# Tagungsband

# 10. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

## Gesunde Tierernährung

## Qualität vom Futtermittel bis zum Nahrungsmittel

28. April 2011, Wien

**Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie**

**BOKU – University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna**
**Universität für Bodenkultur Wien**

Tagungsband:

10. BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG

**Gesunde Tierernährung**

**Qualität vom Futtermittel bis zum Nahrungsmittel**

28. April 2011, Wien

Herausgeber:

Dr. Christiane Mair
Margit Kraft
Ao. Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Wetscherek
Dr. Karl Schedle

Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie

Universität für Bodenkultur Wien

Muthgasse 11, A-1190 Wien

www.boku.ac.at/tte-Symposium

tte@boku.ac.at

Eigenverlag:

Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie

ISBN 978-3-900962-94-4

Für den Inhalt der Beiträge sind allein die Autoren verantwortlich.

# Inhaltsverzeichnis

**Übersichtsvorträge**

J. König
Was wünscht sich die Humanernährung von tierischen Lebensmitteln? 1

K. Eder, D.K. Geßner und R. Ringseis
Spezielle Wirkungen bestimmter Fettsäuren auf Gesundheit und Produktqualität beim Nutztier 5

W. Windisch
Stabilisierung der Verdauung durch die Fütterung 11

J. Bauer, A. Abenthum, K. Hofer, J. Ostertag und K. Meyer
Qualität geht vom Grundfuttermittel aus 18

J. Kamphues
Dioxine in Futter- und Lebensmitteln – woher rühren die Gefahren? 25

F. Berthiller und R. Krska
Bedeutung, Bildung und Nachweis maskierter Mykotoxine 31

A. Galler, H. Würzner, F. Doppelreiter, V. Kolar und E. Jöchlinger
Der mehrjährig integrierte Kontrollplan bei Futtermittel, ein Beitrag zu einwandfreien Futtermitteln und Lebensmitteln 36

**Poster: Protein und Fett** / Protein and fat

K. Kozłowski, A. Helmbrecht, A. Lemme, J. Jankowski and H. Jeroch
Precaecal amino acids digestibility from protein-rich plant feedstuffs for growing male turkeys 42

G.A. Santos, P. Encarnacao and A. Ganner
Study on the inclusion level of autolysed yeast as a protein source for red tilapia diets 46

G. Wiedner, T. Figl-Wolfsberger, J. Hirschböck und R. Leitgeb
Kann Sojaextraktionsschrot im Eiweißergänzungsfutter für die Stiermast durch DDGS vollständig ersetzt werden? 50

P. Matusevicius, J. Juskiewicz, Z. Zdunczyk, K. Kozłowski and H. Jeroch
Effect of partly substitution of sunflower meal by rapeseed meal in diet for growing rabbits on the performance, digestibility and physiological parameters 57

R. Stankevičius, S. Mikulionienė, V. Juozaitienė, R. Želvytė, I. Monkevičienė, J. Laugalis und A. Jerešiūnas
Pansengeschütztes Fett bei Hochleistungskühen im Weidegang 63

C. Koch, F.-J. Romberg, H. Steingaß und K.-H. Südekum
Einfluss von Rapskuchen auf die Milchfettzusammensetzung von hochleistenden Milchkühen 70

W. Wetscherek und G. Wetscherek-Seipelt
Einfluss des Polyensäurengehaltes auf die Mast- und Schlachtleistung von Mastschweinen 77

**Poster: Futterzusatzstoffe** / Feed additives

A. Jerešiūnas, G. Sudikas, J. Kulpys and O. Jerešiūnienė
The positive influence of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* on the gut flora and productivity of fattening pigs 83

D. Kampf und A. van der Aa
Wirkungsweise und Effizienz von *Bacillus subtilis* in der Ferkelfütterung 90

D. Kampf und A. van der Aa
Wirkungsweise und Effizienz von *Bacillus subtilis* in der Mastgeflügelfütterung 95

C. Mair, C. Plitzner und W. Windisch
Einfluss von Inulin und Probiotika auf die Nährstoffverdaulichkeit bei Absetzferkeln 101

P. Doležal, J. Doležal, K. Szwedziak, R. Poštulka and M. Tukiendorf
Influence of Yeast culture supplementation in the diet of dairy cows on rumen fermentation and milk yield 107

H. Kluge, J. Brož and G.I. Stangl
Efficacy of benzoic acid and sodium-benzoate in weaned piglets 115

R. Urbaityte and A. Riemensperger
Performance improvement in weaned pigs by use of dietary acidifiers 122

H. Glawatz, H. Meyer und C. Lückstädt
Organische Säuren in der Putenfütterung – neue Erkenntnisse mit einem Produkt auf Formiat-Basis 128

L. Perić, S. Bjedov, N. Milošević, M. Vukic Vranjes and T. Steiner
Growth performance of broilers as affected by dietary nutrient density and supplementation with essential oils 134

E. Humer, E. Rohrer, W. Windisch und K. Schedle
Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung phytogener Pflanzenextrakte auf die Darmmorphologie beim Broiler 138

L. Jungbauer, K. Wendler, K. Männer and J. Zentek
Effects of a phytogenic feed additive on gut morphology and nutrient digestibility in broilers 143

M. Veit, E. Zentner, L. Jungbauer and K.R. Wendler
Effects of a phytogenic feed additive on reduction of ammonia and odor concentrations in growing-finishing pigs 149

R. Thieme und C. Lohner
Einfluss eines phytogenen Futterzusatzes auf die Schlachtkörperausprägung und die sensorischen Eigenschaften von Geflügelfleisch 154

M. Bernscherer, C. Mair und K. Schedle
Einfluss eines Lignozellulosezusatzes auf die Mast- und Schlachtleistung bei Schweinen 160

J. Tossenberger, J. Tenke, A. Horák, A. Tischler and D. Feuerstein
Effect of xylanase and beta glucanase supplementation of the diet on the ileal and postileal digestibility of nutrients in growing pigs 166

M. Brestenský, S. Nitrayová, P. Patráš, J. Heger and J. Brož
Effects of a novel microbial phytase on nutrient digestibility in gestating sows 172

A. Winkler, J. Trautwein, J. Bauer, D. Feuerstein, P. Ader, P. Lindner und G. Dusel
Einfluss von NSP-hydrolysierenden Enzymen auf die zootechnischen Leistungen und Verdaulichkeitsparameter beim Schwein in der Vor- und Endmast nach Verabreichung getreidereicher Futtermischungen 178

P. Horký, P. Jančíková and L. Zeman
A comparison of the effect of organic and inorganic zinc and manganese forms on the activity of superoxide dismutase in heparin blood of boars 182

P. Jančíková, P. Horký and L. Zeman
The effect of vitamins and organic source of zinc and copper on the quality and growth of hair in horses 188

Š. Hošková, M. Balabánová, P. Mareš and L. Zeman
The effect of selenium in different forms on chicken growth 193

R. Poštulka and P. Doležal
Influence of different dry matter content and used silage additive on the organic matter digestibility in alfalfa silage 198

**Poster: Futterbewertung und Fütterung** / Feed evaluation and feeding

M. Urdl, L. Gruber, W. Obritzhauser, J. Gasteiner, J. Häusler und A. Schauer
Einfluss der Energieversorgung vor und nach der Abkalbung auf Produktionsdaten und Blutparameter von Milchkühen 202

T. Ettle und A. Obermaier
Auswirkungen des Einsatzes von getrockneten oder getoasteten Sojabohnen in der Milchviehfütterung 209

J. Trautwein, D. Lux, B. Hlawitschka, K. Landfried, A. Höller und G. Dusel
Effekte ganzer Maiskörner in einer Trocken-TMR auf Leistungsparameter, Wiederkauaktivität sowie Pansenentwicklung in der Kälberaufzucht 213

T. Ettle, J. Eder, M. Landsmann und A. Obermaier
Untersuchungen zu Ertragsleistung und Verdaulichkeiten von Hirsesilagen 220

M. Vodnansky, M. Rajský, V. Foltys und E. Bencová
Eignung der silierten Zuckerrübenpressschnitzel als Zusatzfutter für das Rotwild 226

K. Rutzmoser, T. Ettle, A. Obermaier und H. Schuster
Ein Strukturindex als Fortführung zur Beschreibung der Strukturwirkung mit der physikalisch effektiven NDF 231

B. Birkenheyer, K. Schiel und G. Dusel
Untersuchungen zum Effekt von Saugferkelbeifütterung (Ferkelmilch) auf die Aufzuchtleistung von Ferkeln 237

W. Preißinger, H. Lindermayer und G. Propstmeier
„Einfache" Phasenfütterung in der Ferkelaufzucht und in der Mast 244

W. Preißinger, H. Lindermayer und G. Propstmeier
Einfache Multiphasenfütterung in der Ferkelaufzucht – „Verschneiden" 249

**Poster: Futtermittel- und Lebensmittelqualität** / Quality of feed and food

W. Awad, K. Ghareeb and J. Böhm
Ingestion of deoxynivalenol (DON) contaminated feed alters the broilers' performance, haematological, biochemical and immune responses 255

K. Naehrer and U. Hofstetter
Mycotoxin Survey in Europe 2010 261

K. Schöndorfer, Y. Acosta Aragón, A. Klimitsch, S. Pasteiner, G. Böck and G. Schatzmayr
Influence of increasing dry matter content on silage quality and inoculant efficiency 265

E. Václavková, M. Rozkot and P. Daněk
Effect of linseed and CLA in pig diet on fatty acid content in meat 268

G. Wetscherek-Seipelt und W. Wetscherek
Einfluss des Polyensäurengehaltes im Mastschweinefutter auf die Fettsäurezusammensetzung im Fleisch und Fett 274

M. Sager
Über den Einfluss der Elementzusammensetzung von Legehennenfutter auf die Konzentrationen in Dotter und Eiklar 279

R. Gruzauskas, A. Semaskaite, V. Jarule, A. Raceviciute-Stupeline and G. Švirmickas
Impact of sea buckthorn fruit residues and organic acids on egg Quality of laying hens 284

M. Chrenková, Ľ. Chrastinová, M. Poláčiková, Ľ. Ondruška, Z. Formelová, A. Tomíková and E. Hanusová
Quality of Japanese quail meat and eggs after feeding GM maize 289

V. Juozaitienė, A. Juozaitis, J. Kulpys and R. Stankevičius
Relationship between urea concentration and somatic cell count in milk of cows 296

M. Castex, L. Dussert and A. Piron
Milk and meat benefits with live yeast and organic selenium yeast 300

**Poster: Weitere Themen zur Tierernährung** / Further aspects in animal nutrition

S. Mayrhofer, D. Dattler, W. Kneifel and K.J. Domig
Microarray-based detection of antimicrobial resistance genes in microorganisms used as feed additives 306

L. Novák, L. Zeman, Š. Hošková, M. Balabánová, M. Lichovníková and M. Foltyn
Dynamic Phenotypes of body weight in cockerels ROSS 308 311

N. Reisinger, G. Schatzmayr and T.J. Applegate
Methods for differentiating chemical attributes of intestinal mucins 318

C. Kalteis, B. Novak, A. Köstelbauer, S. Henikl, K. Teichmann and G. Schatzmayr
Flow cytometric assay to study Eimeria tenella sporozoite viability 322

C. Rapp, J.M. DeFrain, M.T. Socha, D.J. Tomlinson and N.B. Cook
Software-supported evaluation of 14 US dairy herds: A novel tool to troubleshoot and prevent lameness 327

M. Balabánová, Š. Hošková, P. Horký and L. Zeman
The values of blood parameters of high-pregnant heifers and cows two weeks forward of calving to four days after calving 331

Autorenverzeichnis 335

Sponsoren 338

# Was wünscht sich die Humanernährung von tierischen Lebensmitteln?

**Jürgen König**

Department für Ernährungswissenschaften, Universität Wien

## Einleitung

Tierische Lebensmittel in der menschlichen Ernährung sind eine wichtige Quelle für eine Reihe von essentiellen Nährstoffen, deren ausreichende Zufuhr nur schwer über andere Lebensmittel sicherzustellen ist. Im Wesentlichen gilt dies für die Mikronährstoffe Eisen, Zink, Riboflavin, Vitamin $B_{12}$, Retinol und Vitamin E, nachdem tierische Lebensmittel für diese Nährstoffe entweder die Hauptquelle oder die am besten bioverfügbare Quelle darstellen. In erster Linie ist die Erwartung der Humanernährung an tierische Lebensmittel also eine Fortführung der Bereitstellung dieser Lebensmittelgruppe mit hoher hygienischer Qualität, so dass hierüber weiterhin die genannten Nährstoffe zur Verfügung stehen. Leider liegen aus dem aktuellen Österreichischen Ernährungsbericht keine Daten über den Beitrag von tierischen Lebensmitteln zu den genannten Nährstoffen vor. Zudem geht aus diesem Ernährungsbericht hervor, dass auch bei Verzicht auf tierische Lebensmittel eine ausreichende Zufuhr mit diesen Nährstoffen gewährleistet werden kann. Es ist aber dennoch fraglich, ob die Kenntnis über die Lebensmittelauswahl zur Sicherstellung der Nährstoffzufuhr für kritische Nährstoffe in der allgemeinen Bevölkerung ausreicht, um auch unter Verzicht auf tierische Lebensmittel eine optimale ernährungsphysiologische Zusammensetzung der täglichen Ernährung zu gewährleisten. Insgesamt wird weiterhin den tierischen Lebensmitteln ein hoher Stellenwert zukommen, um im praktischen Alltag eine ausreichende Zufuhr an allen Nährstoffen zu erreichen.

Neben ihrer Rolle als unverzichtbare Quelle für die genannten Nährstoffe haben tierische Lebensmittel aber noch ein weiteres Potential in der Ernährung des Menschen. Es ist illusorisch, tierische Lebensmittel aus den derzeit üblichen Ernährungsgewohnheiten zu eliminieren, auch wenn dies aktuell von weiten Kreisen propagiert wird. Es ist zudem irreführend, von einem ökologischen Nachteil bei der Produktion von tierischen Lebensmitteln zu sprechen, indem mit einer Vergeudung von agrarwirtschaftlich nutzbaren Flächen argumentiert wird. Bestimmte Nutzflächen sind für den Anbau von Nahrungsmittelpflanzen, die der Ernährung des Menschen unmittelbar zur Verfügung stehen, nicht geeignet, so dass die Nutzung als Weidefläche oder zur Produktion von Futtermitteln und damit letztlich zur Produktion von tierischen Lebensmitteln die einzige Möglichkeit zu einer Nutzung auch für die Ernährung des Menschen darstellt. Daher gilt auch in Zeiten von sinkenden Ressourcen in der Landwirtschaft, dass tierische Lebensmittel eine ökologisch, ökonomisch und ernährungsphysiologische Berechtigung in der Humanernährung haben. Allerdings gewinnt die Produktion von qualitativ hochwertigen tierischen Lebensmitteln an Bedeutung, die idealerweise einen weiteren Vorteil sowohl für die Ernährung des Menschen als auch für die Erhaltung der optimalen Gesundheit und Leistungsfähigkeit der Tiere, von denen diese Lebensmittel stammen, aufweisen.

## Veränderungen der Lebensmittelqualität

Eine Reduktion von tierischen Lebensmitteln in der Humanernährung erscheint insgesamt als wenig praktikabel und aus ernährungsphysiologischer Sicht auch nicht unproblematisch. Die genannten Mikronährstoffe, aber auch eine hohe Proteinqualität sind im Wesentlichen nur aus tierischen Lebensmitteln in adäquater Menge zu erreichen, insbesondere, aber nicht nur für wachsende Kinder und ältere

Menschen. So sind diese Lebensmittel auch eine bedeutende Quelle für Arachidonsäure und unter Einbeziehung von Fisch gilt dies auch für die hochungesättigten, langkettigen Fettsäuren Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure, die sowohl für die Eicosanoidproduktion als auch für die Entwicklung des Zentralnervensystems von Bedeutung sind.

Die adäquate Ernährung der Tiere, von denen Lebensmittel stammen, stellt aber ebenso eine große Herausforderung dar, wie eine Optimierung der Ernährung des Menschen über diese Lebensmittel. Über die Tierfütterung kann auch die ernährungsphysiologische Qualität dieser Lebensmittel aus Sicht der Humanernährung verbessert werden, sodass qualitativ hochwertige Lebensmittel entstehen. Die Zusammensetzung von Milch, Eiern und Fleisch wird maßgeblich durch die Tierernährung beeinflusst. Ein Defizit an bestimmten Vitaminen im Tierfutter wird auch zu einer Reduktion dieser Vitamine im Produkt für die Humanernährung zur Folge haben. Zudem führt eine nichtadäquate Tierernährung zu einer Reduktion der Widerstandskraft des betroffenen Tieres gegenüber Tierpathogenen, die wiederum zu einer Beeinträchtigung der Gesundheit des Menschen führen kann. Und schließlich kann die Tierernährung auch einen Beitrag zur Verringerung der Notwendigkeit des Einsatzes von Tierarzneimitteln führen, was wiederum die Belastung mit Rückständen reduziert.

Über biotechnologische Methoden eröffnet sich ein großes Potential zur Veränderung des Gehaltes von bestimmten Nährstoffen in von Tieren stammenden Lebensmitteln. So kann zum Beispiel die Bioverfügbarkeit von Lysin, die in vielen Futtermitteln die limitierende Aminosäure darstellt, durch die Zugabe von Enzymen aus rekombinanten DNA-Technologien zum Futtermittel erhöht werden. Ebenso ist denkbar, dass Gene für die Lysinbiosynthese in Mikroorganismen insertiert werden, sodass sie hohe Mengen an Lysin als Futterergänzungsmittel produzieren. Andererseits kann durch biotechnologische Methoden auch zum Beispiel eine Phytase produziert werden, die die Phosphatverfügbarkeit verbessert und damit Phosphatverluste reduziert. Diese Ansätze dienen zwar zunächst der Optimierung der Produktion von tierischen Lebensmitteln, letztlich aber sind sie auch für die Humanernährung von Bedeutung.

Der Entwicklung von funktionellen Lebensmitteln mag man grundsätzlich skeptisch gegenüber stehen, da in der Regel nur Nischenmärkte und Hochpreissegmente durch derartige Lebensmittel bedient werden können. Dennoch stellen funktionelle Lebensmittel eine Möglichkeit dar, die Qualität auch von tierischen Lebensmitteln für die Humanernährung zu verbessern. Beispielhaft seien hier die Zugabe von n3-Fettsäuren in das Tierfutter zur Erhöhung der Gehalte in tierischen Lebensmitteln erwähnt, oder die Einbringung von konjugierter Linolsäure in Milch und Fleisch über Fütterung und Tierhaltung.

## Ansätze für ausgewählte (Mikro-)Nährstoffe

Die Ernährung des Menschen ist heutzutage und in entwickelten Ländern im Großen und Ganzen kaum noch durch Mikronährstoffmängel charakterisiert. Bis auf wenige Ausnahmen sind Verfügbarkeit und Vielfalt von Lebensmitteln ausreichend, um eine adäquate Zufuhr aller Mikronährstoffe sicherzustellen. Probleme in der Humanernährung entstehen zum einen durch eine zu hohe Zufuhr an Energie insgesamt und zum anderen durch eine einseitige Lebensmittelauswahl. Die hierdurch entstehenden Imbalancen bei der Zufuhr an Mikronährstoffen betreffen im Wesentlichen die Vitamine Folsäure und Vitamin D sowie die Mineralstoffe Eisen und Jod. Die Zufuhr aller Nährstoffe könnte über tierische Lebensmittel und die Optimierung der Gehalte in diesen Lebensmitteln erhöht werden, wobei im Einzelfall auch eine Risiko-Nutzenrechnung sowohl aus Sicht der Tier- als auch aus Sicht der Humanernährung erfolgen muss. Eine drastische Senkung des Verbrauchs an tierischen Lebensmitteln unter den momentanen Ernährungsgewohnheiten ist, wie bereits erwähnt, illusorisch. Auf der anderen Seite muss allerdings auch betont werden, dass eine Empfehlung zu einem erhöhten Konsum an tierischen Lebensmitteln mit der Begründung eines höheren Beitrages dieser Lebensmittel zur Versorgung mit den genannten Nährstoffen kaum ausgesprochen werden kann. Umso wichtiger ist die Betonung einer Qualitätsoptimierung bei gleichbleibendem Verbrauch an tierischen Lebensmitteln.

Dennoch ergeben sich in Hinblick auf einzelne Mikronährstoffe durchaus sinnvolle Konzepte, die auch in der Humanernährung vertretbar wären. Die Zufuhr an Jod zum Beispiel ist derzeit auf Basis der Daten aus dem Österreichischen Ernährungsbericht zwar ausreichend, allerdings basiert diese Bewertung auf der Annahme, dass alles Kochsalz in Form von jodiertem Kochsalz konsumiert wird, was unrealistisch ist, da bei der kommerziellen Herstellung von Lebensmitteln in den meisten Fällen kein jodiertes Kochsalz verwendet wird. Zudem ist durch verschiedene Maßnahmen im Bereich der Ernährungspolitik mit einem weiteren Rückgang des Verbrauchs an Kochsalz im Haushalt zu rechnen, so dass langfristig auch in Österreich, wie bereits in anderen Ländern, wieder mit einer unzureichenden Versorgung an Jod zu rechnen ist. Die beste Quelle für Jod in der Humanernährung ist immer noch Seefisch, für diesen ist allerdings ebenfalls aufgrund geringerer Verfügbarkeit und damit steigender Preise mit einem Verbrauchsrückgang zu rechnen. Zudem haben sich auch die Gehalte an Jod in Milch und Milchprodukten durch neue Regulierungen in der Milchproduktion reduziert. Insgesamt ergibt sich insbesondere für diesen Nährstoff ein großes Potential im Bereich der tierischen Lebensmittel, das einen unmittelbaren Einfluss auf die Humanernährung haben könnte.

Problematischer stellt sich die Situation in Hinblick auf die Optimierung der Eisenzufuhr über tierische Lebensmittel dar. Einerseits besteht hier ebenfalls eine gute Möglichkeit über die Erhöhung der Gehalte eine Verbesserung der Zufuhr in der Humanernährung zu erreichen, was insbesondere für junge Frauen und schwangere Frauen von Bedeutung wäre. Andererseits empfehlen der World Cancer Research Fund eine Reduktion von eisenhaltigen Lebensmitteln und spricht sich klar für eine Reduktion der Zufuhr an rotem Fleisch und verarbeitetem Fleisch aus, da für diese Lebensmittel eine Assoziation zu bestimmten Krebsarten aus epidemiologischen Studien ermittelt werden konnte. Grundsätzlich sind hier Überlegungen anzustellen, was unter einer ausreichenden Zufuhr an Eisen überhaupt zu verstehen ist und wo das Gleichgewicht zwischen gesundheitsfördernden und gesundheitsbeeinträchtigenden Aspekten für bestimmte Personengruppen liegt. Inwieweit eine Modifizierung des Eisengehaltes unter Berücksichtigung der Tiergesundheit und zur Optimierung der Eisenversorgung in der Humanernährung realisierbar ist, bedarf weiterer Untersuchungen.

Wie oben bereits erwähnt, liegt in der Veränderung der Fettsäurezusammensetzung bei tierischen Lebensmitteln ebenfalls ein gewisses Potential. Hier ist allerdings zu berücksichtigen, dass zum Beispiel eine Erhöhung des Gehaltes an hochungesättigten Fettsäuren zwar physiologisch sinnvoll und technologisch auch realisierbar wäre, aber aus Gründen der Lebensmittelverarbeitung und Herstellung bestimmter Produkte aus tierischen Lebensmitteln eine Veränderung der Fettsäurezusammensetzung auch Grenzen aufwirft. So lassen sich bestimmte Wurstwaren nicht in akzeptabler Qualität produzieren, wenn die Fettsäurezusammensetzung in Richtung hochungesättigter Fettsäuren verschoben wird.

## Schlussbemerkungen

Insgesamt sind die Wünsche der Humanernährung an tierische Lebensmittel zunächst von der Beibehaltung der derzeit hohen Qualität dieser Lebensmittel aus hygienischer, aber auch aus ernährungsphysiologischer Sicht geprägt. Ein gewisses Potential ergibt sich für die Erhöhung der Gehalte an bestimmten Mikronährstoffen oder eventuell zusätzlichen Inhaltsstoffen, die den Lebensmitteln einen funktionellen Charakter verleihen könnten. Ein dringender Bedarf für einen Zusatznutzen in Form von funktionellen Lebensmitteln ergibt sich allerdings nur in geringem Maße und nur für bestimmte Nischenprodukte oder Märkte. In der Humanernährung spielt neben der ernährungsphysiologischen Qualität allerdings auch die sensorische Qualität eine wesentliche Rolle. Der Trend zu fettreduzierten Produkten mag hierbei aus ernährungsphysiologischer Sicht eine gewisse Berichtigung haben, es muss aber auch klar gesagt werden, dass dies in vielen Fällen auch eine Beeinträchtigung der sensorischen Eigenschaften zur Folge haben wird. Eine Rückbesinnung auf bestimmte Fleischqualitäten, die auf den ersten Blick vielleicht nicht in dieses Konzept der Energiereduktion passen wollen, wäre dennoch auch Bestandteil einer Wunschliste an tierische Lebensmittel. Es ist aus diesem Blickwinkel erstrebenswert, entsprechende Fleischqualitäten zu erzeugen, die vielleicht in geringerer Menge konsumiert werden,

dafür aber eine deutliche bessere sensorische Qualität aufweisen. Dass solche Qualitäten nur zu höheren Konsumentenpreisen produziert werden können, liegt auf der Hand, wodurch sich wiederum eine bessere Rentabilität für den Produzenten an tierischen Lebensmitteln ergeben könnte.

## Literatur

Allen LH. Interventions for micronutrient deficiency control in developing countries: past, present and future. J Nutr 2003; 133 (Suppl 2): 3875S-3878S.

Bauman DE. Meeting the challenges of the new century. In: Committee on Animal Nutrition, National Research Council (eds). Scientific Advances in Animal Nutrition. National Academy Press, Washington, D.C., 2002, 72-77.

Elmadfa I, et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2008. Bundesministerium für Gesundheit, Wien 2009.

World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Food, nutrition, physical activity and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, D.C., AICR, 2007.

## Autorenanschrift

Univ.-Prof. Dr. Jürgen König
Department für Ernährungswissenschaften der Universität Wien
Althanstr. 14, A-1090 Wien
E-Mail: juergen.koenig@univie.ac.at

# Spezielle Wirkungen bestimmter Fettsäuren auf Gesundheit und Produktqualität beim Nutztier

**Klaus Eder, Denise K. Geßner und Robert Ringseis**

Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Justus-Liebig-Universität Gießen, Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 Gießen, Deutschland

## Einleitung

Fettsäuren sind langkettige Carbonsäuren. In der Natur kommen sie überwiegend als Ester verschiedener Alkohole, besonders des Glycerins, vor. Fettsäuren werden entsprechend des Fehlens oder des Vorkommens von Doppelbindungen der Gruppe der gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren zugeordnet. Innerhalb der mehrfach ungesättigten Fettsäuren werden insbesondere solche des n-6 Typs von denen des n-3 Typs unterschieden. Zu den n-6 Fettsäuren, bei denen die letzte Doppelbindung vom Methylende aus gesehen am 6. Kohlenstoffatom liegt, zählen insbesondere die Linolsäure (18:2 n-6) und die Arachidonsäure (20:4 n-6). Die wichtigsten Vertreter der n-3 Fettsäuren sind die $\alpha$-Linolensäure (18:3 n-3), die Eicosapentaensäure (20:5 n-3) und die Docosahexaensäure (22:6 n-3). In der Nahrung spielen Fettsäuren als Bestandteile von Triglyceriden eine wichtige Rolle als Energielieferanten. Bestimmte Fettsäuren (Linolsäure, $\alpha$-Linolensäure) sind aber auch essentiell. Diese Fettsäuren sind nicht nur wichtig für den Aufbau von Zellmembranen. Ihre Desaturations- und Elongationsprodukte sind essentiell für die Bildung von Eicosanoiden, die unter anderem als Immunmodulatoren wirken. Bei den von Pflanzen oder Tieren synthetisierten ungesättigten Fettsäuren liegen die Doppelbindungen ausschließlich in *cis*-Konfiguration und in isolierter Form vor. Im Unterschied dazu können Mikroorganismen durch Isomerisierungsprozesse Fettsäuren mit isolierten Doppelbindungen auch in solche mit konjugierten Doppelbindungen überführen. Zu den letztgenannten Fettsäuren zählen insbesondere die konjugierten Linolsäuren (CLA).

Fettsäuren, die mit dem Futter aufgenommen werden, werden nicht nur über die ß-Oxidation zur Gewinnung von ATP verwendet, sondern auch in zelluläre Strukturen wie Zellmembranen eingebaut. In dieser Form entfalten sie viele wichtige regulatorische Funktionen, die auch einen Einfluss auf gesundheitsrelevante Merkmale von Tieren ausüben. In besonderer Weise trifft dies auf n-3 Fettsäuren und auf CLA zu. Die Auswirkungen dieser Fettsäuren auf gesundheitsrelevante Parameter und Aspekte der Produktqualität werden im vorliegenden Beitrag diskutiert.

## n-3 Fettsäuren: Physiologische Wirkungen

Die Familie der n-3 Fettsäuren setzt sich aus mehreren Vertretern zusammen, die sich von 18:3 n-3 ableiten. 18:3 n-3 wird in Pflanzen synthetisiert; besonders hohe Gehalte finden sich in der Saat von Lein und Raps sowie in der Sojabohne. Der tierische Organismus ist nicht in der Lage, 18:3 n-3 zu synthetisieren, weshalb diese mit der Nahrung aufgenommen werden muss. Im tierischen Organismus kann 18:3 n-3 dann durch Desaturation und Elongation in längerkettige und höher ungesättigte Vertreter wie 20:5 n-3, 22:5 n-3 oder 22:6 n-3 überführt werden (siehe Abbildung).

n-3 Fettsäuren induzieren im Organismus eine Reihe wichtiger physiologischer Wirkungen. Einerseits werden sie in Zellmembranen eingebaut und bewirken dort durch ihre räumliche Struktur eine Steigerung der Membranfluidität. Hierdurch wird die Aktivität membranständiger Enzyme und Rezeptoren beeinflusst. Langkettige n-3 Fettsäuren, insbesondere 20:5 n-3 und 22:6 n-3 hemmen in der Leber

und im Fettgewebe durch Inhibierung der proteolytischen Ausreifung des *sterol regulatory element-binding protein* (SREBP) 1c auch die Lipogenese (Synthese von Fettsäuren und Triglyceriden) und stimulieren durch eine Aktivierung des *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) $\alpha$ die Lipolyse von Fettsäuren des Plasmas und die ß-Oxidation von Fettsäuren. 20:5 n-3 ist zudem Substrat für die Bildung von Eicosanoiden der 3-er Reihe und Thromboxane der 5-er Reihe. In dieser Funktion steht 20:5 n-3 in Konkurrenz zu 20:3 n-6 und 20:4 n-6 (siehe Abbildung). Die aus 20:5 n-3 gebildeten Eicosanoide unterscheiden sich in ihren Wirkungen allerdings wesentlich von denen, die aus 20:3 n-6 und 20:4 n-6 gebildet werden. So wirkt eine Verschiebung des Eicosanoidspektrums in Richtung 3-er/5-er Serie, die aus einer Anreicherung von 20:5 n-3 in Zellmembranen resultiert, insgesamt blutgerinnungshemmend, entzündungshemmend und blutgefäßerweiternd. Langkettige n-3 PUFA sind des Weiteren auch Vorstufen der Bildung von Resolvinen, Lipoxinen und Neuroprotektin D1. Resolvine und Lipoxine wirken entzündungshemmend und sollen neueren Untersuchungen zufolge auch an der Auflösung inflammatorischer Prozesse beteiligt sein. Neuroprotektin D1 wird als neuroprotektiver Faktor angesehen (Serhan et al., 2004). Ein Nachteil der hochungesättigten, langkettigen n-3 PUFA besteht darin, dass sie als Bestandteile von Zellmembranen sehr oxidationsanfällig sind. Unter dem Einfluss pro-oxidativer Faktoren – wie Superoxidradikalen, die im Rahmen der Atmungskette entstehen – können daraus Peroxide und Hydroperoxide entstehen, die zur Entstehung zellulären oxidativen Stresses führen können.

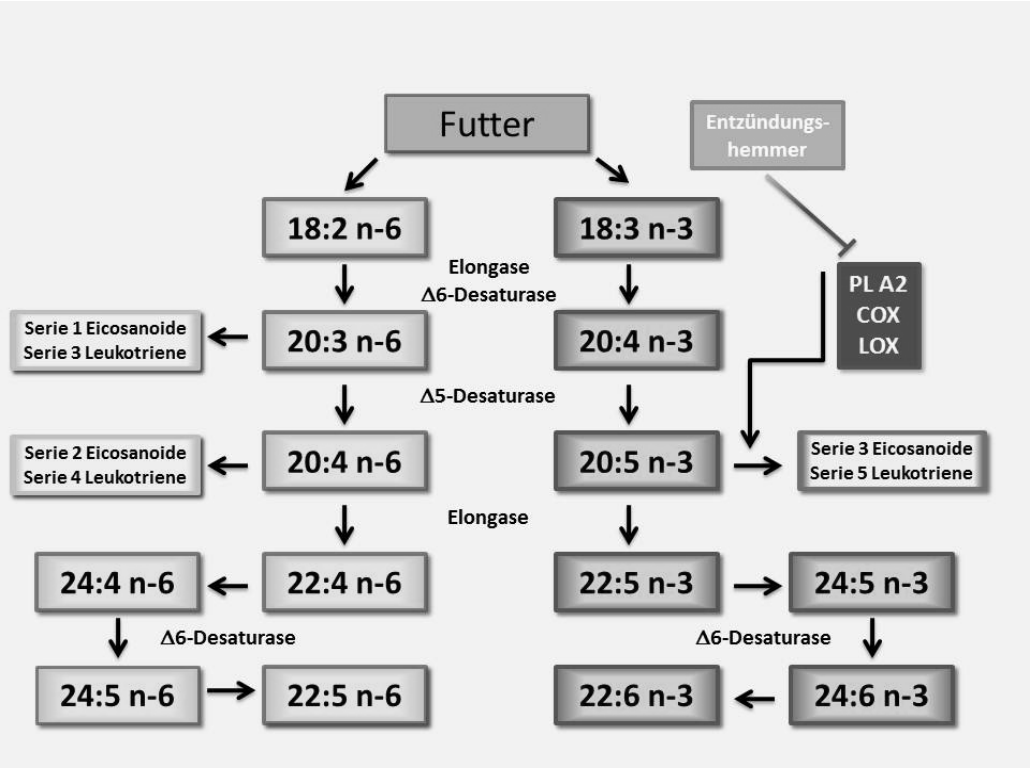



**Abbildung 1**: Bildung von n-3 Fettsäuren und daraus abgeleiteten Eicosanoiden (PL A2 = Phospholipase A2, COX = Cyclooxygenase, LOX = Lipoxygenase)

## n-3 Fettsäuren: Wirkungen auf Tiergesundheit und Produktqualität

Anti-inflammatorische und anti-thrombotische Effekte von n-3 Fettsäuren sind beim Menschen gut beschrieben und belegt. Diese speziellen Wirkungen von n-3 Fettsäuren sind auch wesentlich verantwortlich für die anti-atherogenen Eigenschaften langkettiger n-3 Fettsäuren. Im Unterschied zum Menschen existieren beim Nutztier nur wenige Untersuchungen zur Wirkung von n-3 Fettsäuren auf das Entzündungsgeschehen. Allerdings konnte auch bei Schweinen eine entzündungshemmende Wirkung von n-3 Fettsäuren gezeigt werden. So zeigten sich in einer Studie von Zhan et al. (2009) bei wachsenden Schweinen nach Fütterung einer Ration mit 10% Leinöl im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Leinöl deutlich verminderte mRNA-Konzentrationen von IL-1ß, IL-6 und TNF$\alpha$ in Skelettmuskel, Fettgewebe und Milz sowie verminderte Konzentrationen an IL-6 und TNF$\alpha$ im Serum. In der Untersuchung von Liu et al. (2003) wurden Ferkel, deren Futter als Fettkomponente entweder 7% Maisöl oder Fischöl enthielt, mit Lipopolysacchariden belastet. In der mit Fischöl behandelten Gruppe war der Anstieg der Konzentrationen pro-inflammatorischer Mediatoren wie IL-1ß, PGE2 und Cortisol sowie der Abfall von IGF-1 durch die Belastung deutlich niedriger als in der mit Maiskeimöl behandelten Gruppe. Gleichzeitig war auch der Einbruch der Futteraufnahme und der täglichen Zunahmen durch die Infektion in der Gruppe mit Fischöl deutlich geringer als in der Gruppe mit Maiskeimöl.

Die Fütterung von Futtermitteln mit hohen Gehalten an n-3 Fettsäuren wie Leinprodukten, Leinöl oder Fischöl führt zu einer Anreicherung dieser Fettsäuren in den Geweben bei monogastrischen Nutztieren. Da die Aktivitäten der Fettsäuredesaturasen bei Schwein und Geflügel relativ niedrig sind, ist die Konversion von 18:3 n-3 in 20:5 n-3 und 22:6 n-3 bei diesen Spezies, in Analogie zum Menschen, allerdings sehr begrenzt. Daher steigen auch die Gehalte von 20:5 n-3 und 22:6 n-3 nach Fütterung von Leinöl oder Leinsaat nur sehr geringfügig an, während der Gehalt an 18:3 n-3 in der Regel sehr deutlich ansteigt. In einer eigenen Untersuchung (Roth-Maier et al., 1999) führte die Verabreichung eines Futter mit einem Anteil von 7,5% geschroteter Leinsaat beim Broiler zu einem Anstieg des Gehaltes an 18:3 n-3 in den Gesamtlipiden des Oberschenkelmuskels von 1,6 auf 11%, während die Anteile an 20:5 n-3 und 22:6 n-3 nur auf 0,6 bzw. 0,3% anstiegen. Eine Steigerung des Gehaltes langkettiger n-3 PUFA in tierischen Produkten ist aus ernährungsphysiologischer Sicht zwar erwünscht, aus technologischer Sicht allerdings sehr problematisch. Erhöhte Gehalte an ungesättigten Fettsäuren haben nicht nur einen negativen Einfluss auf die Konsistenz des Fettes, sondern erhöhen auch die Oxidationsempfindlichkeit der Produkte. In einer eigenen Untersuchung (Eder et al., 2005a) wurde die Bildung von Oxysterolen – Oxidationsprodukten von Cholesterin – im Oberschenkelmuskel von Broilern nach Fütterung von Rationen mit verschiedenen Ölen (Palmöl, Sojaöl, Leinöl) bei unterschiedlichen Vitamin E-Gehalten (20, 40, 200 mg/kg) bestimmt. Die Fütterung von Leinöl führte bei knapper Vitamin E-Versorgung (20 mg/kg) zu einer Depletion an Gesamttocopherolen im Muskel und zu einem dramatischen Anstieg der Bildung von Oxysterolen, vor allem im gegrillten Muskel. Durch sehr hohe Vitamin E-Gehalte des Futters konnte der Anstieg der Konzentrationen an Oxysterolen verhindert werden. Diese Untersuchung belegt die Bedeutung von Vitamin E als Antioxidans zum Schutz gegen Oxidationsprozesse bei der Fütterung von Ölen mit hohem Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Eine ähnliche Interaktion zwischen mehrfach ungesättigten Fettsäuren und Vitamin E zeigte sich auch beim Schwein (Eder et al., 2005 b).

## CLA: Physiologische Wirkungen

Konjugierte Linolsäuren sind Isomere der Linolsäure, bei denen die beiden Doppelbindungen in konjugierter Form vorliegen. Innerhalb der Vielzahl möglicher Isomere spielen vor allem die *cis*-9, *trans*-11 und die *trans*-10, *cis*-12 Form eine Rolle. Das *cis*-9, *trans*-11 Isomer wird im Pansen des Wiederkäuers gebildet, überwiegend jedoch im Gewebe durch Δ9-Desaturierung der im Pansen gebildeten *trans*-Vaccensäure. Es entsteht durch mikrobielle Hydrierung, Isomerisierung und Desaturation von ungesät-

tigten Fettsäuren des Futters. Konjugierte Linolsäuren können heute auch auf synthetischem Wege hergestellt werden, nämlich durch technische Hydrierung und Isomerisierung von Pflanzenölen. Als Endprodukt dieses Synthesewegs entsteht ein Gemisch aus *cis*-9, *trans*-11 und *trans*-10, *cis*-12 CLA. Konjugierte Linolsäuren wurden erstmalig von Pariza et al. (1985) beschrieben. Diese Forscher waren auf der Suche nach potentiell kanzerogenen Inhaltsstoffen in gegrilltem Rindfleisch, entdeckten dabei aber CLA als anticarcinogene Substanzen. In den Jahren nach der Erstbeschreibung der CLA kam eine Welle zahlreicher Untersuchungen zu den Wirkungen von CLA ins Rollen. So konnte in einer Reihe von Untersuchungen bestätigt werden, dass CLA bei Mäusen und Ratten anticarcinogen wirkt und das Auftreten chemisch induzierter Tumoren hemmt. Des Weiteren konnte bei verschiedenen Spezies, besonders bei Nagern, gezeigt werden, dass CLA immunmodulierend, hypolipidämisch, antidiabetogen und antithrombotisch wirken (siehe Ntambi et al. 2002, Pariza 2004). Im Mausmodell konnte auch nachgewiesen werden, dass CLA zu einer Regression atherosklerotischer Plaques (Toomey et al., 2005) und zu einer Veränderung der Körperzusammensetzung (Park et al., 1997) führen. Mäuse, die mit der Diät CLA erhielten, zeigten während des Wachstums einen geringeren Ansatz an Körperfett und einen relativ höheren Ansatz an Magermasse (Stangl, 2000). Als unerwünschter Nebeneffekt dieses *body repartitioning effects* kommt es bei der Maus allerdings zur Ausbildung einer Fettleber und einer Insulinresistenz (Clement et al., 2002). Anhand einer Vielzahl von Untersuchungen an Nagern und isolierten Zellsystemen ist es gelungen, biochemische Prozesse zu identifizieren, die durch CLA beeinflusst werden. Beispielweise aktivieren CLA nukleäre Rezeptoren wie PPAR$\alpha$ und PPAR$\gamma$, hemmen redox-sensitive Transkriptionsfaktoren wie NF-$\kappa$B, AP-1, STAT3 und proinflammatorische Gene wie COX-2 oder iNOS. Sie inhibieren auch die Differenzierung von Pre-Adipozyten und aktivieren pro-apoptotische Gene.

## CLA: Wirkungen auf Tiergesundheit und Produktqualität

Die Wirkungen von CLA auf die Gesundheit landwirtschaftlicher Nutztiere sind bislang unzureichend erforscht. Bei monogastrischen Nutztieren (Schwein, Geflügel) konnte gezeigt werden, dass die Fütterung eines Gemisches von *cis*-9,*trans*-11 CLA und *trans*-10,*cis*-12 CLA dosisabhängig zu einer moderaten Reduktion des Körperfettgehaltes führt. So führte in einer Untersuchung von Wiegand et al. (2002) die Verabreichung eines Futters mit 0,75% CLA bei wachsenden Schweinen zu einer Reduktion der Rückenspeckdicke (gemessen an der 10. Rippe) von 26,2 auf 20,8 mm. Die Fütterung von CLA bewirkte auch eine moderate Anreicherung dieser Fettsäuren in den Geweben. In der Untersuchung von Wiegand et al. (2002) ergab sich durch die Fütterung der CLA im Kotelett ein CLA-Gehalt von 0,71% der Gesamtfettsäuren, während in der Kontrollgruppe CLA-Isomere im Kotelett nicht nachzuweisen waren. Die Fütterung von CLA führte auch zu einer Erhöhung des Gehaltes an gesättigten Fettsäuren in tierischen Geweben - zu Lasten der einfach ungesättigten Fettsäuren - sowie zu moderat verminderten Konzentrationen mehrfach ungesättigter Fettsäuren. Aus den geringeren Anteilen an ungesättigten Fettsäuren resultiert eine bessere Oxidationsstabilität des Fleisches. Neuere, eigene Untersuchungen (Schlegel et al., 2011) an Jungrindern zeigten, dass die Fütterung von CLA auch zu einem erhöhten Gehalt an Vitamin E im Fleisch führt, der ebenfalls zur verbesserten Oxidationsstabilität des Fleisches beitragen dürfte.

Eine besondere physiologische Relevanz haben CLA bei laktierenden Tieren. Bei verschiedenen Spezies konnte gezeigt werden, dass CLA den Milchfettgehalt absenken. Dieser Effekt wird spezifisch durch das *trans*-10, *cis*-12 Isomer vermittelt und ist auf eine Hemmung der Fettsäuresynthese in der Milchdrüse sowie auf eine Hemmung der Aufnahme von freien Fettsäuren und triglyceridgebundenen Fettsäuren aus dem Blut in die Milchdrüse zurückzuführen (Ringseis et al. 2004, Gutgesell et al. 2009). Bei der Milchkuh ist dieser Effekt von Interesse, da eine Reduktion des Milchfettgehaltes mit einer geringeren Ausscheidung von Energie über die Milch verbunden ist. In der Untersuchung von Liermann et al. (2008) konnte durch die Fütterung eines handelsüblichen pansengeschützten CLA-Präparates bei Milchkühen der Milchfettgehalt von 3,8 auf 3,1% abgesenkt werden. Die mittlere tägli-

che Energiebilanz über die gesamte Laktation wurde dadurch um etwa 6 MJ NEL/d verbessert und das Zeitintervall bis zum Erreichen einer ausgeglichenen Bilanz nach dem Abkalben um 13 Tage vermindert. Obgleich die mittlere NXP-Bilanz bei den Kühen mit CLA stärker negativ war, war die Rückenmuskeldicke bei diesen Tieren unerwartet größer und die Rückenfettdicke geringer. Diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass CLA auch bei der Kuh einen Einfluss auf die Körperzusammensetzung haben.

# Zusammenfassung

Fettsäuren dienen in der Fütterung landwirtschaftlicher Nutztiere nicht nur als Energielieferanten, sie haben auch vielfältige regulatorische Wirkungen im tierischen Organismus. N-3 Fettsäuren erhöhen nicht nur die Fluidität biologischer Membranen, als Aktivatoren bzw. Inhibitoren von Kernrezeptoren (PPAR$\alpha$, SREBP-1) stimulieren sie auch die Oxidation von Fettsäuren und hemmen die Neusynthese von Triglyceriden. Als Vorstufen von Eicosanoiden sowie Lipoxinen und Resolvinen wirken sie außerdem entzündungshemmend. CLA sind Fettsäuren, die natürlicherweise von Mikroorganismen gebildet werden, aber auch synthetisch hergestellt werden können. Für sie wurden an Modelltieren und Zellkulturen eine Vielzahl physiologischer Wirkungen gezeigt. Einige dieser Wirkungen, wie die Veränderung der Körperzusammensetzung sowie die Beeinflussung des Fettsäurestoffwechsels, wurden bereits auch bei monogastrischen Nutztieren nachgewiesen. CLA hemmen die Milchfettsynthese und können dadurch auch bei der Milchkuh über einen Verminderung des Milchfettgehaltes zu einer Reduktion des energetischen Leistungsbedarfs beitragen. Insgesamt sind aber sowohl die Wirkungen von n-3 Fettsäuren wie auch die von CLA auf gesundheitliche Aspekte bei landwirtschaftlichen Nutztieren bisher unzureichend untersucht. Dadurch kann ihr volles Potential hinsichtlich einer günstigen Beeinflussung des Stoffwechsels und der Prävention von Krankheiten bisher nicht genutzt werden.

