

**Quantitative Bestimmung des mikrobiellen Abbaus verschieden-  
artiger Nahrungsfasern im Verdauungstrakt des Schweins**

**Abhandlung  
zur Erlangung des Titels  
Doktor der Naturwissenschaften  
der  
Eidgenössischen Technischen Hochschule  
Zürich**

**vorgelegt von  
ULRICH PETER ZÜRCHER  
Dipl. Lm.-Ing. ETH  
geboren am 13. Mai 1958  
von Rüderswil BE**

**Angenommen auf Antrag von  
Prof. Dr. C. Wenk, Referent  
Prof. Dr. R. Amadò, Korreferent**

3.8.1992  
*Ulrich Peter Zürcher*

**Zürich 1992**

## I ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluss der chemischen Zusammensetzung und der Partikelgrösse von faserreichen Zulagen auf die faecale Verdaulichkeit der unlöslichen Nahrungsfasern und deren Neutralzuckerbausteine in der Gesamtration beim Schwein - als Modell für den Menschen - untersucht. Zu einem Grundfutter wurden in je einem Verdauungsversuch Sojaschalen bzw. Hirseschalen als grob und fein vermahlene Mehle in einem Mischungsanteil von 20% (%TS) zugesetzt. Die jeweilige Kontrollvariante enthielt anstelle der Schalenmehle 20% (%TS) Weizenquellstärke.

In den Schalenzulagen und Versuchsmischungen wurde der Gehalt an NDF (neutral detergent fibre), ADF (acid detergent fibre) und ADL (acid detergent lignin) bestimmt.

Zusätzlich wurden mittels eines enzymatisch-gravimetrischen Verfahrens neben den unlöslichen (UNF) auch die löslichen (LNF) Nahrungsfasern erfasst. Die nähere chemische Charakterisierung der in diesen Analysenfraktionen enthaltenen Nahrungsfasern beschränkte sich auf die Bestimmung ihrer Neutralzuckermuster. Zu diesem Zweck wurde eine HPLC-Methode auf der Grundlage eines Vorsäulenderivatisierungsverfahrens entwickelt. Die chromatographische Trennung der Neutralzuckerderivate, die Temperatur-Zeit-Bedingungen für die Derivatisierungsreaktion und die Aufarbeitung der schwefelsauren Hydrolysate wurden optimiert. Die sieben wichtigsten Neutralzuckerbausteine der Nahrungsfasern (Glucose, Galactose, Mannose, Xylose, Arabinose, Fucose, Rhamnose) und ein interner Standard (Glucoheptose) liessen sich mit *p*-Anisidin unter Säurekatalyse zu den entsprechenden *N-p*-Methoxyphenyl-glycosylaminen umsetzen und mit einem Acetat-Puffer / Acetonitril-Gemisch (84:16) isokratisch an einer reversed-phase-Säule innerhalb von 9 Min. mit hoher Auflösung trennen und quantifizieren.

Soja- und Hirseschalen weisen mit 64.0% (%TS) bzw. 71.5% den höchsten Gehalt an Gesamtnahrungsfasern (GNF) auf, wovon die UNF-Fraktion rund 86% bzw. 97% ausmacht. Der höchste LNF-Anteil wird in den Sojaschalen mit absolut 9% (%TS) erreicht. In den stärkereichen Kontrollvarianten sind 18-19% (%TS) GNF enthalten. Durch die Zulage von Soja- und Hirseschalen wird der GNF-Gehalt im Vergleich zu jenem der jeweiligen Kontrollvariante um rund 51% bzw. 79% in den entsprechenden Versuchsmischungen gesteigert. NDF- und UNF-Gehalte stimmen in allen Proben mit Ausnahme der Hirseschalen gut überein. In den Hirseschalen ist ein beachtlicher ADL-Gehalt (ca. 12%; %TS) zu verzeichnen.

