ohne die mein Studium und damit diese Arbeit nicht möglich gewesen wären. Und nicht zuletzt gilt mein Dank meinem Freund Maximilian für seine Geduld sowie für die Motivation an den entscheidenden Punkten!