## Literatur

Clément, L., Poirier, H., Niot, I., Bocher, V., Guerre-Millo, M., Krief, S., Staels, B., Besnard, P. (2002): Dietary *trans*-10,*cis*-12 conjugated linoleic acid induces hyperinsulinemia and fatty liver in the mouse. J. Lipid Res. 43, 1400-1409

Eder, K., Grünthal, G., Kluge, H., Hirche, F., Spilke, J., Brandsch, C. (2005a): Concentrations of cholesterol oxidation products in raw, heat-processed and frozen-stored meat of broiler chickens fed diets differing in the type of fat and vitamin E concentrations. Br. J. Nutr. 93, 633-643

Eder, K., Müller, G., Kluge, H., Hirche, F., Brandsch, C. (2005b): Concentrations of oxysterols in meat and meat products from pigs fed diets differing in the type of fat (palm oil or soybean oil) and vitamin E concentrations. Meat Sci. 70, 15-23

Gutgesell A, Ringseis R, Eder K. (2009): Short communication: Dietary conjugated linoleic acid down-regulates fatty acid *trans*porters in the mammary glands of lactating rats. J. Dairy Sci. 92, 1169-1173

Liermann, T. (2008): Einfluss einer Zulage von pansengeschützter konjugierter Linolsäure (CLA) in Kombination mit Propylenglykol oder pansengeschütztem Fett auf Leistungsmerkmale, Stoffwechselparameter und den Energiestatus frischlaktierender Milchkühe. Dissertation, Technische Universität München, Lehrstuhl für Tierernährung

Liu, Y.L., Li, D.F., Gong, L.M., Yi, G.F., Gaines, A.M., Carroll, J.A. (2003): Effects of fish oil supplementation on the performance and the immunological, adrenal, and somatotropic responses of weaned pigs after an *Escherichia coli* lipopolysaccharide challenge. J. Anim. Sci. 81, 2758-2765

Ntambi, J.M., Choi, Y., Park, Y., Peters, J.M., Pariza, M.W. (2002): Effects of conjugated linoleic acid (CLA) on immune responses, body composition and stearoyl-CoA desaturase. Can. J. Appl. Physiol. 27, 617-628

Park, Y., Albright, K.J., Liu, W., Storkson, J.M., Cook, M.E., Pariza, M.W. (1997): Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. Lipids 32, 853-858

Pariza, M.W., Hargraves, W.A. (1985): A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse epidermal tumors by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. Carcinogenesis 6, 591-593

Pariza, M.W. (2004): Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. Am. J. Clin. Nutr. 79, 1132S-1136S

Ringseis, R., Saal, D., Müller, A., Steinhart, H., Eder, K. (2004): Dietary conjugated linoleic acids lower the triacylglycerol concentration in the milk of lactating rats and impair the growth and increase the mortality of their suckling pups. J Nutr. 134, 3327-3334

Roth-Maier, D.A., Eder, K., Kirchgeßner, M. (1998): Live performance and fatty acid composition of meat in broiler chickens fed diets with various amounts of ground or whole flaxseed. J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr. 79, 260-268

Schlegel, G., Ringseis, R., Shibani, M., Most, E., Schwarz, F.J., Eder, K. (2011): Influence of a rumen-protected conjugated linoleic acid mixture on carcass traits and meat quality in young Simmental heifers. J. Anim. Sci. (submitted)

Serhan, C.N., Gotlinger, K., Hong, S., Arita, M. (2004): Resolvins, docosatrienes, and neuroprotectins, novel omega-3-derived mediators, and their aspirin-triggered endogenous epimers: an overview of their protective roles in catabasis. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 73, 55-72

Stangl, G.I. (2000): Conjugated linoleic acids exhibit a strong fat-to-lean partitioning effect, reduce serum VLDL lipids and redistribute tissue lipids in food-restricted rats. J. Nutr. 130, 1140-1146

Toomey, S., Harhen, B., Roche, H.M., Fitzgerald, D., Belton, O. (2006): Profound resolution of early atherosclerosis with conjugated linoleic acid. Atherosclerosis 187, 40-49

Wiegand, B.R., Sparks, J.C., Parrish, F.C. Jr.,Zimmerman, D.R. (2002): Duration of feeding conjugated linoleic acid influences growth performance, carcass traits, and meat quality of finishing barrows. J. Anim. Sci. 80, 637-643

Zhan, Z.P., Huang, F.R., Luo, J., Dai, J.J., Yan, X.H., Peng, J. (2009): Duration of feeding linseed diet influences expression of inflammation-related genes and growth performance of growing-finishing barrows. J. Anim. Sci. 87, 603-611

## Autorenanschrift

Prof. Dr. Klaus Eder
Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie
Justus-Liebig-Universität Giessen
Interdisziplinäres Forschungszentrum (IFZ)
Heinrich-Buff-Ring 26-32
D-35392 Giessen
E-Mail: klaus.eder@ernaehrung.uni-giessen.de

# Stabilisierung der Verdauung durch die Fütterung

**Wilhelm Windisch**

Technische Universität München, Deutschland

## Einleitung

Die Tierproduktion steht global vor extremen Herausforderungen: bis zur Mitte dieses Jahrhunderts wird die Weltbevölkerung um ein Drittel und die Nachfrage nach Lebensmitteln tierischer Herkunft um das Doppelte wachsen, so dass auch die Anzahl an Nutztieren und der Bedarf an Futtermittel enorm steigen wird (Steinfeld et al. 2006). Auf der anderen Seite steht die Erzeugung von Futtermitteln angesichts begrenzter Ressourcen (Boden, Wasser, Düngemittel, …) in zunehmend scharfer Konkurrenz zur Produktion von pflanzlichen Nahrungsmitteln und von nachwachsenden Rohstoffen für industrielle Zwecke. Gleichzeitig nimmt das genetische Leistungspotential der Nutztiere nach wie vor konstant zu. Die Tierernährung muss deshalb die Effizienz der Transformation von Nährstoffen aus dem Futter in Richtung des tierischen Endprodukts fortlaufend steigern. Eine der Grundvoraussetzungen zur Erreichung dieses Ziels ist die Stabilisierung der Verdauungsvorgänge im leistenden Nutztier. Der nachfolgende Beitrag zeigt einen kurzen Überblick über die verfügbaren Möglichkeiten, wobei der Bereich der ruminalen Umsetzungen hier ausgeklammert werden soll. Insgesamt stehen der Tierernährung drei Hauptwege offen, die Anwendung sogenannter Leistungsförder, die gezielte Steuerung der physikalisch-chemischen Eigenschaften des Futters sowie Ansatzpunkte zur Überwindung von antinutritiven Substanzen und von Flaschenhälsen der Verdauungskapazität.

## Futterzusatzstoffe mit „leistungsfördernder Wirkung"

„Leistungsförderer" werden in der Öffentlichkeit oftmals missinterpretiert, denn ihre Bezeichnung weckt Assoziationen an pharmakologische Substanzen, welche die tierische Leistung über das physiologisch normale Maß hinaus maximieren sollen. Tatsächlich handelt es sich hierbei jedoch um Futterzusatzstoffe, welche die Verdauungsvorgänge vor Entgleisungen und hygienischen Belastungen schützen sollen, damit das Nutztier seine genetische Leistungsfähigkeit besser zur Entfaltung bringen kann.

**Antibiotische Futterzusatzstoffe** sind, auch wenn sie aufgrund ihrer Resistenzproblematik in der EU längst nicht mehr zugelassen sind, ein gutes Modell für die typische Wirkungsschiene leistungsfördernder Futterzusatzstoffe: Sie drängen im Verdauungstrakt nicht nur unerwünschte Mikroorganismen zurück, sondern verhindern auch den mikrobiellen Abbau limitierender Nährstoffe zu toxischen Produkten (z.B. biogene Amine, Ammoniak). Die Versorgung des Tieres an essentiellen Aminosäuren und Energie nimmt dadurch um etwa 5 bis 10 % zu. Darüber hinaus verhindern sie den mikrobiellen Abbau von Verdauungsenzymen im Dünndarm des Tieres (z.B. Gaskins et al. 2001; Stewart et al. 2010). Die stabilisierende Wirkung antibiotischer Futterzusatzstoffe auf die Verdauungsvorgänge insbesondere im Dünndarm lasst sich auch indirekt an der Zunahme der scheinbaren fäkalen Verdaulichkeit der Trockenmasse und des Rohproteins ablesen (z.B. Roth et al. 1994, 1999).

**Organischen Säuren und ihre Salze** stellen eine bewährte Gruppe leistungsfördernder Futterzusatzstoffe dar (Übersicht siehe z.B. Gabert and Sauer 1994; Roth und Kirchgessner 1998). Sie reduzieren den pH-Wert und die Pufferkapazität des Futters und fördern dadurch sowohl die Futterhygiene als auch die Durchsäuerung des Mageninhalts, was ein wichtiger Ausgangsfaktor der Stabilisierung der Darmgesundheit ist. Darüber hinaus haben auch die Salze der organischen Säuren eine bakterizide Wirkung, die sowohl im Futter als auch im Verdauungstrakt zu Tage tritt. Dieser Wirkungsmechanis-

mus kommt den antibiotischen Leistungsförderer sehr nahe. So hat man auch für die organischen Säuren und deren Salze experimentell nachgewiesen, dass sie die Bildung toxischer Fermentationsprodukte im Darm drosseln (z.B. Ammoniak, biogene Amine), die Verfügbarkeit limitierender Aminosäuren steigern und die scheinbaren Verdaulichkeiten von Trockenmasse und Rohprotein als indirektes Maß für die Stabilität der Dünndarmverdauung erhöhen (Roth et al. 1998; Eckel et al. 1992).

Zur Gruppe der Leistungsförderer zählen zweifelsohne auch viele **phytogene Zusatzstoffe** (Übersicht siehe z.B. Windisch et al. 2008; Franz et al. 2010). Das Spektrum der angebotenen Pflanzen(teile) bzw. ihrer Extrakte sowie ihre (mutmaßlichen) Haupteffekte ist jedoch sehr vielfältig und reicht von einer antioxidativen Wirkung über die Stimulation des Futterverzehrs und der Sekretion von Verdauungsenzymen bis zur antimikrobiellen Wirksamkeit. In diesem Zusammengang ist es zwar umstritten, ob man phytogenen Zusatzstoffen in praxisüblichen Dosierungen tatsächlich ein antimikrobielles Potential im Sinne eines antibiotischen Futterzusatzstoffs zuschreiben kann. Experimentelle Befunde deuten jedoch darauf hin, dass ihre Gesamtwirkung im Verdauungstrakt durchaus zur Eubiose beitragen kann, in deren Folge die Bildung toxischer Fermentationsprodukte im Darm vermindert und die Nährstoffverdaulichkeit als Maß für die Stabilität der Dünndarmverdauung verbessert ist (Hernandez et al. 2004; Kroismayr et al. 2008a). Ein weiterer mutmaßlicher Wirkungsmechanismus ist die „Stimulation des Immunsystems". In der Tat weisen experimentelle Befunde auf eine im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren reduzierte inflammatorische Aktivität nach Verfütterung phytogener Zusatzstoffe hin (z.B. Nofrairas et al. 2006; Kroismayr et al. 2008b). Es ist jedoch unklar, ob derartige Befunde tatsächlich eine direkte Wirkung phytogener Zusatzstoffe auf das Immunsystem anzeigen oder eher als Resultat einer erfolgreichen Stabilisierung der intestinalen Eubiose aufgrund anderer Wirkungsmechanismen anzusehen sind. Immerhin sind die Wirkstoffe phytogener Zusatzstoffe oftmals hoch absorbierbar (Zitterl-Eglseer et al. 2008), so dass systemische Wirkungen über das Immunsystem und andere Nebenwirkungen (z.B. über die Stimulation von Detoxifizierungsreaktionen) nicht auszuschließen sind.

Die für die Tierernährung zugelassenen **Probiotika** sind exakt definierte Stämme z.B. von Milchsäurebakterien, Bazillen oder Hefen, die eine strenge Sicherheitsüberprüfung bestanden haben. Anders als etwa Antibiotika und organische Säuren, bei denen die unmittelbare Eindämmung unerwünschter Keime im Vordergrund ihres Wirkungsmechanismus steht, fördern Probiotika die Stabilität des Verdauungstraktes auf indirekte Weise (z.B. Simon 2005). Man geht davon aus, dass Probiotika Substanzen mit positiver Wirkung auf den Wirtsorganismus produzieren (z.B. organische Säuren, Enzyme), mit pathogenen Keimen um Nährstoffe konkurrieren und diese von potentiellen Angriffspunkten an der Darmschleimhaut verdrängen, so dass der Organismus insgesamt von der intestinalen Immunabwehr entlastet wird. Infolge der verbesserten Stabilität der intestinalen Eubiose kann der Organismus die morphologischen Strukturen des Verdauungstrakts stärker in Richtung Verdauung und Absorption ausprägen (z.B. längere Darmzotten, höhere Oberfläche) (z.B. Mair et al. 2010a; b).

Eine direkte Beeinflussung des Immunsystems durch Probiotika scheint durchaus plausibel, zumal sich die Population der probiotischen Keime im Verlauf der Passage durch den Verdauungstrakt aufbaut. Experimentelle Befunde zeigten, dass die Integration der immunologischen Signale aus den einzelnen Abschnitten des Verdauungstrakts insgesamt auf eine Unterdrückung inflammatorischer Aktivitäten hinausläuft (Mair et al. 2010b). Dies hätte einerseits signifikante Einsparungen an Energie und Nährstoffen zur Folge, die das Tier von der intestinalen Immunabwehr in Richtung Leistungsstoffwechsel lenken könnte. Andererseits könnten aber auch manifeste Infektionen mit pathogenen Keimen aufgrund einer schwächeren Bekämpfung länger anhalten (Scharek-Tedin et al. 2009).

**Prebiotika** sind Futterzusatzstoffe bzw. Futtermittel mit enger thematischer Verwandtschaft zu den Probiotika. Im Prinzip handelt es sich hierbei um Nicht-Stärke-Poly(Oligo)sacharide ohne antinutritive Eigenschaften (z.B. Erhöhung der Viskosität der Digesta), die lediglich von erwünschten Darmmikroben verdaut werden können (z.B. Inulin). Prebiotika sind somit spezifisches „Futter" für zugesetzte Probiotika bzw. probiotisch wirksame Keime der normalen Darmflora. Ein Großteil der mutmaßlichen

Wirksamkeit der Prebiotika auf die Stabilisierung der tierischen Leistung erschließt sich im Prinzip aus den zuvor bei den Probiotika genannten Effekten.

Zu den Futterzusatzstoffen mit leistungsfördernder Wirkung zählen ohne Zweifel auch die exzessiven Dosierungen von **Zink** und **Kupfer** (z.B. Windisch und Roth 2000), wenngleich dies futtermittelrechtlich nur im Falle des Kupfers und nur für das Ferkel abgedeckt ist. Sie scheinen hauptsächlich aufgrund ihrer Natur als potentiell toxische Schwermetalle die Zusammensetzung der Darmflora günstig zu beeinflussen (der früher unterstellte Wirkungsmechanismus eines pauschalen antimikrobiellen Effekts wird inzwischen differenzierter betrachtet). Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass exzessive Dosierungen von Zink und Kupfer aus der Sicht des Bodenschutzes problematisch sind, denn sie verursachen einen massiven Transfer dieser Schwermetalle über die Wirtschaftsdünger auf die landwirtschaftliche Nutzfläche (Kickinger et al. 2008, 2010).

Jüngsten Befunden zufolge bleiben die Zusammensetzung und die Diversität der intestinalen Mikroflora innerhalb des Bereichs einer bedarfsdeckenden bis physiologisch tolerierbaren Überversorgung an Nahrungszink bemerkenswert stabil, während bei defizitärer als auch exzessiver Zufuhr deutliche Verschiebungen auftreten (Pieper et al. 2011). Daraus könnte man die Hypothese ableiten, dass der über die intestinale Mikroflora vermittelte Teil der natürlichen Stabilität des Verdauungstrakts auf eine physiologisch adäquate Zinkversorgung angewiesen ist.

## Physikalisch-chemische Eigenschaften des Futters

Während leistungsfördernde Futterzusatzstoffe dem Futter zugesetzt werden, um explizit gewisse Effekte auszulösen, können physikalische und chemische Eigenschaften des Futters auch von sich aus bereits die Verdauung beeinflussen. Hierzu zählt beispielsweise die Pufferkapazität des Futters, die Neigung vieler Nicht-Stärke-Polysaccharide zur Erhöhung der Viskosität der Digesta, und vor Allem die **Futterstruktur**. Besonders prominent ist der Einfluss der Futterstruktur auf die ruminalen Umsetzungen beim Wiederkäuer. Aber auch beim Monogaster spielt die Futterstruktur eine wichtige Rolle, und zwar hauptsächlich in Form der Partikelgröße des Futters. Feines Futter ist insbesondere beim Schwein besser verdaulich, erhöht jedoch die Inzidenz von Magengeschwüren (Kirchgessner et al. 1985; Roth et al. 1985). Grob vermahlenes Futter oder Futter mit Einschluss größerer Partikel (z.B. ganze Getreidekörner) scheint dagegen die Darmgesundheit über eine Vielzahl von Faktoren positiv zu beeinflussen, angefangen von einer reduzierten Geschwindigkeit des Futteraufnahme und der Entleerung des Mageninhalts bis zur verstärkten Bildung von Butyrat im Dickdarm mit dem erwünschten Nebeneffekt einer Drosselung des Wachstums pathogener Keime (Betscher et al. 2011; Kamphues 2011; Kluth 2011; Mosenthin und Sauer 2011). Die Partikelgröße bzw. Partikelverteilung steht somit im Interessenskonflikt zwischen der Forderung nach einer maximalen Nährstoffausbeute aus dem Futter und dem Streben nach einer stabilen Eubiose.

**Unverdauliche Ballaststoffe**, die selbst im Dickdarm kaum oder gar nicht abgebaut werden, können sich stabilisierend auf die Verdauungsfunktionen auswirken. Ein Beispiel für derartige Ballaststoffe sind lignozellulosehältige Faserquellen, deren Wirkung auf den Verdauungstrakt am Modell der chinesische Pinienpollen näher untersucht wurde. Dieses Material hat eine ausgesprochen hohe Oberfläche, ist so gut wie vollständig unverdaulich und zeichnet sich durch eine hohe Wasserbindungskapazität aus (Zhao et al. 1996, 2007). Bei Verfütterung an Absetzferkel zeigte sich eine suppressive Wirkung auf pathogene Keime im Dünndarm, sowie vermutlich als Folge einer verbesserten Eubiose ein Rückgang der Abwehrreaktionen des Immunsystems und eine erhöhte Resorptionsoberfläche im Dünndarm (Schedle et al. 2008a, b). Das Fermentationsmuster im Dickdarm änderte sich ebenfalls in eine positive Richtung (weniger Ammoniak, mehr Laktat), möglicherweise infolge einer Verschiebung des Hauptorts der mikrobiellen Aktivität von der flüssigen Phase (typisch für die Fermentation löslicher Kohlenhydrate; Kreuzer et al. 1991) zu den festen, unverdaulichen Faserpartikeln mit großer Oberfläche.

## Überwindung von antinutritiven Substanzen und von Flaschenhälsen der Verdauungskapazität

Antinutritive Substanzen sind nahezu allgegenwärtig und stellen oftmals den erstlimitierenden Faktor für den Einsatz eines Futtermittels in der Gesamtration dar, obwohl die Gehalte an Nährstoffen auch größere Anteile rechtfertigen würden. Die Beseitigung derartiger limitierender Faktoren ist ein wichtiges Feld der Entwicklung von enzymatischen Futterzusatzstoffen sowie von geeigneten Technologien der Verarbeitung pflanzlicher Rohstoffe, deren Nebenprodukte als Futtermittel genutzt werden können. Ein Beispiel für antinutritive Faktoren sind die Nicht-Stärke-Polysaccharide (NSP) vieler Getreidearten mit ihrer unerwünschten Fähigkeit zur Erhöhung der Viskosität der Digesta, was durch Zusatz **NSP-spaltender Enzyme** zum Futter behoben werden kann. Diese Enzyme sind durchwegs Endoenzyme und zerlegen die NSP-Moleküle lediglich in kleinere Bruchstücke ohne dabei absorbierbare Monosaccharide freizusetzen, d.h. ohne die Nährstoffverdaulichkeit des Futters *per se* zu beeinflussen. Dennoch hat der Einsatz NSP-spaltender Enzyme oftmals beträchtliche Steigerungen der tierischen Leistung zur Folge (z.B. Plitzner et al. 2006), was die negative Wirkung antinutritiver Faktoren auf Verdauung und Leistung des Nutztieres eindrücklich herausstellt.

Die Verdauung unterliegt naturgemäß biologisch determinierten Flaschenhälsen, wie etwa der limitierten Sekretion körpereigener Verdauungsenzyme. Ein Beispiel für eine Engstelle in der Verdauungskapazität ist die begrenzte Proteaseaktivität von jungen Tieren. Sie hat zur Folge, dass man hier auf die Qualität und die hohen Verdaulichkeit des Futterproteins besonders achten muss. Darüber hinaus scheint die präzäkale Proteinverdaulichkeit auch bei älteren Tieren nicht grundsätzlich auf das Maximum hin ausgelegt zu sein, so dass hinsichtlich der Ausbeute an absorbierbaren Aminosäuren aus dem Futter oftmals noch ein gewisser Spielraum offen zu stehen scheint. Auf diese Flaschenhälse in der Verdauungskapazität zielen Futterzusatzstoffe, die **Verdauungsenzyme** enthalten, wie z.B. Proteasen mikrobieller Herkunft (z.B. Broz 2010). Noch weiter geht die Verfütterung von Verdauungsenzymen, die von Natur aus im Zielorganismus gar nicht gebildet werden, wie etwa Phytasen. In diesem Zusammenhang markiert die Entwicklung der mikrobiellen Phytase zu einem futtertauglichen Zusatzstoff und die Selbstverständlichkeit ihres heutigen Einsatzes in der Fütterungspraxis einen revolutionären Durchbruch durch das limitierte Spektrum der Verdauungskapazität unserer Nutztiere, dem künftig wohl weitere Enzyme folgen werden.

Im Zusammenhang mit der Überwindung von Flaschenhälsen der Verdauung ist auch die Verfütterung von **Metaboliten** limitierender Nährstoffe zu nennen, denn hierdurch werden potentielle Engstellen der Absorption und ggf. nachfolgender Schritte der Metabolisierung umgangen. Ein Beispiel für dieses Konzept ist die direkte Verfütterung von 25-Hydroxycholecalciferol als Metabolit des nativen Vitamins $D_3$ (z.B. Fritts and Waldroup 2003; Angel et al. 2006; Witschi et al. 2011).

## Ausblick

Der ungebrochene Anstieg des genetischen Leistungsniveaus unserer Nutztiere und der Zwang zur Maximierung der Effizienz der Nährstofftransformation vom Futter in das tierische Endprodukt kann von Seiten der Tierernährung nur mit der konsequenten Anwendung aller verfügbaren Maßnahmen zur Stabilisierung der Verdauung adäquat abgesichert werden. Hierbei gerät die Tierernährung jedoch stellenweise in einen gewissen Zielkonflikt zwischen der Nährstoffkonzentration der Ration und der Darmhygiene, wie etwa bei der Partikelgröße des Futters und der Wirkung der unverdaulichen Nahrungsfaser. Weiterhin scheinen Maßnahmen zur Stabilisierung der Verdauung künftig nicht mehr nur auf die unmittelbare Anwendung als Futterzusatzstoff begrenzt zu sein, sondern auch die vorgelagerten Bereiche der Gewinnung von Futtermittel mit einzubeziehen. Dies gilt insbesondere für die Anwendung von Enzymen in (bio)technologischen Prozessen bei der Erzeugung futtertauglicher Nebenprodukte aus der Verarbeitung nachwachsender (pflanzlicher) Rohstoffe. So werden etwa NSP-

spaltende Enzyme bereits jetzt schon aus technologischen Gründen in der Erzeugung von Biosprit aus Getreide eingesetzt. Insgesamt ist jedoch zu beachten, dass die Möglichkeiten der Tierernährung zur Stabilisierung der Verdauung nur dann zum Ziel führen, wenn gleichzeitig auch die Haltungsbedingungen der Nutztiere auf einem hohen Niveau stehen.

## Literatur


Angel R., Saylor W.W., Mitchell A.D., Powers W. Applegate T. J. (2006): Effect of Dietary Phosphorus, Phytase, and 25-Hydroxycholecalciferol on Broiler Chicken Bone Mineralization, Litter Phosphorus, and Processing Yields. Poultry Science 85, 1200 – 1211

Betscher S, Callies A., Beineke A., Kamphues J. (2011): Influence of feed physical form on anatomical, histological, and immunological aspects in the gastrointestinal tract of pigs and poultry. Proc Soc Nutr Physiol 20, 162 – 164

Broz J. (2010): Microbial proteases as novel feed additives in poultry nutrition. In: Gierus et al. (Eds.): 11. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, 23.-25.11.2000, Wittenberg, D, 84 – 86 (ISBN 3-998-3-86829-250-3)

Eckel B., Roth F.X. Kirchgessner M., Eidelsburger U. (1992): Zum Einfluss von Ameisensäure auf die Konzentration an Ammoniak und biogenen Aminen im Gastrointestinaltrakt. J Anim Physiol Anim Nutr 67, 198 – 205

Franz C., Baser K.H.C., Windisch W. (2010): Essential oils and aromatic plants in animal feeding - a European perspective. Flavour Fragr J 25, 327 – 340

Fritts C.A., Waldroup P.W. (2003): Effect of Source and Level of Vitamin D on Live Performance and Bone Development in Growing Broilers. J Appl Poult Res 12, 45 – 52

Gabert V.M., Sauer W.C. (1994): The effect of supplementing diets for weanling pigs with organic acids. J Anim Feed Sc. 3, 73-87

Gaskins H.R., Collier C.T., Anderson D.B. (2002): Antimicrobials as growth promotants: mode of action. Animal Biotechnology 13, 29 – 49

Hernandez F., Madrid J., Garcia V., Orengo J., Megias M.D. (2004): Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poult Sci 83, 169 – 174

Kamphues J. (2011): Effects of feed physical form on the health of the gastrointestinal tract (GIT) in pigs and poultry. Proc Soc Nutr Physiol 20, 165 – 167

Kickinger T., Humer J., Aichberger K., Würzner H., Windisch W. (2008): Survey on zinc and copper contents in dung from Austrian livestock production. Bodenkultur 59, 101 – 110

Kickinger T., Würzner H., Windisch W. (2010): Zinc and copper in feeds, slurry and soils from Austrian pig fattening farms feeding commercial complete feed or feed mixtures produced on-farm. Bodenkultur 60, 47 – 58

Kirchgessner M., Roth F.X., Bollwahn W., Heinritzi K. (1985): Mastleistung, Nährstoffverdaulichkeit und Magenschleimhautveränderungen von Schweinen bei unterschiedlicher Futterstruktur. I. Einfluß eines unterschiedlichen Vermahlungsgrades des Futters. Zbl Vet Med A 32, 641 – 651

Kluth H. (2011): Relationship between feed particle size and digestibility of nutrients in poultry. Proc Soc Nutr Physiol 20, 157 – 161

Kreuzer M, Heindl U, Roth-Maier DA, Kirchgessner M. 1991. Cellulose fermentation capacity of the hindgut and nitrogen turnover in the hindgut of sows as evaluated by oral and intracecal supply of purified cellulose. Arch Anim Nutr 41, 359 – 372.

Kroismayr A., Schedle K., Sehm J., Pfaffl M., Plitzner C., Foissy H., Schreiner M., Windisch W. (2008a): Effects of antimicrobial feed additives on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets. Bodenkultur 59, 111 – 120

Kroismayr A., Sehm J., Pfaffl M.W., Schedle K., Plitzner C., Windisch W. (2008b): Effects of Avilamycin and essential oils on mRNA expression of apoptotic and inflammatory markers and gut morphology of piglets. Czech J Anim Sci 53, 377 – 387

Mair C., Plitzner C., Domig K. J., Schedle K., Windisch W. (2010a): Impact of inulin and a multispecies probiotic formulation on performance, microbial ecology and concomitant fermentation patterns in newly weaned piglets. J Anim Physiol Anim Nutr 94, e164 – e177

Mair C., Plitzner C., Pfaffl M.W., Schedle K., Mayer H.H.D., Windisch W. (2010b): Inulin and Probiotics in Newly Weaned Piglets as Animal Model: Effects on Intestinal Morphology, mRNA Expression Levels of Inflammatory Marker Genes and Haematology. Arch Anim Nutr 64, 304 – 321

Mosenthin R., Sauer N. (2011): Nutritional impact of feed particle size in diets for pigs. Proc Soc Nutr Physiol 20, 150 – 156

Nofrairas M., Manzanilla E.G., Pujols J., Gilbert X., Majo N., Segales J., Gasa J. (2006): Effects of spray-dried porcine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaning pigs. J Anim Sci 84, 2735 – 2742

Pieper R., Vahjen W., van Kessel A, Zentek J. (2011): Dose-dependent effects of dietary zinc oxide on bacterial communities and metabolic profiles in the ileum of weaned pigs. J. Anim Nutr Anim Physiol, in press

Plitzner Chr., Wagner V., Schedle K., Windisch W. (2006): Nutritive Wirksamkeit von Xylanase bei Weizen-betonten Rationen in der Schweinemast. In: Ettle et al. (Hrsg.), 5. BOKU-Symposium Tierernährung, 02. November 2006, Wien, Tagungsband, 117-123; ISBN: 978-3-900962-66-1

Roth, F.X., Kirchgessner M., Bollwahn W., Heinritzi K. (1985): Mastleistung, Nährstoffverdaulichkeit und Magenschleimhaut-veränderungen von Schweinen bei unterschiedlicher Futterstruktur. II. Einfluss eines Zusatzes von Na-Polyacrylat und grober Haferschälkleie. Zbl Vet Med A 32, 652 – 661

Roth F.X., Kirchgessner M. (1998): Organic acids as feed additives for young pigs: nutritional and gastrointestinal effects. J Anim Feed Sci 8, 25 – 33

Roth F.X., Gotterbarm G.G., Windisch W., Kirchgessner M. (1999): Whole-body protein turnover and nitrogen balance in growing pigs supplied with antibiotic feed additive (Avilamycin). J Anim Physiol Anim Nutr 82, 88 – 93

Roth F.X., Windisch W., Kirchgessner M. (1994): Zum Einfluss von Avilamycin und Tylosin auf die Ausscheidung von Stickstoff und Aminosäuren über den Kot von Schweinen in der Anfangsmast. Agribiol Res 47, 147 – 155

Roth F.X., Windisch W., Kirchgessner M. (1998): Effect of potassium diformiate (Formi™ LHS) on nitrogen metabolism and nutrient digestibility in piglets at graded dietary lysine supply. Agribiol Res 51, 167 – 175

Scharek-Tedin L., Mafamane H., Szabo I., Nöckler K., Tedin K., Schmidt M. (2009): Einfluss von *Enterococcus faecium* SF68 auf das intestinale Immunsystem von Ferkeln während eines Challenge-Versuchs mit *Salmonella typhimurium* DT104. Proc Soc Nutr Physiol 18, 95

Schedle K., Plitzner C., Ettle T., Zhao L., Domig K.J., Windisch W. (2008a): Effects of insoluble dietary fibre differing in lignin on performance, gut microbiology, and digestibility in weanling piglets. Arch Anim Nutr 62, 141 – 151

Schedle K., Pfaffl MW., Plitzner C., Meyer HHD., Windisch W. (2008b): Effect of insoluble fibre on intestinal morphology and mRNA expression pattern of inflammatory, cell cycle and growth marker genes in a piglet model. Arch Anim Nutr 62, 427 – 438

Simon O. (2005): Mikroorganismen als Futterzusatzstoffe: Probiotika – Wirksamkeit und Wirkungsweise. In: Plitzner et al. (Eds): Tierernährung ohne antibiotische Leistungsförderer. 4. BOKU-Symposium Tierernährung, 27.10.2005. Universität für Bodenkultur Wien, A. pp 10 – 16 (ISBN 3–90096–62–6)

Steinfeld H., Gerber P., Wassenaar T., Castel V., Rosales M., de Haan C. (2006): Livestock's Long Shadow - Environmental Issues and Options. FAO, Rome, Italy

Stewart L.L., Kim B.G., Gramm B. R.,. Nimmo R.D, Stein H.H (2010): Effect of virginiamycin on the apparent ileal digestibility of amino acids by growing pigs. J Anim Sci 88, 1718 – 1724

Windisch W., Roth, F.X. (2000): Tier- und Umwelteffekte exzessiver Dosierungen von Zink und Kupfer in der Schweinefütterung. In: Rodehutscord, M. et al. (Hrsg.): 6. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, 21.-23.11.2000, Wittenberg, D, 84 – 89 (ISBN 3-934229-76-X)

Windisch W., Schedle K., Plitzner C., Kroismayr A. (2008): Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. J Anim Sci 86(E. Suppl.), E140 – E148

Witschi A.-K.M., Liesegang A., Gebert S., Weber G. M., Wenk C. (2011): Effect of source and level of dietary vitamin D in maternal and creep diet on bone metabolism and growth in piglets. J. Anim Sci. 1910. doi:10.2527/jas.2010-3787

Zitterl-Eglseer K., Wetscherek W., Stoni A., Kroismayr A., Windisch W. (2008): Bioverfügbarkeit der ätherischen Öle eines phytobiotischen Futterzusatzstoffes und der Einfluss auf die Leistung bzw. Nährstoffverdaulichkeit bei Aufzuchtferkeln. Bodenkultur 59, 121 – 129

Zhao L., Windisch W., Kirchgessner M. (1996): A study on the nutritive value of pollen from the Chinese Masson pine (Pinus massoniana) and its effect on fecal characteristics in rats. Z Ernährungswiss 35. 341 – 347

Zhao L., Windisch W., Roth F.X., Eder K., Ettle T. (2007): Nutritive value of Masson pine pollen in comparison to wheat bran and effects on stool characteristics in a pig model. Bodenkultur 58, 29 – 38

## Autorenanschrift

Prof. Dr. Wilhelm Windisch
Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan
Lehrstuhl für Tierernährung
Liesel Beckmann-Str. 6, 85350 Freising-Weihenstephan, Deutschland
E-mail: wilhelm.windisch@wzw.tum.de

# Qualität geht vom Grundfuttermittel aus

**J. Bauer, A. Abenthum, K. Hofer, J. Ostertag und K. Meyer**

Technische Universität München

Der Qualität von Grundfuttermitteln wird oftmals nur geringe Bedeutung zugemessen. Der Grund hierfür ist, dass Grünfutter, Silage, Heu oder Stroh nur einen vergleichsweise geringen Futterwert und damit einen niedrigen Marktwert besitzen. Anderseits werden große Mengen an Grundfuttermitteln bei der Versorgung von Wiederkäuern und Pferden eingesetzt. Auch in der Sauenhaltung nimmt ihre Bedeutung nicht zuletzt aus tiergesundheitlichen und ökonomischen Erwägungen zu. Neben den ernährungsphysiologisch wichtigen Futterinhaltsstoffen ist für den Erfolg im Stall die mikrobiologische Qualität mit entscheidend. Deshalb haben wir in den letzten Jahren verstärkt Heu, Stroh, Mais- und Grassilage mykologisch und mykotoxikologisch untersucht, um deren Qualitätsstatus und mögliche Kontaminationen vor allem mit „unkonventionellen" Mykotoxinen besser einschätzen zu können.

## Stroh

Bei einer mykologischen Untersuchung (Gedek, 1974) von 100 Strohproben, die vornehmlich aus den Jahren 2009 und 2008 stammten, erwiesen sich 99 als mit Schimmelpilzen kontaminiert. Der Medianwert des Schimmelpilzkeimgehaltes der Proben lag bei $3{,}4 \times 10^4$ KbE/g, der Maximalwert bei $1{,}6 \times 10^6$ $KbE_{log}$/g (vergl. Tabelle 1). Am häufigsten waren die Strohproben mit Pilzen der Gattungen *Aspergillus* (72 %), *Wallemia* (47 %), *Acremonium* (46%) und *Cladosporium* (36%) befallen. Fusarien konnten immerhin aus 35 Proben isoliert werden; dies kann als Hinweis dafür gewertet werden, dass Fusarien im Stroh nicht so schnell absterben als in getrocknetem Getreide und Nutztiere nicht nur über das Kraftfutter sondern auch über das Stroh Fusarientoxine aufnehmen können; dies ist insbesondere bei der Haltung von Sauen auf Stroh zu berücksichtigen. Andere Gattungen wie *Alternaria*, *Penicillium* oder *Scopulariopsis* konnten dagegen nur selten angezüchtet werden.

## Heu

Bei der Analyse von 60 Heuproben (n=60), die aus Pferdehaltungen stammten, wurden Schimmelpilzgehalte von bis zu $3{,}2 \times 10^7$ KbE/g festgestellt; als Median wurde $2{,}0 \times 10^4$ KBE/g ermittelt (vergl. Tabelle 1). Die dominierenden Pilze waren den Arten *Wallemia*, *Aspergillus*, *Eurotium* und Penicillium zuzuordnen. Ebenfalls häufig wurden „Schwärzepilze" z.B. Cladosporien oder Vertreter der Familie „Mucoraceae identifiziert. *Fusarium*-, *Acremonium*- oder *Scopulariopsis*-Arten waren dagegen nur selten nachweisbar. Auffällig war, dass ähnlich wie bei Stroh die xerophile Pilzart *Wallemia* in relativ hohen Keimgehalten (bis zu $6{,}3 \times 10^6$ KBE/g) auftrat. Welche Stoffwechselprodukte *Wallemia* spp. bilden und ob sie Bedeutung für die Gesundheit landwirtschaftlicher Nutztiere besitzen, ist weitestgehend unbekannt.

## Silage

In die Untersuchungen wurden insgesamt 584 Proben (280 Gras- und 304 Maissilagen) einbezogen. Die mykologische Untersuchung erfolgte mittels Oberflächenspatelverfahren nach Gedek (1974). Die

mykotoxikologischen Analysen erstreckten sich auf 37 Verbindungen und wurden mittels LC.MS/MS durchgeführt; Details hierzu sind bei Ostertag (2010) zu finden.

Die Ergebnisse der mykologischen Untersuchung zeigen, dass die sensorische Beurteilung von Silage durchaus den mikrobiellen Status widerspiegelt. Immerhin lag bei mehr als 85 % der als „normal" eingestuften Proben der Schimmelpilzkeimgehalt < $10^2$ KbE/g; nur 3 Proben dieser Bewertungskategorie wiesen Keimzahlen > $10^5$ KbE/g auf. Etwas anders stellt sich die Situation bei den als „auffällig" beurteilten Proben dar. Hierzu ist festzustellen, das 74 % der „erwärmten" Proben eher niedrige Schimmelpilzkeimzahlen (< $10^4$ KbE/g) aufwiesen, während bei 76,1 % der als „verpilzt" eingestuften Proben Keimgehalte > $10^5$/g bestimmt wurden (vergl. Tabelle 1).

**Tabelle 1**: Verteilung von Schimmelpilzgesamtkeimzahlen in Grundfuttermitteln [n(%)]

| **Futterart** | **Schimmelpilzkeimzahlbereich (KbE/g)** | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **<$10^2$** | **$10^2$-$10^3$** | **$10^3$-$10^4$** | **$10^4$-$10^5$** | **$10^5$-$10^6$** | **$10^6$-$10^7$** | **>$10^7$** |
| Heu (n=60) | 3 (5,0) | 10 (16,7) | 11 (18,3) | 22 (36,7) | 7 (11,7) | 6 (10,0) | 1 (1,7) |
| Stroh (n=100) | 1 (1,0) | 6 (6,0) | 21 (21,0) | 32 (32,0) | 34 (34,0) | 6 (6,0) | |
| Silage, „normal" (n=244) | 212 (86,9) | 25 (10,2) | 4 (1,6) | | 2 (0,8) | 1 (0,4) | |
| Silage, „erwärmt" (n=127) | 56 (44,1) | 21 (16,5) | 17 (13,4) | 17 (13,4) | 11 (8,7) | 4 (3,1) | 1 (0,8) |
| Silage, „verpilzt" (n=213) | 16 (7,4) | 8 (3,8) | 10 (4,7) | 17 (8,0) | 24 (11,3) | 68 (31,9) | 70 (32,9) |

Die Diversität der Schimmelpilzflora in den Silagen wurde bestimmt von Arten der Gattungen *Aspergillus* (vor allem *A. fumigatus*), *Penicillium* (vor allem *P. roqueforti*) und *Monascus* (vor allem *M. ruber*) sowie von Vertretern der Familie *Mucoraceae*.

Bei der Analyse von 584 Gärfuttermittelproben auf 37 Pilzstoffwechselprodukte wurde in 410 Proben mindestens eine dieser Verbindungen nachgewiesen. Im Allgemeinen wiesen vor allem erwärmte und verpilzte Silagen eine Vielzahl von Mykotoxinen in teilweise beträchtlichen Konzentrationen auf (vergl. Tabellen 2 und 3).

Darüber hinaus wurden Fumiquinazoline (A/B, C, E, F/G), Tryptoquvaline (D, G, F, E, I, N) sowie Deacetyl-Dumiclavin C, Demethoxy-Fumitremorgen C, Dihydroxy-Fumitremorgen C, Festuclavin, (Iso-) Fumiclavin A, Helvolsäure, Pseurotin A, Sphingofungin A und D, Synerazol und Trypostatin B nachgewiesen.

Eine Beurteilung der Bedeutung der mykotoxikologischen Ergebnisse ist aufgrund der wenigen toxikologischen Daten, speziell für Wiederkäuer, nur begrenzt möglich. Im Folgenden soll eine erste Abschätzung aufgezeigt werden.

Roquefortin C wurde in der vorliegenden Untersuchung vorwiegend in verpilztem Probenmaterial nachgewiesen. Verschimmelte Grassilagen (41,9%) waren seltener betroffen als Maissilagen (71,3%). Die ermittelten Konzentrationen erreichten dabei Werte bis zu 12,9 mg/kg. In Fütterungsversuchen mit Schafen konnte bereits gezeigt werden, dass selbst die Aufnahme großer Mengen (25 mg/kg) an Roquefortin C zu keinen gesundheitlichen Beeinträchtigungen beim Wiederkäuer führt (Tüller et al.,

1998), allerdings wurde eine Absenkung des pH-Werts der Pansenflüssigkeit beobachtet, was vermutlich auf der antibiotischen Wirkung von Roquefortin C beruhen dürfte (Bauer und Meyer,2006).

In 50,5% der verpilzten Gras- und 63,0% der Maissilagen konnte Mykophenolsäure nachgewiesen werden. Die höchste Konzentration von 21,4 mg/kg wurde in einer Grassilage gemessen. Nach oraler Verabreichung von 300 mg Mykophenolsäure/Tag über 44 Tage hinweg konnte bei Schafen keine Beeinträchtigung des Allgemeinzustands festgestellt werden (Mohr et al., 2007). Allerdings ist Mykophenolsäure ein hochwirksames Immunsuppressivum (Bauer und Meyer, 2006), so konnten bei den behandelten Schafen immunmodulatorische Wirkungen beobachtet werden (Dzidic et al., 2004; Baum et al., 2005; Dzidic et al., 2006).

**Tabelle 2**: Vorkommen von Pilzmetaboliten in Grassilage unterschiedlicher sensorischer Qualität

| **Metabolit** | **Silagequalität** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **„normal"** | | **„erwärmt"** | | **„verpilzt"** | |
| | n (%) | Bereich (x) [mg/kg] | n (%) | Bereich (x) [µg/kg] | n (%) | Bereich (x) [µg/kg] |
| Mykophenolsäure | 4 (3,2) | 0,02–1,0 (0,3) | 2 (4,1) | 0,03 (0,03) | 53 (50,5) | 0,01–2,1 (1,8) |
| Roquefortin C | 4 (3,2) | 0,01-0,5 (0,31) | 2 (4,1) | 0,02-0,21 (0,11) | 44 (41,9) | 0,01-12,9 (1,5) |
| Monacolin K | 3 (2,4) | 0,11-1,0 (0,43) | 6 (12,2) | 0,06-2,2 (0,6) | 31 (29,5) | 0,07-33,7 (5,0) |
| Gliotoxin | 5 (4,0) | 0,01-0,03 (0,02) | 1 (2,0) | 0,04 | 17 (16,2) | 0,01-0,1 (0,02) |
| Fumagillin | 1 (0,8) | 0,01 | 1 (2,0) | 0,7 | 2 (1,9) | 0,02 (0,02) |
| Verruculogen | 16 (12,7) | 0,01-0,12 (0,02) | 10 (20,4) | 0,01 – 0,4 (0,05) | 19 (18,1) | 0,01-0,53 (0,05) |
| Fumitremorgen B | 8 (6,3) | 0,01-0,13 (0,04) | 7 (14,3) | 0,01-0,28 (0,05) | 9 (8,6) | 0,01-0,51 (0,08) |
| Fumitremorgen C | 3 (2,4) | 0,01-0,02 (0,01) | 1 (2,0) | 0,39 | 5 (4,8) | 0,01-0,02 (0,01) |
| TR 2-Toxin | 2 (1,6) | 0,01-0,02 (0,01) | 2 (4,1) | 0,05-0,07 (0,06) | 4 (3,8) | 0,01-0,1 (0,05) |
| Trypacidin | 37 (29,4) | 0,01-0,31 (0,04) | 20 (40,8) | 0,01-13,2 (0,79) | 34 (32,4) | 0,01-0,47 (0,05) |
| Fumigaclavin C | 7 (5,6) | 0,01-1,5 (0,27) | 8 (16,3) | 0,01-0,30 (0,05) | 23 (21,9) | 0,01-0,06 (0,02) |
| Fumiquinazolin D | 7 (5,6) | 0,01-0,07 (0,01) | 3 (6,1) | 0,01-0,46 (0,16) | 9 (8,6) | 0,01-0,03 (0,01) |
| Pyripropen A | 1 (0,8) | 0,07 | 2 (4,1) | 0,02-0,24 (0,13) | 1 (1,0) | 0,02 |

**Tabelle 3**: Vorkommen von Pilzmetaboliten in Maissilage unterschiedlicher sensorischer Qualität

| **Metabolit** | **Silagequalität** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **„normal"** | | **„erwärmt"** | | **„verpilzt"** | |
| | n (%) | Bereich (x) [mg/kg] | n (%) | Bereich (x) [µg/kg] | n (%) | Bereich (x) [µg/kg] |
| Mykophenolsäure | 4 (3,4) | 0,01–0,26 (0,07) | 5 (6,4) | 0,01-4,3 (1,1) | 68 (63,0) | 0,01–10,2 (1,2) |
| Roquefortin C | 6 (5,1) | 0,01-2,4 (0,55) | 7 (9,0) | 0,01-3,3 (0,60) | 77 (71,3) | 0,01-10,6 (1,5) |
| Monacolin K | 8 (6,8) | 0,01-0,45 (0,13) | 2 (2,6) | 0,01-0,06,2 (0,04) | 16 (14,8) | 0,03-55,6 (5,0) |
| Gliotoxin | 3 (2,5) | 0,01 (0,01) | 4 (5,1) | 0,01-0,04 (0,02) | 15 (13,9) | 0,01-0,5 (0,09) |
| Fumagillin | 1 (0,8) | 0,01 | 5 (6,4) | 0,01-0,3 (0,06) | 17 (15,7) | 0,01-1,7 (0,26) |
| Verruculogen | 7 (5,9) | 0,01-0,02 (0,01) | 9 (11,5) | 0,01 – 0,6 (0,08) | 15 (13,9) | 0,01-0,25 (0,05) |
| Fumitremorgen B | 9 (7,6) | 0,01-0,04 (0,02) | 10 (12,8) | 0,01-1,5 (0,17) | 15 (13,9) | 0,01-2,1 (0,2) |
| Fumitremorgen C | 2 (1,7) | 0,01 (0,01) | 6 (7,7) | 0,01-2,0 (0,34) | 15 (13,9) | 0,01-0,52 (0,11) |
| TR 2-Toxin | 1 (0,8) | 0,02 | 8 (10,3) | 0,03-0,39 (0,11) | 15 (13,9) | 0,01-0,67 (0,14) |
| Trypacidin | 42 (35,6) | 0,01-0,06 (0,02) | 22 (28,2) | 0,01-0,28 (0,03) | 49 (45,4) | 0,01-3,5 (0,16) |
| Fumigaclavin C | 4 (3,4) | 0,02-0,04 (0,03) | 17 (21,8,3) | 0,01-0,20 (0,04) | 50 (46,3) | 0,01-18,8 (0,92) |
| Fumiquinazolin D | 8 (6,8) | 0,01 (0,01) | 13 (16,7) | 0,01-0,07 (0,01) | 38 (35,2) | 0,01-9,9 (0,57) |
| Pyripropen A | 1 (0,8) | 0,01 | 4 (5,1) | 0,01-0,09 (0,03) | 15 (13,9) | 0,01-3,6 (0,52) |

Monacolin K wurde in 29,5% der verpilzten Gras- und 14,8% der Maissilagen nachgewiesen. Die maximale Konzentration von 54,6 mg/kg wurde in einer verschimmelten Maissilage gemessen. Die Bedeutung von Monacolin K in Silagen für das landwirtschaftliche Nutztier ist bislang unklar. Monacolin K wird in der Humanmedizin als Cholesterinsynthesehemmer therapeutisch angewendet. Cholesterin stellt wiederum eine Vorläufersubstanz der Steroidsynthese dar. Da Wiederkäuer Cholesterin nicht mit der Nahrung aufnehmen, kann die Hemmung der Synthese zu einem Absinken des Cholesterinspiegels führen, was letztendlich zu reproduktionsbiologischen Problemen führen könnte. So konnte in epidemiologischen Untersuchungen gezeigt werden, dass eine niedrige Cholesterinkonzentration im Blut mit einer schlechten Herdenfruchtbarkeit korreliert (Burke et al., 2001). Darüber hinaus hemmt Monacolin $K_A$ das Wachstum vieler Pilze. Darunter fallen auch anaerobe Pansenpilze wie z.B. *Neocallimastix* sp., welche am Abbau der Rohfaser im Pansen beteiligt sind (Orpin und Joblin, 1997). Der Zusammenhang zwischen Rohfaserverwertung und Stoffwechselleistung der Pansenpilze sowie deren mögliche Beeinflussung durch Monacolin K wurde diskutiert (Bauer und Meyer, 2006).