Glucose, Xylose und Arabinose sind die vorherrschenden Neutralzuckerbausteine in den UNF der Schalenmehle und Versuchsmischungen. Demzufolge dürfte es sich bei den unlöslichen Nahrungsfaserpolysacchariden zur Hauptsache um Cellulose und Arabinoxyliane handeln. In den LNF sämtlicher Proben kommt Mannose in der höchsten Konzentration vor, was auf einen dominierenden Anteil von Gluco- oder / und Galactomannanen an den neutralen Polysacchariden der löslichen Analysenfraktion hindeutet. Infolge einer geringen Hydrolyseausbeute wird die Aussagekraft der Bausteinmuster der LNF stark eingeschränkt.

Das enzymatisch-gravimetrische Verfahren gelangte auch an Kotproben zum Einsatz. An Hand von Modelluntersuchungen an angereicherten Zellmassen von *Lactobacillus acidophilus* und *Enterococcus faecalis* wird ersichtlich, dass bei Anwendung der enzyma-

tisch-gravimetrischen Methode potentiell 38-59% der faecalen Bakterienmasse in die UNF-Fraktion des Kots übergehen und eine massive Unterschätzung der UNF-Verdaulichkeit verursachen können. In noch stärkerem Ausmass trifft dies auch für die LNF-Fraktion zu. Die möglichen Fehlerquellen dieses Verfahrens führten dazu, eine modifizierte NDF-Methode für die Bestimmung der Nahrungsfaserverdaulichkeit in den Tierversuchen einzusetzen.

Weder im Versuch mit Sojaschalen- noch in jenem mit Hirseschalenzulagen ist ein statistisch gesicherter ( $p \leq 0.05$ ) Einfluss der Partikelgrösse der Nahrungsfaserträger auf die Verdaulichkeit der NDF in der Gesamtration nachzuweisen. Dies ist um so erstaunlicher, als die mittlere Teilchengrösse der groben und feinen Schalenmehle um ca. Faktor 10 voneinander abweicht. Das Versuchsergebnis dürfte in erster Linie auf die grosse Streuung der Einzelwerte innerhalb der Futtervarianten zurückzuführen sein. Der individuelle Einfluss der Tiere fällt bei der gewählten Versuchsanordnung verhältnismässig stark ins Gewicht. Die Verdaulichkeit der NDF der Futtervariante mit grober bzw. feiner Zulage hebt sich nur im Hirseschalenversuch signifikant ( $p \leq 0.05$ ) von jener der jeweiligen Kontrollvariante ab. Der entsprechende Koeffizient beträgt rund 14% bzw. 23% und liegt deutlich unter dem Wert der Kontrolle (ca. 43%). Demgegenüber weisen sämtliche Futtervarianten im Sojaschalenversuch Verdauungskoeffizienten der NDF von über 52% auf. Die deutlich geringere Verdaulichkeit der NDF in den Rationen mit Hirseschalen lässt sich mit der starken Lignifizierung der Zellwände in den Randgeweben des Hirsekorns erklären. Ferner mag auch der in diesen Schalen gefundene hohe Gehalt an säureunlöslicher Asche sich nachteilig auf die Verdaulichkeitsbestimmung mittels Indikatormethode ausgewirkt haben.

Aus der Darstellung der Verdaulichkeit der UNF-Neutralzucker kommt in sämtlichen Futterproben zum Ausdruck, dass Xylane mikrobiell mindestens so schlecht abgebaut werden können wie Cellulose. Das vorliegende Resultat stützt die in der Fachliteratur geäusserte Hypothese, wonach die Erhöhung des Pentoseanteils in den Nicht-Cellulose-Polysacchariden zu einer Erhöhung des Faecesgewichts führt. Dies dürfte insbesondere auf die Anwesenheit von Xylanen zurückzuführen sein, die infolge ihrer schlechten Fermentierbarkeit vermehrt ausgeschieden werden.

## SUMMARY

The influence of the chemical **composition** and of the **particle size** of fibre-rich additives on the faecal digestibility of insoluble dietary fibre and its neutral sugar constituents in the total ration was investigated in pigs - as a model for humans. Two digestibility trials were conducted in which either soybean hulls or millet hulls in the form of coarsely and finely ground meals were added in a mixing ratio of 20% (% DM) to a basal diet. The corresponding control diet contained 20% (% DM) of wheat starch instead of hull meals.

The NDF (neutral detergent fibre), ADF (acid detergent fibre) and ADL (acid detergent lignin) contents of the hull additives and experimental diets were determined. In addition, both the insoluble (IDF) and soluble (SDF) dietary fibre were measured using an enzymatic-gravimetric procedure. More detailed chemical characterisation of the dietary fibre present in these analytical fractions was limited to the determination of their neutral sugar pattern. An HPLC method based on a precolumn derivatisation procedure was developed for this purpose. The chromatographic separation of the neutral sugar derivatives, the temperature-time conditions of the precolumn reaction and clean-up of the hydrolysates containing sulfuric acid were optimised. The seven most important neutral sugar constituents of the dietary fibre polysaccharides (glucose, galactose, mannose, xylose, arabinose, fucose, rhamnose) and an internal standard (glucoheptose) could be derivatised with *p*-anisidine under acid catalysis to the corresponding *N-p*-methoxyphenylglycosylamines and could be separated isocratically with an acetate buffer / acetonitrile mixture (84:16) on a reversed-phase column with high resolution within 9 minutes and quantified.

Soybean and millet hulls, with 64.0% (% DM) and 71.5% (% DM), respectively, have the highest content of total dietary fibre (TDF), of which the IDF fraction accounts for about 86% and 97%, respectively. The highest proportion of SDF is found in the soybean hulls, the absolute amount being 9% (% DM). 18-19% (% DM) of TDF occur in the starch-rich control diets. By adding soybean and millet hulls, the amount of TDF is increased by 51% and 79%, respectively, in the corresponding experimental diets compared with that of the relevant control. NDF and IDF are in good agreement in all samples with the exception of the millet hulls. The millet hulls have a considerable ADL content (about 12%; % DM). Glucose, xylose and arabinose are the predominant neutral sugar constituents in the IDF of the hull meals and test diets. Accordingly, the insoluble dietary fibre polysaccharides are likely to be mainly cellulose and arabinoxylans. Mannose is found in the highest concentration in the SDF of all samples, indicating a dominant proportion of gluco- and / or galactomannans. Owing to a low hydrolysis yield, the information provided by the individual neutral sugar pattern of the SDF is greatly limited.

The enzymatic-gravimetric procedure was also applied to faeces samples. Based on model investigations on enriched cell mass of *Lactobacillus acidophilus* and *Enterococcus faecalis* it can be shown that, when the enzymatic-gravimetric procedure is used, potentially 38-59% of the faecal bacterial mass may pass into the IDF fraction of the faeces, leading to a massive underestimation of the IDF digestibility. This applies to an even greater extent in

the case of the SDF fraction. As a consequence of the possible sources of error of the above procedure a modified NDF method was used for the determination of the fibre digestibility in the animal experiments.

No significant ( $p \leq 0.05$ ) influence of the particle size of the dietary fibre source on the digestibility of the NDF in the total ration can be observed, neither in the experiment with soybean hulls nor in that with millet hulls. This is all the more surprising since the mean particle sizes of the coarse and the fine hull meals differ from one another by a factor of about 10. This result may be primarily due to the large variation of the individual values within the test diets. With the experimental design chosen, the individual influence of the animals plays a relatively important role. Only in the millet hull trial a significant ( $p \leq 0.05$ ) difference in the NDF digestibility of the feed variants with coarse or fine additive is seen in respect to the relevant control. The corresponding coefficient is about 14% or 23%, respectively, and is well below the control value (about 43%). In comparison, all feed variants in the experiment with soybean hulls have NDF digestibility coefficients of more than 52%. The substantially lower digestibility of the NDF in the rations with millet hulls can be explained by the considerable lignification of the cell walls in the outer tissues of the millet grain. Furthermore, the high content of acid-insoluble ash found in these hulls might also have had an adverse effect on the digestibility determination by the marker method.

In all feed samples, digestibility of the IDF neutral sugars indicates that microbial degradation of xylans can be at least as poor as that of cellulose. This result supports the hypothesis put forward in the scientific literature that an increase in the pentose content of the non-cellulosic polysaccharides leads to an increase in faecal output. This is probably due in particular to the presence of xylans, which have poor fermentability and are therefore excreted to a greater extent.