Im Gegensatz zu diesen Verbindungen sind die Wirkungen von *A. fumigatus*-Metaboliten auf den Wiederkäuer relativ unbekannt.

Zu den neurotoxischen Verbindungen gehören die Vertreter der Fumitremorgen-Verruculogen-Gruppe. Im untersuchten Probenmaterial konnten neben Verruculogen und TR-2 Toxin auch die Fumitremor-

gene B und C nachgewiesen werden. Diese Mykotoxin-Gruppe wurde bereits mit dem Auftreten neuronaler Störungen in Rinderherden in Verbindung gebracht (Cole et al., 1977; Dorner et al., 1984). Die $LD_{50}$ bei oraler Applikation wurde 50-fach höher gegenüber intraperitonealer Verabreichung angegeben (Cole et al., 1972), die $ED_{50}$ (i. p.) von Verruculogen bei Mäusen lag bei 0,39 mg/kg (Weiser, 1990). Eine Aufnahme von 25 kg der am höchsten kontaminierten Maissilage durch eine Kuh von 700 kg Lebendgewicht entspräche aber lediglich einer oral verabreichten Konzentration von 0,2 mg/kg. Neurologische Beeinträchtigungen von Wiederkäuern allein durch die Aufnahme neurotoxischer *A. fumigatus*-Verbindungen sind daher unwahrscheinlich.

Gliotoxin wurde in insgesamt 45 Silagen nachgewiesen. Meist handelte es sich um als verpilzt eingestufte Gras- (n = 17) oder Maissilagen (n = 15). In einer verschimmelten Maissilage konnten 513 µg/kg FM (1546 µg/kg TM) der Substanz gemessen werden. Gliotoxin besitzt neben antimyzetischen, zytotoxischen, apoptotischen und immunsuppressiven Eigenschaften eine starke antibakterielle Wirksamkeit (Müllbacher und Eichner, 1984; Braithwaite et al., 1987; Upperman et al., 2003; Li et al., 2006). *In vivo* Untersuchungen zur Beeinflussung der Pansenfunktion durch Gliotoxin liegen nicht vor, in einer *in vitro* Studie wurde allerdings die Reduktion des Trockenmasseabbaus bei einer Konzentration von 80 µg Gliotoxin/ml Pansenflüssigkeit festgestellt (Morgavi et al., 2004). Die in den untersuchten Silagen nachgewiesen Mengen der Verbindung reichen nicht aus, um diese Konzentration im Pansen zu erreichen. Daher ist eine Beeinträchtigung der Pansenfunktion durch Gliotoxin nicht zu erwarten.

In 204 der untersuchten Silageproben wurde die Verbindung Trypacidin nachgewiesen. Die maximale Konzentration von 13,2 mg/kg wurde in einer „erwärmten" Grassilage gemessen. Die antiprotozoische Wirksamkeit von Trypacidin gegen *Trypanosoma cruzi* ist bereits seit langer Zeit bekannt (Gutteridge et al., 1969). Ab einer Konzentration von 3 µg/ml beobachteten die Autoren eine Wachstumshemmung von extrazellulären Trypanosomen, über 10 µg/ml wurde das Absterben der Protozoen nachgewiesen. Protozoen stellen einen nicht unwesentlichen Bestandteil der normalen Pansenflora dar und sind in der Lage, leicht abbaubare Kohlenhydrate zu resorbieren und somit eventuell zu einer Stabilisierung des Pansenmilieus bei hohen Kraftfuttermengen beizutragen. Darüber hinaus besitzen sie die Fähigkeit, schädliche Futterbestandteile zu binden. Die Aufnahme von 25 kg des erwärmten Futters durch eine Kuh mit 100 Litern Pansenflüssigkeitsvolumen hätte rechnerisch eine Konzentration von 3,3 µg/ml zur Folge. Die Möglichkeit einer Beeinträchtigung der Pansenfunktion hochleistender Kühe durch die Aufnahme von Trypacidin mit dem Futter kann somit nicht ausgeschlossen werden.

Fumigaclavin C wurde in 38 Gras- und 71 Maissilagen nachgewiesen. „Erwärmte" Maissilage enthielt zu 21,8%, „verpilzte" zu 46,3% diese Verbindung. Die maximale Konzentration von 18,8 mg/kg wurde in einer verschimmelten Maissilage gemessen. Fumigaclavin C wurde im Zusammenhang mit dem Krankheitsgeschehen in einer Rinderherde entdeckt (Cole et al., 1977). Fumigaclavin C besitzt immunmodulatorische Wirkung (Zhao et al., 2004; Wu et al., 2005). Ein Einfluss auf das Immunsystem von Wiederkäuern durch die Aufnahme großer Mengen an Fumigaclavin C mit dem Futter ist allerdings noch zu prüfen.

Die Verbindung Fumagillin wurde in 27 Silagen, vorwiegend in verschimmelten Maissilagen (n = 17) nachgewiesen. Es wurde eine Höchstmenge von 1740 µg/kg festgestellt. Fumagillin ist bereits seit 1949 bekannt und fand als therapeutisches Mittel zur Bekämpfung von *Entamoeba histolytica* und *Nosema apis* in Bienenvölkern Verwendung. Die Substanz verlor aufgrund zahlreicher Nebenwirkungen zunächst an Interesse, wurde aber inzwischen wiederentdeckt (Ingber et al., 1990). Das gesteigerte Interesse der Krebsforschung an dieser Verbindung beruht auf deren antiangiogenetischen Eigenschaften. Weiterhin wurde gezeigt, dass Fumagillin die Nidation der Eizelle verhindern kann (Lalitkumar et al., 2000). Ob Fumagillin in Silagen neben anderen Xenobiotika die Fruchtbarkeit von Milchkühen beeinträchtigt ist noch offen.

Die Gruppe der Fumiquinazoline ist bislang weitgehend unerforscht. Über die biologische Aktivität ist wenig bekannt. Eine schwache zytotoxische Wirksamkeit gegenüber murinen Leukämiezellen (P-388)

wie auch antimyzetische Eigenschaften wurden beobachtet (Numata et al., 1992; Takahashi et al., 1995; Snider und Zeng, 2003). Für die Sphingofungine wurde ebenfalls eine antimyzetische Wirksamkeit berichtet (VanMiddlesworth et al., 1992). Inwieweit diese antimyzetisch wirkenden Verbindungen die metabolische Aktivität von Pansenpilze beeinträchtigen bleibt zu prüfen.

Von *A. fumigatus* gebildete Tryptoquivaline gelten aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit zu anderen Vertretern dieser Stoffgruppe von *A. clavatus* (Clardy et al., 1975) als potentiell tremorgen (Springer, 1979). Für Tryptoquivaline von *A. clavatus* wurde die tremorgene Wirksamkeit nachgewiesen. Vertreter der Stoffgruppe waren nur selten im untersuchten Probenmaterial detektierbar, mit Ausnahme der Tryptoquivaline F und I, welche vor allem in verpilzten Maissilagen zu finden waren. Da keine weiteren Daten zu den biologischen Wirksamkeiten dieser Stoffgruppe verfügbar sind, ist die mögliche Beeinträchtigung von Wiederkäuern durch Aufnahme tryptoquivalinhaltiger Silagen weitgehend unbekannt.

Die toxikologische Einschätzung der Einzelsubstanzen spiegelt nur sehr bedingt die Realität wider. Die Auswertung der Daten zeigt, dass vor allem in erwärmten und verpilzten Proben mit dem Vorkommen einer großen Anzahl verschiedener Pilzstoffwechselprodukte, in vorliegender Arbeit bis zu 27, gerechnet werden kann. Wie diese Gemische an Wirkstoffen die Gesundheit von Wiederkäuern beeinflussen ist aufgrund des derzeitigen Wissensstands nicht zu beurteilen. Da aber kaum mit gesundheitsförderlichen Effekten zu rechnen ist, sollte auch aus Gründen der Mykotoxikologie in der landwirtschaftlichen Praxis größte Sorgfalt auf die Verhinderung des Wachstums von Schimmelpilzen in der Silage und in anderen Grundfuttermitteln gelegt werden.

## Literatur


Bauer J. und Meyer K. (2006): Stoffwechselprodukte von Pilzen in Silagen: Einflüsse auf die Gesundheit von Nutztieren. Übers.Tierernährg. 34, 27-55.

Baum B., Mohr A., Pfaffl M., Bauer J. and Hewicker-TrautweinM. (2005): Morphological findings in lymphatic tissues of sheep following oral application of the immunosuppressive mycotoxin mycophenolic acid. Mycopathologia. 160, 167-175.

Braithwaite A.W, Eichner R.D., Waring P. and Mullbacher A. (1987): The immunomodulating agent gliotoxin causes genomic DNA fragmentation. Mol.Immunol. 24, 47-55.

Burke J.M., Rorie R.W., Piper,E.L. and Jackson,W.G. (2001): Reproductive responses to grazing endophyte-infected tall fescue by postpartum beef cows. Theriogenology. 56, 357-369.

Clardy J., Springer J.P., Buchi G., Matsuo K. and Wightman R. (1975): Tryptoquivaline and tryptoquivalone, two tremorgenic metabolites of *Aspergillus clavatus*. J Am.Chem.Soc. 97, 663-665.

Cole R.J., Kirksey J.W., Dorner J.W., Wilson D.M., Johnson J., Jr., Bedell D., Springer J.P., Chexal K.K., Clardy J. and Cox R.H. (1977): Mycotoxins produced by *Aspergillus fumigatus* isolated from silage. Ann.Nutr Aliment. 31, 685-691.

Cole R.J., Kirksey J.W., Moore J.H., Blankenship B.R., Diener U.L. and Davis,N.D. (1972): Tremorgenic toxin from *Penicillium verruculosum*. Appl Microbiol. 24, 248-250.

Dorner J.W., Cole R.J. and Hill R.A. (1984): Tremorgenic mycotoxins produced by *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium crustosum* isolated from molded corn implicated in a natural intoxication of cattle. J.Agric.Food.Chem. 32, 411-413.

Dzidic A., Mohr A., Meyer K., Bauer J., Meyer H.H. and Pfaffl M.W. (2004): Effects of mycophenolic acid (MPA) treatment on expression of Fc receptor (FcRn) and polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) mRNA in adult sheep tissues. Croat.Med.J. 45, 130-135.

Dzidic A., Prgomet C., Mohr A., Meyer K., Bauer J., Meyer H.H.and Pfaffl M.W. (2006): Effects of mycophenolic acid on inosine monophosphate dehydrogenase I and II mRNA expression in white blood cells and various tissues in sheep. J Vet.Med.A Physiol Pathol.Clin.Med. 53, 163-169.

Gedek,B., (1974): Möglichkeiten und Grenzen der mykologischen Futtermittelkontrolle. Wien.Tierärztl.Wschr. 81, 37-40.

Gutteridge W.E., Knowler J. and Coombes, J.D., 1969: Growth of Trypanosoma cruzi in human heart tissue cells and effects of aminonucleoside of puromycin, trypacidin and aminopterin. J Protozool. 16, 521-525.

Ingber D., Fujita T., Kishimoto S., Sudo K., Kanamaru T., Brem H. and Folkman J. (1990): Synthetic analogues of fumagillin that inhibit angiogenesis and suppress tumour growth. Nature. 348 (6301), 555-557.

Lalitkumar P.G., Sengupta J., Dhawan L., Sharma D.N., Lasley B.L., Overstreet J.W. and Ghosh,D. (2000): Anti-nidatory effect of vaginally administered fumagillin in the rhesus monkey. Contraception. 62, 155-159.

Li X., Kim S.K., Nam K.W., Kang J.S., Choi H.D. and Son B.W. (2006): A new antibacterial dioxopiperazine alkaloid related to gliotoxin from a marine isolate of the fungus *Pseudallescheria*. J Antibiot.(Tokyo). 59, 248-250.

Mohr A.I., Lorenz I., Baum,B , Hewicker-Trautwein M., Pfaffl M., Dzidic A., Meyer H.H., Bauer J. and Meyer K. (2007): Influence of oral application of mycophenolic acid on the clinical health status of sheep. J Vet.Med.A Physiol Pathol.Clin.Med. 54, 76-81.

Morgavi D.P., Boudra H., Jouany J.P. and Michalet-Doreau B. (2004): Effect and stability of gliotoxin, an *Aspergillus fumigatus* toxin, on in vitro rumen fermentation. Food Addit. Contam. 21, 871-878.

Müllbacher A. and Eichner R.D. (1984): Immunosuppression in vitro by a metabolite of a human pathogenic fungus. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 81, 3835-3837.

Numata A., Takahashi C., Matsushita T., Miyamoto T., Kawai K., Yoshihide U., Matsomura E., Inoue M., Ohishi H. and Shingu T. (1992): Fumiquinazolines, novel metabolites of a fungus isolated from a saltfish. Tetrahedron Letters. 33, 1621-1624.

Orpin C.G. and Joblin K.N. (1997): The rumen anaerobic fungi. In: The rumen microbial ecosystem, 140-195.

Ostertag J. (2010): Nachweis und Vorkommen von Aspergillus fumigatus-Toxinen in Gras- und Maissilage. Dissertation, Technische Universität München.

Snider B.B. and Zeng,H. (2003): Total synthesis of (-)-fumiquinazolines A, B, C, E, H, and I. Approaches to the synthesis of fiscalin A. J Org.Chem., 68, 545-563.

Springer,J.P. (1979): The absolute configuration of nortryptoquivaline. Tetrahedron Letters. 20, 339-342.

Takahashi C., Matsushita T., Doi M., Minoura K., Shingu T., Kumeda Y. and Numata A. (1995): Fumiquinazolines A-G, novel metabolites of a fungus separated from a Pseudolabrus marine fish. Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1. 24, 2345-2353.

Tüller G., Armbruster G., Wiedenmann S., Hänichen T., Schams D. and Bauer J. (1998): Occurrence of roquefortine in silage - toxicological relevance to sheep. J. Anim. Physiol. a. Anim. Nutr. 80, 246-249.

Upperman J.S., Potoka D.A., Zhang X.R., Wong K., Zamora R. and Ford H.R. (2003): Mechanism of intestinal-derived fungal sepsis by gliotoxin, a fungal metabolite. J Pediatr.Surg. 38, 966-970.

VanMiddlesworth F., Giacobbe R.A., Lopez M., Garrity G., Bland J.A., Bartizal K., Fromtling R.A., Polishook J., Zweerink M. and Edison A.M. (1992): Sphingofungins A, B, C, and D, a new family of antifungal agents. I. Fermentation, isolation, and biological activity. J Antibiot.(Tokyo). 45, 861-867.

Weiser M. (1990): Ethologische und neurobiologische Untersuchungen zur Wirkungsweise der Mykotoxine Penitrem A, Verruculogen und Fumitremorgen B. Dissertation, Univ. Bayreuth.

Wu X.F., Fei M.J., Shu R.G., Tan R.X. and Xu Q., (2005): Fumigaclavine C, an fungal metabolite, improves experimental colitis in mice via downregulating Th1 cytokine production and matrix metalloproteinase activity. Int.Immunopharmacol. 5, 1543-1553.

Zhao Y., Liu J., Wang J., Wang L., Yin H., Tan R. and XuQ. (2004): Fumigaclavine C improves concanavalin A-induced liver injury in mice mainly via inhibiting TNF-alpha production and lymphocyte adhesion to extracellular matrices. J Pharm.Pharmacol. 56, 775-782.

## Autorenanschrift

Prof. Dr. Dr. h.c. Johann Bauer
Lehrstuhl für Tierhygiene
Technische Universität München
Weihenstephaner Berg 3
D-85354 Freising
E-Mail: johann.bauer@wzw.tum.de

# Dioxine in Futter- und Lebensmitteln – woher rühren die Gefahren?

**Josef Kamphues**

Institut für Tierernährung der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Unbestritten haben die bei Lebensmittel (LM) liefernden Tieren verwendeten Futtermittel (FM) eine entscheidende Bedeutung für den Eintrag von Dioxinen (und ähnlich wirksamen unerwünschten Stoffen wie den dioxin like (dl-) PCB) in die Nahrungskette. Die Aufnahme dieser Stoffe durch den Menschen wird zu 90 % über die Nahrung (insbesondere Milch, Fleisch, Fisch und Eier) bestimmt (Fürst, 2006). Risiken für die FM- und LM-Sicherheit ergeben sich nicht zuletzt aus einer regionalen oder lokalen Umweltbelastung mit Dioxinen und dl-PCB. Bei der bekannten Persistenz der Dioxine und dl-PCB in der Umwelt ergeben sich schließlich auch Fragen nach der Bedeutung für die Belastung der hier gewonnenen Futter- und Lebensmittel bzw. für die Nutzung derartiger Flächen. Eine solche Belastung erfolgt z. B. durch Überschwemmungen, wobei sedimentgebundene Dioxine mit dem Hochwasser auf größere Areale mit landwirtschaftlicher Nutzung (Grünland mit/ohne Nutzung als Weideflächen) gelangen. Vor diesem Hintergrund zielten diverse Untersuchungen (u. a. Schulz, 2005; Gude, 2008) – und zwar in einer Kooperation von Wissenschaft, amtlicher Kontrolle, Administration und beteiligter Landwirtschaft – auf eine nähere Charakterisierung von Risiken für die FM- und LM-Sicherheit bei Nutzung dioxinexponierter Flächen sowie auf hier erforderliche Konzepte für eine Risikominimierung, hierzu dienten modellhaft elbangrenzende Grünlandflächen.

## Charakterisierung und Vorkommen

Der Ausdruck „Dioxin" beschreibt keinen Einzelstoff, sondern stellt einen Sammelbegriff für eine Vielzahl unterschiedlicher Verbindungen dar, die ähnliche chemische, physikalische und biologische Eigenschaften aufweisen. Bei den dioxin like PCB (dl-PCB) handelt es sich um eine Untergruppe der polychlorierten Biphenyle (PCB). Sie weisen eine dioxinähnliche Wirkung auf, da sie in ihrer molekularen Struktur eine gewisse Ähnlichkeit mit dem 2,3,7,8-TCDD besitzen.

*Dioxine* sind Verbindungen überwiegend anthropogenen Ursprungs und gehören zu den am intensivsten untersuchten Stoffklassen der letzten Jahrzehnte. Sie entstehen in unterschiedlichem Ausmaß als unerwünschte Produkte bei diversen Verbrennungsprozessen in Anwesenheit von Chlor und organischem Kohlenstoff.

Technische Gemische von *polychlorierten Biphenylen* (PCB) wurden seit den 1930er Jahren bis in die 1980er Jahre für eine Vielzahl von technischen Zwecken in offenen und geschlossenen Systemen eingesetzt. Produktionsmengen von PCB sind weitgehend geschätzt. Weltweit wurden vermutlich insgesamt mehr als eine Million Tonnen PCB produziert; ein großer Teil davon ist in die Umwelt gelangt (Körner, 2003).

# Belastung diverser auf exponierten Standorten gewonnener Lebensmittel

In ersten orientierenden Feldstudien ermittelte Schulz (2004/2005b) Dioxingehalte in Schlachtkörpern von Rindern aus der Elbregion (s. Tabelle 1). Dabei wurden die Tiere im Vorfeld in unterschiedliche Kategorien hinsichtlich der vermuteten Dioxinbelastung eingeteilt:

- geringe Belastung: Region, in der lediglich mit einer Dioxin-Hintergrundbelastung gerechnet wurde (Region an der Ilmenau, Region Hannover),
- mittlere Belastung: entweder erst Beweidung des Elbdeichvorlandes, dann Endmast im Stall unter Verwendung von Grassilage oder Heu aus dem Elbdeichvorland und unbelasteten Futtermitteln oder gesamte Ausmast im Stall mit Futtermitteln (Grassilage, Heu) aus dem Elbdeichvorland und unbelasteten Futtermitteln und
- hohe Belastung: Mastrinder beweideten bis zur Schlachtung das Elbdeichvorland (potenziell dioxinbelasteter Aufwuchs und Boden, teils Zugang zum Elbewasser).

**Tabelle 1**: Dioxingehalte in Schlachtkörpern von Rindern nach unterschiedlicher Dioxinexposition (nach Schulz 2004/2005b)

| **Kategorie der Belastung** | **Dioxingehalt** [ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg[1]] | | **Rinder** | | **Dioxingehalt im Schlachtkörper** [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett] | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Boden | Futter | **n** | **Alter** [Monate] | Muskulatur | Leber | Fettgewebe |
| gering | 6,85 | 0,12 | 3 | 16, 32, 36 | 0,64 ± 0,04 | 3,26 ± 0,51 | 0,64 ± 0,15 |
| | - | - | 3 | unbekannt | - | 1,81 ± 0,84 | - |
| mittel | - | 0,84 | 6 | 22 – 26 | 3,02 ± 1,55 | 24,7 ± 4,66 | 2,97 ± 0,61 |
| | - | 1,24 | 4 | 13 – 19 | 5,07 ± 0,80 | 56,9 ± 6,99 | 5,12 ± 1,27 |
| | - | 1,76 | 3 | 21, 22, 24 | 2,30 ± 0,80 | 21,2 ± 1,04 | 2,12 ± 0,33 |
| hoch | 186 | 0,20 | 1 | 23 | 5,11 | 50,5 | 6,82 |
| | 269 | 1,05 | 1 | 65 | 4,36 | 60,8 | 4,68 |
| | 1.531 | 0,48 | 4 | 27 – 36 | 8,58 ± 1,51 | - | - |

- = keine Probe untersucht
[1] Boden: ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg TS; Futter: ng WHO-PCDD/F-TEQ/kg, bez. auf 88 % TS

Auch in den Studien von Gude (2008) wurden 54 Proben von Muskulatur und Leber überwiegend extensiv gehaltener Rinder verschiedener Betriebe (n = 18) aus der Elbtalaue auf ihren Dioxingehalt untersucht (Ergebnisse s. Tabelle 2). Eine Überschreitung des gesetzlich festgelegten Grenzwertes war in 35 Proben (= 64,8 %) zu verzeichnen. 14 von 27 Muskulaturproben (= 51,9 %) und 21 von 27 Leberproben (= 77,8 %) wiesen nicht tolerable Dioxingehalte auf. Die prozentual sehr häufigen Grenzwertüberschreitungen (trotz des höheren Grenzwertes) in der Leber (auch bei „minderbelasteter" Muskulatur) deuten auf die besondere Bedeutung dieses Organs hin.

In den Geweben von Tieren, die über einen langen Zeitraum gesäugt wurden, waren i. d. R. die höchsten Dioxingehalte festzustellen. Tiere, die im Anschluss an die Säugezeit über einen längeren Zeitraum auf den belasteten Flächen gehalten wurden und ggf. laktierten, wiesen wiederum geringere Dioxinbelastungen auf. Von 24 Proben von früh bzw. spät abgesetzten Kälbern aus der Elbregion wiesen insgesamt 19 (= 79,2 %) Grenzwertüberschreitungen auf. Von 22 untersuchten Proben von Färsen und alten Kühen überschritten 12 Proben (= 54,5 %) den Höchstwert.

**Tabelle 2**: PCDD/F-Gehalte [pg WHO-TEQ/g Fett] in Schlachtkörpern von Rindern und Schafen aus der Elbtalaue nach kontinuierlicher Exposition (Gude 2008)

| **Tierart** | **Kategorie bzw. Alter** | **Tierzahl** [n] | **Proben** [n] | **Muskulatur** [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett] | **Leber** [pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett] |
|---|---|---|---|---|---|
| Rinder | Totgeburten | 4 | 4 | 3,40 ± 1,89 | 6,00 ± 1,48 |
| | 3-13 Wochen | 5 | 5 | 6,40 ± 4,75 | 29,4 ± 21,8 |
| | 5,5-8 Monate | 7 | 7 | 7,48 ± 5,93 | 42,2 ± 34,7 |
| | Färsen | 5 | 5 | 2,97 ± 2,27 | 20,4 ± 15,5 |
| | Mutter-/Schlachtkühe | 6 | 6 | 2,91 ± 2,09 | 16,9 ± 15,0 |
| Deichschafe | 8 Wochen | 3 | 1 | 1,26 | 41,8 |
| | 22 Wochen | 4 | 4 | 1,05 ± 0,16 | 38,9 ± 10,2 |
| | Altschafe | 6 | 3 | 0,80 ± 0,06 | 25,6 ± 8,20 |
| „Uferschafe"[1] | Totgeburten | 3 | 1 | 3,30 | 83,6 |
| | 8 Wochen | 3 | 1 | 11,2 | 461 |
| | 22 Wochen | 3 | 3 | 2,24 ± 1,36 | 107 ± 36,8 |
| | Altschafe | 6 | 6 | 4,68 ± 3,19 | 98,1 ± 74,8 |

[1] Schafe, die das uferangrenzende Grünland beweideten

Tiere, die zu einer Ausmast auf der Basis unbelasteter Futtermittel aufgestallt wurden, zeigten nach einer Mastperiode mit unbelasteten Futtermitteln hinsichtlich der Dioxinbelastung lediglich in fünf (= 22,7 %) von 22 Proben (Muskulatur und Leber) Grenzwertüberschreitungen.

Diese Untersuchungen zeigten weiterhin, dass die Dioxinbelastung von Tieren, welche aus einem Betrieb stammten und somit unter gleichen Bedingungen gehalten und gefüttert wurden, allgemein sehr ähnlich war. Damit kommt der Gestaltung der Haltungs- und Fütterungsbedingungen auf dem einzelnen Betrieb eine erhebliche Bedeutung zu.

Des Weiteren untersuchte Gude (2008) die PCDD/F-Belastung von Deichschafen. Die in diesem Versuch untersuchten Muskulaturproben wiesen ausnahmslos Dioxingehalte auf, welche den gesetzlich festgesetzten Höchstwert nicht überschritten, alle Werte blieben sogar unterhalb des Auslösewertes. Es wurde somit deutlich, dass Muskelfleisch von Lämmern aus der Deichschafhaltung auch ohne Ausmast auf der Basis unbelasteter Futtermittel zu vermarkten sind, ihre Lebern dagegen nicht (in allen Fällen Grenzwertüberschreitungen).

In einem weiteren Versuchsteil, in dem Schafe direkt auf dem ufernahen Grünland gehalten wurden, kam es zu den höchsten analysierten Dioxingehalten in den Lebern überhaupt. Der durchschnittliche Dioxingehalt in Lebern der kontinuierlich exponierten Lämmer (Alter: 8 bzw. 22 Wochen) betrug 284 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett. Lebern von kontinuierlich exponierten adulten Tieren (n = 6) enthielten durchschnittlich 98,1 pg WHO PCDD/F-TEQ/g Fett (s. Tabelle 2). Auch die Gehalte in den Lebern von Lämmern, die schon ab der 8. Lebenswoche mit unbelastetem Futter ausgemästet wurden, überschritten den gesetzlich festgesetzten Grenzwert deutlich (fast 33fach höher als der Grenzwert). Eine Beweidung der Uferbereiche belasteter Gewässer durch Lebensmittel liefernde Tiere ist aus Gründen des Verbraucherschutzes also nicht verantwortbar.

Aktuelle Untersuchungen zur Belastung von Schafen und Rindern aus der Emsregion wurden im Jahr 2008 durchgeführt (Sassen, 2009; s. Tabelle 3).

Auch Untersuchungen in Schleswig-Holstein von Schafen und Rindern, die auf potenziell belasteten Standorten weideten, ergaben Höchstwertüberschreitungen (Summenparameter PCDD/F und dl-PCB)

bei 2 von 13 Rindfleischproben und 3 von 13 Rinderlebern. Die Schaflebern überschritten in 17 von 20 Fällen den Höchstgehalt für PCDD/F und in 18 von 20 Fällen den Auslösewert für dl-PCB (Trede, 2009).

**Tabelle 3**: Beurteilung von PCDD/F- und dl-PCB-Gehalten [pg WHO-TEQ/g Fett] in Schlachtkörpern von Rindern und Schafen aus der Emsregion (Sassen, 2009)

| **Tierart** | **Gewebe** | **Anzahl** [n] | **PCDD/F > Grenzwert** | | **PCDD/F + dl-PCB > Grenzwert** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Rind | Muskulatur | 6 | 0 | (0 %) | 1 | (16,7 %) |
| | Leber | 9 | 2 | (22,2 %) | 1 | (11,1 %) |
| Schaf | Muskulatur | 21 | 0 | (0 %) | 0 | (0 %) |
| | Leber | 30 | 28 | (93,3 %) | 29 | (96,7 %) |

# Konzepte zur Eintragsminimierung von Dioxinen in Futter- und Lebensmittel

Da die PCDD/F eine Gruppe von Substanzen darstellen, die in der Umwelt weit verbreitet vorkommen und aufgrund ihrer Persistenz in der Natur über lange Zeit erhalten bleiben, kann nach Kamphues und Schulz (2006) eine absolute „Dioxin-Freiheit" von Futtermitteln in den nächsten Jahren kaum erwartet bzw. gefordert werden. Deshalb müssen alle Bemühungen darauf fokussiert sein, die Dioxinbelastung so weit wie möglich zu reduzieren.

Die allgemeine Belastung der Umwelt mit PCDD/F ist dank zahlreicher Umweltschutzmaßnahmen deutlich gesunken und zurzeit sehr gering. Ansatzpunkte für eine weitere Reduzierung bieten Kenntnisse zum Produktionsstandort.

Dabei sind eben auch regionale Besonderheiten wie im Fall der Elbtalaue zu beachten, v. a. vor dem Hintergrund der Entwicklung von Nutzungshinweisen für derart belastete Flächen. Je nach Haltungsbedingungen und Bewirtschaftung können erhöhte Dioxingehalte im Tier u. a. aus Futtermitteln, dem Boden, der Einstreu sowie aus Verbrennungsprozessen auch im häuslichen Umfeld resultieren. Ebenso ist eine Vorbelastung der Böden, die regelmäßig überschwemmt wurden oder werden, bei der Nutzung als Auslauf- und Weideareal bedenklich. Sind die Böden entsprechend belastet, sollte eine Nutzung nur nach weiterer Untersuchung von Bodenproben erfolgen (BMU, 2008).

Einen entscheidenden Einfluss auf die Dioxingehalte von Futterproben haben nach Schulz (2004/2005a) höhere Anteile an erdigen (aschereichen) Verunreinigungen, der Eintrag von bodennaher Matrix, die Schnitthöhe und die Anzahl der Arbeitsschritte bei der Futterwerbung.

Insgesamt zeigte sich in der Feldstudie von Schulz (2005), dass intensive Produktionsbedingungen (betrifft die Flächennutzung wie auch die Fütterung und Leistung von Milchkühen) das Risiko für Grenzwertüberschreitungen in den Lebensmitteln sehr viel effizienter mindern können als sehr extensive Produktionsbedingungen (lange Weidehaltung, geringe Weideerträge, wenig Kraftfutter).

In den Untersuchungen von Gude (2008) blieben Proben von früh abgesetzten Rindern, die im Anschluss an die Säugephase für 6 Monate mit unbelastetem Futter ausgemästet wurden, unter dem gesetzlichen Höchstwert. Ein möglichst frühes Absetzen (mit ca. 8 Wochen) und anschließende Ausmast mit „unbelasteten" Futtermitteln ist somit wirksam. Die spät abgesetzten Tiere (ca. 6 Monate bei den Muttertieren) wiesen allerdings z. T. auch noch nach 8monatiger Ausmast Dioxingehalte oberhalb der Grenzwerte auf (in der Muskulatur in 2 und in der Leber in 3 von jeweils 7 Proben). Insbesondere die Lebern waren noch teils erheblich belastet (bis 11,6 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g Fett). Hierzu bedarf es weiterführender Untersuchungen.

In der Muskulatur von Deichschafen wurden in keinem einzigen Fall erhöhte Dioxingehalte gemessen; in den Lebern der Schlachtlämmer, die mit 8 Wochen abgesetzt und anschließend mit „unbelasteten" Futtermitteln gemästet wurden, konnten hingegen erst nach einer 14wöchigen Ausmast (durchschnittliche Körpermasse-Zunahme um den Faktor 2,2) tolerable Dioxingehalte erreicht werden.

Die höchsten Dioxingehalte überhaupt wurden in Gewebeproben von Schafen gemessen, die das uferangrenzende Grünland mit Zugang zu den Bracks und zum kontaminierten Fluss beweideten. Die Ausgangsbelastung dieser Lämmer zum Zeitpunkt des Absetzens (mit ca. 8 Wochen) war derart hoch, dass eine Reduktion der Dioxingehalte unter den maximal zulässigen Wert auch durch eine Ausmast mit unbelastetem Futter über einen Zeitraum von 14 Wochen (Körpermassenzunahme um den Faktor 2,2) nicht erreicht wurde.

# Fazit

Will man die Exposition für eine Dioxinaufnahme bei weidenden Tieren einschätzen, so ist dies auf der Basis von Aufwuchsuntersuchungen nur bedingt möglich, da zum Einen die Art der Probennahme, zum Anderen die beim Grasen mögliche zusätzliche Aufnahme von erdigen Verunreinigungen zu Fehleinschätzungen führen können. Für eine realistischere Einschätzung der tatsächlichen Exposition/Dioxinaufnahme ist schon eher der Panseninhalt zu empfehlen (Gude et al., 2008); sehr viel besser geeignet sind die Untersuchungen von Lebern, auch von neugeborenen Kälbern und Lämmern, sowohl für die aktuelle als auch für die zurückliegende Belastung (Schulz, 2005; Gude et al. 2008).

Die Frage der Nutzung der exponierten Flächen zur FM-Gewinnung ist kaum abschließend zu beurteilen: Zum Einen belegen die Daten, dass auch auf belasteten Flächen Futtermittel gewonnen werden können, die unter dem Höchstwert bleiben, zum Anderen konnte gezeigt werden, dass auch bei tolerablen Dioxingehalten im Aufwuchs Grenzwertüberschreitungen in den Lebensmitteln vorkamen (Schulz, 2005; Gude, 2008).

## Literatur

BMU – Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (2008): Dioxin- und PCB-Einträge in Lebensmittel vermeiden. Ein Leitfaden für Hühner-, Rinder- und Schweinehalter. Reihe Umweltpolitik. (http://www.bmu.de/gesundheit_und_umwelt/downloads/doc/40840.php)

Fürst, P. (2006): Gehalte und Bewertung in Lebensmitteln. In: Aktuelles aus dem Bereich Veterinary Public Health, *34. Seminar Umwelthygiene: Dioxine in der Lebensmittelkette*. AG Umwelthygiene, WHO Collaborating Centre for Research and Training in Veterinary Public Health, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 10.02.2006, S. 26

Gude, K. (2008): Untersuchungen zur Minimierung von Risiken für die Lebensmittelsicherheit bei Nutzung dioxinbelasteter Gründlandflächen für die Rind- und Schaffleischproduktion. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

Gude, K., Taube, V., Bruns-Weller, E., Severin, K., Schulz. A.J. and Kamphues, J. (2008): Dioxine und dl-PCB als Futtermittelkontaminanten und ihre Bedeutung für die Lebensmittelsicherheit. *Übers. Tierernährg.* 36: 93-144

Kamphues, J., Schulz, A.J. (2006): Dioxine: Wirtschaftseigenes Risikomanagement – Möglichkeiten und Grenzen. *Dtsch. Tierärztl. Wschr*. 113: 298–303

Körner, W. (2003): Dioxine, PCB und dioxinähnliche PCB – alter Wein in neuen Schläuchen? In: Bayerisches Landesamt für Umweltschutz (Hrsg.): *Dioxinähnliche PCB in der Umwelt – Quellen, Verbleib, Exposition und gesundheitliche Bewertung*. Fachtagung am 13./14.01.2003 in Augsburg, S. 3–6

Sassen, K. (2009): Überwachung von Lebensmitteln tierischer Herkunft in Niedersachsen im Hinblick auf das Vorkommen von Dioxinen und dl-PCB. Nach einem Vortrag beim Expertenworkshop der Niedersächsischen Ministerien für Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz und Landesentwicklung sowie für Umwelt und Klimaschutz zur Ursachenanalyse der Kontamination durch dl-PCB von Weidegrasaufwuchs im Bereich der Ems, 16./17.02.2009 in Loccum

Schulz, A.J. (2004/2005a): Optimierung der Futterprobennahme zur Dioxinanalyse. Untersuchungen an Futtermitteln aus der Elbtalaue 2004/2005. Institut für Tierernährung, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (unveröffentlicht)

Schulz, A.J. (2004/2005b): Untersuchungen zur Dioxin-Belastung der Schlachtkörper (Muskulatur, Leber und Fettgewebe) von Mastrindern bei unterschiedlicher Exposition (Elbtalaue) und Fütterungsintensität. Institut für Tierernährung, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (unveröffentlicht)

Schulz, A.J. (2005): Auswirkungen originär Dioxin-belasteten Grundfutters auf die Dioxingehalte in Milch und Schlachtkörpern von Rindern und Schafen. Hannover, Tierärztl. Hochsch., Diss.

Trede, J. (2009): Situationsbericht zum Dioxin-/dl-PCB-Untersuchungsprogramm in Schleswig-Holstein (Boden, Futtermittel, Lebensmittel). Nach einem Vortrag beim Expertenworkshop der Niedersächsischen Ministerien für Ernährung, Landwirtschaft, Verbraucherschutz und Landesentwicklung sowie für Umwelt und Klimaschutz zur Ursachenanalyse der Kontamination durch dl-PCB von Weidegrasaufwuchs im Bereich der Ems, 16./17.02.2009 in Loccum

## Autorenanschrift

Prof. Dr. J. Kamphues
Institut für Tierernährung der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
Bischofsholer Damm 15
D-30173 Hannover
E-Mail: josef.kamphues@tiho-hannover.de

# Bedeutung, Bildung und Nachweis maskierter Mykotoxine

**Franz Berthiller und Rudolf Krska**

Universität für Bodenkultur Wien

## Einleitung

Schimmelpilze können bei geeigneter Wasseraktivität fast jeden landwirtschaftlichen Rohstoff (z. B. Getreide, Nüsse, Früchte, Gemüse, etc.) entweder bereits am Feld oder bei der Lagerung nach der Ernte befallen. Eine große Anzahl dieser Pilze ist in der Lage Mykotoxine – giftige, sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen mit niedrigem Molekulargewicht – zu bilden, die dadurch in die Nahrungskette gelangen (zusammengefasst z. B. durch Bennett und Klich, 2003). Die Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation FAO der Vereinten Nationen schätzte, dass 25% aller Nutzpflanzen signifikant mit Mykotoxinen kontaminiert sind, was zu einem jährlichen weltweiten Verlust im Bereich von 1000 Millionen Tonnen führt (Smith et al. 1994). Das Potenzial von Mykotoxinen die Gesundheit von Mensch und Tier durch ernährungsbedingte Exposition zu schädigen, hat dazu geführt Höchstmengen für diese Lebensmittelkontaminanten einzuführen. Bis 2003 hatten rund 100 Ländern Regelungen für Höchstmengen an Mykotoxinen in verschiedenen Lebens- und Futtermitteln (van Egmond et al., 2007). Für Tierfutter sind in der EU bindende Höchstwerte für Mutterkorn (1000 mg/kg; bis zu 1% davon Toxine; EC 32/2002) und Aflatoxin $B_1$ (0.02 mg/kg; EC 100/2003) vorgeschrieben. Darüber hinaus empfiehlt die europäische Kommission Richtwerte für Deoxynivalenol (DON), Zearalenon (ZON), Ochratoxin A, T-2 und HT-2-Toxin sowie von Fumonisinen (FUM) in zur Verfütterung an Tiere bestimmten Erzeugnissen nicht zu überschreiten (EC 576/2006).

Native Mykotoxine sind jedoch nicht die einzige Quelle der Mykotoxin-Belastung. Pflanzen schützen sich vor Xenobiotika, wie Mykotoxine, durch Konvertierung selbiger in ungiftigere polarere Metaboliten. Diese werden weiters entweder in löslicher Form in Vakuolen gespeichert oder in Biopolymeren wie Stärke und Zellwandbestandteile gebunden (zusammengefasst durch Berthiller et al., 2009a). Diese chemisch veränderten Substanzen werden oft als "konjugierte Mykotoxine" oder "maskierte Mykotoxine" für lösliche bzw. als "gebundene Mykotoxine" für unlösliche Formen bezeichnet. Besonders Mykotoxine, die in Kontakt mit (stark metabolisch aktiven) lebenden Pflanzen stehen, findet man häufig in veränderter Form. Da *Fusarium*-Infektionen in der Regel bereits auf dem Feld auf der wachsenden Getreidepflanze erfolgen (im Gegensatz zu vielen *Aspergillus* oder *Penicillium*-Infektionen), sind die Fusarientoxine DON, ZON und FUM die prominentesten Ziele.

Die Gefahr von maskierten oder gebundenen Mykotoxinen in Nahrung besteht vorwiegend darin, dass sie durch Abspaltung der konjugierten Gruppen wieder zum nativen Mykotoxin rückverwandelt werden können. Maskierte Mykotoxine tragen damit definitiv zur Gesamttoxinbelastung von Mensch und Tier bei, werden aber durch herkömmliche Methoden nicht entdeckt. Die Bedeutung dieser veränderten Formen von Mykotoxinen ist Untersuchungsgegenstand u.a. des Christian Doppler Labors für Mykotoxin-Metabolismus, welches Anfang diesen Jahres seinen Betrieb an der Universität für Bodenkultur Wien aufnahm.

## Metaboliten von Deoxynivalenol

In den 1980er Jahren wurde gezeigt, dass Kalluskulturen von *Fusarium* resistenten Weizensorten mehr $^{14}C$ radio-markiertes DON in uncharakterisierte Produkte umwandelt als Kallus von anfälligen Linien (Miller und Arni, 1986). Die chemische Form der gebildeten Produkte blieb vorerst unbekannt.

1992 konnte Deoxynivalenol-3-β-D-glucopyranosid (D3G) erstmals in Mais-Zellsuspensionskulturen (Sewald et al, 1992) nachgewiesen werden. Später wurde diese Substanz in *Arabidopsis thaliana* (Poppenberger et al, 2003) und 2005 auch in natürlich belastetem Mais und Weizen gefunden (Berthiller et al., 2005). DON behandelter Weizen bildet D3G um sich gegen diesen *Fusarium graminearum* Virulenzfaktor zu schützen (Lemmens et al., 2005). Mittlerweile wurde D3G auch in natürlich kontaminierter Gerste gefunden (Lancova et al., 2008). Messungen von mitteleuropäischen Getreide zeigten, dass die D3G Konzentration 1 mg/kg in Weizen übertreffen kann. Ebenfalls wurde D3G bis zu ca. 70% der DON-Konzentration im Mais gefunden (Berthiller et al., 2009b). Kürzlich wurde eine Studie veröffentlicht, die bestätigt, dass die Belastung mit D3G in 446 chinesischen Mais und Weizenproben höher ist als die durch die bekannten Toxine 3-Acetyl-DON oder 15-Acetyl-DON (Li et al., 2011). 2009 konnte erstmals carryover von D3G aus Gerste in Malz und Bier festgestellt werden (Kostelanska et al., 2009). Schon bei mäßigem Bierkonsum kann die tolerierbare tägliche Aufnahmemenge von DON (1 µg/kg Körpergewicht) überschritten werden, wenn auch glucosylierte und acetylierte Formen von DON berücksichtigt werden. Auch sind DON-Konjugate mit höheren Massen (Diglucoside und Triglucoside) im Bier nachweisbar. Eine weitere wichtige Erkenntnis ist eine signifikante Zunahme der D3G-Konzentration in Malz im Vergleich zur eingesetzten Gerste. Die Natur dieses Anstieges ist noch nicht vollständig erklärt. Eine Möglichkeit ist, dass ursprünglich in der Zellwand gebundene Mykotoxine enzymatisch beim Mälzen abgegeben werden.

## Metaboliten von Zearalenon

Zearalenon-4-β-D-glucopyranosid (Z4G) konnte nach Zusatz von ZON zu Mais-Zellsuspensionskulturen nachgewiesen werden (Engelhardt et al., 1988). Die gleiche Studie ergab, dass etwa 90% des zugesetzten $^{14}C$ radio-markierten ZON nach 3 Tagen in löslicher Form wieder gefunden wurde. Eine spätere Publikation der gleichen Gruppe berichtet, dass 12 Tage nach der Behandlung mit ZON mehr als 50% der Radioaktivität als nicht-extrahierbarer Rückstand gefunden wurde, vor allem in den Lignin- (37%), Hemicellulose- (20%) und Stärke-Fraktionen (17%). Die Bioverfügbarkeit dieser gebundenen Formen ist unbekannt. LC-MS/MS Studien unserer Gruppe haben gezeigt, dass die Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* ZON rasch in insgesamt 17 verschiedenen Verbindungen, darunter Glucoside, Malonylglucoside, Diglucoside und Pentosylhexoside von ZON, α-Zearalenol und β-Zearalenol, umsetzen kann (Berthiller et al., 2006). Gereinigte Glucoside der letzten 3 Verbindungen wurden durch Fermentation von ZON mit einem genetisch veränderten Hefestamm hergestellt, welcher eine *Arabidopsis thaliana* Glucosyltransferase exprimiert (Berthiller et al., 2009c). Diese Verbindungen wurden zusammen mit anderen verwendet, um das Auftreten von löslichen DON- und ZON-Metaboliten in Lebensmitteln zu bestimmen (Vendl et al., 2009), (Vendl et al., 2010).

## Metaboliten von Fumonisinen

Es wurde lange angenommen, dass Fumonisin-Konjugate erst durch die Lebensmittelverarbeitung (zusammengefasst von Humpf und Voss, 2004) entstehen. So sind Konjugate von Fumonisinen mit Zuckern, Aminosäuren oder Proteinen bekannt. Thermische Behandlung von Fumonisin $B_1$ ($FB_1$) mit reduzierenden Zuckern führt zu N-(carboxymethyl)-$FB_1$ (Howard et al., 1998). Diese Substanz wurde später gemeinsam mit N-(1-deoxy-D-fructos-1-yl)-$FB_1$ (Poling et al., 2002) in Mais-Produkten nachgewiesen (Seefelder et al., 2001). Ebenso konnte die Bildung eines Esters von $FB_1$ mit Methyl-glucose (als Modellsubstanz für Stärke) nach Erhitzen festgestellt werden (Seefelder et al., 2003). Geschützte Lysin- und Cystein-Methylester (als Modellsubstanzen für Proteine) reagierten ebenfalls mit $FB_1$. Da hydrolysiertes $FB_1$ keine Reaktion zeigte, sind die beiden Tricarballyl-Säurereste als reaktive Gruppen der Fumonisine identifiziert. Erst vor einigen Jahren wurde gezeigt, dass gebundene Fumonisine auch in unverarbeitetem Mais gefunden werden können (Dall'Asta et al., 2008). Die genaue chemische Natur dieser natürlich vorkommenden Formen ist noch unbekannt. Insbesondere bleibt abzuwarten,

ob tatsächlich Konjugate von der Pflanze gebildet werden, oder nicht-kovalente Wechselwirkungen zwischen Fumonisinen und Stärke oder Proteinen auftreten. In Zusammenarbeit mit der Universität Parma, gewannen wir Hinweise die eher für das zweite Modell sprechen (Dall'Asta et al., 2009).

## Gebundene Mykotoxine

Generell ist sehr wenig bekannt über gebundene Mykotoxine. Die IUPAC (Skidmore et al, 1998) hat die folgende allgemeine Definition für gebundene Rückstände vorgeschlagen: "Ein gebundener Rückstand ist ein Rest, der mit einer oder mehreren Klassen von endogenen Makromolekülen verbunden ist. Selbiger kann weder durch erschöpfende Extraktion oder Verdauung von den natürlichen Makromolekülen getrennt werden, ohne die Natur des Xenobiotika oder des Makromoleküls wesentliche zu verändern." Gebundene Rückstände können entweder kovalent oder nicht-kovalent vorliegen. Abhängig von der Art der Bindung an Proteine, Stärke, Pektine, Hemizellulose, Zellulose oder Lignin es ist denkbar, dass zumindest ein Teil der gebundenen Mykotoxine wieder im Verdauungstrakt von Mensch und Tier bioverfügbar werden könnte. Wegen ihrer Unlöslichkeit werden gebundene Rückstände in der Regel als Prozentsatz der Radioaktivität im Vergleich zur löslichen Fraktion nach der Behandlung von Pflanzen mit radio-markierten Xenobiotika quantifiziert. Abhängig von der chemischen Natur des Fremdstoffs werden sehr unterschiedliche Einbauraten gefunden. Zum Beispiel zeigten Pestizide Einbauraten (also gebundene Rückstände) in unterschiedlichen Pflanzen von einigen wenigen bis zu 90 Prozent (Sandermann, 2004).

## Analytische Methoden

Neben der direkten – oft massenspektrometrischen Bestimmung – von konjugierten Mykotoxinen gibt es auch die indirekte Variante, bei welcher konjugierte in native Toxine durch enzymatische, saure oder basische Hydrolyse umgewandelt werden. Anschließend kann mit allen gängigen Analysemethoden ein Summenwert (natives + konjugierte Mykotoxine) bestimmt werden. So kann beispielsweise Z4G durch einen großen molaren Überschuss von β-Glucosidase in Getreideproben zu ZON gespalten werden (Gareis et al., 1990). Allerdings wird D3G durch Glucosidasen nicht zu DON gespalten (Sewald et al., 1992). Andere Enzyme (oder Enzymmischungen), entweder mit amylolytischer (α-Amylase und Amyloglucosidase), proteolytischer (Papain) oder Zellwand abbauender (Cellulase und Xylanase) Wirkung wurden benutzt, um Gerste zu behandeln. Dabei zeigte sich ein Anstieg in der DON-Konzentration von bis zu 30% (Zhou et al., 2008). Weiters wurde ein Solvolyse Verfahren zur gleichzeitigen Bestimmung von DON-Konjugaten in *Fusarium* infizierten Weizen mit Trichloressigsäure entwickelt (Liu et al., 2005). Mehrere Autoren beschreiben die alkalische Hydrolyse von Fumonisin-Konjugaten (Kim et al., 2003), (Park et al., 2004), (Dall'Asta et al., 2008). Dabei wird ausgenutzt, das FUM ihre Tricarballylsäure-Seitenketten bei Behandlung mit starken Basen verlieren. Zucker-, Stärke-, Peptid- oder Protein-Konjugate, die an diese Seitenketten gebunden sind werden damit abgespalten. Anschließend kann man hydrolysierte FUM (z.B. durch LC-MS) bestimmen und mit der FUM Konzentration vor der Behandlung vergleichen. So konnte eine 2.6 fache Erhöhung der "totalen" Konzentration an Fumonisinen in Cornflakes nach Behandlung mit 1% Natriumdodecylsulfat und Hydrolyse mit 2M KOH gefunden werden (Kim et al., 2003). Indirekte Methoden erlauben deshalb eine Bestimmung der Gesamt-Toxin-Werte. Allerdings leiden alle aktuellen Methoden daran, dass die wahre Wiederfindung nicht messbar ist und man die komplette Hydrolyse ohne direkte Messung nicht bestimmen kann. Direkte Verfahren sind meist aufgrund der Nichtverfügbarkeit analytischer Standards selten, kommen allerdings in den letzten Jahren stark auf.

## Literatur

Bennett J.W. and Klich M. (2003): Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 16, 497-516.

Berthiller F., Dall'Asta C., Schuhmacher R., Lemmens M., Adam G., and Krska R. (2005): Masked Mycotoxins: Determination of a Deoxynivalenol Glucoside in Artificially and Naturally Contaminated Wheat by LC-MS/MS. J. Agric. Food Chem. 53, 3421-3425.

Berthiller F., Werner U., Sulyok M., Krska R., Hauser M.T., and Schuhmacher R. (2006): Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) determination of phase II metabolites of the mycotoxin zearalenone in the model plant Arabidopsis thaliana. Food Addit. Contamin. 23, 1194-1200.

Berthiller F., Schuhmacher R., Adam G., and Krska R. (2009a): Formation, determination and significance of masked and other conjugated mycotoxins. Anal. Bioanal. Chem. 395, 1243-1252.

Berthiller F., Corradini R., Dall'Asta C., Marchelli R., Sulyok M., Krska R., Adam G., and Schuhmacher R. (2009b): Occurrence of deoxynivalenol and its 3-β-D-glucoside in wheat and maize. Food Addit. Contamin. A 26, 507-511.

Berthiller F., Hametner C., Krenn P., Schweiger W., Ludwig R., Adam G., Krska R., and Schuhmacher R. (2009c): Preparation and characterization of the masked Fusarium mycotoxins zearalenone-4O-β-D-glucopyranoside, α-zearalenol-4O-β-D-glucopyranoside and β-zearalenol-4O-β-D-glucopyranoside by MS/MS and 2D-NMR. Food Addit. Contamin. 26, 207-213.

Commission Directive 2002/32/EC on undesirable substances in animal feed. Off. J. Eur. Union L 140: 10-21.

Commission Directive 2003/100/EC amending Annex I to Directive 2002/32/EC on undesirable substances in animal feed. Off. J. Eur. Union L 285: 33-37.

Commission Recommendation 2006/576/EC on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. Off. J. Eur. Union L 229: 7-9.

Dall'Asta C., Galaverna G., Aureli G., Dossena A., and Marchelli R. (2008): A LC/MS/MS method for the simultaneous quantification of free and masked fumonisins in maize and maize-based products. World Mycotox. J. 1, 237-246.

Dall'Asta C., Mangia M., Berthiller F., Molinelli A., Sulyok M., Schuhmacher R., Krska R., Galaverna G., Dossena A., and Marchelli R. (2009): Difficulties in fumonisin determination: the issue of bound fumonisins. Anal. Bioanal. Chem. 395, 1335-1345.

Engelhardt G., Zill G., Wohner B., and Wallnöfer P.R. (1988): Transformation of the Fusarium mycotoxin zearalenone in maize cell suspension cultures. Naturwiss. 75, 309-310.

Gareis M., Bauer J., Thiem J., Plank G., Grabley S., and Gedek B. (1990): Cleavage of zearalenone-glycoside, a "masked" mycotoxin, during digestion in swine. J. Vet. Med. 37, 236-240.

Howard P.C., Churchwell M.I., Couch L.H., Marques M.M., and Doerge D.R. (1998): Formation of N-carboxymethyl-fumonisin-B1, following the reaction of fumonisin B1 with reducing sugars. J. Agric. Food Chem. 46, 3546-3557.

Humpf H.U. and Voss K.A. (2004): Effects of thermal food processing on the chemical structure and toxicity of fumonisin mycotoxins. Mol. Nutr. Food Res. 48, 255-269.

Kim E.K., Scott P.M., and Lau B.P. (2003): Hidden fumonisin in corn flakes. Food Addit. Contam. 20, 161-169.

Kostelanska M., Hajslova J., Zachariasova M., Malachova A., Kalachova K., Poustka J., Fiala J., Scott P.M., Berthiller F., and Krska R. (2009): Occurrence of deoxynivalenol and its major conjugate, deoxynivalenol-3-glucoside, in beer and some brewing intermediates. J. Agric. Food Chem. 57, 3187-3194.

Lancova K., Hajslova J., Poustka J., Krplova A., Zachariasova M., Dostalek P., and Sachambula L. (2008): Transfer of Fusarium mycotoxins and 'masked' deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barley through malt to beer. Food Addit. Contam. 25, 732-744.

Lemmens M., Scholz U., Berthiller F., Koutnik A., Dall'Asta C., Schuhmacher R., Adam G., Mesterhazy A., Krska R., Buerstmayr H., and Ruckenbauer P. (2005): A major QTL for Fusarium head blight resistance in wheat is correlated with the ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol. Mol. Plant Microbe Interact. 18, 1318-1324.

Li F.Q., Yu C.C., Shao B., Wang W., and Yu H.X. (2011): Natural occurrence of masked deoxynivalenol and multi-mycotoxins in cereals from China harvested in 2007 and 2008. Chin. J. Prev. Med. 45, 57-63.

Liu Y., Walker F., Höglinger B., and Buchenauer H. (2005): Solvolysis procedures for the determination of bound residues of the mycotoxin deoxynivalenol in Fusarium species infected grain of two winter wheat cultivars preinfected with barley yellow dwarf virus. J. Agric. Food Chem. 53, 6864-6869.

Miller J.D. and Arnison P.G. (1986): Degradation of deoxynivalenol by suspension cultures of the Fusarium head blight resistant wheat cultivar Frontana. Can. J. Plant Pathol. 8, 147-150.

Park J.W., Scott P.M., Lau B.P., and Lewis D.A. (2004): Analysis of heat-processed corn foods for fumonisins and bound fumonisins. Food Addit. Contam. 21, 1168-1178.

Poling S.M., Plattner R.D., and Weisleder D. (2002): N-(1-deoxy-D-fructos-1-yl) fumonisin B1, the initial reaction product of fumonisin B1 and D-glucose. J. Agric. Food Chem. 50, 1318-1324.

Poppenberger B., Berthiller F., Lucyshyn D., Sieberer T., Schuhmacher R., Krska R., Kuchler K., Glössl J., Luschnig C., and Adam G. (2003): Detoxification of the Fusarium Mycotoxin Deoxynivalenol by a UDP-glucosyltransferase from Arabidopsis thaliana. J. Biol. Chem. 278, 47905-47914.

Sandermann H. (2004): Bound and unextractable pesticidal plant residues: chemical characterization and consumer exposure. Pest. Manag. Sci. 60, 613–623.

Seefelder W., Hartl M., and Humpf H.U. (2001): Determination of N-(Carboxymethyl)fumonisin B1 in Corn Products by Liquid Chromatography/Electrospray Ionization-Mass Spectrometry. J. Agric. Food Chem. 49, 2146-2151.

Seefelder W., Knecht A., and Humpf H.U. (2003): Bound fumonisin B1: analysis of fumonisin-B1 glyco and amino acid conjugates by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. J. Agric. Food Chem. 51, 5567-5573.

Sewald N., Lepschy von Gleissenthall J., Schuster M., Müller G., and Aplin R.T. (1992): Structure elucidation of a plant metabolite of 4-desoxynivalenol. Tetrahedron 3, 953-960.

Skidmore M.W., Paulson G.D., Kuiper H.A., Ohlin B., and Reynolds S. (1998): Bound xenobiotic residues in food commodities of plant and animal origin. Pure Appl. Chem. 70, 1423–1447.

Smith J.E., Solomons G.L., Lewis C.W., and Anderson J.G. (1994): Mycotoxins in human nutrition and health. European Commission CG XII.

van Egmond H.P., Schothorst R.C., and Jonker M.A. (2007): Regulations relating to mycotoxins in food: Perspectives in a global and European context. Anal. Bioanal. Chem. 389, 147-157.

Vendl O., Berthiller F., Crews C., and Krska R. (2009): Simultaneous determination of deoxynivalenol, zearalenone, and their major masked metabolites in cereal-based food by LC-MS-MS. Ana.l Bioanal. Chem. 395, 1347-1354.

Vendl O., Crews C., MacDonald S., Krska R., and Berthiller F. (2010): Occurrence of free and conjugated Fusarium mycotoxins in cereal based food. Food Addit. Contamin. A 27, 1148-1152.

Zhou B., Schwarz P., He G.Q., Gillespie J., and Horsley R. (2008): Effect of enzyme pretreatments on the determination of deoxynivalenol in barley. J. Am. Soc. Beer Chem. 66, 103-108.

## Autorenanschrift

Univ. Ass. Dr. Franz Berthiller
Christian Doppler Labor für Mykotoxin-Metabolismus
Analytikzentrum
Department IFA-Tulln
Universität für Bodenkultur Wien
Konrad Lorenz Str. 20, A-3430 Tulln
E-Mail: franz.berthiller@boku.ac.at

# Der mehrjährig integrierte Kontrollplan bei Futtermittel, ein Beitrag zu einwandfreien Futtermitteln und Lebensmitteln

**A. Galler, H. Würzner, F. Doppelreiter, V. Kolar und E. Jöchlinger**

Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH

## Einleitung

In Österreich ist das Bundesamt für Ernährungssicherheit (BAES) gemäß Futtermittelgesetz und der darauf beruhenden Verordnungen sowie EU-Rechtsakten die zuständige Behörde für die Vollziehung der Kontrolle des Inverkehrbringens sowie der Betriebszulassung und -registrierung. Die Mittel zur Wahrnehmung der Aufgaben des BAES werden von der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES) zur Verfügung gestellt.

## Rechtliche Rahmenbedingungen

Die Verordnung VO (EG) Nr. 882/2004 „über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz" („EU-Kontrollverordnung") bildet in Verbindung mit den nationalen Rechtsvorschriften (Futtermittelgesetz 1999 idgF und Futtermittelverordnung 2010 idgF) sowie den Verordnungen VO (EG) Nr. 178/2002 „zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts" und VO (EG) Nr. 183/2005 „mit Vorschriften für die Futtermittelhygiene" die Basis für die Durchführung der Überwachung und Kontrolle von Futtermitteln und Futtermittelunternehmen.

Die eingangs angeführte „EU-Kontroll-Verordnung" schreibt vor, dass jedes Land einen integrierten mehrjährigen nationalen Kontrollplan erstellt, der allgemeine Informationen über Struktur, Aufbau und Organisation des Kontrollsystems enthält. Dieser Plan umfasst u. a. die strategischen Zielsetzungen und die Umsetzung dieser in den Prioritäten für die Kontrollen, die Risikokategorisierung der betroffenen Tätigkeiten, die allgemeine Organisation und das Management der Kontrollen, die Anwendung der Kontrollsysteme in verschiedenen Sektoren und deren Koordination, die Ausbildung von Personal, die Anforderungen an Transparenz, Objektivität und Vertraulichkeit, die Erstellung und Umsetzung von Notfallplänen sowie die Organisation der Zusammenarbeit und gegenseitigen Unterstützung.

Im Zusammenhang mit der Organisation der Kontrollen stellen gemäß „EU-Kontroll-Verordnung" die Mitgliedsstaaten sicher, dass regelmäßig, auf Risikobasis und mit angemessener Häufigkeit Kontrollen durchgeführt werden, damit die Ziele unter Berücksichtigung festgestellter Risiken, das bisherige Verhalten der Unternehmer, die Verlässlichkeit der bereits durchgeführten Eigenkontrollen und Informationen, die auf einen Verstoß hinweisen könnten, erreicht werden.

Die sich aus den futtermittel- bzw. lebensmittelrelevanten Rechtsakten ergebenden Ziele werden zu deren Umsetzung in Österreich folgendermaßen kategorisiert: Lebensmittel-/Futtermittelsicherheit, Gesundheitsschutz, Umwelt- und Ressourcenschutz, Ernährungssicherung, Tiergesundheit, Tierschutz, Qualitäts- und Täuschungsschutz.

# Systematik und Methoden

Aufgrund der und in Analogie zu den rechtlichen Rahmenbedingungen, insbesondere zur Organisation der Kontrollen, legt der jährliche Kontrollplan des BAES neben der Anzahl der zu kontrollierenden Partien bzw. Chargen mittels Probenahmen und/oder Konformitätsüberprüfungen, die Anzahl der zu kontrollierenden Betriebe und die durchzuführenden Betriebskontrollen sowie alle erforderlichen Tätigkeiten und beabsichtigten Maßnahmen im Zusammenhang mit den Überwachungen und Kontrollen fest, und setzt sich aus dem risikobasierten Stichprobenplan, der Planung nachfassender Kontrollen und dem Vorhalten von Kapazitäten für ad-hoc Kontrollen zusammen.

Die Risikobewertung als ein wissenschaftsbasierter Vorgang mit den vier Stufen Gefahrenidentifizierung, Gefahrencharakterisierung, Expositionsabschätzung und Risikocharakterisierung (§ 2 Z 4 GESG) bildet die Basis für die Planung. Die Vorjahresergebnisse (Prüfungen und Maßnahmen im Betrachtungszeitraum) der formalen und analytischen Prüfungen im Rahmen des Stichprobenplans werden einer Risikobewertung unterzogen und schaffen die Ausgangslage zur Erstellung des risikobasierten Prüfplans sowie zur Berechnung des Stichprobenumfangs für den risikobasierten Stichprobenplan.

Die Grundstruktur des Prüfplans bildet das „harmonized model" der EU-Kommission und wurde bzw. wird nach Maßgabe der Ergebnisse der Kontrollen aktualisiert und weiterentwickelt. Die Prüfplanmatrix wird in den Spalten in das zu untersuchende Material (Futtermittel-Produktkategorie) und in den Zeilen in den zu untersuchenden Parameter (Prüfpunkt) unterteilt. Die daraus entstehenden Kombinationen (Prüfungen) bzw. die Prüfpunkte werden aufgrund der sich aus den relevanten Rechtsakten ergebenden Ziele in deren Sicherheits- (S) oder Qualitäts- und Täuschungsschutzrelevanz (QT) differenziert. Die Berechnung der durchzuführenden Prüfungen und des sich daraus ergebenden notwendigen Stichprobenumfangs erfolgt anhand der Anzahl durchgeführter Prüfungen und der Anzahl daraus gesetzter Maßnahmen (z. B. Beanstandung, Anzeige) im Betrachtungszeitraum.

| Prüfplan | | Material (Futtermittel-Produktkategorie) | |
|---|---|---|---|
| Prüfpunkt | S oder QT | Anzahl Prüfungen | Anzahl Maßnahmen |

In den Fällen, wo für eine statistische Berechnung des Umfangs der Prüfungen und in weiterer Folge der Stichproben pro Kombination ausreichende Informationen über die im Betrachtungszeitraum durchgeführten Prüfungen und daraus gesetzten Maßnahmen vorliegen, werden parametrische Methoden angewandt. In der Anwendung unterschiedlicher Berechnungsmodi wird auf die Sicherheits- bzw. Qualitäts- und Täuschungsschutzrelevanz der Kombinationen bzw. der Prüfpunkte eingegangen um die rechtlich relevanten Ziele bzw. deren Wirkung zu erreichen. Um einer wirksamen Umsetzung der festgelegten risikobasierten Kriterien und Prioritäten in der Organisation der Kontrollen nachzukommen, wird in zwei Berechnungsmodi (a. und b.) sowie in zusätzlichen Kalkulationen die effiziente Angemessenheit demonstriert und deren Eignung berücksichtigt.

Ausgehend von dem Ziel mit einer Sicherheit von 95 % die Rate an Maßnahmen (i. e. Beanstandungsquote) mit einer Genauigkeit von ± 5 % bzw. ± 10 % zu bestimmen, werden die dafür notwendigen Prüfungs- und Stichprobenumfänge für jede Kombination berechnet. Im Berechnungsmodus a. werden für sicherheitsrelevante Prüfpunkte die erforderlichen Umfänge derart berechnet, dass die Beanstandungsquote mit einer Genauigkeit von ± 5% bestimmt werden kann. Für qualitäts- und täuschungsschutzrelevante Prüfpunkte wird mit einer Genauigkeit von ± 10% kalkuliert. Im Vergleich dazu werden im Berechnungsmodus b. für jeden Prüfpunkt die nötigen Umfänge mit einer Genauigkeit von ± 5% bestimmt.

| Berechnungsmodus | Bestimmung der Beanstandungsquote | | |
|---|---|---|---|
| | Ziele | Sicherheit | Genauigkeit |
| a. | S | 95% | ± 5% |
| | QT | | ±10% |
| b. | SQT | | ± 5% |

Beziehen sich die für die Kalkulation notwendigen Informationen auf Ergebnisse aus weniger als 20 Prüfungen, erfolgt die Bestimmung der Prüfungs- und Stichprobenumfänge anhand nicht-parametrischer Verfahren.

Sowohl für Berechnungsmodus a. als auch für b. werden zusätzlich Prüfungs- und Stichprobenumfänge unter Berücksichtigung der vorhandenen Menge eines Futtermittels am Markt bestimmt. Die Daten für diese Endlichkeitskorrektur stammen aus fachlichen Quellen sowie aus Schätzungen und Erfahrungswerten des Fachbereiches Futtermittel.

Ferner wird bei besonders sensiblen Prüfpunkten oder Kombinationen (z. B. Dioxin) der Berechnungsansatz „freedom from disease" (FFD) angewandt. Diese statistische Methode wird z. B. zur Überprüfung von Seuchenfreiheit in der Veterinärmedizin herangezogen.

Die Stichprobenanzahl je Futtermittel-Produktkategorie ergibt sich aus dem Maximum der einzelnen Umfänge je Kombination und dient als Basis für das Risikomanagement sowie in weiterer Folge für die Anzahl der durchzuführenden Probenahmen sowie Betriebskontrollen und deren Verteilung auf die Betriebe im Zuge des risikobasierten Stichprobenplans.

# Ergebnisse

Die Berücksichtigung der Differenzierung der Genauigkeit bei der Berechnung von sicherheits- sowie qualitäts- und täuschungsschutzrelevanten Prüfpunkten in den beiden Modi, gelangt bei der Kalkulation zu folgenden Ergebnissen:

| 2011 | | Stichproben | |
|---|---|---|---|
| Berechnungsmodus | | a. | b. |
| ohne Endlichkeits-korrektur | ohne FFD | 3047 | 3723 |
| | mit FFD | 34071 | |
| mit Endlichkeits-korrektur | ohne FFD | 1563 | 1983 |
| | mit FFD | 9245 | |

Für die Entscheidungen im Zuge des Risikomanagements wurde für 2011 das Ergebnis der Kalkulation von Modus a. mit Endlichkeitskorrektur in der Höhe von 1563 Stichproben herangezogen.

Risikomanagement ist der von der Risikobewertung unterschiedliche Prozess der Abwägung strategischer Alternativen in Konsultation mit den Betroffenen unter Berücksichtigung der Risikobewertung und anderer legitimer Faktoren und im Bedarfsfall geeigneter Präventions- und Kontrollmöglichkeit (§ 2 Z 4 GESG). In diesem Schritt werden u. a. Erfahrungen und Wissen aus der Marktsituation, aktuelle Datenlagen, EU-Vorgaben (z. B. Empfehlungen der Europäischen Kommission) sowie die Planung der nachfassenden Kontrollen und das Vorhalten von Ressourcen für ad-hoc Kontrollen, berücksichtigt. Weiteres Instrument des Risikomanagements bildet die Planung von Schwerpunktaktionen nach Maßgabe aktueller Ergebnisse und aufgrund der Erfahrung aus Vorperioden. Für 2011 sind für den Prüfpunkt Dioxin sowie für Kombinationen des Prüfpunktes Salmonellen Schwerpunktaktionen vorgesehen.

Bei Dioxin wurde die Empfehlung der Europäischen Kommission vom 11. Oktober 2004 in der Höhe von 47 Proben für Österreich zur Überwachung der natürlichen Belastung von Futtermitteln mit Dioxinen und dioxinähnlichen PCB übernommen. Darüber hinaus wurde die übernommene Stichprobenanzahl aufgrund aktueller Fragestellungen (z. B. Risiko von Dioxin in Futterfetten) um ca. 30 % erhöht und der Komponente Futterfett wird zusätzliche Beachtung geschenkt, obwohl es bei aktuellen Erhebungen keinerlei Anhaltspunkte gab, dass mit verunreinigten Futterfetten hergestellte Mischfuttermittel in Österreich in Verkehr gebracht worden sind. Weiters wird einer möglichen Kontamination von Dioxin bei Futterfetten von Seiten der Futtermittelkontrolle, trotz begrenzter Möglichkeiten eine Produktkontrolle durchzuführen, erhöhte Aufmerksamkeit gewidmet. In diesem Bereich, wie auch in der VO (EG) Nr. 178/2002 vorgesehen, erfolgen schwerpunktmäßig Systemkontrollen. Speziell werden hier bei Kontrollen sowie Inspektionen vor Ort, Trocknungsanlagen und das System der Wareneingangskontrolle überprüft.

Bei Salmonellen wurde aufgrund von gehäuften Erkrankungen im Humanbereich im Jahr 2010 durch die Setzung eines Schwerpunktes die Stichprobenanzahl für 2011 angepasst und somit die Gesamtanzahl der Untersuchungen um mehr als die Hälfte erhöht. Insbesondere wird das Augenmerk auf Mischfuttermittel für Geflügel sowie Einzelfuttermittel der Kategorie Ölsaaten gerichtet.

Aufgrund oben angeführter sowie weiterer durchgeführter Entscheidungen des Risikomanagements ist aus dem risikobasierten Prüfplan ein Stichprobenumfang in der Höhe von 1383 Proben für den risikobasierten Stichprobenplan 2011 vorgesehen. Die Zuteilung auf die einzelnen Kontrollbetriebe und der damit verbundenen Probenahmen und Betriebskontrollen wird anhand betriebsbezogener Primär- und Sekundärfaktoren vorgenommen sowie Zeitraum und Ort der zu erfolgenden Probenahmen bzw. Betriebskontrollen festgelegt. Primärfaktoren stellen die Risikobewertung von Betrieben dar, indem die in den einzelnen Betriebsarten auftretenden Gefahren identifiziert und bewertet werden:

| Kategorie | Betriebsart |
|---|---|
| Hersteller | Mischfutterhersteller |
| | Einzelfutterhersteller |
| | Zusatzstoffhersteller |
| | Vormischungshersteller |
| | Heimtierfutterhersteller |
| | Mobile Mischer |
| Nicht-Hersteller | Landesproduktenhändler |
| | Landwirtschaftliche Genossenschaften |
| | Vormischungs- und Zusatzstoffhändler |
| | Zentralen (Einzelhandel) |
| | Filialen (Einzelhandel) / Detailhandel |
| | Tierarzt |
| | Heimtiereinzelhandel |
| | Transporteure / Speditionen |

Neben der Bestimmung der Primärfaktoren und somit des allgemeinen Betriebsartenrisikos werden mit Hilfe einer Datenerhebung die Sekundärfaktoren ermittelt und somit das Einzelbetriebsrisiko dargestellt. Sekundärfaktoren werden in die Risikoermittlung miteinbezogen und beziehen sich u. a. auf die Größe eines Betriebes, die Teilnahme an QM-Programmen oder den Einsatz von risikoreichem Material (z. B. GVO, Kokzidiostatika, Fischmehl, etc.).

Neben dem risikobasierten Stichprobenplan erfolgt die Planung nachfassender Kontrollen sowie das Vorhalten von Kapazitäten für ad-hoc Kontrollen. Die Planung der nachfassenden Kontrollen erfasst Betriebe mit Verstößen aus dem Vorjahr bzw. Missstände aus Vorperioden. Ziel ist es, anhand eines risikobasierten Kriterienkatalogs wirksame, zweckdienliche und angemessene Maßnahmen je nach

Sicherheits- oder Qualitäts- und Täuschungsschutzrelevanz produkt- und/oder betriebsbezogen zu setzen. Im Zuge nachfassender Kontrollen wird speziell auf eine gefahrenvermeidende Lagerordnung, diverse Hygienemängel, Management von Rückstellmustern oder ausreichende Dokumentation geachtet.

Über ad-hoc Kontrollen finden Mitteilungen aus dem Europäischen Schnellwarnsystem (RASFF), Zollmeldungen sowie Informationen aus laufenden Prüfungen und Kontrollen bzw. futtermittelrelevanten und -rechtlichen Aspekten ihren Eingang in die Einsatzplanung der Kontrollen.

Neben stichprobenartiger, nachfassender und ad-hoc Kontrollen werden auch Inspektionen durchgeführt. Diese Betriebskontrollen dienen zur spezifischeren Untersuchung und Durchleuchtung der Prozesse und des Qualitätsmanagementsystems eines Betriebes bzw. einer technischen Einrichtung, mit dem Zweck die Einhaltung der futtermittelrechtlichen Vorschriften zu prüfen.

Nachstehend wird der Kontrollplan 2011 gesamtheitlich abgebildet:

| Proben | Betriebe | Betriebs-kontrollen | Inspektionen |
|---|---|---|---|
| 1659 | 654 | 830 | 125 |

# Diskussion und Schlussfolgerungen

Durch die zielorientierte schrittweise Umstellung auf integrierte mehrjährige sowie risikobasierte Kontrollpläne in der Systematik ergaben und ergeben sich Optimierungen in der Entwicklung von Kompetenz sowie potentielle Synergien im Ressourceneinsatz. Mit diesen Systemen werden weniger Proben, Kontrollen in Betrieben sowie Untersuchungen durchgeführt, jedoch wird kompetenter, wirksamer und damit zielorientierter vorgegangen. Die einem integrierten mehrjährigen und risikobasierten System zugrundeliegende Kontrollintensität kann aus der gesamtheitlichen Datenlage am effektivsten und effizientesten synergetisch umgesetzt werden.

Im Kontrollsystem bedarf es der Weiterentwicklung im Sinne eines „risk ranking", wobei auf der Grundlage statistischer Kennzahlen eine Differenzierung erfolgt (z. B. zwischen unmittelbar gesundheitsgefährdenden Kriterien und jenen im Zusammenhang mit Täuschung), sodass daraus der Ressourceneinsatz noch zielgerichteter optimiert wird. Damit geht auch eine Evaluierung der Kriterienkataloge einher, sodass die Maßnahmensetzungen den Rechtsnormen entsprechend wirksam und angemessen ausgeführt werden.

## Literatur

AGES (2011): Kontrollierte Futtermittel Gesunde Tiere Sichere Lebensmittel – 2010; http://www.ages.at/ages/landwirtschaftliche-sachgebiete/futtermittel/publikationen-vortraege/futtermittel-broschuere/Leitlinien MIK-Projekt

Amtsblatt der Europäischen Union (2004): Empfehlung der Kommission 2004/704/EG zur Überwachung der natürlichen Belastung von Futtermitteln mit Dioxinen und dioxinähnlichen PCB

Amtsblatt der Europäischen Union (2004): Verordnung (EG) Nr. 882/2004 des europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz

Amtsblatt der Europäischen Union (2005): Verordnung (EG) Nr. 183/2005 des europäischen Parlaments und des Rates vom 12. Januar 2005 mit Vorschriften für die Futtermittelhygiene

BAES (2009): Ergebnisse aus der Futtermittelkontrolle 2009; http://www.baes.gv.at/futtermittel/ueberwachung-und-kontrolle/futtermittelkontrolle-2009/

BAES (2011): Kontrollplanung 2011; http://www.baes.gv.at/aktuelles/#c2039

BMLFUW (2010): Aktionsplan – Allgemeines; http://www.bmlfuw.gv.at/article/articleview/29034/1/7991/

Bundesgesetz über die Herstellung, das Inverkehrbringen und die Verwendung von Futtermitteln, Vormischungen und Zusatzstoffen (Futtermittelgesetz 1999 - FMG 1999)

Verordnung des Bundesministers für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, mit der Bestimmungen zur Durchführung des Futtermittelgesetzes 1999 erlassen werden (Futtermittelverordnung 2010)

## Autorenanschrift

Alexandra Galler, Bakk. rer. nat.
Institut für Futtermittel
Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH
Spargelfeldstraße 191, A-1220 Wien
E-Mail: alexandra.galler@ages.at

# Precaecal amino acids digestibility from protein-rich plant feedstuffs for growing male turkeys

**Krzysztof Kozłowski[1], Ariane Helmbrecht[2], Andreas Lemme[2], Jan Jankowski[1] and Heinz Jeroch[1]**

[1] University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Poland
[2] Evonik Degussa GmbH, Hanau, Germany

## Introduction

The results of previous and more recent experiments show that poultry species (Schubert et al. 1982) as well as growing and adult birds of the same species (Dänicke et al. 1998) differ with regard to the digestion of feed ingredients and gross energy metabolizability. Such differences were also observed with respect to the ileal digestibility of amino acids (AA) (Jamroz et al. 2001; Kluth and Rodehutscord 2006). The researchers from Halle (Kluth and Rodehutscord 2006) reported about higher ileal digestibility of amino acids from feed raw materials in broilers than in turkeys. Hence, the results obtained for broilers cannot be directly extrapolated to turkeys. Therefore, the ileal digestibility of amino acids supplied by the most important feed ingredients should be estimated in turkeys fed diets intended for fattening. At the first stage of the study, the ileal digestibility of protein-rich plant raw materials was determined.

## Materials and methods

The methodology applied in the study was identical to that used in previous experiments investigating the standardized ileal amino acid digestibility of feed ingredients in broilers (Lemme et al. 2004). Each raw material was investigated in 4 replicates (pens), 10 animals in each. Non-specific (basal) endogenous amino acid loss after feeding a N-free diet was determined in a separate group of turkeys (4 replicates, 10 animals in each). The obtained values provided a basis for the standardization of ileal digestibility coefficients. Until the end of week 3, male BUT Big 6 turkeys received *ad libitum* a commercial starter diet. Drinking water was also available *ad libitum*. After 7-day experimental feeding all animals were sacrificed by cervical dislocation, digesta sampled from the ileum, pooled (all within each pen), freeze-dried and subsequently analyzed for amino acids content.

In this experiment the following feed ingredients were examined: soybean meal (from dehulled toasted seeds), pea (*Pisum sativum L, conv. sativum*; white-flowered, low tannin level), yellow lupine (*Lupinus luteus L.*), rapeseed meal (toasted seeds, ≤ 10 mmol glucosinolate/kg dry matter) and sunflower meal (from dehulled seeds). The above feed ingredients were tested as protein supplying ingredient of diets. In addition to minerals (major elements, trace elements), vitamins and soybean oil, the diets included a high proportion of the N-free component glucose, which varied depending on the crude protein content of the examined raw materials. The pea-based diet did not reach the expected crude protein level of 250 g/kg feed. Analyses of amino acids and nitrogen were performed by Evonik Degussa GmbH. Ileal digestibility (il DC) was calculated from the formula:

$$\text{il DC (\%)} = 100 - 100 * [(AIA_{feed} * AA_{digesta})/(AIA_{digesta} * AA_{feed})]$$

where:
$AIA_{feed}$ and $AIA_{digesta}$ = acid-insoluble ash (Celite) content of feed and digesta, respectively,
$AA_{feed}$ and $AA_{digesta}$ = amino acid content of feed and digesta, respectively.

Once not all amino acids found in digesta originate from diet but are of endogenous origin, the analyzed amino acid content of digesta has to be corrected for the physiological endogenous loss of amino acids. This physiological endogenous amino acid loss was determined by feeding a N-free diet ($AA_{endog}$ loss). Thus, the endogenous amino acid loss for each raw material ($AA_{endog}$) could be corrected for this physiological endogenous loss which results in the standardized ileal digestibility. Thus, standardized ileal digestibility (SID) was calculated as follows:

$$AA_{endog} = AA_{digesta} * (AIA_{feed} / AIA_{digesta})$$

$$\text{SID (\%)} = [(AA_{feed} - [AA_{endog} - AA_{endog}\ \text{loss}]) / AA_{feed}] * 100$$

# Results

The in the N-free diet observed endogenous losses were 0.013% methionine, 0.033% cystine, 0.045% methionine+cystine, 0.032% lysine, 0.075% threonine, 0.037% arginine, 0.036% isoleucine, 0.060% leucine, 0.051% valine, 0.016% histidine, 0.065% phenylalanine, 0.051% glycine, and 0.066% serine. Table 1 presents the standardized ileal amino acid digestibility of the analyzed feed ingredients. There were considerable differences in standardized ileal digestibility between the studied raw materials. The values for pea and yellow lupine (between 85 and 95% or 86 and 92%, respectively) are comparable and higher than those for the remaining protein-rich raw materials (65-88% for soybean meal, 50-79% for rapeseed meal, 68-88% for sunflower meal). The lowest digestibility coefficients were determined for the amino acids supplied by rapeseed meal. These relatively low values are probably caused by the high proportion of lignin in the fibre fraction of this raw material (Kracht et al 2004). Zuprizal et al. (1992) determined substantially higher AA digestibility levels for meal extracted from dehulled seeds. With a few exceptions, the values calculated for soybean meal and sunflower meal were at approximately the same level. Little research is available on the ileal amino acid digestibility of raw materials in turkeys (Palander et al. 2005; Kluth and Rodehutscord 2006; Adedokun et al. 2008). Palander et al. (2005) used 10-week-old turkeys to determine the amino acid digestibility of pea and lupine. Other authors used younger turkeys, aged 3 or 4 weeks. Hence, a comparison of the above values with the present findings appears possible, although it should be noted that Kluth and Rodehutscord (2006) determined amino acid digestibility by the regression method and not directly as in the current and other cited studies. The values for soybean meal reported by Kluth and Rodehutscord (2006), Adedokun et al. (2008) and those obtained in the present study are similar except for cystine. In contrast, the standardized ileal digestibility coefficients determined for rapeseed meal in the current study seem to be lower than those reported by Kluth and Rodehutscord (2006) and Adedokun et al. (2008). A comparison with the values obtained by Palander et al. (2005) who investigated pea and lupine suggests a good agreement.

**Table 1**: Standardized ileal digestibility of amino acids for different vegetable protein feedstuffs in turkeys (in % with standard deviation)

| Amino acid | Soybean meal | | Pea | | Yellow Lupine | | Rapeseed meal | | Sunflower meal | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | mean | *SD* | mean | *SD* | mean | *SD* | mean | *SD* | mean | *SD* |
| Met | 85 | *3* | 89 | *3* | 89 | *5* | 79 | *4* | 88 | *2* |
| Cys | 65 | *3* | 82 | *2* | 86 | *4* | 50 | *7* | 68 | *2* |
| Met+Cys | 74 | *3* | 85 | *2* | 87 | *4* | 64 | *5* | 79 | *1* |
| Lys | 87 | *2* | 95 | *2* | 92 | *2* | 67 | *4* | 79 | *4* |
| Thr | 80 | *3* | 90 | *2* | 87 | *4* | 58 | *8* | 76 | *3* |
| Arg | 88 | *2* | 95 | *1* | 96 | *1* | 76 | *2* | 90 | *2* |
| Ile | 85 | *2* | 91 | *2* | 91 | *2* | 68 | *5* | 83 | *2* |
| Leu | 85 | *2* | 92 | *1* | 92 | *1* | 72 | *5* | 82 | *2* |
| Val | 84 | *2* | 90 | *1* | 89 | *2* | 65 | *5* | 81 | *2* |
| His | 85 | *2* | 92 | *1* | 91 | *2* | 78 | *1* | 83 | *1* |
| Phe | 83 | *6* | 91 | *1* | 90 | *2* | 70 | *8* | 85 | *3* |
| Gly | 81 | *2* | 90 | *2* | 91 | *2* | 65 | *4* | 70 | *1* |
| Ser | 82 | *2* | 90 | *1* | 89 | *2* | 62 | *8* | 76 | *3* |

Recently, there have been a number of experiments investigating ileal AA digestibility in broilers (Lemme et al. 2004). The values determined for turkeys clearly differ from the data for broilers. The determined values for Met, Cys, Met+Cys, Lys, Thr, and Arg were for soybean meal (85, 65, 74, 87, and 88%), rapeseed meal (79, 50, 64, 67, and 76%) and sunflower meal (88, 68, 79, 79, 76, and 90%) lower than found by Lemme et al. (2004), but for peas (89, 82, 85, 95, 90, and 95%) and yellow lupines (89, 86, 87, 92, 87, and 96%) higher. In addition to the influence of poultry species, the effect of raw material should be taken into account. Thus, for example, we investigated the effect of a white-flowered low-tannin pea variety in turkey poults. It is not clear which pea genotype was used in the cited studies on broiler chickens (Palander et al. 2005). Coloured-flowered pea varieties contain higher tannin levels (Keller et al., 1996), which adversely affect protein and amino acid digestibility (Keller et al., 1996).

Our experimental results and the available literature data suggest that the ileal AA-digestibility standards developed for broilers should not be applied to turkeys. Due to the long fattening period in turkeys, further investigations are needed to determine the effect of age of birds on AA digestibility.

## References

Adedokun SA, Adeola O, Parsons CM, Lilburn MS, Applegate TJ (2008) Standardized ileal amino acid digestibility of plant feedstuffs in broiler chickens and turkey poults using a nitrogen-free or casein diet. Poult Sci 87: 2535-2548.

Dänicke S, Jeroch H, Kracht W, Potkański A and Rutkowski A (1998) P utilization from rape seed meal and rape seed expeller by laying hens and broilers and its improvement by phytase supplementation. Agribiol Res 51: 127-141.

Jamroz D, Jakobsen K, Orda J, Skorupińska J and Wiliczkiewicz A (2001) Development of gastrointestinal tract and digestibility of dietary fibre and amino acid in young chickens, ducks and geese fed diets with high amounts of barley. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 130: 643-652.

Keller T, Hauschild A. and Jeroch H (1996) Chemical composition of dry peas (*Pisum sativum L.*) and its effect on the feeding value for poultry. Übers. Tierernährg. 24, 167-198.

Kluth H, Fricke M and Rodehutscord M (2009) Precaecal amino acid digestibility of different wheat cultivars in broilers. Arch Geflügelk 73: 80-86.

Kluth H, Mantei M, Elwert C and Rodehutscord M (2005) Variation in precaecal amino acid and energy digestibility between pea (*Pisum sativum*) cultivars determined using a linear regression approach. Br Poult Sci 46: 325-332.

Kluth H, Rodehutscord M (2006) Comparison of amino acid digestibility in broiler chickens, turkeys and Pekin ducks. Poult Sci 85: 1953-1960.

Kracht W, Dänicke S, Kluge H, Keller K, Matzke W, Hennig U and Schumann W (2004) Effect of dehulling of rapeseed on feed value and nutrient digestibility of rape products in pigs. Arch Anim Nutr 58: 389-404.

Lemme A, Ravindran V and Bryden WL (2004) Standardized ileal amino acid digestibility of raw materials in broilers. Proc. of Multi-State Poultry Feeding and Nutrition and Health and Management Conference and Degussa Corporation's Technical Symposium. May 25-27, Indianapolis, IN.

Palander S, Laurinen P, Perttilä S, Valaja J and Partanen K (2005) Protein and amino acid digestibility and metabolizable energy value of pea (*Pisum sativum*), faba bean (*Vicia faba*) and lupin (*Lupinus angustifolius*) seeds for turkeys of different age. Anim Feed Sci Technol 127: 89-100.

Rodehutscord M (2007) Untersuchungen zur Aminosäurenverdaulichkeit bei Geflügel unterschiedlicher Herkunft und Nutzungsrichtung. http://www.orgprints.org/11440/

Schubert R, Richter G and Gruhn K (1982) Comparative investigation of the digestive performance of cairina, peking ducks and laying hens. Arch Tierernähr 32: 531-537.

Zuprizal M, Larbier A and Chagneau AM (1992) Effect of age and sex on the true digestibility of amino acids of rape-seed and soybean meals in growing broilers. Poult Sci 71: 1486-1492.

## Corresponding author

Dr. Krzysztof Kozłowski
Faculty of Animal Bioengineering
Department of Poultry Science
University of Warmia and Mazury in Olsztyn
Oczapowskiego 5, 10-719 Olsztyn, Poland
E-mail: kristof@uwm.edu.pl

# Study on the inclusion level of autolysed yeast as a protein source for red tilapia diets

**Goncalo A. Santos[1], Pedro Encarnacao[2] and Anja Ganner[3]**

[1] BIOMIN Holding GmbH, Industriestr. 21, 3130 Herzogenburg, Austria
[2] BIOMIN Singapore Pte. Ltd. 3791 Jalan Bukit Merah #08-08 E-Center@Redhill, 159471 Singapore
[3] BIOMIN Research Center, Technopark 1, 3430 Tulln, Austria

## Introduction

Yeasts are probably one of the earliest domesticated organisms. People have used yeasts for fermentation and baking throughout history. The most important and best known strain in food science undoubtly is *Saccharomyces cerevisiae.* Yeast products have been fed to animals for more than hundreds of years, and include yeast-fermented mash directly produced on the farm, yeast by-products from breweries and distilleries, or yeast products commercially produced for animal feeding.

Fishmeal is the most used protein source in fish diets. However, fishmeal production rates and availability vary considerably, which together with a high demand influence the current high prices. These high costs of fish meal and concerns about sustainable use of fisheries resources put the replacement of fishmeal in diets as a top research priority. Protein sources from plant origin have received most attention in recent years, but the amino acid imbalance, presence of anti-nutritional factors and low palatability create some hurdles that still need to be overtaken. Single cell protein sources such as yeasts have been tested as a fishmeal replacer in fish feeds with some encouraging results.

## Material and methods

The present study focused on testing the inclusion rate of autolysed yeast (BIOMIN Levabon Aquagrow, 37.8% CP) as protein source (fish meal replacement) in red tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) diets. To achieve that purpose, the yeast product was included in the diet with increasing inclusion levels (0, 1, 3 and 6%) as a substitute of fish meal and other protein sources to produce a serious of isonitogenous and isocaloric diets. Groups of 105 fish weighing 5 g were stocked in 12 experimental tanks with a volume of 500L and with a continuous aeration after acclimatization to the trial condition during 2 weeks before the beginning of the trial. The trial followed a complete randomized design using 4 treatments and 3 replicates per treatment. The fish were fed to near satiety 3 times daily during a period of 8 weeks. Water quality parameters (Temperature, dissolved O2, nitrites, nitrates and ammonia) were checked and maintained at optimal levels for tilapia rearing. Mortality was recorded daily during the entire experimental period. No medication was applied during the trial period.

### Diet formulation

Four isonitrogenous and isocaloric diets were formulated to contain equal amounts of all ingredients except the tested products as follows.

**Table 1**: Diet formulation for the test trial

| INGREDIENT | Diet 1 | Diet 2 | Diet 3 | Diet 4 |
|---|---|---|---|---|
| Cassava flour | 12.6 | 12.3 | 11.4 | 10.2 |
| Soybean meal | 36 | 36 | 36 | 36 |
| Rice flour | 14 | 14 | 14 | 14 |
| Rice bran | 18 | 18 | 18 | 18 |
| Fish meal | 16 | 15.3 | 14.2 | 12.4 |
| **Sugar cane yeast** | 0 | 1 | 3 | 6 |
| Vitamin premix | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 |
| Fish oil | 2 | 2 | 2.2 | 2.5 |
| Soybean oil | 1 | 1 | 0.8 | 0.5 |
| TOTAL | 100 | 100 | 100 | 100 |

### Sampling

Hundred and five fish were allocated into each experimental tank and total weight recorded. Fish sizes were homogeneous to ensure a similar initial weight in all experimental tanks. Feed intake was adjusted daily. Periodical sampling of weight gain (bulk weight of each tank) was conducted every 28 days (4 weeks) from the beginning of experiment and after 56 days (8 weeks). At the end of the trial data collection was further processed for the calculation of percentage weight gain (per tank and individual fish), feed intake, feed conversion ratio (per tank and per fish).

## Results

Results after 8 weeks of trial (Table 1) showed no differences between fish fed the control diets and those fed diets were fish meal was replaced by autolysed yeast at levels of 1, 3 and 6 % inclusion.

The fish growth rate during the trial was quite good (5 fold) making the results of the trial quite meaningful.

**Table 2**: Performance parameters of red tilapia fed diets with increasing levels of autolysed yeast

| Parameter | IBW | FBW | Weight Gain | DGC | FCR | Mortality |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 5.0 | 26.0 | 20.5 | 2.24 | 1.30 | 10.2 |
| 1% Yeast | 5.0 | 26.2 | 20.7 | 2.25 | 1.28 | 9.5 |
| 3% Yeast | 4.9 | 25.6 | 20.3 | 2.22 | 1.33 | 6.3 |
| 6% Yeast | 5.0 | 25.7 | 20.4 | 2.23 | 1.32 | 7.6 |

IBW – Initial body weight
FBW – Final body weight
DGC – Daily growth coefficient
FCR – Feed conversion ratio

## Discussion and conclusion

The highest mortality was observed on the control treatments but was not significantly different from those fed the yeast product. The best performance was observed for the fish fed the 1% yeast diet, although not statistically different from the other treatments. The results also show that the inclusion of yeast at levels up to 6 % of the diet, have no negative effects in fish performance.

Therefore, the results of the trial show that autolysed yeast (BIOMIN Levabon Aquagrow) can be used as a protein source and fish meal replacer.

**Corresponding author**

Mag. Anja Ganner
BIOMIN Research Center
Technopark 1
A-3430 Tulln
E-mail: anja.ganner@biomin.net

Biomin®

## **BIOMIN** – *Natürlich im Futter.*

Intensive Forschung, wissenschaftliches Know How und die Anwendung innovativer Produkttechnologien machen BIOMIN zum Anbieter zukunftsorientierter Lösungsansätze in der Tierernährung.
Durch die Nähe zum Kunden und das Erkennen von Kundenbedürfnissen entwickelte BIOMIN ein effektives und effizientes Produktprogramm, das den ökonomischen und ökologischen Erfordernissen der Nutztierproduktion entspricht.

**Das BIOMIN Portfolio:**

- Mykotoxin Risiko Management (Mycofix®)
- Phytogene Stoffe (Biomin® P.E.P.)
- Säuremischungen (z.B. Biotronic®)
- Probiotika (z.B. PoultryStar®, AquaStar®)
- Konservierung (z.B. Biomin® BioStabil)
- Diätetische Ergänzungsfuttermittel
- Premixe

**BIOMIN GmbH**
Industriestrasse 21, 3130 Herzogenburg, Austria,
Tel. +43 2782 803-0, office@biomin.net

**www.biomin.net**

# Kann Sojaextraktionsschrot im Eiweißergänzungsfutter für die Stiermast durch DDGS vollständig ersetzt werden?

**G. Wiedner[1], T. Figl-Wolfsberger[2], J. Hirschböck[3] und R. Leitgeb[4]**

[1] NÖ Landeslandwirtschaftskammer, A-3100 St. Pölten, Wiener Straße. 64
[2] AGRANA Bioethanol GmbH, A-3435 Pischelsdorf, Industriegelände
[3] Versuchsbetrieb, A-3125 Statzendorf, Fugging 23
[4] A-1180 Wien, Eckpergasse 2/6

## Einleitung

ActiProt® ist die Handelsmarke für getrocknete Getreideschlempe (DDGS) aus der Bioethanolanlage der Firma AGRANA, A-3435 Pischelsdorf. ActiProt® weist einen Rohproteingehalt von 32 % auf und wird in pelletierter Form angeboten. Im vorliegenden Stiermastversuch wurde das Sojaextraktionsschrot-Eiweiß im Eiweißergänzungsfutter (EEGF) vollständig durch ActiProt®-Eiweiß ersetzt. Der Versuch wurde mit Fleckvieh-Maststieren durchgeführt und der Einfluss der unterschiedlichen EEGF auf die Mast- und Schlachtleistung, die Fleischigkeits- und Fettgewebeklasse untersucht.

## Literatur

Untersuchungen an Nebenprodukten der Bioethanolproduktion für Rinder wurden von Van Horn et al. (1985), Spiekers et al. (2006) und Chrenková et al. (2008) durchgeführt. Alle drei Autoren empfehlen eine differenzierte Bewertung nach dem Ausgangsmaterial und dem Verfahren der Ethanolproduktion. Von Ettle et al. (2011) wurde eine Schlempe aus Weizen und Gerste mit und ohne L-Lysinergänzung im Vergleich zu Rapsextraktionsschrot in der Fresseraufzucht eingesetzt. Alle 3 Futtergruppen wiesen gleiche TM-, Energie- und Rohproteinaufnahmen auf, in den Schlempefuttergruppen war der durchschnittliche Tageszuwachs aber um etwa 100 g geringer. Es werden 0,5 kg Trockenschlempe je Tier und Tag empfohlen. Mit einem Ersatz von 50 % des Sojaextraktionseiweißes durch ActiProt®-Eiweiß im Eiweißergänzungsfutter wurden von Leitgeb et al. (2010) sehr gute Mast- und Schlachtleistungsergebnisse mit Fleckviehstieren erzielt. Die tägliche Aufnahme an ActiProt® pro Tier und Tag betrug 0,95 kg.

## Versuchsdurchführung

36 Stierkälber der Rasse Fleckvieh wurden zwischen Ankauf und Versuchsbeginn gemeinsam aufgezogen. Diese Periode dauerte 12 Wochen. In dieser Zeit wurden die schwereren und die leichteren Kälber jeweils in einer Box gehalten und mit Maissilage, Eiweißergänzungsfutter und einer geringen Menge an Heu (0,25 kg/Tier/Tag) gefüttert.

Bei Versuchstart wurden 32 Jungstiere nach Gewicht und Alter ausgewählt und auf 4 Boxen mit Spaltenboden zu je 8 Tieren aufgeteilt. Der Kontrollgruppe (KG) und Versuchsgruppe (VG) wurden jeweils 2 Boxen zugeteilt (Tabelle 1). Die Tiere wurden bei Versuchsbeginn, am 79. Masttag und bei Mastende individuell gewogen. Alle Ausfälle wurden mit Ohrmarken-Nr., Datum, Gewicht und Ursache dokumentiert.

Das Futter wurde täglich zweimal vorgelegt. Maissilage wurde ad libitum und EEGF (2,5 kg/Tier) rationiert angeboten. EEGF wurde täglich nach Anzahl der Tier in den Boxen in Kübel eingewogen und die Menge in zwei Futtergaben auf die jeweils frisch vorgelegte Maissilage verteilt. Der Verzehr an Maissilage wurde monatlich an jeweils 3 aufeinander folgenden Tagen morgens und abends boxenweise erhoben und diese Werte als Mittelwerte für den Futterverzehr im jeweiligen Mastmonat herangezogen.

**Tabelle 1**: Versuchsplan

| Merkmale | KG | VG |
|---|---|---|
| Tiere, n | 16 | 16 |
| Boxen, n | 2 | 2 |
| ActiProt® | - | + |
| Mastabschnitt 1 | Versuchsbeginn bis 79. Masttag | |
| Mastabschnitt 2 | 80. Masttag bis Mastende | |
| Fütterung | | |
| Maissilage | ad libitum | |
| Eiweißergänzungsfutter, kg/Tier/Tag | 2,5 | |
| Maissilageaufnahme durch die Tiere | monatlich über 3 Tage, boxenweise | |
| Wiegung der Tiere | | |
| 1. Wiegung | Versuchsbeginn | |
| 2. Wiegung | Ende des 1. Mastabschnittes | |
| 3. Wiegung | Mastende | |

Die EEGF wurden auf dem Versuchsbetrieb nach den Rezepturen in Tabelle 2 gemischt.

**Tabelle 2**: Zusammensetzung des Eiweißergänzungsfutters (EEGF)

| Futtermittel | KG | VG |
|---|---|---|
| ActiProt®, % | - | 79,0 |
| Körnermais, % | 20,0 | 10,0 |
| Sojaextraktionsschrot hp, % | 50,0 | - |
| Trockenschnitzel, % | 25,0 | 5,0 |
| Futterkalk, % | 2,0 | 3,0 |
| Mineralergänzungsfutter[1)], % | 3,0 | 3,0 |

[1)] Voramin RMA (Fa. Biomin, Herzogenburg)

Als Schlachtleistungsmerkmale wurde die LM am Mastbetrieb bei der Abholung und Schlachthof nach der Abladung, das Schlachtgewicht kalt, die Fleischigkeits- und Fettgewebeklasse von jedem Maststier erhoben. Für die Ausschlachtungs-% wurde die LM am Schlachthof herangezogen.

Die Fleischigkeitsklassen wurden nach EUROP ermittelt. EUROP wurde für die statistische Auswertung analog in die Ziffern 1, 2, 3, 4, und 5 transformiert. Bei den Fleischigkeitsklassen bedeutet E (= 1) einen vorzüglichen und P (= 5) einen geringen Fleischansatz.

Die Fettgewebeklassen werden mit den Ziffern 1, 2, 3, 4, und 5 dargestellt. Bei den Fettgewebeklassen wird eine sehr geringe mit 1 und eine sehr starke Verfettung mit 5 bewertet. Ein mittlerer Wert ist am günstigsten.

**Statistische Auswertung**

Die Auswertung der Daten erfolgte varianzanalytisch mit dem Computer Programm ANOVA SigmaStat® Version 3.1.1.

$Y_{ijk}$ = $\mu + FG_i + LM_j + e_{ijk}$

$Y_{ijk}$ = Untersuchter Parameter

$\mu$ = Gemeinsame Konstante

$FG_i$ = Fixer Effekt der Futtergruppe; i = 1 (KG), 2 (VG)

$LM_j$ = LM bei Versuchsbeginn j, j = 1 (geringere LM), 2 (höhere LM)

$e_{ijk}$ = Residue

# Ergebnisse

Mittelwerte der Futteranalysen sind in Tabelle 3 angeführt. ActiProt®, Sojaextraktionsschrot, Maissilagen und Eiweißergänzungsfutter wiesen während der ganzen Mastdauer geringe Nährstoffschwankungen auf. Der Gehalt an Rohprotein (XP) schwankte im ActiProt® zwischen 312 und 352 g/kg, im Sojaextraktionsschrot zwischen 456 und 468 g/kg, in der Maissilage zwischen 25 und 34 g/kg, im EEGF der KG zwischen 257 und 287 g/kg und im EEGF der VG zwischen 253 und 275 g/kg. Die Gehalte an umsetzbarer Energie (ME) in der Maissilage lagen zwischen 4,18 und 5,26 MJ/kg, was vorwiegend auf die Schwankungen im TM-Gehalt zurückzuführen ist.

**Tabelle 3**: Analysenergebnisse der Futtermittel

| Nährstoff | ActiProt® | Soja-hp | Maissilage | EEGF-KG | EEGF-VG |
|---|---|---|---|---|---|
| Analysen, n | 6 | 3 | 11 | 11 | 11 |
| TM, g/kg | 909 | 883 | 441 | 895 | 908 |
| ME, MJ/kg | 11,53 | 12,35 | 4,89 | 11,24 | 10,87 |
| XP, g/kg | 332 | 465 | 30 | 269 | 261 |
| nXP, g/kg | 251 | 285 | 58 | 212 | 210 |
| XL, g/kg | 76 | 20 | 13 | 24 | 60 |
| XF, g/kg | 72 | 44 | 75 | 65 | 67 |
| XA, g/kg | 50 | 64 | 15 | 99 | 90 |
| Ca, g/kg | 1,4 | 3,3 | 0,9 | 17,3 | 17,2 |
| P, g/kg | 8,6 | 6,4 | 1,0 | 5,0 | 7,9 |
| Mg, g/kg | 3,1 | 3,6 | 0,6 | 3,7 | 3,8 |
| Na, g/kg | 3,7 | 0,2 | 0,1 | 4,2 | 5,5 |

In der KG wurde ein Tier am 259. Masttag mit 576 kg LM wegen Gelenksentzündungen und in der VG ein Tier am 48. Masttag wegen anhaltender Verdauungsstörungen ausgeschieden.

In Tabelle 4 sind die Mastleistungsergebnisse angeführt. Das mittlere Alter und die mittlere LM der Tiere lagen bei Versuchsbeginn in beiden Futtergruppen bei 136 Tagen und 185 kg und bei Mastende auf dem Mastbetrieb lag die mittlere LM in der KG bei 724,4 und in der VG bei 734,0 kg. Im Mastabschnitt 1 war die LM-Entwicklung in der VG etwas geringer als in der KG, im Mastabschnitt 2 war es umgekehrt. Der tägliche LM-Zuwachs von Beginn bis Ende der Mastperiode betrug in der KG 1544 g und in der VG 1570 g.

Hinsichtlich der Futteraufnahme und der Verwertung traten zwischen den Futtergruppen nur minimale Unterschiede auf. Aus den Mastleistungsergebnissen kann abgeleitet werden, dass die mit dem EEGF zugeführten Nährstoffe von den Tieren beider Futtergruppen gleich gut verwertet wurden. Besonders gut wird dies aus den Merkmalen ME- und XP-Aufnahme pro kg LM-Zuwachs ersichtlich. Bezogen auf die gesamte Mastperiode wurden von den Hauptnährstoffen für 1 kg LM-Zuwachs in der KG 70,1 MJ ME und 751 g XP und in der VG 68,0 MJ ME und 729 g XP benötigt.

**Tabelle 4**: Mastleistungsergebnisse

| Merkmale | Futtergruppe KG | VG | SEM* | P-Wert |
|---|---|---|---|---|
| Tiere, n | 16 | 16 | - | - |
| Boxen, n | 2 | 2 | - | - |
| LM-Entwicklung | | | | |
| Alter bei Versuchsbeginn, Tage | 136 | 136 | 2,8 | 0,887 |
| LM bei Versuchsbeginn, kg | 185,4 | 185,3 | 3,0 | 0,977 |
| LM am 79. Masttag, kg | 323,2 | 317,8 | 4,2 | 0,373 |
| LM nüchtern (349. Masttag), kg | 724,4 | 734,0 | 10,5 | 0,521 |
| Tageszuwachs vom 1.-79. Masttag, g | 1744 | 1668 | 37 | 0,157 |
| Tageszuwachs (80.-349. Masttag), g | 1488 | 1542 | 34 | 0,267 |
| Tageszuwachs (1.-349. Masttag), g | 1544 | 1570 | 31 | 0,548 |
| Maissilage- und Nährstoffaufnahme 1. bis 79. Masttag | | | | |
| Maisilageaufnahme, kg/Tier/Tag | 11,2 | 10,3 | 0,01 | 0,126 |
| ME-Aufnahme, MJ/Tier/Tag | 85,3 | 82,3 | 0,4 | 0,126 |
| ME-Bedarf/kg LM-Zuwachs, MJ | 49,0 | 49,9 | 1,9 | 0,788 |
| XP-Aufnahme, g/Tier/Tag | 1015 | 973 | 2,8 | 0,060 |
| XP-Bedarf/kg LM-Zuwachs, g | 582 | 590 | 23 | 0,849 |
| Maissilage- und Nährstoffaufnahme 80. bis 349. Masttag | | | | |
| Maisilageaufnahme, kg/Tier/Tag | 18,3 | 18,3 | 1,6 | 1,000 |
| ME-Aufnahme, MJ/Tier/Tag | 115,1 | 113,9 | 7,0 | 0,923 |
| ME-Bedarf/kg LM-Zuwachs, MJ | 77,5 | 73,9 | 4,8 | 0,690 |
| XP-Aufnahme, g/Tier/Tag | 1203 | 1192 | 44 | 0,888 |
| XP-Bedarf/kg LM-Zuwachs, g | 810 | 774 | 31 | 0,556 |
| Maissilage- und Nährstoffaufnahme 1. bis 349. Masttag | | | | |
| Maisilageaufnahme, kg/Tier/Tag | 16,6 | 16,6 | 1,3 | 0,983 |
| ME-Aufnahme/Tier/Tag, MJ | 108,5 | 106,5 | 8,5 | 0,895 |
| ME-Bedarf/kg LM-Zuwachs, MJ | 70,1 | 68,0 | 4,5 | 0,801 |
| XP-Aufnahme/Tier/Tag, g | 1159 | 1145 | 64 | 0,899 |
| XP-Bedarf/kg LM-Zuwachs, g | 751 | 729 | 32 | 0,711 |

* Standard error of means

Am Schlachttag wurden die Tiere vor dem Abtransport auf dem Mastbetrieb (LM nüchtern) und im Schlachthof vor der Schlachtung gewogen. Der Transportverlust lag in der KG bei 18,6 kg und in der VG bei 24,4 kg. Die LM auf dem Schlachthof war in der VG um 4,2 kg höher als in der KG. Die Ausschlachtungs-% betrugen in der KG 56,2% und in der VG 56,0 %).

Die Fleischigkeitsklasse war in der VG geringfügig günstiger als in der KG. In der KG wurde sie mit 2,3 und in der VG mit 2,1 erhoben. Die Fettgewebeklasse wies mit 3,0 in der KG und 2,9 in der VG ebenfalls nur geringe Unterschiede auf.

In statistischer Hinsicht wurden keine signifikanten Differenzen (P≤0,05) weder in der Mastleistung, noch in der Schlachtleistung zwischen den Futtergruppen festgestellt. Dies belegt, dass im EEGF für die Rindermast Sojaextraktionsschrot gleichwertig durch ActiProt® ersetzt werden kann.

**Tabelle 5**: Schlachtleistung und Schlachtkörperqualität

| | Futtergruppe | | | |
|---|---|---|---|---|
| Merkmale | KG | VG | SEM* | P-Wert |
| Tiere, n | 15 | 15 | - | - |
| LM am Schlachthof, kg | 705,8 | 710,0 | 10,5 | 0,779 |
| Schlachtgewicht kalt, kg | 396,7 | 397,5 | 5,8 | 0,925 |
| Ausschlachtungs-% | 56,2 | 56,0 | 0,3 | 0,640 |
| Fleischigkeitsklasse (EUROP) | 2,3 | 2,1 | 0,1 | 0,347 |
| Fettgewebeklasse, 1-5 Punkte | 3,0 | 2,9 | 0,1 | 0,631 |

* Standard error of means

# Diskussion

Die differenzierte Bewertung von Nebenprodukten der Bioethanolproduktion nach dem Ausgangsmaterial, wie sie von Van Horn et al. (1985), Spiekers et al. (2006) und Chrenková et al. (2008) empfohlen wird, ist für den Einsatz in der Tierernährung unbedingt notwendig. Aus einer kurzen Aufzuchtperiode, wie von Ettle et al. (2011), auf die optimale Einsatzmenge von 0,5 kg Getreidetrockenschlempe an Mastrinder zu schließen, führt zu einer eklatanten Unterbewertung der Trockenschlempe. Im vorliegenden Versuch wurden täglich 1,97 kg ActiProt® pro Tier und Tag verfüttert und gleiche Mast- und Schlachtleistungsergebnisse wie mit Sojaextraktionsschrot erzielt. Im 1. Mastabschnitt (185 bis 320 kg LM), wurden mit ActiProt® ähnliche Mastleistungsergebnisse wie von Ettle et al. (2011) erzielt. Im 2. Mastabschnitt wies im vorliegenden Versuch die Futtergruppe mit ActiProt® im EEGF höhere tägliche LM-Zunahmen auf, wodurch die schlechtere LM-Entwicklung in der 1. Mastperiode vollkommen kompensiert wurde. Die Einschränkung der täglichen Verabreichungsmenge auf 0,5 kg Getreidetrockenschlempe je Maststier und Tag entspricht daher nicht mehr dem aktuellen Kenntnisstand über Getreidetrockenschlempe in der Rindermast.

# Zusammenfassung

In einem Stiermastversuch mit 32 Fleckviehkälbern (2 Boxen, á 8 Tiere je Futtergruppe (KG, VG) wurde im Eiweißergänzungsfutter das Eiweiß des Sojaextraktionsschrotes (KG) vollständig durch Eiweiß aus ActiProt® (VG) ersetzt. Die Mastdauer betrug 349 Tage. Die Tagesrationen setzten sich aus Maissilage (44 % TM) ad libitum und 2,5 kg Eiweißergänzungsfutter mit 27 % (KG) und 26 % Rohprotein (VG) zusammen. Der mittlere LM-Zuwachs über die ganze Mastperiode lag in der KG bei 1544 g und in der VG bei 1570 g. Der Aufwand an umsetzbarer Energie (ME) und Rohprotein (XP) pro kg LM-Zuwachs betrug in der KG 70,1 MJ und 751 g und in der VG 68,0 MJ und 729 g. Die Ausschlachtungs-% lagen in der KG bei 56,2 und in der VG bei 56,0. Die Fleischigkeitsklasse war in der VG geringfügig günstiger als in der KG und in der Fettgewebeklasse lagen beide Futtergruppen im optimalen Bereich. Die Versuchsergebnisse weisen auf sehr günstige Einsatzmöglichkeiten von ActiProt® in der Stiermast hin. Eiweiß aus Sojaextraktionsschrot kann im Eiweißergänzungsfutter erfolgreich durch Eiweiß aus ActiProt® ersetzt werden. Nach den Ergebnissen im vorliegenden Versuch kann der über das Grundfutter hinausgehende Eiweißbedarf mit sehr gutem Erfolg über ActiProt® gedeckt werden.

# Summary

**(Is complete replacement of soybean meal in protein concentrate for growing bulls by DDGS possible?)**

In a growing trial with 32 Simmental bulls, the impact of ActiProt (DDGS of wheat and maize, produced in Pischelsdorf, Austria) on growth and slaughter performance was investigated. 32 of 36 bulls were divided in 2 groups (KG, VG) and 4 pens with 8 animals each. Maize silage was fed ad libitum and 2.5 kg/d protein concentrate with 27 and 26 % protein. 2.5 kg Protein concentrate with 50 % soybean meal 48 (KG) and with 79 % ActiProt® (VG) per animal and day were offered. 100 % of the soybean meal-protein was replaced by ActiProt®-protein. The nutrient content of ActiProt was: 91 % DM, 11.5 MJ ME/kg, 33.2 % protein, 7.6 % fat, 7.2 % fibre, 0.14 % Ca, 0.86 % P, and 0.37 % sodium. The LW at the start was 185 kg and at the end of the growth period 724 (KG) and 734 kg (VG). The average daily LW-gain of KG was 1544 g and of VG 1570 g. The intake of ME and protein per kg LW-gain was in the KG 70.1 MJ und 751 g and in the VG 68.0 MJ und 729 g. The dressing-% in KG was 56.2 and in VG 56.0. The commercial meat and fat class in the KG was 2.3 and 3.0, and in the VG 2.1 and 2.9. Both classes were in a good range. The results of this trial show, that ActiProt® is a high valuable protein feed stuff and can replace soybean meal totally in protein concentrates for growing bulls. As the results of this trial show, 2 kg of ActiProt® per growing bull and day can be fed with good success.


## Literatur


Chrenková, M., Z. Čerešňáková, Z. Mlyneková, P. Fľak, M. Poláčikovǎ and A. Tomikovǎ, 2008: Nutritive assessment of co-products from biofuel production in ruminants. 7. BOKU-Symposium Tierernährung. Tagungsband, S 210-215.

Ettle, T., A. Obermayer und H. Spiekers, 2011: Protein in der Ration richtig ergänzen. Landw. Wochenblatt, 201 Jg., Heft 9, S 51-52.

Leitgeb, R., G. Wiedner, J. Hirschböck und Tatjana Figl-Wolfsberger, 2010: Einsatz von DDGS im Eiweißergänzungsfutter für die Stiermast. 9. BOKU-Symposium Tierernährung. Tagungsband, S 112-119

Spiekers, H., Urdl, M., Preissinger, W. und L. Gruber, 2006: Bewertung und Einsatz von Getreideschlempen beim Wiederkäuer. 5. BOKU-Symposium Tierernährung. Tagungsband, S 25-34.

Van Horn, H. H., O. Blanco, B. Harris, Jr. und D. K. Beede, 1985: Interaction of protein percent with caloric density and protein source for lactating cows. J. Dairy Sci. 68, 1682-1695.


## Autorenanschrift


DI Dr. Tatjana Figl-Wolfsberger
AGRANA Bioethanol GmbH
A-3435 Pischelsdorf
E-Mail: tatjana.figl_wolfsberger@agrana.at

# AGRANA.
# DER NATÜRLICHE MEHRWERT.

Unsere Bio-Produkte werden von der Austria Bio Garantie zertifiziert

AGRANA -
größter Einzelfuttermittelproduzent
ÖSTERREICHs!

WWW.AGRANA.COM

AGRANA

# Effect of partly substitution of sunflower meal by rapeseed meal in diet for growing rabbits on the performance, digestibility and physiological parameters

**P. Matusevicius[1], J. Juskiewicz[2], Z. Zdunczyk[2], K. Kozłowski[3] and H. Jeroch[3]**

[1] Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy, Kaunas, Lithuania
[2] Inst. of Animal Reproduction and Food Research of Polish Academy of Sciences, Olsztyn, Poland
[3] University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Department of Poultry Science, Olsztyn, Poland

## Introduction

Rape hybridists have improved the quality of the rapeseed. In comparison with the traditional rapeseed, the 00-rapeseed cultivars are free from erucic acid and contain less than 10% of the glucosinolates. This breeding progress stimulated worldwide the rapeseed production and in Lithuania as well. Rapeseed meal and rapeseed cake as by-products of the rapeseed processing play an increasing role in the feed industry. There are many experiments with several farm animals to characterize the nutritive value of the by-products from 00-rapeseed. However, only few information sources are available concerning the effect of the by-products in rabbit nutrition. Hence, the aim of the presented study was to test the nutritive and physiological properties of rapeseed meal containing biological active substances, polysaccharides and glucosinolates, on growing rabbits. Glucosinolates are secondary plant metabolites that occur in all Brassica-originated feeds and fodders (i.e. rapeseed products). The glucosinolates content is generally higher in rapeseed meal varieties grown under tropical environment than those occur in temperate regions. Brassica meals are generally not being used in rabbit feeding (Tripathi et al., 2007). Higher levels of glucosinolate (17.6–25.3 mol $g^{-1}$ diet) produced severe growth depression and increased mortality (CSWRI, 2002). With limited experiments it appears that rapeseed–mustard meal can be used below 100 g in broiler rabbits' diet, while insuring an upper glucosinolate limit of 8.0 mol $g^{-1}$. The short period of feeding it to broiler rabbits might be the reason for higher glucosinolate tolerance. Whereas use of rapeseed meal in starter rabbit diets should not be recommended (Dänicke et al., 2004) because even 50 g rapeseed meal inclusion reduced growth. Research carried out in the last few years proved that souring of rapeseed meal can completely remove goitrogenic substances (VTO and isothiocyanates). The presence of these substances is a limiting factor in using rapeseed meal in pig and poultry nutrition (Szebiotko, 2003). T. Gippert (Gippert, 1980) compared the nutritive value of the oil meals of soybean, sunflower, rapeseed and linseed. No toxic effect was observed with rapeseed meal. The aim of the presented study was the characterization of the physiological properties of rapeseed meal containing biological active substance, polysaccharides and glucosinolates. The rapeseed meal was added to rabbits' diet at the level of 5.0 and 10.0 %.

## Materials and methods

The experimental period lasted for 36 days (40 day till 76 day). A total of 24 male New Zealand white rabbits aged of 40 were used. In the study, rabbits were divided into three experimental groups each consisting of eight animals. They were kept individually in wire net flat deck-battery cages and main-

tained under standard conditions: temperature of 19–21 °C and relative air humidity of 60–75%, intensive ventilation of rooms and regulated photoperiod (16 h lighting and 8 h darkness). Experimental diets were administered *ad libitum* for 36 days. A commercial and antibiotic-free diet was fed to the control group. In the rapeseed meal treatments, rabbits were provided with diets supplemented with 5.0% (group II) or 10.0% (group III) of rapeseed meal, added at the expense of sunflower meal. Ingredients of the diets were as follows: barley, oat, wheat bran, sunflower meal, soybean meal, rapeseed meal (for groups II, III RSM), grass meal, dried sugar beet pulp, minerals and premix (trace elements, vitamins). Rapeseed meal consisted of (kg DM): crude protein, 320 g; crude fat, 15 g; crude fibre, 120 g; neutral detergent fibre, 268 g; hemicelluloses, 59 g; acid detergent fibre, 209 g; cellulose, 121 g; lignin, 88 g and of 18,6 µmol total glucosinolates/g. The diets compounded of (in kg OM): crude ash, 49 g; crude protein, 175; crude fat, 44 g; crude fibre, 145; lysine, 8.3 g; methionine + cystine, 8.0 g; calcium, 10.1 g; digestible phosphorus, 5.3 g; metabolic energy, 9.83 MJ.

Individual feed consumption and body weight gain of rabbits were determined, and feed conversion efficiency was calculated. After the experiment, rabbits were weighed and anesthetized with sodium pentobarbitone as per the recommendations for euthanasia of experimental animals (Close et al., 1997). After laparotomy, the selected parts of the digestive tract (stomach, small intestine, caecum and colon) were removed and weighed. Samples of fresh digesta were used for immediate analysis (pH, dry matter content, viscosity rate and ammonia), the rest was transferred to microfuge tubes and stored at 70 $^{0}$C. The small intestine, caecum and colon walls were flushed clean with ice-cold saline, blotted on filter paper and weighed as tissue weight. As soon as possible after euthanasia (ca. 15 min), the stomach, the ileal, the caecal and the colonic pH were measured, using a microelectrode and pH/ION meter (model 301; Hanna Instruments, Vila do Conde, Portugal). Dry matter of the samples was determined at 105 °C. The total contents of the small intestine were collected, mixed on a vortex, and centrifuged at 10 000 g for 10 min. The supernatant fraction (0.5 ml) was placed in a Brookfield LVDV-II+ cone-plate rotational viscometer (CP40; Brookfield Engineering Laboratories, Stoughton, MA, SA) and the viscosity of all samples was measured at a fixed temperature of 37 °C and at a shear rate 60 per second. The viscosity value was recorded as an apparent viscosity. In fresh caecal digesta, ammonia was extracted, trapped in a solution of boric acid in the Conway's dishes, and determined by direct titration with sulphuric acid (Hofirek and Haas, 2001). Statistical analysis: The results were worked out statistically using one-way analysis of variance, and the significance of differences between the groups was determined by the Duncan multiple range test at the significance level of $p \leq 0.05$. The calculations were made with Statistica 6.0 (StatSoft Corp.).

# Results and discussion

Dynamics of rabbits' growth is presented in Table 1. It was determined that 5.0% and 10% supplement of rapeseed meal in completed composite rabbits feed had no significant influence on growth and weight gain of rabbits in experimental groups, as compared with rabbits of the same age in a control group. Usage of rapeseed meal in feed for treated rabbits had no influence on diet intake, as compared with the control group.

Influence of rapeseed meal supplement in a diet and of its amount on weight of ileal, caecal and colonic tissue in rabbits were analysed during the tests (Table 2). According to the results, 10% (high) addition of rapeseed meal increased mass of ileal and caecal digesta, as compared with the control group. The determined difference was statistically significant. There were no distinct differences on colonic digesta in a control and experimental groups. Ileal and colonic digesta tests had shown that at intake of composite feed supplemented with 10% (high) of rapeseed meal, pH of ileal and large intestines' digesta was lesser, as compared with rabbits of the same age in control group. According to the tests results, when 10 % and 5.0 % quantity of rapeseed meal was mixed in composite feed, there was no significant difference between dry matter concentration of colonic digesta in the treatment and

control groups. However, 10 % supplement of rapeseed meal had positive influence on dry matter concentration in caecal and colonic digesta.

The test results had shown that feeding rapeseed meal decreased viscosity of ileal digesta in rabbits. The digestive system of rabbits is specific and more vulnerable, as compared with other species, because digestion and nutrition processes are strongly affected by microbial activity in caecum. It was determined during the tests that 10% supplement of rapeseed meal significantly increased content of ileal digesta, decreased viscosity and pH of digesta and its dry matter content, whereas 5,0 % addition of rapeseed meal in rabbits' diet had no significant difference on the values.

**Table 1**: Performance of rabbits fed rations without and with rapeseed meal

| Parameters | Group I without RSM | Group II 5 % RSM | Group III 10 % RSM |
|---|---|---|---|
| Initial body weight (kg) | 1.033±66 | 1.014±60 | 1.030±84 |
| Final body weight (kg) | 2.206±83 | 2.178±77 | 2.254±100 |
| Diet intake (g/day) | 108±5$^{a}$ | 107±5$^{a}$ | 128±7$^{b}$ |
| FCR (kg feed/ kg gain) | 3.26 ±0,11 | 3.28 ±60 | 3.29 ±84 |

Means within a row with different superscripted letters ($^{a, b}$) are statistically different ($p \leq 0.05$)

**Table 2**: Caecal and Colonic parameters fed rations without and with RSM

| Parameters | Group I Without RSM | Group II 5 % RSM | Group III 10 % RSM |
|---|---|---|---|
| *Caecal* | | | |
| Tissue weight (g/kg BW) | 15.04 ± 0.46 | 14.18 ± 0.36 | 15.27 ± 0.51 |
| Digesta weight (g/kg BW) | 30.61 ± 1.84 | 34.82 ± 2.17 | 31.79 ± 2.02 |
| pH of digesta | 6.91 ± 0.08$^{a}$ | 6.77 ± 0.03$^{a}$ | 6.54 ± 0.08$^{b}$ |
| Dry matter (%) | 19.86 ± 0.72$^{b}$ | 21.68 ± 0.46$^{a}$ | 21.52 ± 0.50 |
| Ammonia (mg/g) | 0.359 ± 0.03$^{a}$ | 0.319 ± 0.01$^{a}$ | 0.236 ± 0.07$^{b}$ |
| *Colonic* | | | |
| Tissue weight (g/kg BW) | 11.08± 0.58 | 11.01 ± 0.49 | 11.42 ± 0.29 |
| Digesta weight (g/kg BW) | 7.03 ± 0.66 | 7.26 ± 0.73 | 7.04 ± 1.11 |
| pH of digesta | 7.24 ± 0.04$^{a}$ | 7.04 ± 0.02$^{b}$ | 6.77 ± 0.08$^{c}$ |
| Dry matter (%) | 16.84 ± 0.54$^{b}$ | 18.04 ± 0.73$^{ab}$ | 19.36 ± 0.75$^{a}$ |
| Ammonia (mg/g) | 0.487 ± 0.05$^{a}$ | 0.399 ± 0.04$^{b}$ | 0.384 ± 0.06$^{b}$ |

Bacteria are distributed in all digestive tract, however the largest colonies and the highest metabolic activity is determined in caecum and colon in rabbits. Decreased pH of digesta was determined in an ileum. Referring to data of the accomplished experiment it could be stated that after mixing in rapeseed meal, especially in large amounts, mass of digesta was higher. Osmotic activity of rapeseed meal promotes water absorption in the intestine, increases mass of small intestine's digesta and its dry matter content. Rapeseed meal supplement decreased viscosity of digesta in a digestive tract. When viscosity of digesta is lower, peristaltic mixing in gastrointestinal tract is more active, diffusion of nutrients through intestinal wall and absorption of organic matter goes faster and digestibility of nutrients improves.

The accomplished experiments had shown that small quantities of rapeseed meal in the diets of both experimental groups had no significant effect on relative mass of caecal and colonic tissue. Statistically significant diminishing of caecal digesta was estimated in III experimental group. Addition of

rapeseed meal increased amount of caecal digesta in rabbits from I group without RSM, though the result was not statistically significant. We assume that rapeseed meal in rabbits' feed could stimulate growth of bacterial biomass, could disclose water binding ability and promote faster transportation of digesta in gastrointestinal tract. Ammonia content in caecum in rabbits from the treatment groups was lower than in a control group. The tests had revealed that rapeseed meal decreased pH of colonic digesta. The pH value of colonic digesta varied linearly (from 7.24 to 6.77, $p \leq 0.05$), when inclusion of rapeseed meal increased.

**Table 3**: Bacterial enzyme activity in the caecal and colonic digesta fed rations without and with RSM

| Parameters | Group I<br>Without RSM<br>*caecum*<br>*colon* | Group II<br>5 % RSM<br>*caecum*<br>*colon* | Group III<br>10 % RSM<br>*caecum*<br>*colon* |
|---|---|---|---|
| $\alpha$-glucosidase | 4.15 ± 0.76<br>2.94 ± 0.32 | 4.79 ± 0.19<br>2.82 ± 0.17 | 3.95 ± 0.33<br>2.71 ± 0.25 |
| $\beta$-glucosidase | 6.23 ± 0.75<br>3.85 ± 0.50 | 5.57 ± 0.71<br>3.75 ± 0.54 | 5.76 ± 0.79<br>3.91 ± 0.73 |
| $\alpha$-galactosidase | 4.26 ± 0.44$^{b}$<br>2.35 ± 0.32$^{b}$ | 6.50 ± 0.53$^{a}$<br>3.42 ± 0.25$^{a}$ | 5.97 ± 0.59$^{a}$<br>3.79 ± 0.34$^{a}$ |
| $\beta$-galactosidase | 10.4 ±0.62<br>4.98 ± 0.57 | 10.5 ± 1.12<br>6.71 ± 0.84 | 8.71 ± 0.96<br>7.28 ± 1.19 |
| $\beta$-glucuronidase | 32.8 ± 5.04<br>26.4 ± 4.65$^{a}$ | 32.7 ± 3.22<br>16.0 ± 2.26$^{b}$ | 34.2 ± 4.15<br>15.0 ± 2.83$^{b}$ |

Replacement of dried rapeseed meal, especially at a 10 % dose, appeared to be beneficial to ileal metabolism (decreased pH and viscosity), caecal and colonic fermentation (lower colonic pH, diminished activity of potentially harmful bacterial enzymes b-glucosidase and b-glucuronidase, increased production of VFA) as well as plasma lipid profile (decreased concentration of triglycerides, cholesterol and urea) of 40- to 76-day old New Zealand rabbits. Our results supported the hypothesis that rapeseed meal be considered as an effective and affordable (economical) additive in the diets of rabbits.

# Conclusions

Rapeseed meal supplement in completed feed had no significant influence on rabbits' growth, weight gain and feed consumption. Total 10% supplement of rapeseed meal in completed feed for rabbits decreased pH and viscosity of ileal digesta, increased water absorption of ileal and colonic digesta in treatment groups as compared with a control group ($p \leq 0.05$). 5.0% of rapeseed meal addition in completed feed for rabbits significantly reduced pH of large intestine's digesta as compared with rabbits in control group of the same age ($p \leq 0.05$).

## References

CSWRI, 2002. Long term feeding effect of high glucosinolate mustard meal on rabbits. Annual Report 2002–2003. Central Sheep and Wool Research institute, Avikanagar, India.

Dänicke, S., Ahrens, P., Strobel, E., Brettscheider, J., Wicke, M., Von Lengerken, G., 2004. Effects of feeding rapeseed to fattening rabbits on performance, thyroid hormone status, fatty acid composition of meat and other meat quality traits. Archiv für Geflügelkude 68, 15–24.

Szebiotko, K., 2003. Utilization of agroindustrial by-products and crop residues by monogastric species in Europe. University of Agriculture, Institute of Food Technology of Plant Origin, Poznan, Wojska Polskiego 31 Poland

Tripathi M.K., Mishra A.S., 2007. Glucosinolates in animal nutrition: A review. Animal Feed Science and Technology 132, 1–27.

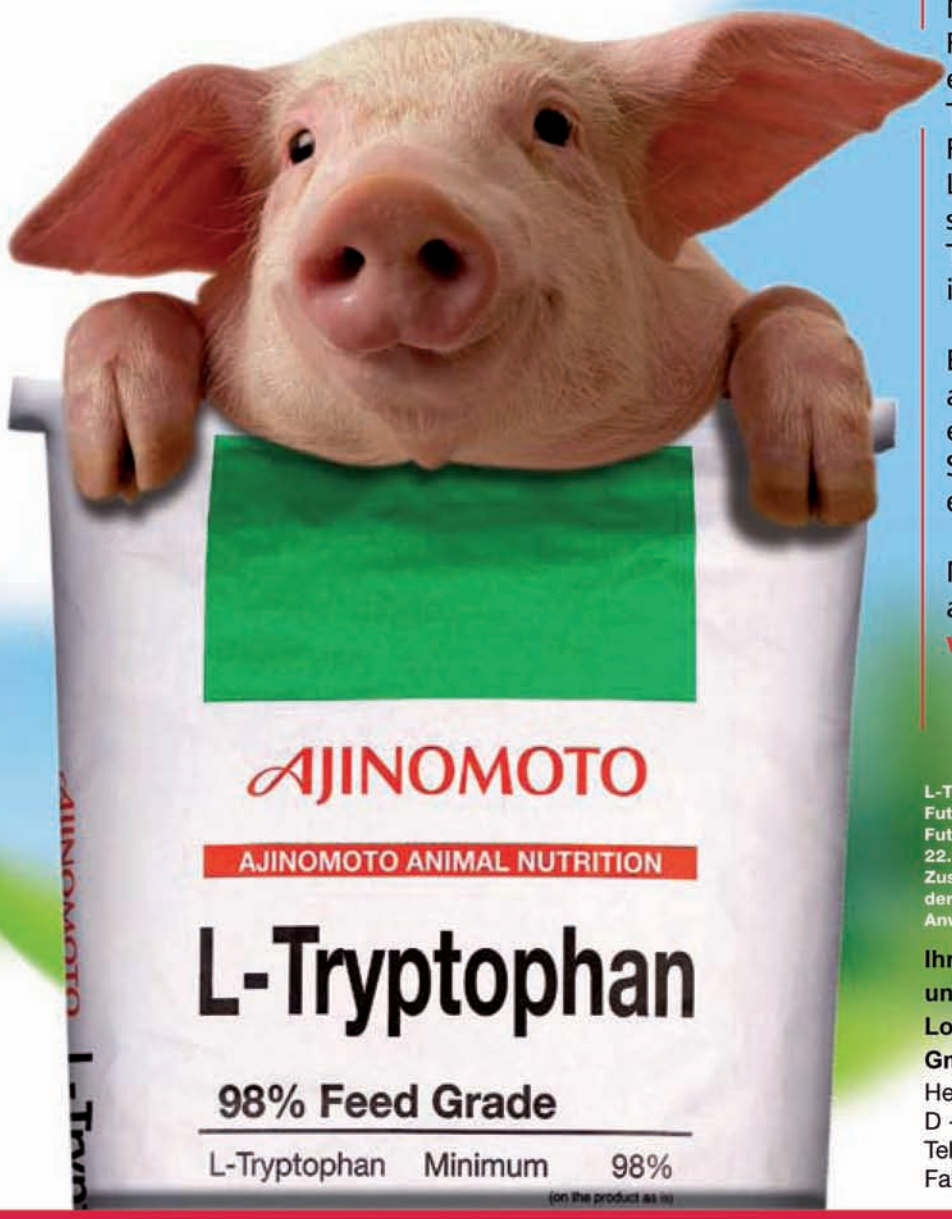
WHO Setting the ADI. In: Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Foods. Environmental Health Criteria 70. IPCS International Programme on Chemical Safety in Cooperation with the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). World Health Organization, Geneva. 1987. P. 75–85.

## Corresponding author

Dr. Paulius Matesevicius
Lithuanian University of Health Sciences
Veterinary Academy
Tilzes st. 18
LT-47181 Kaunas, Litauen
E-mail: paulmat@lva.lt

AJINOMOTO

# EIN FAN von Tryptophan !




Für einen guten Start benötigen Ferkel ein optimal mit Aminosäuren ausbilanziertes Futter.

Neue Ergebnisse aus Fütterungsversuchen zeigten einen positiven Effekt von Tryptophan auf die Futteraufnahme und die Leistung nach dem Absetzen sowie ein optimales Tryptophan : Lysin-Verhältnis im Futter von 22%.

Ein adäquat mit L-Tryptophan ausbilanziertes Ferkelfutter ermöglicht einen erfolgreichen Start. Deshalb sind Ferkel bereits ein Fan von Tryptophan!

Mehr Informationen finden Sie auf unserer Website **www.tryptophan.eu**

**L-Tryptophan technisch rein ist ein Futterzusatzstoff für die Tierernährung gemäß der Futterzusatzstoff-Verordnung EG 1831/2003 vom 22.09. 2003, Kategorie "ernährungsphysiologische Zusatzstoffe", Funktionsgruppe "Aminosäuren, deren Salze und Analoge" und ist für die Anwendung bei allen Tierarten zugelassen**

**Ihr Kontakt in Deutschland und Österreich:**
**Lohmann Animal Health GmbH & Co.KG**
Heinz-Lohmann-Strasse 4
D - 27472 Cuxhaven
Tel : +49 (0) 4721 - 747 0
Fax : +49 (0) 4721 - 747 124

Privilège : +33 1 47 47 20 80

AJINOMOTO

AJINOMOTO ANIMAL NUTRITION

**AJINOMOTO EUROLYSINE S.A.S.**

153, rue de Courcelles - 75817 Paris cedex 17 - France
Tel : +33 1 44 40 12 12 - Fax : +33 1 44 40 12 13
**www.ajinomoto-eurolysine.com**

AJINOMOTO EUROLYSINE S.A.S. ist zertifiziert gemäß ISO 9001, FAMI-QS, ISO 14001 und OHSAS 18001.

# Pansengeschütztes Fett bei Hochleistungskühen im Weidegang

**R. Stankevičius[1], S. Mikulionienė[2], V. Juozaitienė[1], R. Želvytė[1], I. Monkevičienė[1], J. Laugalis[1] und A. Jerešiūnas[1]**

[1] Veterinärmedizinische Akademie der Litauischen Universität für Gesundheitswissenschaften
[2] Litauische Landwirtschaftliche Universität

## Einleitung

In Litauen werden gute Erfolge bei der Steigerung der Milchleistung durch bessere Ausnutzung des genetischen Potenzials, verbesserte Fütterungs- und Haltungsbedingugen erzielt. Ernährung hat große Einflüsse auf die Nutzungsdauer und Leistung der Tiere sowie Milchinhaltsstoffe und -parameter. Deshalb spielen ausgeglichene Rationen und Futterqualität in der Milchkuhfütterung eine besondere Rolle, zumal auf Futtermittel der Großteil von Milcherzeugungskosten (ca. 65 %) entfällt. Zahlreiche Untersuchungen belegen, dass eine unausgewogene Ration (Energie-, Eiweißmangel bzw. -überschuss) sich negativ auf Milchleistung und Milchinhaltsstoffe auswirken.

Infolge physiologischer Hindernisse erfahren Hochleistungskühe nicht selten einen Energiemangel bereits zu Laktationsbeginn (Jukna et al., 1994; Drochner et al., 1999). Sollte der Energemangel längere Zeit fortwähren, leiden die betroffenen Tiere unter alimentären Distrophie (Ulbrich et al., 2004). Zur Deckung des großen Energiebedarfs werden daher in der Fütterung von Hochleistungskühen energiereiche Futtermittel, Ergänzungsfuttermittel und spezielle energetische Zusätze eingesetzt.

Fett liefert 2,25-fache Energiemenge wie Kohlenhydrate, ihr Anteil in der Ration darf jedoch nicht 3-5 %, bezogen auf TS, überschreiten (Jeroch et al., 2010; Jenkins, 1998). Relling und Reynolds (2007) stellten bei ihren Untersuchungen vom pansengeschützten Fett in der Milchkuhfütterung fest, dass größere Anteile an ungesättigten Fettsäuren zu einer geringeren Milchleistung und verminderten Milchfettgehalten führen. Gelöst wird das Problem deshalb mit pansengeschütztem Fett auf der Basis von gesättigten Fettsäuren (Südekum, 2006).

Im Hinblick auf den Energiegehalt stoßen litauische Milchkuhbetriebe auf große Schwierigkeiten bei der Rationsgestaltung, die durch pansenstabiles Fett, das zum größten Teil aus gesättigten Fettsäuren besteht, teilweise gelöst werden könnten. Zu diesem Zweck wurde ein Versuch durchgeführt, in dem die Wirkung vom dänischen pansenstabilen Fett NLM 66 auf die Verdaulichkeit des Weidefutters, Milchleistung und zootechnische Effizienz geprüft wurde.

## Material und Methoden

Der Versuch erfolgte 2009 in einem privaten Milchkuhbetrieb, Zinenai, Radviliskis Bezirk, in der Weideperiode (von 08.06 bis 22.09). Die Vorperiode dauerte 14 Tage, die Versuchsperiode – 90 Tage. Zwei in Bezug auf Körpermasse, Laktation und Leistung identische Tiergruppen wurden gebildet: Kontrolle und Versuchsgruppe (Tabelle 1).

Die Tiere beider Gruppen weideten in der Versuchsperiode auf derselben Weide, den Kontrolltieren und Versuchstieren wurde das gleiche Kraftfutter verabreicht, als individuelle Gaben je nach der Kuhleistung (0,250 g/kg). Die Versuchstiere bekamen zusätzlich je 0,4 kg pansengeschütztes Fett NLM

66. Gemäß der Herstellererklärung handelt es sich bei diesem Produkt um pansengeschütztes Fett pflanzlicher Herkunft zur verbesserten Energieaufnahme sowie zur Erhöhung der Milchleistung und des Milchfettgehaltes. NLM 66 kann als Einzelfuttermittel verabreicht oder dem Kraftfutter sowie anderen Futterzusätzen beigemischt werden. Es ist ein Trockenprodukt, das Ca-Seifen und pflanzliche Mono-, Di- und Trigliceride enthält (Tabelle 2).

**Tabelle 1**: Versuchsdesign

| Gruppe | Ration |
|---|---|
| Kontrolle (n=13) | Weide, betriebseigenes Kraftfutter (Quetschweizen, Gerste, Wicken, Hafer, Vormischung) |
| Versuchsgruppe (n=13) | Weide, betriebseigenes Kraftfutter (Quetschweizen, Gerste, Wicken, Hafer, Vormischung) und 0,4 kg geschütztes Fett NLM 66 je Tier und Tag |

**Tabelle 2**: Zusammensetzung vom pansengeschützen Fett NLM 66

| Zusammensetzung: | Fettsäurenmuster: |
|---|---|
| Rohfett, 92 %<br>Rohasche, 6 %<br>Calcium, 4 %<br>Nickel, < 5 ppm<br>Feuchte, 2 % | $C_{14:0}$ (Miristinsäure), 1 %<br>$C16_{:0}$ (Palmitinsäure), 48 %<br>$C18_{:0}$ (Stearinsäure), 23 %<br>$C18_{:1}$ (Ölsäure), 22 %<br>$C18_{:2}$ (Linolensäure), 5 % |
| Fettsäuren (Anteil an Rohfett): 85 % | Energetischer Futterwert für Wiederkäuer: 32,7 MJ UE/kg |

Die Rationskalkulation erfolgte mittels einer Milchkuhfütterungsofware. Die Rationen entsprachen den Bedarfsanforderungen an Milchkuhernärung (Jatkauskas et al., 2002; Jeroch et al. 2004).

Milchmengen wurden einmal wöchentlich im Rahmen von Kontrollmelkungen erfasst. Milchproben für die Bestimmung der Milchinhaltsstoffe wurden einmal monatlich entnommen. Die Milchanalysen wurden im Labor der öffentlichen Einrichtung VĮ „Pieno tyrimai" (Milchuntersuchungen) durchgeführt. Die Milchprobenentnahme orientierte sich an festgelegten Normen (LST EN ISO 707:1999+P:2003 Milch und Milchprodukte. Regeln der Probenentnahme). Bestimmt wurden folgende Milchinhaltstoffe: Milchfett, Milcheinweiß, Milchzucker, Harnstoff. Ihre Gehalte wurden mit dem Gerät LactoScope FTIR (FT1.0.2001; Delta Instruments, Niederlande) erfasst.

Zu Beginn und am Ende des Versuches wurden Panseninhaltsproben für biochemische und mikrobiologische Analysen entnommen. Dafür wurden je drei Versuchs- und Kontrolltiere ausgewählt. Am Versuchsende wurde auch die OS-Verdaulichkeit des Weidefutters *in vitro* bestimmt (Monkevičienė, 1999). Panseninhalt wurde mit der Speiseröhresonde GDZ – 1 (Sederevičius, 2000) genommen. Bestimm wurde: pH-Wert, Infusorienzahl, Gesamtmenge flüchtiger Fettsäuren; die pH-Werte elektrometrisch mit dem pH-Meter „CP-315"; Infusorienzahl in der Zählkammer Fuchs–Rosenthal nach Schultz (1971), Reduktion bakterieller Aktivität nach Dirksen (1969), Glucosevergärung nach Bakūnas (2004), Gesamtmenge flüchtiger Fettsäuren nach Pustovoj (1978). Anhand dieser Parameter wurde Pansenaktivität beurteilt.

Die erhobenen Daten wurden statistisch ausgewertet mit der Software „P 1.7.1." (http://www.r-project.org) und WinExcel. Mittelwerte der Stichproben wurden im t-Test geprüft, dabei wurde das Signifikanzniveau $p<0,05$ gewählt (Juozaitienė u. Kerzienė, 2001).

# Ergebnisse und Diskussion

Vor dem Versuchsbeginn erfolgte eine kurze Gewöhnungsphase, indem 100–200 g pansenstabiles Fett in den ersten zwei Wochen dem Kraftfutter manuell beigemischt wurde. In einer Woche gewöhnten sich die Tiere an den Zusatz und zeigten später keine Fressunlust. Milchmengen in den beiden Gruppen haben sich fortschreitend erhöht (Abbildung 1).

Milchleistung der Versuchsgruppe war etwas höher (Abbildung 1). Über die gesamte Versuchsperiode (90 Tage) betrug die tägliche Milchmenge in der Versuchsgruppe im Mittel 28,7 kg je Kuh, 3 kg (11,6 %) mehr im Vergleich mit der Kontrolle (25,7 kg) ($p < 0,05$). Die gesamte Milchmenge von einer Versuchskuh lag in den 90 Tagen bei 2 583 kg Milch bzw. 2 847 kg korrigierte Milch (Basisfettgehalt von 3,4 %) (Abbildung 2).

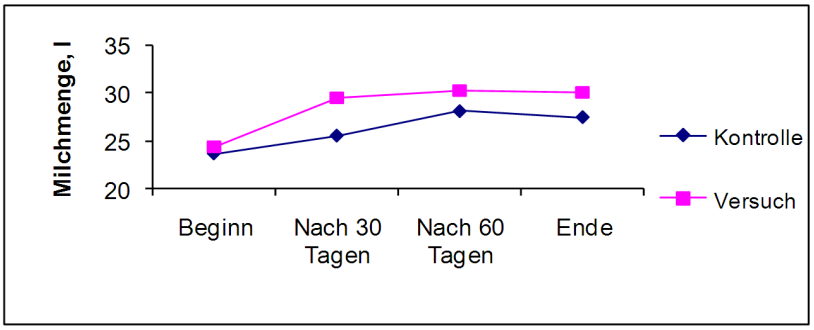



**Abbildung 1**: Entwicklung der Milchleistung

In der Versuchsgruppe war die Milchmenge pro Kuh um 270 kg bzw. 11,6 % (natürlicher Milchfettgehalt), Fett-korrigiert – 118 kg bzw. 4,3 % höher als in der Kontrolle. Die Milchfettgehalte in beiden Gruppen waren bereits zu Versuchsbeginn ungeachtet vergleichbarer Milchmengen unterschiedlich und zeigten im Verlauf des Versuches eine unterschiedliche Entwicklung (Tabelle 3).

**Tabelle 3**: Entwicklung des Milchfettgehaltes

| Gruppe | Versuchsbeginn | Nach 30 Tagen | Nach 60 Tagen | Versuchsende | Im Mittel |
|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 4,08±0,23 | 3,99±0,14 | 4,03±0,2 | 4,52±0,14 | 4,14±0,09 |
| Versuchsgruppe | 3,73±0,14 | 3,75±0,19 | 3,77±0,17 | 4,15±0,19 | 3,86±0,11 |

Im Verlauf des Versuches stieg der Milchfettgehalt in der Versuchsgruppe kontinuierlich, während sich in der Kontrolle Schwankungen beobachten ließen. Die höchsten Milchfettgehalte wurden am Ende des Versuches festgestellt (entsprechend 4,52 % und 4,15 %). Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Milcheiweißgehalte waren in beiden Gruppen vergleichbar, zeigten aber unterschiedliche Entwicklung. Der Versuch bestätigte die Tendenz, dass bei steigender Milchmenge Milcheiweißgehalt zwangsweise abnimmt (Tabelle 4).

In der gesamten Versuchsperiode waren die Milcheiweißgehalte in beiden Gruppen etwas höher als Referenzgehalt von 3 %. Zu Versuchsbeginn wurden keine wesentlichen Differenzen des Milcheiweißgehaltes zwischen den Gruppen festgestellt. Im Laufe des Versuches erhöhten sich die Milcheiweißgehalte kontinuierlich, in der Versuchsgruppe jedoch mit einer gewissen Verzögerung (Kontrolle – 0,31 %, Versuch – 0,24 % verglichen mit den Mittelwerten). Das benutzte pansenstabile Fett hatte somit keinen signifikanten Einfluss auf die Milchfett- und Milcheiweißgehalte.

**Tabelle 4**: Entwicklung des Milcheiweißgehaltes

| Gruppe | Versuchsbeginn | Nach 30 Tagen | Nach 60 Tagen | Versuchsende | Im Mittel |
|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 2,82±0,06 | 3,07±0,06 | 3,35±0,03 | 3,30$^{\times}$±0,06 | 3,13±0,04 |
| Versuchsgruppe | 2,80±0,06 | 3,08±0,08 | 3,07$^{*}$±0,08 | 3,17$^{\times}$±0,13 | 3,04±0,06 |

Anmerkungen: $^{*}$ p<0,05 – Vergleich zwischen den Gruppen, $^{\times}$ p<0,05 – verglichen wurden die Messungen zu Versuchsbeginn und am Versuchsende

Harnstoffgehalt ist ein guter Indikator für Fermentationsvorgänge im Pansen und den Ernährungszustand der Kühe. Er ermöglicht Rückschlüsse über Energie- und Proteingehalte sowie ihr Verhältnis in der Ration. Harnstoffgehalte entwickelten sich in beiden Gruppen ähnlich und hatten eine steigende Tendenz (Abb. 3). Harnstoffkonzentration in beiden Gruppen war zu Beginn des Versuches 2–4 mg/% unter der Norm, am Ende des Versuches dagegen 1–5 mg/% über der Norm. Die Erhöhung der Harnstoffgehalte sollte jedoch nicht in Verbindung mit dem Einsatz vom pansengeschützten Fett gebracht werden.

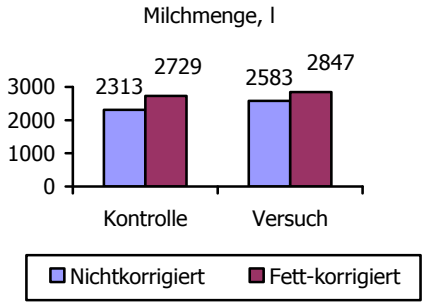



**Abbildung 2:** Mittlere Milchmenge je Kuh

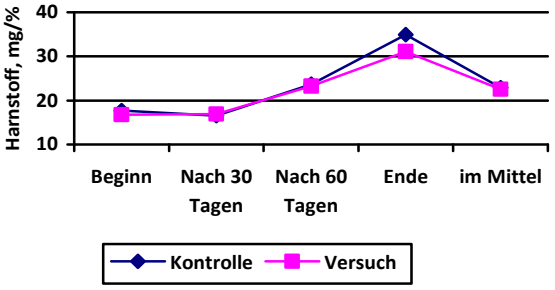



**Abbildung 3**: Harnstoffgehalt der Milch, mg/%

Milchzuckermengen in beiden Gruppen lagen im Bereich des Normalen, zeigten aber gewisse Differenzen (Abbildung 4). Milchzuckermenge hatte im Verlauf der Weideperiode eine sinkende Tendenz. Dies könnte durch Reduzierung des Verhältnisses vom unabbaubaren Protein und Energie mit fortschreitender Vegetation erklärt werden. Kein bedeutender Einfluss vom pansenstabilen Fett auf den Milchzuckergehalt konnte festgestellt werden.

Um Effekte des benutzten Zusatzes auf Verdauungsvorgänge beurteilen zu können, wurden biochemische und mikrobiologische Parameter des Panseninhalts zu Beginn und am Ende des Versuches untersucht (je drei Kühe).Es wurde festgestellt, dass biochemische und mikrobiologische Parameter im Bereich des Normalen schwankten (Tabelle 5).

Pansen-pH ist ein wichtiger Parameter, von dem Aktivität der Pansenflora und Fermentationsvorgänge abhängen. Optimal ist der pH-Wert von 6,3–6,8. Zellulolytische Aktivität ist beim pH-Wert von 6,0–6,8 am höchsten, amylolytische Mikroorganismen zeigen ihre höchste Aktivität beim Pansen-pH von 5,5-6,0 (Vattio, 2004, Czerkawski, 1986, Sederevičius, 2004). In unserem Versuch lag die Reduktionsaktivität der Pansenflora im Bereich des Normalen (32,5–143 s). Bei gesunden Kühen überschreitet die Reduktionsaktivität der Pansenbakterien nicht die Grenze von 3 Minuten bei Umwelttemperaturen von 20–22 °C.

Bei der Gärung im Pansen entstehen flüchtige Fettsäuren, die die wichtigste Energiequelle für Kühe sind und ca. 70 % Energie liefern. Durch bakterielle Gärung finden ruminaler Abbau von Kohlenhydraten und Aminosäuren sowie andere Prozesse statt. Die Menge flüchtiger Fettsäuren im Pansen schwankt je nach Rationszusammensetzung zwischen 60 und 150 mmol/l. Der Kohlenhydratmangel

führt zu einer unzureichenden Bildung von flüchtigen Fettsäuren im Pansen. In den untersuchten Proben erreichte die Bildung von flüchtigen Fettsäuren zu Beginn und am Ende des Versuches die Werte von 109–134 mmol/l und konnte damit als ausreichend beurteilt werden.

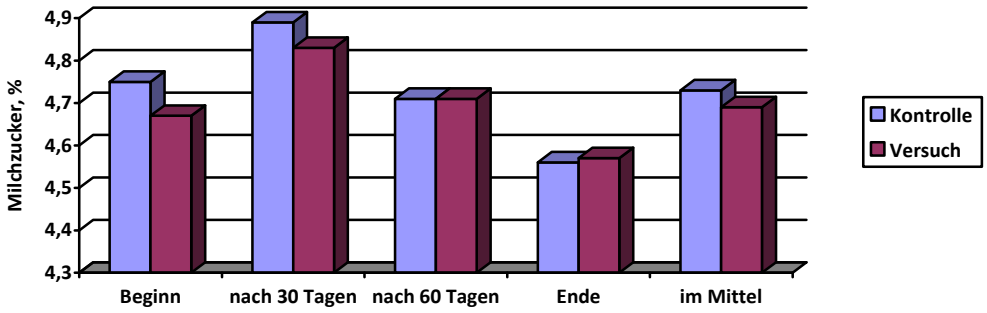



**Abbildung 4**: Entwicklung des Milchzuckergehaltes

**Tabelle 5**: Panseninhaltparameter

| Parameter | Kontrolle | | Versuch | |
|---|---|---|---|---|
| | Beginn | Ende | Beginn | Ende |
| pH | 6,25 ± 0,06 | 6,66$^{\times}$ ± 0,14 | 6,15 ± 0,07 | 6,56$^{\times}$ ± 0,07 |
| Reduktionsaktivität | 32,5 ± 3,54 | 85 ± 30,21 | 32,5 ± 3,54 | 143$^{\times}$ ± 22,73 |
| Glucosevergärung, $cm^3/h$ | 3,0 ± 0,71 | 1,58$^{\times}$ ± 0,37 | 2,5 ± 0,71 | 2,5 ± 0,94 |
| Flüchtige Fettsäuren, mmol/l | 134 ± 2,83 | 113$^{\times}$ ± 2,16 | 128 ± 14,14 | 109 ± 3,56 |
| Infusorienzahl, $\times 10^3$/ml | 269,92 ± 22,9 | 447,14$^{\times}$ ± 74,49 | 290,23 ± 1,99 | 344,01 ± 37,16 |

Anmerkungen: $^{\times}$ $p<0,05$ – verglichen wurden die Messungen zu Versuchbeginn und am Versuchsende

Protozoen machen beim Rind ca. ein Drittel der Pansenflora aus. Sie bauen Stärke, Zellulose und Hemizellulose ab. Dabei bildet sich mikrobielles Protein (unabbaubares Protein), das für die Milchsynthese genutzt wird. Veränderungen der Pansenflora führen zu Störungen der Biohydrogenisierung von ungesättigten Fettsäuren, dadurch häufen sich im Pansen Isomere konjugierter Linolsäure, die ein Absinken des Milchfettgehaltes zur Folge haben (Bauman and Lock, 2006). Infusorienzahl war im Laufe des Versuches nicht konstant: Zu Beginn des Versuches war dieser Parameter in der Versuchsgruppe höher, am Ende des Versuches dagegen niedriger als in der Kontrolle. Zusammenfassend lässt sich behaupten, dass das benutzte pansenstabile Fett keine nachteiligen Effekte auf Verdauungsvorgänge und mikrobielle Aktivität hatte.

Die OS-Verdaulichkeit des Weidefutters betrug am Ende des Versuches 80,98±0,35 (Kontrolle) und 80,71±0,44 (Versuchsgruppe). Der getestete Zusatz hatte keinen Einfluss auf diesen Parameter. Die *in vitro* ermittelten Verdaulichkeitswerte stimmen mit den Literaturangaben für Grünfutter in Litauen überein (Monkevičienė, 1996). Ähnliche Ergebnisse lieferten auch andere Untersuchungen von anderen Forschern (Drackley, 2006). Voigt et al. (2006) weisen darauf hin, dass die Fettzusätze, die keinen Einfluss auf Futterverdaulichkeit haben, im Pansen stabil bleiben. Somit kann man behaupten, dass pansenstabiles Fett NLM 66 im Pansen nicht abgebaut wurde und in weitere Abschnitte des Verdauungskanals gelangen konnte. Unsere Ergebnisse zum Panseninhalt stimmen mit den Befunden weiterer Untersuchungen überein (Voigt et al., 2006).

Die Ergebnisse zeigen, dass die untersuchten mikrobiologischen und biochemischen Pansenparameter im Bereich des Normalen schwankten und auf eine für Milchkühe ausgewogene Ration deuten (Laugalis et al., 2007; Monkevičienė, 1996).

Abschließen lässt sich festhalten, dass Versuchskühe im Vergleich mit den Kontrolltieren eine höhere Leistung zeigten. Dies sicherte mehr Einnahmen pro Kuh (Tabelle 6). Über die gesamte Prüfperiode entfielen auf eine Versuchskuh im Mittel 1566 Lt bzw. 4,4 % mehr Einnahmen im Vergleich mit den Kontrolltieren.

**Tabelle 6**: Einnahmen für Milch

| Gruppe | Milchmenge pro Kuh in 90 Tagen, korrigiert | Einnahmen pro Kuh in 90 Tagen (0,55 Lt/kg) | ±, im Vergleich mit der Kontrolle | %, im Vergleich mit der Kontrolle |
|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 2729 | 1500 | - | 100 |
| Versuchsgruppe | 2847 | 1566 | 66 | 104,4 |

# Schlussfolgerungen

In der Versuchsperiode wurden keine nachteiligen Effekte auf Verdauungsvorgänge, Pansenflora und Verdaulichkeit der organischen Substanz des Grünfutters sowie die Ernährungszustand und Leistung der Kühe festgestellt. Pansenstabiles Fett NML 66 in der Weideration hatte positiven Einfluss auf die Milchleistung, die tägliche Milchmenge ist im Mittel um 11 Prozent gestiegen ($p<0,05$). Die wirtschaftliche Effizienz des Zusatzes in der Weideperiode sicherte dem Betrieb im Mittel 4,4 % höhere Einnahmen pro Kuh.

## Literatur

Bauman D. E., Lock A. L. Concepts in lipid digestion and metabolism in dairy cows. Proc. Tri-State Dairy Nutr. Conf., 2006, 1-14

Czerkawski J. W. Microbial fermentation in the rumen. Oxford: Pergamon Press, 1986. 236 p

Dirksen G. Ist die "Methylenblauprobe" als Schnelltest für die klinische Pansensaftuntersuchung geeignet. Deutsch. Tierärztl. Wochsch, 1969. N. 12. S. 305–309.

Drackley J. K. Overview of Fat Digestion and Metabolism in Dairy Cows. 2006. http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=9151

Drochner W., Yildiz G. Aktuelles zum Einsatz von Ca-Seifen in der Milchkuhfütterung. Lohmann Information, 1999. No. 3/99, 1-6

Jatkauskas J., Vrotniakienė V., Kulpys J. ir kt. Mitybos normos galvijams, kiaulėms ir paukščiams. Kaunas: Leidykla, 2002. 70 p.

Jenkins T. The benefits and limitations of fat in Dairy rations. – http://www.txanc.org/proceedings/1998/benefits.pdf

Jeroch H., Sederevičius A., Pilipavičius V., Mikulionienė S., Steinhöfel O., Matusevičius P., Stankevičius R. Pašarai tradiciniai ir ekologiški. Kaunas: Vitae Litera, 2010. 423 p.

Jeroch H., Šeškevičienė J., Kulpys J. Žemės ūkio gyvulių ir paukščių mitybos fiziologinės reikmės. Kaunas: Naujasis lankas, 2004. 160 p.

Juozaitienė V., Kerzienė S. Biometrija ir kompiuterinė duomenų analizė. Kaunas, LVA. 2001. 115 p.

Laugalis J., Jatkauskas J., Vrotniakienė V., Želvytė R., Sederevičius A., Monkevičienė I., Makauskas S. Effect of inoculation on silage guality and rumen fermentation in dairy cows. Medycyna Veterynaryjna, 2007. Vol. 63 (9). P. 1057–1059.

Monkevičienė I. Karvių didžiojo prieskrandžio turinio fermentacinių procesų aktyvumo ir pašarų kokybės įtaka virškinamumui. Daktaro disertacija. Kaunas, 1996. 129 p.

Monkevičienė I. Žolinių ir stambiųjų pašarų atrajotojams organinės medžiagos virškinamumo ir apykaitos energijos nustatymas I- stadijos *in vitro* metodu. Metodiniai nurodymai, Kaunas, 1999. 11 p.

Pustovoj V. K. Gazohromatograficheskoje opredielienije zirnyh kislot v kormah i biologicheskih substratah selskohozeistvenyh zyvotnyh. Mietodychestkije rekomendacii. Borovsk, 1978. S. 3–8.

Relling A. E., Reynolds C. K. Feeding rumen-inert fats differing in their degree of saturation decreases intake and increases plasma concentrations of gut peptides in lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 2007. Vol. 90. P.1506–1515.

Sederevičius A. Diagnostiniai ir gydomieji zondai galvijams. Kaunas, 2000. P. 3–9.

Sederevičius A. Gyvūnų organizmo skysčių fiziologiniai rodikliai. Kaunas, 2004. P. 58–60.

Südekum K., H. Probleme der Energie- und Proteinversorgung bei Hochleistungskühen. 33 Viehwirtschaftliche Fachtagung, 2006. 19-26 s.

Ulbrich M., Hoffmann M., Drochner W. Fütterung und Tiergesundheit. Stuttgart: Ulmer, 2004. 416 S.

Vattio M. Šėrimas ir virškinimas // Versta iš anglų k. Dotnuva-Akademija, LŽŪKT, 2004. 79 p.

Voigt J., Kuhla S., Gaafar K., Derno M., Hagemeister H. Digestibility of rumen protected fat in cattle. Slovak J. Anim. Sci., 2006. Vol. 39. P. 16-19.

## Autorenanschrift

Sabina Mikulionienė
Litauische Landwirtschaftliche Universität,
Fakultät für Agronomie, Studentu 11,
Kaunas-Akademija, LT-53067, Litauen;
E-Mail: sabina.mikulioniene@lzuu.lt

Rolandas Stankevičius
Veterinärmedizinische Akademie der Litauischen
Universität für Gesundheitswissenschaften
Tilzes 18, Kaunas LT-47181, Litauen,
E-Mail: rolandas@lva.lt

# Einfluss von Rapskuchen auf die Milchfettzusammensetzung von hochleistenden Milchkühen

**Christian Koch[1], Franz-Josef Romberg[2], Herbert Steingaß[3] und Karl-Heinz Südekum[4]**

[1] Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung, Hofgut Neumühle, Münchweiler an der Alsenz
[2] Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Westpfalz, Münchweiler an der Alsenz
[3] Universität Hohenheim, Institut für Tierernährung, Stuttgart
[4] Universität Bonn, Institut für Tierwissenschaften, Abteilung Tierernährung, Bonn

## Einleitung

In den letzten Jahren war ein ständig zunehmender Rapsanbau in der Bundesrepublik Deutschland zu verzeichnen (vgl. Tabelle 1). Gründe hierfür waren eine erhöhte Biodieselnachfrage sowie die Nutzung von Rapsöl in der Humanernährung. Als Folge wurden Ölmühlen errichtet, die höhere Mengen Rapskuchen produzierten. Rapskuchen kann als energiereiches Eiweißfuttermittel charakterisiert werden. Da Rapskuchen in der chemischen Zusammensetzung und im Futterwert je nach Verarbeitungsintensität variiert, resultieren unterschiedliche Rohfett (XL)- und Rohprotein (XP)-Gehalte. Vielfach wird gefordert, den Rohfettgehalt in Milchkuhrationen auf 50 g/kg Trockenmasse (TM) zu begrenzen, um negative Auswirkungen größerer Mengen ungeschützter Fette auf die Faserverdauung und Pansenfermentation zu vermeiden. Deshalb werden häufig obere Einsatzgrenzen von 2 kg Rapskuchen pro Kuh und Tag eingehalten. In der vorliegenden Studie wurde der Einfluss von Rapskuchen (3,6 kg TM pro Kuh und Tag) auf die Milchfettzusammensetzung von hochleistenden Milchkühen geprüft.

**Tabelle 1**: Anbaufläche von Winterraps (ZMP, 2009)

| Jahr | Gesamte Anbaufläche (in 1.000 Hektar) |
|---|---|
| 2004 | 1.257 |
| 2005 | 1.323 |
| 2006 | 1.410 |
| 2007 | 1.539 |
| 2008 | 1.365 |
| 2009 | 1.462 |

## Material und Methoden

### Versuchsanlage, Versuchstiere und Haltung

Der Fütterungsversuch wurde an der Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung (LVAV), Hofgut Neumühle in Münchweiler an der Alsenz (Rheinland-Pfalz) durchgeführt. Zu Versuchsbeginn (August 2007) wurden an der LVAV etwa 85 Milchkühe der Rasse Deutsche Holstein gehalten. Die laktierenden Kühe befanden sich in einem dreireihigen Boxenlaufstall mit 60 Liegeboxen (Hoch- und Tiefboxen). Für den Fütterungsversuch standen alle laktierenden Tiere der Herde zur Verfügung, d. h. in der Regel befanden sich je nach Anteil an trockenstehenden Tieren 60 bis 65 laktierende Tiere im Versuch. Die abgekalbten Tiere wurden nach etwa 14 Tagen, sofern sie keine klinischen Auffälligkeiten (erhöhte

Temperatur, Ketose, usw.) zeigten, in die Versuchsherde integriert. Bei Einstallung von frisch laktierenden Tieren in die Versuchsgruppe wurden entsprechend altmelkende Tiere ausgestallt. Der Versuch gliederte sich in sieben Versuchsabschnitte zu je sieben Wochen. Die ersten 14 Tage dienten der Adaptation der Tiere an die Ration. Die folgenden fünf Versuchswochen dienten der Datenerhebung. Aus den im Fütterungsversuch stehenden Tieren wurden zu Versuchsbeginn 20 Tiere (Abkalbung kurz vor Versuchsbeginn, Juli 2007) ausgewählt, die den gesamten Versuchszeitraum durchlaufen sollten. Von diesen Tieren wurden in den ersten beiden Versuchsabschnitten (Kontrolle und Versuch) Proben zur Analyse der Milchfettzusammensetzung gesammelt, so dass immer die gleichen Tiere beprobt wurden.

Die gesamte Herde war entweder Kontroll- oder Versuchsgruppe (jedoch zeitversetzt), d. h. der Versuch gliederte sich wie folgt:

1. Abschnitt: Kontrolle (ohne Rapsprodukte)
2. Abschnitt: Versuch (mit Rapskuchen)
3. Abschnitt: Kontrolle (ohne Rapsprodukte)
4. Abschnitt: Versuch (mit Rapskuchen)
5. Abschnitt: Kontrolle (ohne Rapsprodukte)
6. Abschnitt: Versuch (mit Rapskuchen, mit Rapsextraktionsschrot)
7. Abschnitt: Kontrolle (ohne Rapsprodukte)

Die Tiere wurden zweimal täglich in einem Fischgrätenmelkstand mit fünf Plätzen sowie in einem Tandemmelkstand mit drei Plätzen, gemolken. An den Melkplätzen waren Melksteuergeräte (Metatron 12, Westfalia Surge GmbH, Bönen) installiert, kombiniert mit Melkzeugabnahme und Milchmengenmessung. Die tägliche tierindividuelle Milchmenge wurde mit Hilfe der Herdenmanagement-Software DairyPlan C21 erhoben und in täglichen Listen abgespeichert. Neben den monatlich vom Landeskontrollverband (LKV) Rheinland-Pfalz durchgeführten Milchkontrollen wurden während der 5-wöchigen Datenerfassungsperiode wöchentliche Milchproben von den laktierenden Tieren gezogen. Die Milchprobennahme erfolgte analog der offiziellen Milchleistungsprüfung des LKV mit geeichten Tru-Testern (Milchmengenmessgeräten). Aus je einem Abend- und einem Morgengemelk wurde eine aliquote tierindividuelle Milchprobe (50 ml) gewonnen und für die Analyse der Milchfettzusammensetzung tiefgefroren. Gefüttert wurden die Tiere zweimal täglich in 28 Fress-Wiegetrögen, wobei morgens (05.30 Uhr) etwa 40 % und nachmittags (15.30 Uhr) circa 60 % der Tagesmenge der Gesamtmischration (TMR) ausdosiert wurde. Die Wiegetröge wurden täglich vor der Morgen- sowie vor der Nachmittagsfütterung gereinigt, wobei die Futterreste entfernt und quantifiziert wurden. Zum Anmischen der TMR wurden die Rationskomponenten mit Hilfe von Schnecken über Kraftfutter-Silos bzw. manuell (Futterkalk, Mineralfutter, Natriumchlorid und Futterharnstoff) oder mittels der Entnahmefräse (Grassilage, Maissilage und Heu) des Futtermischwagens in den Mischbehälter mit 10m$^3$ Mischvolumen gefüllt. Der selbstfahrende Horizontalmischwagen Typ R.M.H. 350-CS (Lachish Industries, Israel) war mit vier horizontalen Mischschnecken ausgestattet.

Im Versuch eingesetzte Futtermittel sowie die Rationszusammensetzung sind der Tabelle 2 zu entnehmen.

**Tabelle 2**: Futtermittel und Rationszusammensetzung (*kalkulierte Gehalte)

| Komponente (% d. TM) | Gruppe 1: Kontrolle | 2: Versuch | 3: Kontrolle | 4: Versuch | 5: Kontrolle | 6: Versuch | 7: Kontrolle |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Maissilage | 32,1 | 32,1 | 32,1 | 32,1 | 32,1 | 32,1 | 32,1 |
| Grassilage | 18,2 | 18,2 | 18,2 | 18,2 | 18,2 | 18,2 | 18,2 |
| Heu | 6,9 | 6,9 | 6,9 | 6,9 | 6,9 | 6,9 | 6,9 |
| Wintergerste | 17,1 | 9,2 | 17,1 | 9,2 | 17,1 | 9,2 | 17,1 |
| Rapsextraktionsschrot | -- | -- | -- | -- | -- | 8,3 | -- |
| Sojaextraktionsschrot | 6,9 | 1,8 | 6,9 | 1,8 | 6,9 | -- | 6,9 |
| Rapskuchen | -- | 16,5 | -- | 16,5 | -- | 10,6 | -- |
| Körnermais | 17,4 | 13,8 | 17,4 | 13,8 | 17,4 | 13,8 | 17,4 |
| NEL/kg TM* | 7,04 | 7,27 | 7,04 | 7,27 | 7,04 | 7,27 | 7,04 |
| XP g/kg TM* | 159 | 159 | 159 | 159 | 159 | 159 | 159 |
| nXP g/kg TM* | 155 | 150 | 155 | 150 | 155 | 150 | 155 |
| XF g/kg TM* | 156 | 153 | 156 | 153 | 156 | 159 | 156 |
| XL g/kg TM* | 34 | 63 | 34 | 63 | 34 | 49 | 34 |
| RNB g/kg TM* | 0,6 | 1,5 | 0,6 | 2,7 | 0,6 | 3,3 | 0,6 |

Alle Tiere erhielten täglich 100 g Futterkalk, 70 g Mineralfutter und 100 g Futterharnstoff. In Versuchsabschnitt 2 wurde kein Futterharnstoff an die Tiere verfüttert.

**Milchfettzusammensetzung**

Im Institut für Tierernährung der Universität Hohenheim wurde die Milchfettsäurenzusammensetzung bestimmt. Hierzu wurden die aliquoten Proben der 20 ausgewählten Tiere (aus dem 1. und 2. Versuchsabschnitt) aufgetaut und jeweils 10 g pro Probe in ein Zentrifugengefäß überführt und bei 12000 rpm und 4° C für eine halbe Stunde abzentrifugiert. Das Gemisch aus Fett und anderen Milchbestandteilen setzte sich als Kuchen oben im Zentrifugengefäß ab und wurde dann zur weiteren Aufarbeitung abgeschöpft. Die Gewinnung des Milchfettes aus den Proben erfolgte wie bei HARA und RADIN (1978) beschrieben:

- 18 ml/g Fettkuchen der Hexan-Isopropanol-Mischung (Verhältnis 3:2 Vol/Vol) zugeben und 1 Min. mixen
- 12 ml/g Fettkuchen Natriumsulfatlösung (6,7 % in $H_2O$) zugeben und 1 Min. mixen
- Phasentrennung abwarten
- die obere Phase (Hexan) in ein Probengefäß mit 1 g wasserfreies $Na_2SO_4$ überführen und 1 Min. mixen
- bei 4° C für 10 Min. abzentrifugieren
- erneut die Hexanphase überführen und dann bei 40° C unter Stickstoffbegasung das Hexan abdampfen.

Die abgedampften Milchfettproben wurden wie bei CHOUINARD et al. (1999) und CHRISTIE (1982) beschrieben methyliert und mittels eines Gaschromatographen hp 6890 mit Probengeber und Flammenionisationsdetektor analysiert. Bei der Analyse diente Helium als Trägergas und Stickstoff als „makeup-Gas". Als Säule zur Trennung wurde eine 30 Meter lange Supelco SP 2380 mit einem Querschnitt

# Ergebnisse

Rapskuchen veränderte aufgrund seiner Fettsäurenzusammensetzung auch die Milchfettzusammensetzung der Kühe. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse zusammenfassend dargestellt.

**Tabelle 3**: Fettsäurenmuster der Milchfettproben, Angaben in % der analysierten Fettsäuren (FS) (KOCH, 2010)

| Fettsäuren | Versuchsabschnitt 1 (Kontrolle) | Versuchsabschnitt 2 (Rapskuchen) |
|---|---|---|
| Summe der *de novo* synthetisierten FS C 4:0-C 15:0 | 32,8[a] | 25,6[b] |
| Summe der FS ≥ C 18:0 (werden direkt aus dem Futterfett übernommen) | 30,6[a] | 49,5[b] |
| Summe der ungesättigten FS C 14:1-C 20:1 | 26,0[a] | 39,8[b] |
| Summe der gesättigten FS C 4:0-C 20:0 | 74,1[a] | 60,9[b] |

unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede (p<0,05)

Bei der Betrachtung der kurz- und mittelkettigen Fettsäuren kann in jeder Fettsäure von C 4:0 bis C 15:0 (mit Ausnahme von C 14:1) eine deutliche Reduktion (p<0,05), im Vergleich zur Kontrollration festgestellt werden. Die Verfütterung von Rapskuchen führt zu einer Reduzierung (p<0,05) der im Euter *de novo* synthetisierten kurz- und mittelkettigen Fettsäuren, von 32,83 % in der Kontrollration zu 25,58 % in der Versuchsration. Die mittelkettige Fettsäure C 16:0 (Palmitinsäure) wurde nicht in die Summenbildung einbezogen, da deren Herkunft nicht sicher quantifiziert werden kann, da ein Teil im Euter *de novo* synthetisiert wird und der andere Anteil aus dem Futterfett sowie der Mobilisierung von Körperfett stammt. Die Milch der Tiere, die die Kontrollration erhielten, weist mit 33,62 % einen höheren Gehalt (p<0,05) an Palmitinsäure (C 16:0) als die der Tiere in der Versuchsgruppe mit 22,86% auf. Die Fettsäure C 18:0 (Stearinsäure) welche aus der ruminalen Biohydrogenierung stammt, liegt bei den Versuchstieren mit einem prozentualen Anteil von 13,09 der analysierten Fettsäuren im Milchfett um 4,7 % höher (p<0,05), als in der Kontrollration, was die direkte Inkorporation langkettiger Fettsäuren aus dem Pansen belegt. Deutliche Unterschiede sind in der einfach ungesättigten Ölsäure (C 18:1 c9) zu erkennen. Die Milch der Versuchstiere enthält mit 26,98% einen um 10,43 % höheren Gehalt (p<0,05) im Vergleich zu den Kontrolltiere. Der Anteil der Summe der ungesättigten Fettsäuren (C 14:1-C 20:1) liegt in der Milch der Versuchstiere mit 39,76 % höher (p<0,05) als im Vergleich zu den Kontrolltieren (26,02 %). Durch die Verfütterung von Rapskuchen im vorliegenden Fütterungsversuch konnte der Anteil an gesättigten Fettsäuren bei den Tieren, die Rapskuchen erhalten haben (60,85 %) im Vergleich zur Kontrolle (74,08 %) reduziert werden (p<0,05).

Fasst man die Ergebnisse der analysierten Fettsäuren im Milchfett zusammen, so lässt sich erkennen, dass die Verfütterung von Rapskuchen eine Veränderung in der Milchfettzusammensetzung nach sich zieht. Im vorliegenden Fütterungsversuch wurde durch Rapskuchen die Summe der im Euter *de novo* synthetisierten Fettsäuren (C 4:0-C 15:0) reduziert (p<0,05). Dagegen wurde der Anteil der langkettigen Fettsäuren (FS ≥ C 18:0) im Milchfett durch Rapskuchen erhöht (p<0,05). Der Anteil der ungesättigten Fettsäuren (C 14:1-C 20:1) wurde durch Rapskuchen ebenfalls erhöht (p<0,05) und der Anteil der gesättigten Fettsäuren (C 4:0-C 20:0) im Milchfett reduziert (p<0,05).

Tabelle 4 zeigt die mittleren täglich produzierten und über die Milch abgegebenen Fettsäuremengen.

**Tabelle 4**: Fettsäuremenge bezogen auf den Gesamtfettgehalt der Milch in Abhängigkeit von der Fütterung (in g/Tag) (KOCH, 2010)

| Parameter | Versuchsabschnitt 1 (Kontrolle) | Versuchsabschnitt 2 (Rapskuchen) |
|---|---|---|
| Fettgehalt in % | 4,20[a] | 3,85[b] |
| Fettmenge in kg | 1,18[a] | 1,10[b] |
| Fettsäuren bis C 16:0 | 859,6[a] | 578,5[b] |
| Fettsäuren ab C 17:0 | 390,9[a] | 563,1[b] |
| gesättigte Fettsäuren | 927,9[a] | 699,8[b] |
| ungesättigte Fettsäuren | 322,6[a] | 441,8[b] |

unterschiedliche Hochbuchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p<0,05$)

Der Milchfettgehalt (%) bei den Tieren, die mit Rapskuchen versorgt wurden, liegt auf einem geringeren Niveau ($p<0,05$) als bei den Tieren, die die Kontrollration erhielten. Aufgrund der geringeren ($p<0,05$) energiekorrigierten Milchmenge (ECM) produzierten die Versuchstiere (Rapskuchen) weniger Milchfett ($p<0,05$) pro Tag. Betrachtet man die kurz- und mittelkettigen Fettsäuren (C 4:0 bis C 16:0) und geht davon aus, dass alle Fettsäuren mit einer Kettenlänge von C 4 bis C 15 in der Milchdrüse *de novo* synthetisiert werden, so produzieren die Tiere im Versuchsabschnitt 2 (Rapskuchen) mit 578,5 g/Tag kurz- und mittelkettige Fettsäuren signifikant weniger ($p<0,05$) als im Versuchsabschnitt 1 (Kontrolle) mit 859,6 g/Tag. Da der Anteil der Fettsäure C 16:0, der aus der *de novo* Synthese und welcher aus den Fettsäuren des Futterfettes stammt, nicht quantifiziert werden kann, wurde diese Fettsäure zu den kurz- und mittelkettigen Fettsäuren hinzugezählt. Der Anteil der täglich produzierten langkettigen Fettsäuren ab einer Kettenlänge von C 17 liegt in der vorliegenden Studie mit 563,1 g in der Versuchsgruppe um 172,2 g höher ($p<0,05$) als in der Kontrollgruppe. Gleichgerichtete Effekte werden bei den täglich gebildeten ungesättigten Fettsäurenmengen von 441,8 g im Versuch im Vergleich zur Kontrolle mit 322,6 g ermittelt. Somit produzierten die Tiere im Versuch im Mittel täglich 119,2 g ungesättigte Fettsäuren mehr ($p<0,05$), was auf eine gesündere Milch für den Menschen schließen lässt. Analysiert man die täglich produzierten gesättigten Fettsäuren im Milchfett, so synthetisieren die Tiere, welche Rapskuchen erhielten, mit 699,8 g eine um 228,1 g geringere tägliche Menge an gesättigten Fettsäuren im Vergleich zu den Kontrolltieren (927,9 g) ($p<0,05$).

# Diskussion

Rapskuchen veränderte die Milchfettzusammensetzung dahingehend, dass die Summe der im Euter *de novo* synthetisierten Fettsäuren (C 4:0-C 15:0) verringert wurde ($p<0,05$). Die langkettigen Fettsäuren im Milchfett wurden durch Rapskuchenfütterung erhöht ($p<0,05$). Der Anteil der Fettsäuren mit einer Kettenlänge ≥ C 18:0, welche direkt aus dem Futterfett stammen, wurde durch den Rapskuchen ebenfalls angehoben ($p<0,05$). Die Summe der ungesättigten Fettsäuren (C 14:1- C 20:1) im Milchfett konnte durch Rapskuchen erhöht werden ($p<0,05$), was auf eine für den Menschen ernährungsphysiologisch gesündere Milch hindeutet. Die gesättigten Fettsäuren (C 4:0- C 20:0) wurden bei den Tieren, die Rapskuchen erhalten haben vermindert ($p<0,05$). PALMQUIST et al. (1993) nennen die Menge und die Zusammensetzung des Rohfettes in der Ration als den wichtigsten Einflussfaktor auf die Milchfettzusammensetzung, was die eigenen Ergebnisse bestätigen. Das Rapsfett enthält einen hohen Anteil an Ölsäure (C 18:1), welcher auch im Milchfett durch die Rapskuchenfütterung signifikant erhöht ($p<0,05$) werden konnte. KHORASANI et al. (1991) verfütterten verschiedene Mengen an Rapssaat und konnten eine Reduktion der kurz- und mittellangkettigen Fettsäuren sowie einen 65%igen Anstieg der Ölsäure im Milchfett ausweisen. Die Ergebnisse stimmen sehr gut mit den eigenen überein. Gleiche Ergebnisse erzielten DELBECCHI et al. (2001), die geschützte sowie ungeschützte Rapssaat an Milchkühe verfütterten. Diese Ergebnisse konnten von WARD et al. (2002) durch Verfütterung

von Fett in Form von Solin, Flax oder Rapssaat an Milchkühe bestätigt werden. EGGER (2007) stellten ebenfalls eine Reduktion der kurzkettigen Fettsäuren im Milchfett fest, wenn die Tiere mit Rapssaat oder Leinsaat gefüttert wurden. KUDRNA und MAROUNEK (2006) verabreichten verschiedene Fettsupplemente und konnten keine Veränderung bzgl. der kurzkettigen Fettsäuren gegenüber der Kontrollgruppe erkennen. Der Anteil der mehrfach ungesättigten Fettsäuren war in der mit extrudierter Leinsaat versorgten Gruppe gegenüber den anderen signifikant erhöht. Zu gegenläufigen Ergebnissen der zuvor genannten Autoren kommen MOSLEY et al. (2007) die unterschiedliche Mengen an Palmöl an Milchkühe verfütterten und mit steigendem Palmölanteil in der Ration signifikant höhere Gehalte an gesättigten Fettsäuren im Milchfett analysierten. Hierbei soll auf den deutlich höheren Gehalt an gesättigten Fettsäuren im Palmöl im Vergleich zu Rapsöl hingewiesen werden, worüber die Ergebnisse teilweise erklärt werden können. Die diskutierten Versuchsergebnisse aus der Literatur sowie die eigenen machen deutlich, dass der Einfluss des Futterfettes auf die Milchfettzusammensetzung von mehreren Faktoren abhängt.

Zum einen soll in diesem Zusammenhang die Fettsäurenzusammensetzung des Futterfettes als wichtiger Faktor genannt werden. Die Fettsäurenzusammensetzung der verschiedenen am Markt befindlichen Pflanzenölen (Rapsöl, Leinöl, Palmöl, Olivenöl, etc.) sowie die beim Herstellungsprozess anfallenden Nebenprodukte (z. B. Rapskuchen) sind von fundamentaler Bedeutung. Nicht zu vernachlässigen ist hierbei der Effekt der Fettsäurenzusammensetzung des Futtermittels und deren Auswirkungen auf die Nährstoffumsetzungen in den Vormägen (Lipolyse, Biohydrogenierung). Zum anderen spielt die verabreichte Menge der fetthaltigen Futtermittel eine grundlegende Rolle, um die Milchfettzusammensetzung in eine gewünschte Richtung zu verschieben. Die zitierten Fütterungsversuche variieren neben dem verfütterten Futtermittel, der Einsatzmenge auch in der Fettsäurenzusammensetzung. Deshalb ist eine Interpretation der Ergebnisse sinnvollerweise nur mit Kenntnis des eingesetzten Fettsupplements und der Einsatzmenge möglich.

# Fazit

Rapskuchen reduzierte den Anteil an gesättigten und erhöhte den Anteil an ungesättigten Fettsäuren im Milchfett, was auf eine Milchfettzusammensetzung hin zu einer ernährungsphysiologisch gesünderen Milch für den Menschen hindeuten könnte. Die Ergebnisse der Studie zeigen, dass Rapskuchen Anteile von Sojaextraktionsschrot und Getreide in einer Ration von hochleistenden Milchkühen ohne Leistungseinbußen ersetzen kann (KOCH, 2010). Da Rapskuchen je nach Abpressgrad unterschiedliche Rohfettgehalte aufweist sind weitere Studien, um den Effekt hoher Mengen an Rohfett auf Fruchtbarkeit und Tiergesundheit zu analysieren, wünschenswert. Eventuelle Langzeitauswirkungen bei Verfütterung hoher Fettmengen auf den Stoffwechsel der Tiere gilt es weiter zu erforschen. Untersuchungen zum Einfluss von fetthaltigen Futtermitteln auf den pH-Wert im Pansen und nachfolgende Effekte auf Milchinhaltsstoffe sollten durchgeführt werden.

## Literatur

Chouinard, P.Y., L. Corneau, D.M. Barbano, L.E. Metzger und D.E. Bauman (1999): Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. Journal of Nutrition 129 (8), 1579-1584

Christie, W.W. (1982): A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. Journal of Lipid Research 23 (7), 1072-1075

Delbecchi, L., C.E. Ahnadi, J.J. Kenelly und P. Lacasse (2001): Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in Holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. J. Dairy Sci. 84, 1375-1381

Egger, P., G. Holzer, S. Segato, E. Werth, F. Schwienbacher, G. Peratoner, I. Andrighetto und A. Kasal (2007): Effects of oilseed supplements on milk production and quality in dairy cows fed a hay-based diet. Ital. J. Anim. Sci. 6, 395-405

Hara, A. und N.S. Radin (1978): Lipid extraction of tissues with a low toxicity solvent. Analytical Biochemistry 90 (1), 420-426

Khorasani, G.R., P.H. Robinson, G. De Boer und J.J. Kenelly (1991): Influence of canola fat on yield, fat percentage, fatty acid profile and nitrogen fractions in Holstein milk. J. Dairy Sci. 74, 1904-1911

Koch, C. (2010): Futtermittelkundliche und ernährungsphysiologische Bewertung von Rapskuchen für Milchkühe. Dissertation, Landwirtschaftliche Fakultät Universität Bonn, 170 S.

Kudrna, V. und M. Marounek (2006): The influence of feeding rapeseed cake and extruded soyabean on the performance of lactating cows and the fatty acid pattern of milk. J. Anim. Feed Sci. 15,361-370

Mosley S.A., E.E. mosley, B. Hatch, J.I. szasz, A. Caroto, N. Zacharias, D. Howes und M.A. McGuire (2007): Effect of varying levels of fatty acids from palm oil on feed intake and milk production in holstein cows. J. Dairy Sci. 90, 987-993

Palmquist, D.L., A.D. Beaulieu und D.M. Barbano (1993): Feed and animal factors influencing milk fat composition. J. Dairy Sci. 76, 1753-1771

Ward, A.T., K.M. Wittenberg und R. Przybylski (2002): Bovine milk fatty acid profiles produced by feeding diets containing solin, flax and canola. J. Dairy Sci. 85, 1191-1196

ZMP (2009): Zentrale Markt- und Preisberichtstelle. http://www.zmp.de/agrarmarkt/ ackerbau.asp. [Stand: 06.04.09]

## Autorenanschrift

Dr. Christian Koch
Lehr- und Versuchsanstalt für Viehhaltung, Hofgut Neumühle
D-67728 Münchweiler an der Alsenz
E-Mail: c.koch@neumuehle.bv-pfalz.de

# Einfluss des Polyensäurengehaltes auf die Mast- und Schlachtleistung von Mastschweinen

**Wolfgang Wetscherek und Gabriela Wetscherek-Seipelt**

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

## Einleitung

Die Anteile der Fettsäuren im tierischen Fett sind seit einiger Zeit Gegenstand intensiver Forschung und werden in zahlreichen Veröffentlichungen thematisiert. Dabei wurden die Einflüsse der Fettzusammensetzung auf die sensorische Merkmale der Fleischqualität, auf Gesundheitsaspekte, ernährungsphysiologische Faktoren und Aspekte der Verarbeitungseignung untersucht. Es tritt immer wieder ein Zielkonflikt zwischen den Beschaffenheitsanforderungen für die Dauerwarenherstellung und der diätischen Qualität von tierischen Lebensmitteln zu Tage.

Für die verarbeitende Industrie, die überwiegend Dauerwaren herstellt, ist die Fettqualität und Zusammensetzung ein bedeutender Qualitätsfaktor bei Schweinefleisch. Während in Österreich keine Vorgaben für den Landwirt mit finanziellen Zu- oder Abschlägen existieren, wurden in der Schweiz bereits seit längerer Zeit Grenzen für die Schweinefettqualität festgelegt, die Auswirkungen auf die Bezahlung der Schlachtkörper haben. Ein Polyenfettsäuregehalt von unter 12 Mol% wird als gut, ein Gehalt zwischen 12 und 13 Mol% als tolerierbar und höhere Anteile als unbefriedigend qualifiziert (Seewer, 1996). Während also nach den Schweizer Qualitätsanforderungen mehr als 13 Mol% Polyenfettsäuren im Rückenfett für die Verarbeitung als nicht mehr geeignet betrachtet werden, sehen Fischer et al. (1990) 15 Mol% Polyensäuren als obere Grenze für die Herstellung von ungegarten Fleischprodukten an.

In einer Vielzahl von Fütterungsversuchen wurde gezeigt, dass sich der Fettsäuregehalt des Futters bei landwirtschaftlichen Nutztieren auf die Zusammensetzung der endogenen Lipide verschiedener Organe und Gewebe auswirkt. Dies wurde insbesondere bei Monogastriern (Schwein, Geflügel), aber auch in geringerem Umfang bei Wiederkäuern (Rind und Schaf) nachgewiesen (Honikel et al., 2006). Beispiele dafür sind in Arbeiten von Fischer et al., 1992; Leibetseder, 1996; Reichart et al. 2003 oder Zettl 1995 zu finden.

Soll der Gehalt von 12 % Polyenfettsäuren im Karreeauflagenfett nicht überschritten werden, darf der Polyensäuregehalt im Mastfutter nur 10-16 g/kg betragen. Schweizer Autoren geben eine obere Grenze von 0,8 g Polyensäuren / MJ verdauliche Energie im Futter beim Schwein (ca. 12 g PUFA/kg Futter) für die Sicherung einer guten Qualität des Rückenspecks von Schweinen vor (Reichardt et al., 2002).

## Versuchsanstellung

Für den Versuch standen an der LFS-Hatzendorf die Ferkel von 6 Zuchtsauen zur Verfügung, welche am eigenen Betrieb aufgezogen wurden. Von diesem Tiermaterial wurden 36 Ferkel für den Mastversuch ausgewählt. Genetisch handelte es sich um die in der Steiermark übliche Kreuzung von Landrasse x Piétrain. Bei der Aufteilung auf die drei Versuchsgruppen wurde auf eine gleichmäßige Verteilung von Geschlecht, Wurf und Gewicht geachtet. Die Tiere wurden in einem Kaltstall mit Teilspaltenboden und planbefestigtem Liegebereich gehalten.

Die drei Gruppen erhielten Futtermischungen, die sich im Polyensäuregehalt unterschieden (Tabelle 1). Die Futtermischungen wurden am Betrieb gemischt und in mehliger Form verfüttert. Die Zusammensetzung der Futtermischungen wird in den Tabellen 2 aufgelistet. Die Futterzuteilung erfolgte ad libitum über Automaten. Die Versuchsperiode begann mit etwa 32 kg Lebendgewicht und endet mit einem Endgewicht von 110 bis 115 kg.

**Tabelle 1**: Versuchsplan

| **Merkmal** | **Versuchsgruppe** | | |
|---|---|---|---|
| | **Poly - gering** | **Poly - mittel** | **Poly - hoch** |
| Polyensäuregehalt g/kg | 12 | 15 | 20 |
| Bucht, n | 1 | 1 | 1 |
| Tiere, n | 12 | 12 | 12 |

# Datenerhebung

Die Schweine wurden bei der Einstellung und in dreiwöchigen Abständen gewogen. Die pro Box und Abschnitt gefressenen Futtermengen wurden aufgezeichnet und der Futteraufwand aus der Relation der je Box und Abschnitt aufgenommenen Futtermenge zur Summe der Lebendgewichtszunahmen der Tiere je Box berechnet.

Die Tiere wurden mit annähernd gleichem Lebendgewicht über mehrere Wochen geschlachtet und zerlegt. Dabei wurden folgende Merkmale erhoben: Schlachtgewicht, MAF %, Filzgewicht, Karreegewicht und Gewicht des Karreeauflagenfettes.

# Versuchsergebnisse

Wie in den Tabellen 3 dargestellt, entsprachen die Mischungen den errechneten wertbestimmenden Bestandteilen. Die Gruppen mit höherem Polyensäurengehalt wiesen einen höheren Rohfettgehalt auf. Wie geplant konnte über den höheren Fettgehalt auch die gewünschten Gehalte an Polyensäuren erreicht werden.

Die drei Versuchsgruppen erreichten über die gesamte Mastdauer betrachtet sehr gute Tageszuwächse von 925 bis 950 g. Für die Auswertung wurde 1 Tier der Gruppe 1 ausgeschieden, weil es in der Endphase des Versuches wegen Lahmheit kaum mehr Lebendmassezuwächse erreichte. In der Mastleistung unterschieden sich die drei Gruppen nicht signifikant. Die Ergebnisse der Lebendmasseentwicklung und der Tageszunahmen sind in der Tabelle 4 dargestellt. Ebenfalls ist der Futteraufwand je kg Zuwachs ersichtlich. Dieser unterschied sich zwischen den drei Gruppen nur geringfügig und lag für den Gewichtsabschnitt 32 bis 66 kg bei etwa 2,2 kg sowie für den 2. Mastabschnitt bei etwa 3,1 kg.

Im Schlachtgewicht unterschieden sich die drei Gruppen analog zu den Lebendgewichten nur geringfügig. Beim Gewicht der Karreestücke zeigte sich eine signifikante Überlegenheit der Gruppe Poly-hoch gegenüber der anderen beiden Gruppen (Tabelle 5).

Bei dieser Auswertung der nachfolgenden Schlachtleistungsparameter wurden alle Tiere herangezogen und die Ergebnisse werden in der Tabelle 5 dargestellt. Der Magerfleischanteil zeigte nur geringe zufällige Unterschiede zwischen den Gruppen. Beim Fettmaß erreichte die Gruppe Poly – mittel um 3 mm signifikant höher Werte als die beiden anderen Gruppen. Dies wurde auch durch das Gewicht des Karreeauflagenfettes tendenziell (P-Wert von 0,0555) bestätigt. Das Filzgewicht unterschied sich nur zufällig.

**Tabelle 2**: Zusammensetzung der Versuchsmischungen und deren errechneter Polyensäurengehalt

| **Merkmal** | **Versuchsgruppe** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **Poly - gering** | | **Poly - mittel** | | **Poly - hoch** | |
| **Lebendgewicht, kg** | **32-66** | **66-115** | **32-66** | **66-115** | **32-66** | **66-115** |
| **Futtermittel, %** | | | | | | |
| Mais | 30,60 | 30,00 | 54,79 | 54,80 | 55,58 | 58,14 |
| Weizen | 41,745 | 45,515 | 16,975 | 19,975 | 12,975 | 12,975 |
| Gerste | 5,00 | 5,00 | - | - | - | - |
| Weizenkleie | - | - | 3,00 | 3,00 | 5,00 | 5,00 |
| Sojaextraktionsschrot 44 | 19,90 | 17,00 | 22,65 | 20,00 | 23,20 | 21,00 |
| Sojaöl | - | - | - | - | 0,75 | 0,70 |
| kohlens. Futterkalk | 1,00 | 1,00 | 1,05 | 1,10 | 1,06 | 1,10 |
| Monocalciumphosphat | 0,90 | 0,65 | 0,77 | 0,40 | 0,70 | 0,40 |
| Viehsalz | 0,34 | 0,34 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | 0,33 |
| Lysin-78 | 0,35 | 0,35 | 0,29 | 0,30 | 0,27 | 0,27 |
| Methionin-99 | 0,06 | 0,04 | 0,07 | 0,04 | 0,07 | 0,04 |
| Threonin-98,5 | 0,08 | 0,08 | 0,05 | 0,03 | 0,04 | 0,02 |
| Vitamin- Spurenelementmix | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 |
| Polyensäuren, g/kg | 13,1 | 12,7 | 17,1 | 16,9 | 21,5 | 20,6 |

**Tabelle 3**: Analysenergebnisse der Versuchsmischungen

| **Merkmal** | | **Versuchsgruppe** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Poly - gering** | | **Poly - mittel** | | **Poly - hoch** | |
| **Mastabschnitt** | **kg** | **32-66** | **66-115** | **32-66** | **66-115** | **32-66** | **66-115** |
| Trockensubstanz | g/kg | 893 | 883 | 898 | 879 | 906 | 889 |
| Rohprotein | g/kg | 170 | 161 | 170 | 158 | 174 | 163 |
| Rohfett | g/kg | 22 | 21 | 30 | 29 | 38 | 36 |
| Rohfaser | g/kg | 31 | 29 | 35 | 31 | 36 | 32 |
| Rohasche | g/kg | 43 | 39 | 45 | 44 | 46 | 42 |
| Stärke | g/kg | 497 | 527 | 489 | 501 | 453 | 493 |
| Zucker | g/kg | 36 | 33 | 40 | 34 | 42 | 36 |
| ME | MJ/kg | 13,7 | 13,7 | 13,8 | 13,6 | 13,9 | 13,8 |
| C 14:0 | g/kg | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 |
| C 16:0 | g/kg | 2,84 | 2,60 | 3,55 | 3,28 | 4,42 | 4,02 |
| C 16:1 | g/kg | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 |
| C 18:0 | g/kg | 0,43 | 0,37 | 0,65 | 0,56 | 1,07 | 0,91 |
| C 18:1 | g/kg | 5,50 | 5,19 | 8,44 | 8,08 | 10,74 | 10,15 |
| C 18:2 | g/kg | 12,26 | 11,93 | 16,26 | 16,07 | 20,21 | 19,50 |
| C 18:3 | g/kg | 0,73 | 0,68 | 0,78 | 0,71 | 1,14 | 1,03 |
| C 20:0 | g/kg | 0,08 | 0,07 | 0,13 | 0,12 | 0,17 | 0,15 |
| C 20:2 | g/kg | 0,09 | 0,09 | 0,09 | 0,10 | 0,11 | 0,11 |
| C 22:0 | g/kg | 0,04 | 0,04 | 0,07 | 0,07 | 0,11 | 0,10 |
| Polyensäuren | g/kg | 13,08 | 12,7 | 17,13 | 16,88 | 21,46 | 20,64 |

*C x:y → x = Anzahl der Kohlenstoffatome; y = Anzahl der Doppelbindungen*

**Tabelle 4:** Ergebnisse der Lebendmasseentwicklung und der Tageszuwächse sowie des Futteraufwandes je kg Zuwachs

| Merkmal | Versuchsgruppe | | | P-Wert |
|---|---|---|---|---|
| Lebendmasse, kg | Poly - gering | Poly - mittel | Poly - hoch | |
| Versuchsbeginn | 32,06 | 31,92 | 32,66 | 0,6666 |
| 21. Versuchstag | 52,23 | 53,33 | 53,79 | 0,6219 |
| 35. Versuchstag | 65,50 | 66,33 | 66,25 | 0,8868 |
| 56. Versuchstag | 84,64 | 86,21 | 86,54 | 0,6341 |
| 77. Versuchstag | 103,36 | 104,92 | 105,46 | 0,6523 |
| Versuchsende | 112,55 | 112,75 | 112,00 | 0,7364 |
| **Tageszuwachs, g** | | | | |
| 1. bis 21. Versuchstag | 960 | 1020 | 1006 | 0,3836 |
| 1. bis 35. Versuchstag | 948 | 929 | 890 | 0,0584 |
| 35. bis 56. Versuchstag | 911 | 947 | 966 | 0,1061 |
| 56. bis 77. Versuchstag | 892 | 891 | 901 | 0,9143 |
| 1. bis 35. Versuchstag | 955 | 983 | 960 | 0,6148 |
| 35. bis 77. Versuchstag | 902 | 918 | 933 | 0,3372 |
| 35. Versuchstag bis zum Versuchsende | 866 | 890 | 888 | 0,7624 |
| Gesamtversuch | 926 | 948 | 945 | 0,5701 |
| **Futteraufwand, kg** | | | | |
| 1. bis 35. Versuchstag | 2,23 | 2,21 | 2,25 | |
| 35. Versuchstag bis zum Versuchsende | 3,10 | 3,05 | 3,05 | |
| Gesamtversuch | 2,74 | 2,69 | 2,71 | |

**Tabelle 5:** Ergebnisse der Auswertung der Schlachtleistungsparameter

| Merkmal | Versuchsgruppe | | | P-Wert |
|---|---|---|---|---|
| | Poly - gering | Poly - mittel | Poly - hoch | |
| Schlachtgewicht, kg | 90,56 | 90,57[b] | 90,79 | 0,8615 |
| Magerfleischanteil, % | 60,0 | 59,8 | 60,8 | 0,2152 |
| Filz, kg | 1,04 | 1,17 | 1,10 | 0,2990 |
| Karree, kg | 10,07 [b] | 10,05 [b] | 10,63 [a] | 0,0392 |
| Fettauflage – Karree, kg | 2,25 | 2,63 | 2,40 | 0,0555 |

# Zusammenfassung

Der Schweinemastversuch zeigte, dass bei einer bedarfsgerechten Zusammenstellung der Futtermischungen gleich gute Mastleistungen mit geringen bzw. hohen Polyensäurengehalt erreicht werden können.

Die Zusammensetzung des Auflagenfettes lag auch für die aktuelle Genetik im Bereich, welcher in der Literatur beschrieben wird.

Abhängig von den jeweiligen Preisen der Futtermittel können für Landwirte, welche eine Selbstvermarktung mit Dauerwaren durchführen, polyensäurenarme Futtermischungen durchaus sinnvoll sein. Gleiches gilt natürlich auch für spezielle Markenprogramme.

## Literatur

Fischer, K.; P. Freudenreich, K.-H Hoppenbrock,.; W. Sommer, 1990: Einflüsse von Fütterung, Mastendgewicht und Geschlecht auf die Fettqualität beim Schwein. Mitteilungsblatt der BASF *108, 130-139.*

Fischer, K.; P. Freudenreich, K.-H Hoppenbrock,.; W. Sommer, 1992: Einfluss produktionstechnischer Bedingungen auf das Fettsäurenmuster im Rückenspeck von Mastschweinen. Fleischwirtschaft 72, 200-205

Honikel, K.-O., H. Rosenbauer und D. Kühne. 2002: Einfluss der Fütterung auf die Qualität von Schweinefleisch und daraus hergestellter Schweinefleischerzeugnissen.- Schriftenreihe des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. Reihe A: Angewandte Wissenschaft. Heft 495, 167-182

Leibetseder, J. 1996: Beeinflussung der Zusammensetzung tierischer Fette durch die Fütterung. Arch. Tierz., Dummerstorf 39, 333-345

Prabucki, A. L. und A. Häuser, 1990: Die Fettqualität bei Mastschweinen (1988/1989). Landwirtschaft Schweiz 3, 199-200.

Reichardt, W.; E. Gernand, S. Müller, H. Hartung, B. Eckert, U. Braun, 2003: Erhebungen zur Fettsäurenzusammensetzung von Rückenfett bei Thüringer Schweinen sowie zum Fett von Thüringer Knackwürsten aus dem Einzelhandel. Arch. Tierz., Dummerstorf 46, 257-267

Reichard, W.; S. Müller; H. Hartung, B. Eckert und U. Braun (2002): Erhebungen zur Fettsäurenzusammensetzung sowie zur Iodzahl von intramuskulärem Fett und Rückenspeck bei Thüringer Schweinen. Kolloquium zur Fleischqualität. Schriftreihe der TTL 2-2002, 15-23.

Seewer, G.J.F. 1996: Qualität des Fettgwebes beim Schwein und beim Mastrind. Agrarforschung 3, 435-438, 1

Zettl, A. 1995: Einsatz von vollfetten Sojabohnen in der Schweinemast. Dissertation, Universität für Bodenkultur Wien.

## Autorenanschrift

Ao. Univ.-Prof. Dr. Wolfgang Wetscherek
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel, und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11, A-1190 Wien
E-Mail: wolfgang.wetscherek@boku.ac.at

# Die erste Geige spielen
# In tune with success

Innovativ, effizient, führend: Mit unserer Neuentwicklung **Pre$^{Acid}$ FL** werden Sie den Ton bei der Tierernährung angeben. Die neuartige Säurekombination mit modularem Ca$^{Plus}$-Konzept verbessert die Futterhygiene und Nährstoffversorgung. Mehr noch: Dank der ausgewogenen Kombination mit **Calciumglukonat** dürfen Sie sich über eine hochverfügbare Calciumquelle freuen. Das klingt gut? Dann nehmen Sie Kontakt mit uns auf – wir beraten Sie gerne!

Innovative, efficient, leading: With our new development **Pre$^{Acid}$ FL** you will set the tone in animal nutrition. The novel acid combination with a modular Ca$^{Plus}$ concept improves feed hygiene and the nutrient supply. What's more: Thanks to a balanced combination with **calcium gluconate** you can enjoy a highly available calcium source. That sounds good to you? Contact us – we will gladly advise you.

Lust auf mehr?
Informieren Sie sich hier.
For more information scan here.

Dr. Eckel GmbH, Im Stiefelfeld 10, D-56651 Niederzissen
Telefon +49-(0)-2636-9749-0, www.dr-eckel.de

**Innovations**
Pre$^{Acid}$ FL

DR. ECKEL
creative solutions

# The positive influence of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* on the gut flora and productivity of fattening pigs

**Andrejus Jerešiūnas[1], Gintaras Sudikas[1], Jurgis Kulpys[1] and Olga Jerešiūnienė[2]**

[1] Lithuanian University of Health Sciences;
[2] Public Institution Abromishkes Rehabilitation Hospital

## Introduction

Intense agricultural development raises new requirements not only for breeders, but also for new raising technologies developed with the certain aim to market only competitive products. Production of pork having high nutritional and biological value particularly depends on feedingstuffs, their quality and various additives increasing food absorption (Šiugždaitė et al., 2008). Additive-free feedingstuffs practically cannot ensure not only high production quality, but also animal wellbeing.

Micro-organisms impact the performance and economics of swine production (Bartkevičiūtė et al., 2005). Control of micro-organisms in animal feed remains an ongoing challenge focus on the health and safety of the meat they feed their families. The eradicatation of pathogens plays a critical role in focusing on the well being and performance of the animal. Animal producers need to manage pathogens for two main reasons (Buttin, 2002).

First and foremost, they must control pathogens to protect the health of the animal. Gut bacteria compete for nutrients and can be detrimental to the health and performance of the animal. Second, and of growing importance, they must reduce pathogens as part of their program to control food borne diseases.

Recently swine nutritionists look for new methods to improve digestibility and absorbability of feed materials, animal condition, growing intensity and feed conversion. Wishing to avoid usage of synthetic products having not fully investigated effects on human and animal health, pig diets may be enriched by probiotics – live bacterial products, based on the ordinary animal gut flora.

The stress of weaning negatively affects the population of bifidobacteria by decreasing their number in the intestine of piglets. Precisely the change of microflora in the intestine of piglets determines their diseases, decrease of productivity as well as deaths. The decrease of intestine microflora (Bifidobacteria, Enterococcus) population of piglets at the time of stress leads to the pathogenic microorganism increase. The security of stable microflora in the intestine of piglets after weaning is one of the main factors determining their health and productivity.

The guarantee of stable microflora in the intestine was feeding antibiotics for a long time. Currently antibiotics can be used only for the treatment. Other feed supplements replaced antibiotic growth stimulants, i.e. organic acids (acidifiers), probiotics and others.

Effects of supplementation with probiotics on performance parameters in pigs were summarized in a review by Simon (2005, 2001). It can be derived from this review that, in most cases, supplementation with probiotics tended to improve average daily gain and feed efficiency. However, improvements in these parameters were significant only in 7 or 5%, respectively, of the experiments that were reviewed.

Target of the study – to evaluate influence of various probiotics *Bacillus licheniformis* DSM5749 – $1.6\times10^9$ CFU/g, *Bacillus subtilis* DSM5750 – 1,6×109 CFU/g (hereinafter – investigative probiotic) amounts on health status, growth intensity, feed compound conversion, gut flora of weaned piglets and fattening pigs.

# Material and methods

The trial was performed in ŽŪK „Ramygalos aruodai", where the influence of probiotic containing *B. licheniformis* and *B. subtilis* on weaned piglets and fattening pigs gut flora was evaluated and determination of probiotic influence on growing intensity and feed consumption rate, carcass quality and economical parameters was repeated. During trial period laboratory analyses were done in LVA laboratory and some samples were sent to National Food and Veterinary Risk Assessment Institute for analysis.

The pigs were given complete compound feeds, their composition and feeding value are presented in Table 1. While composing the recipes of compound feeds, computer program "Recept" was applied. The data of this program nutritive value of feeds were gained from the literature (NRC, 1998). The energy amount of compound feeds was calculated according to the formulas (JEROCH et al., 2004).

The product „BioPlus2B", produced by the company „Biochem" (Germany), was used for the study. It contains active substances: sporulated *Bacillus licheniformis* strain DSM5749 – $1.6\times10^9$ CFV/g, sporulated *Bacillus subtilis* strain DSM5750 $1.6\times10^9$ CFV/g, rate 1:1, vehicle – calcium carbonate.

For evaluation of investigative probiotic influence on weaned piglets and fattening pigs gut microflora the trial was performed with mixed German Yorkshire, Norwegian Landraces and Duroc breed pigs. Piglets were divided into groups by analogue approach, taking into account origin, age, body weight and gender. During the trial 2 pig groups were set, every containing 47 animals. There were 24 female and 23 male animals in every group. Feed for experimental animals (group II) was enriched by investigative probiotic – 400g/t, pigs received dry compound feed from automatic feeders. During the experiments the piglets of both groups were fully fed by the dry powder compound feed from automatic feeders. Automatic separate water-troughs were applied in order to get enough water. Every stall was equipped with one automatic water-trough and feeder.

For evaluation of probiotic influence on microbial changes in pig guts scatological samples were taken directly from rectum of selected pigs to determine gut microflora and immediately sent to laboratory for testing. Samples of faeces were collected into sterile bottles. 1 g of faeces was used for the microbiological investigation; this amount was suspended in the physiological solution in ratio 1:99 by the help of a special plate and pestle. In order to ascertain mass growth, the pigs were weighed at the beginning of the experiment, monthly and at the end of the experiment. The consumption of feeds was determined during the experiments as well as record of feeds was kept. In order to ascertain pigs' health condition at the beginning of the experiment and at the end of experiment.

The main data of the research conducted, except the indices of chemical feed composition and consumption, were assessed by the methods of statistical analysis. The results were subjected to statistical processing using the WinExcel program. The arithmetic average values ($\bar{x}$), standard error of the mean (SE) were calculated for all data and are provided in tables (Juozaitienė and Kerzienė, 2001). Experimental average values ($\bar{x}$) were tested using Student's t-test. Statistical differences among means ($p<0.05$) are indicated by superscript (*).

**Table 1**: Biochemical composition and nutritive value of feeds

| Ingredients, % | Starter compound feed | Compound feed for piglets of 15 - 25 kg weight | Compound feed for pigs of 25-50 kg weight | Compound feed for pigs of over 50 kg weight |
|---|---|---|---|---|
| Wheat | 46 | 46,2 | 46,8 | 22,8 |
| Barley | 10 | 30 | 30 | 33 |
| Triticale | - | - | - | 25 |
| Sunflower meal | - | - | 5 | 7 |
| Soya meal | - | 7,5 | 12 | 7 |
| SPC *(AK 530 agro – korn.)* | 8,3 | 7,5 | - | - |
| Fish meal | 2,7 | 2 | - | |
| Rape oil | 1,5 | 2 | 2 | 1 |
| Monocalciumphosphat | 0,7 | 0,6 | - | - |
| Limestone | - | - | 0,2 | 0,2 |
| Mycofix plus | 0,3 | 0,1 | - | - |
| Biotronic SE | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,3 |
| Imunobuster | - | - | 0,2 | 0,2 |
| Landmix Piglets N 1 | 30 | - | - | - |
| Landmix Piglets N 5 | - | 3,7 | - | |
| Landmix Porkers N 1 | - | - | 3,5 | 3,5 |
| Calculated analysis / kg feed: | | | | |
| Metabolizable energy, MJ | 14,5 | 13,5 | 13,0 | 12,6 |
| Crude protein, % | 22,06 | 17,74 | 16,32 | 15,23 |
| Crude fibre, % | 2,39 | 3,12 | 4,0 | 4,42 |
| Crude fat, % | 8,77 | 3,8 | 3,65 | 2,69 |
| Calcium, % | 0,87 | 0,98 | 0,87 | 0,87 |
| Phosphorus, % | 0,78 | 0,73 | 0,57 | 0,55 |
| Sodium, % | 0,20 | 0,21 | 0,24 | 0,25 |
| Lysine, % | 1,47 | 1,0 | 0,79 | 0,71 |
| Methionine, % | 0,44 | 0,34 | 0,29 | 0,29 |
| Threonine,% | 0,95 | 0,67 | 0,59 | 0,55 |
| Tryptophan, % | 0,16 | 0,22 | 0,21 | 0,18 |

# Results and discussion

During the experiment no health disorders were identified within the groups of controlled experiment and exploratory.

The terms of research were conditionally divided into four periods. The growing of pigs during these periods is presented in the Table 2. The results of the test show that such probiotic Bio Plus 2 B had positive influence on pigs' growing only during the first two months. It was determined that during the first test month the pigs of the second group getting the tested probiotic every twenty-four hours increased in weight approx. 4.8 % (P>0.05) more than the pigs of control group. Similar tendency remained during the second test month. It was stated that during the second test month the pigs of the second group getting the tested probiotic every day increased in weight approx. 7.2 % (P>0.05) more than the pigs of control group; but during the third and fourth test months the tested probiotic supplement did not have any influence. It was determined that during the third test month the pigs of the first control group that did not get the tested probiotic increased in weight 8.9 % (P>0.05) in comparison with the pigs of the second group. The same tendency remained during the fourth test

month when the pigs of the first control group increased in weight 10.4 % (P>0.05) more than the pigs of the test group.

During the whole test period the pigs of the test group increased in weight on average 0.28 % per day less in comparison with the pigs of the control group. Such reduction in pigs' growing may be explained by the fact that the tested probiotic does not have any positive influence on the growing of pigs with bigger weight.

The same results proving that probiotic supplements have the greatest effect on younger pigs' growing and the most effective use of probiotic is for piglets and pigs of the first breastfeeding month were also achieved by other authors (Simon, 2001, Jerešiūnas 2006).

**Table 2**: Growth rate of pigs

| Item | Group 1 (Control) $\bar{x} \pm se$ | Group 2 (Experimental) $\bar{x} \pm se$ |
|---|---|---|
| Average weight of pigs, kg | | |
| at the start | 9,67±0,3 | 9,64±0,22 |
| at the second month | 21,29±0,6 | 22,49±0,72 |
| at the third month | 43,90±1,0 | 46,04±1,01 |
| at the fourth month | 59,40±1,4 | 60,17±1,31 |
| at the end | 80,06±2,0 | 79,83±2,00 |
| Average daily gain, g: | | |
| during first month | 383,49±14,0 | 401,70±19,0 |
| during second month | 708,90±20,0 | 759,58±14,4* |
| during third month | 553,57±25,1 | 504,46±19,4 |
| during fourth month | 665,99±31,2 | 597,09±37,5 |
| during the whole trial | 543,05±24,7 | 541,51±24,9 |

** data is statistically reliable (p<0.05).*

The experiment helped to assess that the feed intake of the second group pigs was better than that from the first group. The data of the experiment are presented in the table 3. The second group pigs ate 5.3%, 7.2% more feed per day on average during first and fourth period respectively than the analogues from the first group. During the whole period the second group pigs' average feed intake was 38g or 2.3% bigger than the first group piglets.

Trial data shows that feed intake were higher in group fed with feddingstuffs containing 400 g/t probiotic BioPlus 2B.

After the calculation of the feed consumption per kg gain it was estimated that probiotic supplement did not influence positive this index in the first, thirds, forth periods. During the whole trial the pigs of the group II consumed 8.9% of the feed per kg gain more than the control pigs. The feed consumption per kg gain of the compound feed is presented in Table 4.

**Table 3**: Compound feed intake kg/pig/day

| Parameters | Group I | Group II |
|---|---|---|
| During first month | 0,655 | 0,690 |
| During second month | 1,901 | 1,900 |
| During third month | 2,130 | 2,109 |
| During fourth month | 1,934 | 2,074 |
| During the whole trial | 1,655 | 1,693 |

**Table 4**: Compound feed consumption (kg) per kg gain

| Parameters | Group I | Group II |
|---|---|---|
| During first month | 1,69 | 1,72 |
| During second month | 2,71 | 2,48 |
| During third month | 3,89 | 4,26 |
| During fourth month | 2,91 | 3,27 |
| During the whole trial | 2,8 | 3,05 |

During the second period the pigs of the tested group consumed significant less feed (8.5%) per 1 kg gain than the control pigs. Some scientists have also estimated not significant effect of probiotics on the feed consumption per kg gain in their works (Bartkevičiūtė et al., 2005; Jerešiūnas et al., 2008).

The variation of microorganism amount is represented in Table 5. Microbiological parameters of the trial was established that at 1 month after initiation of the trial, total number of bacteria in control group alimentary tract increased by 55x, and increase of total number of bacteria in manure of experimental group was 7.7x lower comparing with control at the same time point. During this period number of *E. coli* in experimental group increased by 4.8x comparing with parameters of the same group at initiation of the trial. 1 month after, 21x higher number of *E. coli* was detected in experimental group manure comparing with tests before the trial. Number of *C. perfringens* was lower in both groups 1 month after the trial. Number of these bacteria in control group was lower by 28.5x, in experimental group 20.4x when comparing with the control.

**Table 5**: Microorganisms count in pigs' faeces / 1 ml

| Parameters | Group I<br>n=5<br>$\bar{x} \pm se$ | Group II<br>n=5<br>$\bar{x} \pm se$ |
|---|---|---|
| At the start of the trial | | |
| TNB | $8{,}8x10^4 \pm 6{,}8x10^4$ | $4{,}0x10^5 \pm 1{,}8x10^{5*}$ |
| *E. coli* | $1{,}4x10^4 \pm 5{,}6x10^3$ | $2{,}7x10^4 \pm 2{,}8x10^4$ |
| *Enterobacter* | $4{,}1x10^4 \pm 3{,}1x10^4$ | $1{,}8x10^4 \pm 8{,}9x10^3$ |
| *Clostridium perfringens* | $16{,}0x10^3 \pm 8{,}7x10^2$ | $5{,}6x10^3 \pm 4{,}9x10^3$ |
| After 1 month | | |
| TNB | $4{,}5x10^6 \pm 5{,}6x10^6$ | $2{,}8x10^6 \pm 1{,}3x10^6$ |
| *E. coli* | $2{,}9x10^5 \pm 1x10^4$ | $1{,}3x10^5 \pm 4{,}9x10^4$ |
| *Enterobacter* | $3{,}2x10^5 \pm 1{,}1x10^5$ | $1{,}2x10^6 \pm 9{,}4x10^5$ |
| *Cl. perfringens* | $5{,}5x10^1 \pm 3x10^1$ | $2{,}7x10^2 \pm 1{,}8x10^2$ |
| At the end of the trial | | |
| TNB | $3{,}1x10^7 \pm 4{,}9x10^6$ | $2{,}6x10^7 \pm 1{,}4x10^7$ |
| *E. coli* | $1{,}1x10^7 \pm 4x10^6$ | $1{,}5x10^7 \pm 1{,}3x10^7$ |
| *Enterobacter* | $5{,}0x10^6 \pm 2{,}9x10^6$ | $3{,}9x10^6 \pm 4{,}1x10^6$ |
| *Cl. perfringens* | $1{,}1x10^4 \pm 4{,}4x10^3$ | $7{,}4x10^3 \pm 5{,}3x10^3$ |

*TNB – total number of bacteria*
** data is statistically reliable (p<0.05).*

3 months after the trial total bacterial count was increasing in both piglet groups, although more significant increase was detected in control animals. Control group as well has higher number of *E. coli*, and *C. perfringens* count 3 months after began to increase in both groups. However, this increase was

not significantly but anyway lower in control group (increased by 6,75x in comparison with test at start of the trial) than in experimental group (by 1,3x in comparison with test at start of the trial).

At the later stage, 3 months after consumption of the product, both total bacterial count and number of *E. coli* has similar dynamics, that means it has a tendency to increase more quickly in the group fed with feed without investigative probiotic. Evaluation dynamic range of *Cl. perfringens* as pathogenic factors shows that 3 months after usage of investigative probiotic, number of clostridia was increasing quicker in control group. But number of other bacteria was simultaneously increasing quicker in control group as well.

Summary data of trial shows that there are no essential differences in economical parameters.

# Conclusion

Compound feed containing 0.04 % of probiotic improves pig health status – no diarrhea cases were reported.

Feedingstuffs with probiotic improves pig growth – at early fattening period higher daily weight gain was reported.

Effect of compound feed containing probiotic on feed consumption was not identified.

Compound feed containing investigative probiotic has positive influence on pig gut microflora, consequently both total bacterial count and number of pathogenic bacteria (*Cl. perfringens*) was increasing less intensively comparing with control.

We recommend to add 400 g/t dose of *Bacillus licheniformis* DSM5749 – $1.6\times10^9$ CFU/g, *Bacillus subtilis* DSM5750 – $1.6\times10^9$ CFU/g probiotic to weaned piglets diet and consequently accelerate growth intensity and health status.

### Acknowledgement

The research was performed by the author's finance. The authors would like to thank to family members for the understanding and patience.

### References

Bartkevičiūtė Z., Černauskienė J., Jerešiūnas A., Kulpys J., Jeroch H. Einfluss des Probiotikums Bonvital auf die Mast-und Schlachteeistung von Schweinen. // Tagungsband 4. BOKU-Symposium Tierernährung „Tierernährung ohne antibiotische Leistungsförderer". ISBN 3-900962-62-6. Wien. 2005. p. 34-43.

Buttin P. (2002). The antibacterial effect of methionine hydroxy analogue. J. Internation Pig Topics V. 17, Nr. 7, p 15-17.

Jerešiūnas A., Kulpys J, Stankevičius R. Probiotinio preparato Enterococcus faecium įtaka penimoms kiaulėms. Veterinarija ir zootechnika. 2006. T. 35 (57). P. 53-57.

Jerešiūnas A., Mikelėnas Al., Mikelėnas A., Stankevičius R., Ožalas R., Sudikas G. Probiotiko „BioPlus2B" poveikis paršelių organizmui. Tarptautinės mokslinės konferencijos „Aktualios kiaulių ir paukščių mitybos problemos. Produkcijos kokybė" mokslinių pranešimų medžiaga. Kaunas. 2008. P. 45-47.

Jeroch H., Šeškevičienė J., Kulpys J. Žemės ūkio gyvulių ir paukščių mitybos fiziologinės reikmės. Kaunas, 2004. S. 158.

Juozaitienė V., Kerzienė S. (2001): Biometrija ir kompiuterinė duomenų analizė. Kaunas. 114.

Nutrient Requirements of Swine. National Acadedemy of Sciences, 1998. P. 597.

Simon O. (2001). Probiotika aus der Sicht der Tierernährung. Vitamine und Zusatzstoffe in der Ernährung von Mensch und Tier. 8. Symposium 26. und 27. September 2001, Jena/Thüringen, 118-127.

Simon O. (2005). Mikroorganismen als Futterzusatzstoffe: Probiotika – Wirksamkeit und Wirkungsweise. 4 Boku-Symposium Tierernahrung: Tierernahrung ohne Antibiotische Leistungsforderer. Vienna, Austria, 10-16.

Šiugždaitė J., Jerešiūnas A., Stankevičius R., Kulpys J. Efficiency of soy protein concentrate in diets of weaned piglets // Czech Journal of Animal Science, 53. ISSN 1212-1819. IF 0.421. Praha, Čekija. 2008(1). P. 9-16.

## Corresponding author

Dr. Andrejus Jerešiūnas
Lithuanian University of Health Sciences
Animal Nutrition Department
Tilžės street 18, Kaunas LT-47181
e-mail: andrejus_jeresiunas@yahoo.com

# Wirkungsweise und Effizienz von *Bacillus subtilis* in der Ferkelfütterung

**D. Kampf[1] und A. van der Aa[2]**

[1] Orffa Additives B.V., Wesel, Deutschland
[2] Orffa Additives B.V., Werkendam, Niederlande

## Einleitung

Therapeutische Antibiotika werden in der Ferkelaufzucht zur Prävention und Behandlung von Krankheiten und somit indirekt zur Verbesserung von Tageszunahmen und Futterverwertung eingesetzt. (Barton 2000). Neben diesen offensichtlichen Vorteilen gibt es aber aufgrund von befürchteten Rückständen in Lebensmitteln und Kreuzresistenzen zu Humanantibiotika mehr und mehr kritische Diskussionen hinsichtlich alternativer Lösungen wie zum Beispiel dem Einsatz von Probiotika. Probiotika sind lebende Kulturen nicht schädlicher Bakterien- oder Hefenstämme, die in der Lage sind, die Mikroflora im Verdauungstrakt des Wirtstieres positiv zu beeinflussen (Fuller 1989). Die meisten bekannten Probiotika sind allerdings nicht in der Lage, aktuell genutzte Futterherstellungsprozesse wie z.B. Hitzebehandlung unbeschadet zu überstehen. Um diesem Problem zu begegnen, bietet sich der Einsatz von Sporenprodukten, wie z.B. von *Bacillus subtilis*, an.

Dem Einsatz von *B. subtilis* in Ferkelfutter liegen verschiedene Wirkungsweisen zu Grunde, wodurch der Einfluss auf verbesserte Produktionsparameter erklärt werden kann. *B. subtilis* verbraucht Sauerstoff im Verdauungstrakt, darüber hinaus produziert es verschiedene Enzyme wie beispielsweise Subtilisin und Catalase. Als Ergebnis entstehen bessere Umweltbedingungen für nützliche Bakterien wie z.B. Milchsäurebakterien. Diese kolonisieren die Darmwand und blocken die Bindungsstellen für pathogene Keime, ein als kompetitive Hemmung bezeichneter Mechanismus. Darüber hinaus produzieren Laktobazillen Milchsäure, die keimregulierend gegen Salmonellen, *E. coli*, Campylobacter und Clostridien wirkt (Hosoi et al. 2000). Zahlreiche Versuchsergebnisse zur Reduktion dieser pathogenen Keime durch von *B. subtilis* wurden bereits veröffentlicht (Maruta et al. 1996a+b, Fritts et al. 2000, La Ragione und Woodward 2003). Eine interessante Beobachtung hierbei machten Maruta et al. (1996a), die nicht nur weniger infizierte Tiere beschrieben, sondern auch reduzierte Konzentrationen an pathogenen Bakterien im Kot der infizierten Tiere feststellten.

Für den praktischen Einsatz ist die Verträglichkeit mit anderen Futterkomponenten wie beispielsweise organischen Säuren und therapeutischen Antibiotika aber auch die Stabilität gegenüber Hitzebehandlung bis zu Temperaturen von 90°C bedeutend. *B. subtilis* als sporenbildendes Bakterium liegt in einer inaktiven, stabilen Form vor und sporuliert nur unter optimalen Konditionen in den vegetativen Status (Hongh et al. 2005). Untersuchungsergebnisse zum Einfluss von Hitzeeinwirkung und Pelletieren auf die Überlebensfähigkeit von *B. subtilis* C-3102 wurden kürzlich beschrieben (Nollet 2005). Neue eigene Untersuchungen bestätigen die hervorragende Hitzestabilität auch unter Expanderbedingungen bis zu 105°C (Kampf und von der Aa 2010). Die Verträglichkeit von *B. subtilis* C-3102 gegenüber verschiedenen relevanten Futterzusätzen wie therapeutischen Antibiotika oder organischen Säuren wurde bereits *In vivo* untersucht und bestätigt (Enthoven und van der Lee 2004).

Auf Basis der präsentierten Daten zur Einsatzfähigkeit soll im Folgenden der Wirksamkeit von of *B. subtilis* C-3102 auf Leistungsmerkmale bei Ferkeln diskutiert werden.

# Material und Methoden

Zur Erlangung der EU-Registrierung als zootechnischer Zusatzstoff für Ferkel wurden 5 Fütterungsversuche in 3 verschiedenen EU-Ländern durchgeführt. In allen Versuchen wurde eine Dosis von $3x10^8$ KBE *B. subtilis* C-3102/kg Futter gegenüber einer unsupplementierten Kontrollgruppe eingesetzt (jeweils durch Analysen bestätigt). Die Anzahl an Tieren und Wiederholungen variierte zwar zwischen den einzelnen Versuchen, trotzdem hatte sogar der Versuch mit der geringsten Anzahl an Tieren (Versuch 1) immer noch 12 Wiederholungen je Versuchsgruppe. Die Dauer der Versuche betrug zwischen 42 und 43 Tagen. In vier der Versuche wurde die gleiche Anzahl männlicher und weiblicher Tiere (Large White x Landrasse) eingesetzt, während in Versuch 1 nur männliche Tiere der Rasse Duroc verwendet wurden. In allen Versuchen wurden neben den zootechnischen Parametern (Futteraufnahme, Tageszunahme, Futterverwertung) Gesundheitsstatus und Mortalität beobachtet. Die Messungen zur Futteraufnahme wurden jeweils je Futterabteil durchgeführt, alle anderen Daten wurden tierindividuell erhoben. Die Ergebnisse wurden auf Homogenität getestet, gepoolt und mittels Meta-Analyse ausgewertet (Medel et al. 2009).

Zur weiteren Bestätigung der EU-Zulassungsdaten wurde die Wirksamkeit von *B. subtilis* C-3102 auch unter Europäischen Praxisbedingungen in einem Versuch in Griechenland untersucht. Der Versuch wurde auf einem kommerziell geführten Sauenzuchtbetrieb mit einer Kapazität von 400 Sauen und eigener Futterherstellung durchgeführt. Nach dem Absetzen (1 Wochenrhythmus) im Alter von 32±2 Tagen wurden die Ferkel auf Flatdeck-Abteile mit jeweils 7-11 Tieren verteilt, wo sie bis zum 74 Lebenstag verweilten. Es wurden 2 Gruppen gebildet. Die Kontrollgruppe erhielt ein Mehlfutter ohne Probiotikum, der Versuchsgruppe wurde das gleiche Futter mit $3x10^8$ KBE *B. subtilis* C-3102/kg gefüttert. Der Versuch wurde in 2 Phasen durchgeführt, wobei jeweils das einzelne Ferkelabteil als Versuchseinheit gewertet wurde. Die erste Phase (Sommer) erstreckte sich von Mai bis August 2008 und die zweite Phase (Winter) von Dezember 2008 bis März 2009. Zur Sicherstellung der Homogenität der Versuchsgruppen und zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen wurde der Versuch im Crossover Blockdesign geplant. Im Sommerversuch wurden die Ferkel der 1. Abferkelgruppe gleichmäßig auf 2 Räume verteilt (in 6 von 12 möglichen Abteilen je Raum), dieser Ablauf wurde in der darauffolgenden Woche wiederholt (2. Abferkelgruppe). Am Ende von Woche 1 und 2 waren 2 Versuchsräume mit jeweils 12 Abteilen gebildet, die in etwa vergleichbar hinsichtlich Körpergewicht, Alter, Geschlecht und Wurfherkunft verteilt waren. Die Tiere aus Raum 1 dienten als Kontrollgruppe, die aus Raum 2 als Versuchsgruppe. Dieses Versuchsdesign wurde für die Abferkelgruppen 3 und 4 mit der Ausnahme, dass Raum 1 als Versuchs- und Raum 2 als Kontrollgruppe verwendet wurde, zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt. Der Winterdurchgang wurde mit exakt gleichem Versuchsdesign durchgeführt. Somit waren zu Versuchsende insgesamt 908 Absetzferkel aus 2 Durchgängen (Sommer und Winter) sowie 2 Versuchsgruppen (Räumen) mit jeweils 24 Wiederholungen (Abteilen) im Versuch. Während des Versuches wurden bei allen Tieren täglich klinische Symptome sowie zootechnische Parameter wie Lebendgewicht zu Versuchsende, Tageszunahmen und Futterverwertung aufgenommen (Kritas et al. 2010).

# Ergebnisse und Diskussion

Obwohl zeitweilig veterinärmedizinische Behandlungen notwendig waren, blieb die Anzahl der behandelten Tiere in 4 der 5 Versuche insgesamt gering und war als nicht versuchsgruppenrelevant einzustufen. Lediglich in Versuch 1 traten zur Versuchshälfte vermehrt Atemwegerkrankungen und Meningitis auf, woraufhin alle Tiere über das Trinkwasser mit Antibiotika behandelt werden mussten. Daraufhin wurde dieser Versuch bei der weiteren Auswertung nicht mehr berücksichtigt. In den übrigen 4 Versuchen wurde ein geringes Auftreten von Durchfallerkrankungen festgestellt, weiterhin fielen die Tierverluste insgesamt gering aus und konnten für die vorliegenden Versuchsbedingungen als normal eingestuft werden. Bezüglich der zootechnischen Ergebnisse wurden in Versuch 2 keine signifikanten

Unterschiede gemessen (Tabelle 1). Demgegenüber konnten aber in den weiteren drei Versuchen (Versuch 3, 4, 5) gegenüber der Kontrollgruppe zum Teil hochsignifikante Verbesserungen bei Körpergewicht, Tageszunahmen und Futterverwertung festgestellt werden. Weiterhin wurde bei den Tieren der Versuchsgruppen in der Tendenz eine verringerte Futteraufnahme gegenüber den Kontrolltieren gemessen. Obwohl dies statistisch nicht abgesichert werden konnte, ist es sicherlich zumindest teilweise der verbesserten Futterverwertung zuzuschreiben. Die Ergebnisse der Meta-Analyse bestätigen die in den einzelnen Versuchen gefundenen signifikanten Effekte vor allem auf die Tageszunahmen und die Futterverwertung (Tabelle 1; P<0,05; Medel et al. 2009).

**Tabelle 1**: Zusammenfassung der zootechnischen Ergebnisse des Einsatzes von *Bacillus subtilis* C-3102 beim Ferkel (Medel et al. 2009)

| **Versuchs-Nr.** | **Anzahl Tiere (Wiederholungen je Versuchsgruppe x Tiere/Abteil)** | ***Bacillus subtilis* C-3102 (KBE/kg Futter)** | **Körper-gewicht zu Versuchsende (kg)** | **Mittlere Tages-zunahmen (kg/Tag)** | **Futter-verwertung (kg/kg)** |
|---|---|---|---|---|---|
| Versuch 2 | 336<br>(16 x 7) | 0<br>$3 \times 10^8$<br>$1 \times 10^9$ | 21,4<br>21,1<br>21,1 | 0,31<br>0,30<br>0,30 | 1,57<br>1,59<br>1,58 |
| Versuch 3 | 280<br>(14 x 10) | 0<br>$3 \times 10^8$ | 28,6<br>29,8[2] | 0,54<br>0,58[1] | 1,53<br>1,41[1] |
| Versuch 4 | 426<br>(24 x 8–9) | 0<br>$3 \times 10^8$ | 25,6<br>27,5[3] | 0,43<br>0,48[3] | 1,93<br>1,72[2] |
| Versuch 5 | 421<br>(24 x 8–11) | 0<br>$3 \times 10^8$ | 25,3<br>26,3[3] | 0,41<br>0,44[3] | 1,88<br>1,73[3] |
| **Meta-Analyse** | | **0**<br>**$3 \times 10^8$** | **24,7**<br>**25,3[1]** | **0,417**<br>**0,433[1]** | **1,61**<br>**1,53[1]** |

Signifikante Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe [1]P<0,05, [2]P<0,001, [3]P<0,0001

Die Verfütterung von *B. subtilis* C-3102 unter praktischen Versuchsbedingungen zeigte ebenfalls hochsignifikante Verbesserungen der zootechnischen Parameter über die getesteten 8 Absetzgruppen mit insgesamt über 900 Ferkeln sowohl unter Sommer- als auch unter Winterproduktionsbedingungen (zusammengefasste Ergebnisse in Tabelle 2). Die Gehalte an *B. subtilis* C-3102 wurden im Futter und auch in Kotproben untersucht. In allen Fällen wurden die erwarteten Konzentrationen bestätigt, die Analysen in den Kontrollfuttermitteln und im Kot der Kontrolltiere zeigten weiterhin, dass keine Kreuzkontamination oder Verschleppung von *B. subtilis* C-3102 stattfand. Obwohl dieser Versuch unter üblichen Farmbedingungen durchgeführt wurde, konnte gezeigt werden, dass infolge der sorgfältigen Trennung der Behandlungen und des Crossover Designs eine Kreuzkontamination zwischen Kontrolle und Behandlung vermieden wurde, was folglich als Beleg für die Gültigkeit der Daten und die Homogenität der Gruppen zu werten ist. In dem vorliegenden Versuch wurden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich Mortalität und Futteraufnahme zwischen den Gruppen gemessen.

**Tabelle 2**: Wirkung von *Bacillus subtilis* C-3102 bei Ferkeln unter praktischen Fütterungsbedingungen (Kritas et al. 2010)

| **Parameter** | **Kontrolle** | ***Bacillus subtilis* C-3102** | **SEM** | **P** |
|---|---|---|---|---|
| Anfangsgewicht, kg | 7.74 | 7.73 | 0.04 | NS |
| Endgewicht, kg | 25.42 | 26.92 | 0.14 | <0.0001 |
| Tageszunahmen, kg | 0.42 | 0.46 | 0.038 | <0.0001 |
| Futterverwertung, kg/kg | 1.91 | 1.72 | 0.038 | <0.0001 |

# Schlussfolgerungen

Der Einsatz von Sporen des Stammes *Bacillus subtilis* C-3102 zeigte in verschiedenen Studien positive Auswirkungen bei der Reduzierung des pathogenen Keimdrucks im Darm. Probiotika in dieser Form können Hitzestress während der Pelletierung und unter Expanderbedingugnen überleben und sind kompatibel mit Futterzusätzen wie organischen Säuren und therapeutischen Antibiotika, die weitverbreitet in Ferkelrationen eingesetzt werden.

In zahlreichen Wirksamkeitsstudien zur Erlangung der EU Registrierung resultierte die Zulage von lebensfähigen Sporen von *Bacillus subtilis* C-3102 in Ferkeldiäten positiv auf Produktionsparameter wie Wachstum und Futterverwertung. Die Supplementation von *Bacillus subtilis* C-3102 führte unter praktischen Bedingungen (8 Absetzgruppen mit insgesamt über 900 Ferkeln) zu einer beständigen Verbesserung der zootechnischen Parameter, sowohl unter Produktionsbedingungen im Sommer als auch im Winter. Die Ergebnisse dieser Studien zeigen den Beitrag eines stabilen Futterprobiotikums für eine effiziente Ferkelproduktion.

## Literatur

Barton M.D. (2000): Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews*, 13, 279-299.

Enthoven, P., van der Lee, A. (2004): Compatibility of Calsporin® (preparation of viable spores of *Bacillus subtilis* C-3102) with EU approved coccidiostats, antimicrobials and organic acids in broiler feeds. CCL Research, Veghel, The Netherlands, trial code CCL 840.09.V.00.

Fritts, C., Kersey, J., Motl, M., Kroger, E. Yan, F., Jiang, J., Campos, M., Waldroup, L., Waldroup P. (2000): *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbial status of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 9, 149-155.

Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-368.

Hongh, H., Duc, L., Cutting, S. (2005): The use of bacterial sporeformers as probiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 813-835.

Hosoi, T., Ametani, A., Kiuchi, K., Kaminogawa, S. (2000): Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subitlis* (natto), catalase or subtilisin. *Canadian Journal of Microbiology*, 46, 892-897.

Kampf, D., von der Aa, A. (2010): Mode of action of *Bacillus subtilis* and efficiency in piglet feeding. In: M. Gierus et al. (Hrsg.) *Proceedings 11. Tagung Schweine- und Geflügelernährung*, 23.-25. November 2010, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Universität Halle-Wittenberg, ISBN: 978-3-86829-250-3, 28-30.

Kritas, S.K., Petridou, E., Valergakis, G., Fortomaris, P., McCartney, E., Marubashi, T. (2010): Efficacy of the thermo-tolerant probiotic, containing *Bacillus subtilis* spores, in weaned pigs. *Proceedings of the 21st IPVS Congress*, Vancouver, Canada, July 18-21, 1020

La Ragione, R., Woodward, M. (2003): Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* and *Clostridium perfringens* in young chickens. *Veterinary Microbiology*, 94, 245-256.

Medel, P., Esteve-García, E., Kritas, S., Bontempo, V., Marubashi, T., McCartney, E., Sánchez, J. (2009): Efficacy of a probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102) in weaned piglets. *Proceedings of the 60th Annual Meeting of the EAAP*, Barcelona, Spain, August 24-27, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 515.

Maruta, K., Miyazaki, H., Masuda, S., Takahashi, M., Marubashi, T., Tadano, Y., Takashi, H. (1996a): Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on the intestinal microflora in broilers. *Animal Feed Science and Technology (Jpn.)*, 67 (3), 273-280.

Maruta, K., Miyazaki, H., Tadano, Y., Masuda, S., Suzuki, A., Takahashi, H., Takahashi, M. (1996b): Effects of *Bacillus subtilis* C-3102 on Fecal Flora of Sows and on Diarrhea and Mortality of their piglets. *Animal Feed Science and Technology (Jpn.)*, 67 (5), 403-409.

Nollet, L. (2005): Stability of Calsporin® during pelleting of broiler feeds at 70, 80 or 90°C. CLO-INVE, Dendermonde, Belgium. Study code: PelInveCal0204/Broiler feeds.

## Autorenanschrift

Dr. Detlef Kampf
Orffa Additives B.V.
Lübecker Str. 29
D-46485 Wesel
E-Mail: kampf@orffa.com

# Wirkungsweise und Effizienz von *Bacillus subtilis* in der Mastgeflügelfütterung

**D. Kampf[1] und A. van der Aa[2]**

[1] Orffa Additives B.V., Wesel, Deutschland
[2] Orffa Additives B.V., Werkendam, Niederlande

## Einleitung

Zu Verhinderung von Krankheiten, die durch pathogenen Keimdruck in intensiven Broiler- und Putenhaltungssystemen entstehen, wurden früher vermehrt antimikrobielle Wachstumsförderer eingesetzt. Seit dem EU-Verbot dieser Produkte besteht ein erhöhtes Interesse an Alternativen zur Unterstützung der Darmmikroflora. Etabliert hat sich beispielsweise die Verwendung von Probiotika. Probiotika sind lebende Kulturen nicht schädlicher Bakterien- oder Hefenstämme, die in der Lage sind, die Mikroflora im Verdauungstrakt des Wirtstieres positiv zu beeinflussen (Fuller 1989). Die meisten bekannten Probiotika sind jedoch nicht in der Lage, angewandte Technologien während der Futterherstellung, wie z.B. Hitzeeinwirkung, zu überleben. Eine Möglichkeit, diese Probleme zu überwinden, ist der Einsatz von sporenbildenden Probiotika, insbesondere der Gattung *Bacillus subtilis*. Für den praktischen Einsatz ist hierbei auch die Verträglichkeit mit weiteren Futterzusätzen wie organischen Säuren, Kokzidiostatika und Antibiotika für therapeutische Zwecke sowie die Beständigkeit gegenüber hohen Temperaturen während der Pelletierung von bis 90° C zu berücksichtigen.

Dem Einsatz von *B. subtilis* in Geflügelfutter liegen verschiedene Wirkungsweisen zu Grunde, wodurch der Einfluss auf verbesserte Produktionsparameter erklärt werden kann. *B. subtilis* verbraucht Sauerstoff im Verdauungstrakt, darüber hinaus produziert es verschiedene Enzyme wie beispielsweise Subtilisin und Catalase. Als Ergebnis entstehen bessere Umweltbedingungen für nützliche Bakterien wie z.B. Milchsäurebakterien. Diese kolonisieren die Darmwand und blocken die Bindungsstellen für pathogene Keime, ein als kompetitive Hemmung bezeichneter Mechanismus. Darüber hinaus produzieren Laktobazillen Milchsäure, die keimregulierend gegen Salmonellen, *E. coli*, Campylobacter und Clostridien wirkt (Hosoi et al. 2000). Zahlreiche Versuchsergebnisse zur Reduktion dieser pathogenen Keime durch von *B. subtilis* wurden bereits veröffentlicht (Maruta et al. 1996, Fritts et al. 2000, La Ragione und Woodward 2003). Eine interessante Beobachtung machten Maruta et al. (1996) in einem Versuch, der mit insgesamt 18.000 Broilern durchgeführt wurde, und dabei nicht nur weniger infizierte Tiere beschrieben, sondern auch reduzierte Konzentrationen an pathogenen Bakterien im Kot der infizierten Tiere feststellten (Tabelle 1).

In einer anderen Studie wurde eine Verminderung der positiven Tiere für Campylobacterinfektionen von 100% in der Kontrollgruppe auf 40% bei Broilern, die *B. subtilis* (Dosierung $3x10^8$ KBE/kg Futter) von Tag 34 bis 56 erhielten, und auf 16% beobachtet, wenn *B. subtilis* von Tag 17 bis 56 zugeführt wurde (Maruta et al. 1996). Auch hier wurde nicht nur die Zahl der infizierten Vögel reduziert, sondern auch bei den mit Campylobacter infizierten Vögel signifikant niedrigere Gehalte an diesen pathogenen Bakterien in den Fäzes gefunden ($p<0,001$). Die Campylobacterkonzentrationen lagen in der Kontrolle bei 6,23 $log_{10}$/g Kot gegenüber 4,20 bzw. 3,77 $log_{10}$/g Kot bei den von Tag 34 bis 56 bzw. von Tag 17 bis 56 mit *B. subtilis* gefütterten Broilern.

Weitere Studien berichteten von einer durch *B. subtilis* verringerten pathogenen Belastung des Schlachtkörpers von Masthähnchen mit Salmonellen und Clostridien (La Ragione und Woodward 2003) oder von Salmonellen und Campylobacter (Fritts et al. 2000).

**Tabelle 1:** Einfluss von *Bacillus subtilis* C-3102 auf die Konzentration von *Clostridium perfringens* und Salmonellen (Maruta et al. 1996)

| | **Kontrolle (9.000 Broiler)** | ***Bacillus subtilis* C-3102 ($3x10^8$ KBE/kg Futter)** |
|---|---|---|
| *Clostridium perfringens*, $log_{10}$/g Kot | 3.39±0.79 | 2.62±0.47* |
| *Clostridium perfringens*, % positive Tiere | 93% | 47%* |
| *Salmonella spp.*, $log_{10}$/g Kot | 2.97±0.36 | 3.06±0.62 |
| *Salmonella spp.*, % positive Tiere | 57% | 17%* |

* P<0.01

Für den praktischen Einsatz ist die Verträglichkeit mit anderen Futterkomponenten wie beispielsweise organischen Säuren, Kokzidiostatika und therapeutischen Antibiotika aber auch die Stabilität bei Hitzebehandlung bis zu Temperaturen von 90°C bedeutend. *B. subtilis* als sporenbildendes Bakterium liegt in einer inaktiven, stabilen Form vor und sporuliert unter optimalen Konditionen in den vegetativen Status (Hongh et al. 2005). Untersuchungsergebnisse zum Einfluss von Hitzeeinwirkung und Pelletieren auf die Überlebensfähigkeit von *B. subtilis* C-3102 wurden kürzlich beschrieben (Nollet 2005). Neue eigene Untersuchungen bestätigen die hervorragende Hitzestabilität auch unter Expanderbedingungen bis zu 105°C (Kampf und von der Aa 2010). Die Verträglichkeit von *B. subtilis* C-3102 gegenüber verschiedenen relevanten Futterzusätzen wie Kokzidiostatika, therapeutischen Antibiotika und organischen Säuren wurde bereits hinreichend *In vivo* untersucht (Enthoven und van der Lee 2004) und in neueren Arbeiten abermals bestätigt (EFSA 2010).

Auf Basis der präsentierten Daten zur Einsatzfähigkeit soll im Folgenden der Wirksamkeit von *B. subtilis* C-3102 auf Leistungsmerkmale bei Masthühnern und -truthühnern diskutiert werden.

# Material und Methoden

### Masthühner

Die Wirksamkeit von lebensfähigen Sporen von *B. subtilis* C-3102 bei Masthühnern wurde in insgesamt acht Studien an verschiedenen Europäischen Forschungsinstituten mit insgesamt 13.732 Masthühnern durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Studien wurden in zwei Meta-Analysen ausgewertet (Gracia und Medel 2004, Gracia et al. 2007).

Im ersten Teil wurden insgesamt 8.208 Tieren in vier Versuchen geprüft. In jedem Versuch wurde ein vollständig randomisiertes Design mit jeweils zwei Behandlungen angewendet: 1) Basalration (Kontrolle) und 2) Basalration mit 100 mg/kg *B. subtilis* C-3102 (entspricht $10x10^8$ KBE/kg Futter) sowohl in der Starter- als auch Endmastphase. Die experimentellen Daten wurden auf Homogenität getestet, gepoolt und mittels Meta-Analyse zusammengefasst. Folgende Parameter wurden ermittelt: Körpergewicht (in g an Tag 21 und 42), Mortalität (%), Gewichtszunahme (g/Tag), Futteraufnahme (g/Tag) und Futterverwertung (g Futter/g Zunahme in den Phasen: Tag 1-21, 22-42 und 1-42). Probiotikazulage, Geschlecht und Versuch-Nr. dienten als Versuchsfaktoren (Gracia und Medel 2004).

In vier weiteren Versuchen mit insgesamt 5.524 männlichen Broilern in 126 Wiederholungen wurde ebenfalls ein vollständig randomisiertes Design gewählt, dass identisch mit dem aus dem ersten Teil der Untersuchungen war. Lediglich die Probiotikazulage zur Basalration in den Versuchsgruppen betrug nur 50 mg/kg *B. subtilis* C-3102 (entspricht $5x10^8$ KBE/kg Futter) sowohl in der Starter- als auch Endmastphase. Die experimentellen Daten wurden ebenfalls auf Homogenität getestet, gepoolt und mittels Meta-Analyse zusammengefasst. Als Parameter wurden wie im ersten Teil Körpergewicht, Mor-

talität, Gewichtszunahme, Futteraufnahme und Futterverwertung aufgezeichnet. Zusätzlich wurde ein European Production Efficiency Factor (EPEF) von Tag 1-42 berechnet. Als Versuchsfaktoren dienten auch hier Probiotikazulage, Geschlecht und Versuch-Nr. (Gracia et al. 2007).

### Mastputen

Zur Wirksamkeit bei Mastputen wurden drei Studien mit ähnlicher Versuchsanordnung durchgeführt. Im ersten Versuch wurden insgesamt 799 weibliche Eintagsküken (BUT 9) auf 24 Wiederholungen mit jeweils 33-34 Tieren verteilt, die nach 28 Tagen gewichtsbezogen bereinigt und auf 25 Tiere je Abteil verkleinert wurden. Die Puten wurden zufällig auf zwei Behandlungen (Kontrolle und *B. subtilis* C-3102) in einem Block-Design mit zwei identischen aber zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen getrennten Räumen verteilt. Gefüttert wurde eine je nach Alter der Puten typische kommerzielle Ration in Mehl- bzw. Pelletform. *B. subtilis* C-3102 wurde mit $3x10^8$ KBE/kg Futter zugesetzt, ansonsten waren die Rationen bezüglich Zusammensetzung und Nährstoffgehalt identisch. Der Versuch erstreckte sich über die Dauer von 84 Tagen (EFSA 2010).

In der zweiten Studie wurde *B. subtilis* C-3102 einer Grundration aus Weizen und Sojaschrot mit ebenfalls $3x10^8$ KBE/kg Futter zugelegt. Es wurden zwei Behandlungen (Kontrolle und *B. subtilis* C-3102) mit jeweils 32 Wiederholungen zu 15 Eintagsküken (insgesamt 960 männliche Tiere, BUT 8) für einen Zeitraum von 84 Tagen gebildet. Die Futter (Starter, Grower und Finisher) wurden *ad libitum* zur Verfügung gestellt (EFSA 2010).

Im dritten Versuch wurden 400 männliche Eintagsküken (Large White) nach dem Zufallsprinzip auf 16 Abteile (25 Küken pro Abteil) aufgeteilt und somit der jeweiligen Behandlung (Kontrolle und *B. subtilis* C-3102) fest zugeordnet. Es wurde beiden Versuchsgruppen die gleiche Grundration gefüttert (enthielt 90 mg Lasalocid-A-Natrium/kg Futter), lediglich dem Versuchsfutter wurden noch $3x10^8$ KBE/kg *B. subtilis* C-3102 zugesetzt. Der Versuch dauerte 126 Tage. Während des Versuchs wurden die individuellen Tiergewichte und der Futterverbrauch je Abteil gemessen. Die Gehalte an *B. subtilis* wurden jeweils durch Analyse bestätigt (EFSA 2010, Blair et al. 2004). In diesem Versuch wurde auch untersucht, inwieweit sich die Probiotikazulage auf die Konzentrationen an Ammonium im Kot auswirkt. Am 63. Versuchstag wurden nach dem Zufallsprinzip von jeweils 5 Abteilen der Kontroll- und Versuchsgruppe ca. 30 g Kot aus der Einstreu gesammelt und analysiert (Blair et al. 2004).

## Ergebnisse und Diskussion

### Masthühner

Die Zulage von $10x10^8$ KBE *B. subtilis* C-3102/kg Futter führte von Tag 1 bis 21 (Starter-Phase) zu einer tendenziell besseren Futterverwertung (1,41 vs. 1,40 g Futter/g Zuwachs; P=0,07). Während der Wachstumsphase (22. bis 42. Lebenstag) verbesserten sich durch die Probiotikazulage signifikant Futterverwertung (2,02 vs. 1,95; P=0,0001) und mittlere tägliche Zunahmen (76,96 vs. 79,86 g/Tag; P=0,0001). Während der gesamten Untersuchungszeit waren diese Unterschiede ebenfalls statistisch abzusichern, die mit *B. subtilis* C-3102 gefütterten Broiler wuchsen schneller (55,5 vs. 57,0 g/Tag; P=0,0007) und zeigten ein bessere Futterverwertung (1,82 vs. 1,77; P=0,0003) als die Kontrolltiere (Tabelle 2; Gracia und Medel 2004).

Infolge der Verabreichung von $5x10^8$ KBE *B. subtilis* C-3102/kg Futter verbesserte sich das Wachstum (36,4 vs. 37,6 g/Tag; P<0,01) und die Futteraufnahme (59,2 vs. 60,4 g/Tag; P<0,05) vom 1. bis 21. Lebenstag signifikant. Vom 22. bis 42. Tag war die Futterverwertung verbessert (2,02 vs. 1,96; P<0,05). Über den gesamten Zeitraum wuchsen die mit Probiotika gefütterten Masthähnchen schneller (61,2 vs. 62,2 g/Tag; P=0,055) und zeigten eine bessere Futterverwertung (1,90 vs. 1,85; P<0,05). Der berechnete EPEF-Wert (303 vs. 317; P<0,01) erwies sich gegenüber der Kontrolle eben-

falls signifikant erhöht. Die Mortalität (Mittelwert 6,4%) konnte für die gewählten experimentellen Modelle (Futter ohne Kokzidiostatika und Antibiotika, Masthähnchen in zwei Studien auf bereits benutzter Einstreu gehalten) als normal bezeichnet werden und war unabhängig von der Behandlung. (Tabelle 2; Gracia et al 2007).

**Tabelle 2**: Zusammenfassung der zootechnischen Ergebnisse des Einsatzes von *Bacillus subtilis* C-3102 bei Masthühnern (Gracia und Medel 2004, Gracia et al 2007)

| **Versuchs-Nr.** | **Anzahl Tiere (Wiederholungen je Versuchsgruppe x Tiere/Abteil)** | ***Bacillus subtilis* C-3102 (KBE/kg Futter)** | **Körper-gewicht zu Versuchsende (kg)** | **Mittlere Tages-zunahmen (g/Tag)** | **Futter-verwertung (kg/kg)** |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 704<br>(16 x 22) | 0<br>$5x10^8$ | 2,526<br>2,611 | 59,1<br>61,1 | 1,99<br>$1,88^{**}$ |
| 2 | 1364<br>(11 x 62) | 0<br>$5x10^8$ | 2,841<br>2,849 | 66,7<br>66,9 | 1,82<br>1,82 |
| 3 | 2400<br>(12 x 100) | 0<br>$5x10^8$ | 2,387<br>2,413 | 57,2<br>57,8 | 1,85<br>1,84 |
| 4 | 1056<br>(24 x 22) | 0<br>$5x10^8$ | 2,642<br>$2,648^{*}$ | 61,8<br>$62,9^{*}$ | 1,92<br>$1,87^{**}$ |
| **Meta-Analyse** | | **0**<br>**$5x10^8$** | **2,599**<br>**$2,640^{*}$** | **61,2**<br>**$62,2^{*}$** | **1,90**<br>**$1,85^{**}$** |
| 5 | 1800<br>(25 x 36) | 0<br>$10x10^8$ | 2,425<br>2,427 | 56,7<br>56,8 | 1,70<br>$1,68^{*}$ |
| 6 | 2600<br>(26 x 50) | 0<br>$10x10^8$ | 2,000<br>$2,073^{**}$ | 46,6<br>$48,3^{**}$ | 1,98<br>$1,91^{**}$ |
| 7 | 2560<br>(64 x 40) | 0<br>$10x10^8$ | 2,456<br>2,591 | 58,5<br>$61,7^{*}$ | 1,83<br>1,77 |
| 8 | 1248<br>(24 X 26) | 0<br>$10x10^8$ | 2,491<br>2,459 | 59,3<br>58,5 | 1,74<br>1,73 |
| **Meta-Analyse** | | **0**<br>**$10x10^8$** | **2,372**<br>**$2,436^{***}$** | **55,5**<br>**$57,0^{***}$** | **1,82**<br>**$1,77^{***}$** |

Signifikante Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe $^{*}P<0,10$; $^{**}P<0,05$; $^{***}P<0,001$

**Mastputen**

Am Ende von Versuch 1 waren die Tiere der Versuchsgruppe infolge höherer mittlerer Tageszunahmen schwerer und hatten mehr Futter verzehrt als die Vögel der Kontrollgruppe (Tabelle 3; P<0,05; EFSA 2010). Die Futterverwertung unterschied sich zwischen den Behandlungen nicht signifikant. Die Gesamtmortalität war niedrig (<4%) und zwischen den Behandlungen nicht zu unterscheiden. Am Ende von Versuch 2 waren die mit *B. subtilis* C-3102 gefütterten Tiere signifikant schwerer, zeigten einen höheren Futterverbrauch aber auch eine deutlich bessere Futterverwertung als die Tiere der Kontrollgruppe (Tabelle 3; P<0,05; EFSA 2010). Im 3. Versuch waren die mit *B. subtilis* C-3102 gefütterten Puten über den gesamten Zeitraum signifikant schwerer als die Vögel in der Kontrollgruppe. Es

wurden keine Unterschiede bei Futterverwertung oder Mortalität beobachtet (Tabelle 3; P<0,05; EFSA 2010, Blair et al. 2004). Hinsichtlich der Ammoniumkonzentration im Kot ergaben sich hochsignifikante Unterschiede, so wurden infolge der Gabe von *B. subtilis* C-3102 lediglich 7,80 ppm gegenüber 25,2 ppm Ammonium in der Kontrolle gemessen (p>0,001, Blair et al. 2004)

**Tabelle 3**: Zusammenfassung der zootechnischen Ergebnisse des Einsatzes von *Bacillus subtilis* C-3102 bei Puten (EFSA 2010, Blair et al. 2004)

| **Versuchs-Nr.** | **Anzahl Tiere (Wiederholungen je Versuchsgruppe x Tiere/Abteil)** | ***Bacillus subtilis* C-3102 (KBE/kg Futter)** | **Körper-gewicht zu Versuchsende (kg)** | **Mittlere Tages-zunahmen (g/Tag)** | **Futter-verwertung (kg/kg)** |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 600<br>(12 X 25) | 0<br>$3x10^8$ | $6.5^a$<br>$6.7^b$ | $77,7^a$<br>$80,5^b$ | 2.06<br>2.05 |
| 2 | 960<br>(32 X 15) | 0<br>$3x10^8$ | $9.5^a$<br>$9.8^b$ | $112,6^a$<br>$116,6^b$ | $2.05^a$<br>$2.02^b$ |
| 3 | 400<br>(8 X 25) | 0<br>$3x10^8$ | $13,4^a$<br>$14,3^b$ | $105,9^a$<br>$113,2^b$ | 2.42<br>2.42 |

Signifikante Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe $^{a,b}$ P<0.05
Versuch 1 nur weibliche Tiere, Versuch 2+3 nur männliche Tiere

# Schlussfolgerungen

Der Einsatz von Sporen des Stammes *Bacillus subtilis* C-3102 zeigte bereits in verschiedenen Studien positive Auswirkungen bei der Reduzierung pathogener Keime im Darm und am Schlachtkörper. Probiotika in dieser Form können Hitzestress sowohl während der Pelletierung als auch unter Expanderbedingugnen überleben und sind kompatibel mit Futterzusätzen wie Kokzidiostatika, organischen Säuren und therapeutischen Antibiotika, die weitverbreitet in Mastgeflügelrationen eingesetzt werden.

In zahlreichen Wirksamkeitsstudien zur Erlangung der EU Registrierung mit insgesamt fast 14.000 Broilern und fast 2.000 Mastputen resultierte die Zulage von lebensfähigen Sporen von *Bacillus subtilis* C-3102 in Masthühner- und Masttruthühnerrationen positiv auf Produktionsparameter wie vor allem Tageszunahmen und Futterverwertung. Die Ergebnisse dieser Studien zeigten den Beitrag eines stabilen Futterprobiotikums für eine effiziente Masthühner- und Masttruthühnerproduktion.

Zusammenfassend kann *Bacillus subtilis* C-3102 erfolgreich in der Hühner- und Truthühnermast verwendet werden, da hiermit eine gute Darmgesundheit gesichert und ein zu starkes Wachstum pathogener Bakterien verhindert werden kann, die als Krankheiten entweder für das Geflügel selbst oder als Zoonosen beim Menschen nach dem Verzehr von Geflügelfleisch relevant werden können.

## Literatur

Barton M.D. (2000): Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews*, 13, 279-299.

Blair, E.C., Allen, H.M., Brooks, S.E., Firman, J.D., Robbins, D.H., Nishimura, K., Ishimaru, H. (2004): Effects of Calsporin® on Turkey Performance, Carcass Yield and Nitrogen Reduction. *International Journal of Poultry Science*, 3 (1), 75-79,

Enthoven, P., van der Lee, A. (2004): Compatibility of Calsporin® (preparation of viable spores of *Bacillus subtilis* C-3102) with EU approved coccidiostats, antimicrobials and organic acids in broiler feeds. CCL Research, Veghel, The Netherlands, trial code CCL 840.09.V.00.

EFSA (2010): Scientific Opinion on the safety and efficacy of Calsporin® (*Bacillus subtilis*) for turkeys for fattening, ducks, geese, pigeons and other game birds for meat production, ducks, geese, pigeons, game birds, ornamental and sporting birds for rearing to point of lay, turkeys reared for breeding and chickens reared for laying. *EFSA Journal*, (8) 10, 1867 (13pp.)

Fritts, C., Kersey, J., Motl, M., Kroger, E. Yan, F., Jiang, J., Campos, M., Waldroup, L., Waldroup P. (2000): *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbial status of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 9, 149-155.

Fuller, R. (1989): Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-368.

Gracia, M. and Medel, P. (2004): Statistical meta-analysis of data from four EU efficacy studies conducted with Calsporin® in broilers. IMASDE, Madrid, Spain. Unique Study Code: Meta.1.04

Gracia, M., Esteve-Garcia, E., Cachaldora, P., Marubashi, T., McCartney, E. and Medel, P. (2007): Efficacy of a bacillary probiotic in broilers. J. Poultry Sci., 86, suppl. 1, 316-317.

Hongh, H., Duc, L., Cutting, S. (2005): The use of bacterial sporeformers as probiotics. *FEMS Microbiology Reviews*, 29, 813-835.

Hosoi, T., Ametani, A., Kiuchi, K., Kaminogawa, S. (2000): Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subitlis* (natto), catalase or subtilisin. *Canadian Journal of Microbiology*, 46, 892-897.

Kampf, D., von der Aa, A. (2010): Mode of action of *Bacillus subtilis* and efficiency in piglet feeding. In: M. Gierus et al. (Hrsg.) *Proc. 11. Tagung Schweine- und Geflügelernährung*, 23.-25. November 2010, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Universität Halle-Wittenberg, ISBN: 978-3-86829-250-3, 28-30.

Kritas, S.K., Petridou, E., Valergakis, G., Fortomaris, P., McCartney, E., Marubashi, T. (2010): Efficacy of the thermo-tolerant probiotic, containing *Bacillus subtilis* spores, in weaned pigs. *Proceedings of the 21st IPVS Congress*, Vancouver, Canada, July 18-21, 1020

La Ragione, R., Woodward, M. (2003): Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* and *Clostridium perfringens* in young chickens. *Veterinary Microbiology*, 94, 245-256.

Medel, P., Esteve-García, E., Kritas, S., Bontempo, V., Marubashi, T., McCartney, E., Sánchez, J. (2009): Efficacy of a probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102) in weaned piglets. *Proceedings of the 60th Annual Meeting of the EAAP*, Barcelona, Spain, August 24-27, Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, 515.

Maruta, K., Miyazaki, H., Masuda, S., Takahashi, M., Marubashi, T., Tadano, Y., Takashi, H. (1996): Exclusion of intestinal pathogens by continuous feeding with *Bacillus subtilis* C-3102 and its influence on the intestinal microflora in broilers. *Animal Feed Science and Technology*, 67 (3), 273-280.

Nollet, L. (2005): Stability of Calsporin® during pelleting of broiler feeds at 70, 80 or 90°C. CLO-INVE, Dendermonde, Belgium. Study code: PelInveCal0204/Broiler feeds.

## Autorenanschrift

Dr. Detlef Kampf
Orffa Additives B.V.
Lübecker Str. 29
D-46485 Wesel
E-Mail: kampf@orffa.com

# Einfluss von Inulin und Probiotika auf die Nährstoffverdaulichkeit bei Absetzferkeln

**Christiane Mair, Christian Plitzner und Wilhelm Windisch**

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

## Einleitung

Der Primäreffekt, der durch eine Applikation von nicht-antibiotischen Leistungsförderern wie Probiotika oder Prebiotika als Futtermittelzusatzstoffe in der Schweine- und Geflügelfütterung erwartet wird, ist eine Verbesserung der zootechnischen Parameter sowie die Veränderung der Mikroflora des Gastrointestinaltraktes (GIT) auf direktem oder indirektem Weg. Daher werden in diesem Zusammenhang vor allem qualitative sowie quantitative Veränderungen der Darmflora und der mikrobiellen Stoffwechselprodukte untersucht. Wissenschaftliche Studien haben jedoch gezeigt, dass Probiotika und Prebiotika in der Human- und Tierernährung auch die Nährstoffverdaulichkeit und -absorption beeinflussen können (Breves et al. 2000, Huang et al. 2004, Lodemann et al. 2006, Wang et al. 2009).

Im vorliegenden Fütterungsversuch wurden Inulin als Prebiotikum, ein Multispezies-Probiotikum sowie deren Kombination in einem Produkt (Synbiotikum) im Futter von Absetzferkeln eingesetzt. Neben den Ergebnissen der Aufzuchtleistung sind dabei bereits die Einflüsse auf die Mikroflora im Intestinaltrakt, die Darmmorphologie sowie die Expression ausgewählter immunologischer Markergene im GIT und in immunologisch relevantem Gewebe beschrieben worden (Mair et al. 2010a, Mair et al. 2010b). Im vorliegenden Beitrag soll nun der Einfluss dieser Futtermittelzusatzstoffe auf die scheinbare praecaecale und fäkale Verdaulichkeit sowie die Plasmakonzentration ausgewählter Nährstoffe besprochen werden.

## Material und Methoden

### Versuchsgruppen und Fütterung

Die Studie wurde als 2-faktorieller Versuch mit den experimentellen Komponenten „Prebiotikum" in zwei Faktorstufen (0 und 0,4 % Inulin, Frutafit® IQ, Sensus, Niederlande) und „Probiotikum" (0 und 1 x $10^9$ koloniebildende Einheiten (KBE) / kg Frischmasse eines Multispezies-Probiotikums, Mischung aus *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium thermophilum*; Biomin GmbH, Herzogenburg, Österreich, (Klose et al. 2010)) durchgeführt. Die isokalorischen und isonitrogenen Diäten enthielten als Hauptkomponenten in der geschroteten Basisration 30 % Mais, 35,7 % Gerste, 6,0 % Kartoffelprotein, 6,7 % Sojaproteinkonzentrat, 5,1 % Süßmolkepulver, 4,8 % Dextrose und 2,1 % Palmkernöl. Der Rohproteingehalt sowie der kalkulierte Gehalt an metabolischer Energie (GfE 2008) lag im Mittel bei 18,5 % beziehungsweise 15,6 MJ/kg in der Trockenmasse. Die Versuchsmischungen sowie Wasser standen den Tieren *ad libitum* zur Verfügung. Als unverdaulicher Marker wurde Titandioxid ($TiO_2$) in einer Menge von 0,5 % verwendet.

### Versuchstiere, Haltung und Schlachtung

Als Versuchstiere dienten 48 gesunde Absetzferkel (Edelschwein x Piétrain, mittleres Lebendgewicht zu Versuchsbeginn: 9,2 ± 0,2 kg), die nach Wurf, Geschlecht und Lebendmasse in die vier Versuchsgruppen eingeteilt wurden. Die Studie fand an der Landwirtschaftlichen Fachschule Hatzendorf (Stei-

ermark, Österreich) statt, wo die Tiere in acht Boxen zu je sechs Tieren auf Vollspaltenboden gehalten wurden. Der Fütterungsversuch erstreckte sich von der vierten bis zur achten Lebenswoche, wonach die Ferkel mit einem durchschnittlichen Lebendgewicht von 17,7 ± 0,4 kg am 28. und 29. Versuchstag ohne vorangegangene Nüchterung geschlachtet wurden.

**Probenahme**

Zur Bestimmung der scheinbaren fäkalen Verdaulichkeit wurden an den Versuchstagen 22 bis 24 tierindividuell Kotproben gesammelt, welche im Anschluss gepoolt und für die Nährstoffanalysen gefriergetrocknet und homogenisiert wurden.

Während der Schlachtung wurden Chymusproben aus dem distalen Ileum (etwa 1 m bis 10 cm vor dem Caecum) gezogen und bis zur Analyse bei -20 °C gelagert. Zusätzlich wurden Blutproben in Heparinröhrchen genommen, durch Zentrifugieren das Blutplasma daraus gewonnen und bei -20 °C bis zur Analyse gelagert.

**Chemische Analysen**

Die Futtermischungen und Kotproben wurden auf Trockenmasse (T), Rohprotein (XP) und Organische Masse (OM) nach Standardmethoden untersucht (Naumann und Bassler 1997). Aufgrund geringer Probenausbeute bei Ileumchymus beschränkte sich die Analytik für die praecaecale Verdaulichkeit auf die Analyse der T und XP. Als Indikatormethoden kamen $TiO_2$ für die praecaecale und fäkale Verdaulichkeit und der Parameter salzsäureunlösliche Asche (SUA) (Naumann und Bassler 1997) als zusätzlicher Indikator im Kot zur Anwendung. Für die Analyse der $TiO_2$-Konzentrationen wurden 1 g Futtermittel bzw. 0,8 g Chymus oder Kot in 20 ml konzentrierter Schwefelsäure analog der Kjeldahl-Methode aufgeschlossen und mit destilliertem Wasser auf 100 ml ergänzt. Zu 5 ml filtrierter Probe wurde 1 ml Schwefelsäure und 1 ml Wasserstoffperoxid (30 %) pipettiert und die Farbintensität bei 405 nm am Spektralphotometer gemessen. Mit kommerziellen Testkits wurde am Roche Hitachi 911 der Gehalt an Glukose, Triglycerid, Cholesterin, Bilirubin, Gesamtprotein, Albumin und Harnstoff im Plasma bestimmt.

**Statistik**

Die scheinbare praecaecale und fäkale Verdaulichkeit der Nährstoffe wurde nach folgender Formel errechnet:

$$scheinbare\ Verdaulichkeit\ (\%) = 100 - \left(\frac{Indikator_{Futter}\ (\%)}{Indikator_{Ileum\ bzw\ Kot}\ (\%)} * \frac{Nährstoff_{Ileum\ bzw\ Kot}\ (\%)}{Nährstoff_{Futter}(\%)} * 100\right)$$

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit der Statistical Analysis Software (SAS 9.1.3, SAS Institute Inc., NC, USA, 2002-2003) unter Verwendung der procedure GLM und einem statistischen Modell einschließlich experimenteller Faktoren (Inulin, I, Probiotikum, P), sowie deren Interaktion (IxP). Im Falle einer signifikanten Interaktion der experimentellen Faktoren wurden die Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen mit multiplen Vergleichen der Mittelwerte nach Tukey-Kramer bestimmt. Die Ergebnisse werden als least square means und Standardfehler des Mittelwertes (standard error of mean, SEM) angegeben. Ein α von 0,05 wurde als statistische Signifikanz gewertet. Zusätzlich wurden Korrelationen zwischen den Ergebnissen der beiden verwendeten Indikatoren $TiO_2$ und SUA in den Kotproben mit dem PROC CORR statement von SAS ermittelt.

# Ergebnisse und Diskussion

Im vorliegenden Fütterungsversuch mit Inulin als Prebiotikum, mit einem Multispezies-Probiotikum sowie deren Kombination in einem Produkt (Synbiotikum) wurde kein signifikanter Einfluss auf die zootechnischen Leistungsparameter von Absetzferkeln beobachtet. Dennoch zeigten sich Veränderungen der Mikroflora, der Darmmorphologie sowie der Expression ausgewählter immunologischer Markergene auch in den vorderen Darmabschnitten (Mair et al. 2010a, Mair et al. 2010b). Daraus ergab sich die Fragestellung nach dem Einfluss der Futtermittelzusatzstoffe auf die scheinbare Verdaulichkeit der Nährstoffe:

Die Ergebnisse der scheinbaren Verdaulichkeit von Trockenmasse, Rohprotein und organischer Masse sind in Abbildung 1 bis 3 dargestellt. Der experimentelle Faktor Inulin bewirkte eine signifikante Verringerung der fäkalen Trockenmasseverdaulichkeit, wenn mit dem Marker $TiO_2$ ausgewertet. Desweiteren hatte Inulin eine reduzierende Wirkung auf die praecaecale und fäkale Verdaulichkeit des Rohproteins ($TiO_2$). Die verringerte fäkale Verdaulichkeit der organischen Masse durch den Zusatz von Inulin in die Futterrationen konnte mit beiden eingesetzten unverdaulichen Markern ($TiO_2$ und SUA) beobachtet werden. Obwohl der Faktor Probiotikum keinen signifikanten Einfluss auf die untersuchten Parameter hatte, wies die Probiotikagruppe nach Mittelwertvergleichen die höchsten Verdaulichkeiten ($TiO_2$) auf.

Im Gegensatz dazu zeigten die Versuchsgruppen, die Inulin erhielten, höhere Albumin- (+6,9 %) und entsprechend auch höhere Gesamtproteinwerte (+6,6 %) im Blutplasma. Die übrigen Blutparameter wurden durch die Fütterung nicht signifikant beeinflusst (Daten nicht gezeigt).

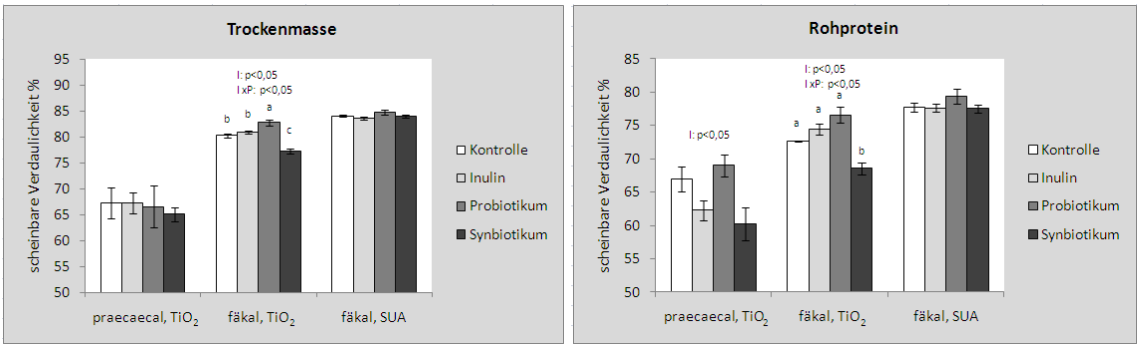



**Abbildung 1+2**: Scheinbare Trockenmasse- bzw. Rohproteinverdaulichkeit, praecaecal und fäkal, mit $TiO_2$ bzw. SUA als Marker; I: Inulin; IxP: Interaktion von Inulin und Probiotikum

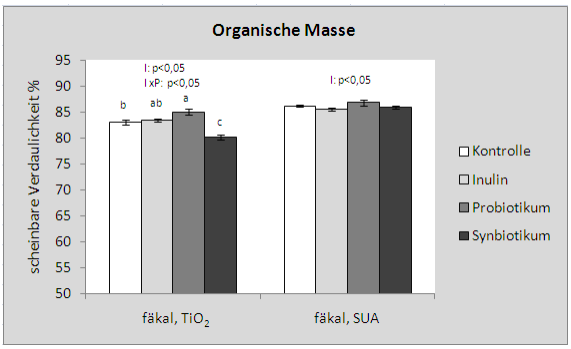



**Abbildung 3**: Scheinbare fäkale Verdaulichkeit der organischen Masse, mit $TiO_2$ bzw. SUA als Marker; I: Inulin; IxP: Interaktion von Inulin und Probiotikum

Böhmer et al. (2005) fanden keine Veränderung der Nährstoffverdaulichkeit beim Einsatz von Inulin oder *Enterococcus faecium* bei Mastschweinen. Demgegenüber wies Diez et al. (1998) ebenfalls eine Senkung der XP- und OM-Verdaulichkeit durch hohe Dosen (7 %) an Inulin bei Hunden nach. Die verringerte scheinbare Verdaulichkeit von T (fäkal), XP (praecaecal und fäkal) und OM (fäkal) durch den Inulinzusatz hatte auch keinen Einfluss auf die zootechnische Leistung der Tiere (Mair et al. 2010a). Eine niedrigere scheinbare Stickstoff-Verdaulichkeit wird häufig beschrieben, wenn durch einen höheren Gehalt an Mikroorganismen im Darm auch mehr Mikrobenprotein und -zellmasse ausgeschieden werden (GIBSON et al., 1995). Untersuchungen der Mikrobiota im GIT der Ferkel ergaben, dass Inulin vor allem im proximalen Bereich eine Erhöhung der Keimzahl bewirkte (Mair et al. 2010a).

Die Auswertung der scheinbaren fäkalen Verdaulichkeit mit den beiden unverdaulichen Markern zeigte deutliche Unterschiede: Bei $TiO_2$ war die Verdaulichkeit im Vergleich zu SUA im Mittel um 5 % geringer, zusätzlich zeigten die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen bei $TiO_2$ stärkere Ausprägungen. Vergleichbare Beobachtungen wurden auch bei Geflügel gemacht (Palander et al. 2010, Sales und Janssens 2003). Dennoch korrelierten die Ergebnisse mit SUA bzw. $TiO_2$ als Indikator signifikant (T fäkal: r=0,41, p=0,005; XP fäkal: r=0,55, p=<0.0001; OM fäkal: r=0,46, p=0,002). Die individuellen Ergebnisse deuten daher an, dass Passagerate oder Verteilung der Marker im Vergleich zu den Nährstoffen nicht gleichförmig sein könnte (Palander et al. 2010).

# Schlussfolgerungen

Während der Zusatz des Multispezies-Probiotikums keinen Effekt auf die Nährstoffverdaulichkeit und Plasmaparameter aufwies, so bewirkte Inulin verminderte scheinbare Verdaulichkeit bei Trockenmasse, Rohprotein und organischer Masse. Diese Veränderungen spiegelten sich jedoch nicht in der Leistung der Tiere wider. Zusätzlich zeigen die Ergebnisse, dass die Wahl des Indikators für die Ermittlung der Verdaulichkeit entscheidenden Einfluss auf das Ergebnis haben kann.

## Literatur

Böhmer B.M., Branner G.R. und Roth-Maier D.A. (2005) Precaecal and faecal digestibility of inulin (DP 10-12) or an inulin/*Enterococcus faecium* mix and effects on nutrient digestibility and microbial gut flora. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 89(11-12):388-396.

Breves G., Walter C., Burmester M. und Schroder B. (2000) In vitro studies on the effects of Saccharomyces boulardii and Bacillus cereus var. toyoi on nutrient transport in pig jejunum. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 84(1-2):9-20.

Diez M., Hornick J.L., Baldwin P., Van Eenaeme C. und Istasse L. (1998) The influence of sugar-beet fibre, guar gum and inulin on nutrient digestibility, water consumption and plasma metabolites in healthy Beagle dogs. *Res Vet Sci*. 64(2):91-96.

GfE (2008) Communications of the Committee for Requirement Standards of the Society of Nutrition Physiology - Prediction of Metabolisable Energy of compound feeds for pigs. *Proc Soc Nutr Physiol*. 17:199-204.

Huang C.H., Qiao S.Y., Li D.F., Piao X.S. und Ren J.P. (2004) Effects of Lactobacilli on the performance, diarrhea incidence, VFA concentration and gastrointestinal microbial flora of weaning pigs. *Asian Austral J Anim*. 17(3):401-409.

Klose V., Bruckbeck R., Henikl S., Schatzmayr G. und Loibner A.P. (2010) Identification and antimicrobial susceptibility of porcine bacteria that inhibit the growth of Brachyspira hyodysenteriae in vitro. *Journal of Applied Microbiology*. 108(4):1271-1280.

Lodemann U., Hubener K., Jansen N. und Martens H. (2006) Effects of Enterococcus faecium NCIMB 10415 as probiotic supplement on intestinal transport and barrier function of piglets. *Arch Anim Nutr*. 60(1):35-48.

Mair C., Plitzner C., Domig K.J., Schedle K. und Windisch W. (2010a) Impact of inulin and a multispecies probiotic formulation on performance, microbial ecology and concomitant fermentation patterns in newly weaned piglets. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 94(5):e164-177.

Mair C., Plitzner C., Pfaffl M.W., Schedle K., Meyer H.H. und Windisch W. (2010b) Inulin and probiotics in newly weaned piglets: effects on intestinal morphology, mRNA expression levels of inflammatory marker genes and haematology. *Arch Anim Nutr*. 64(4):304-321.

Naumann C. und Bassler R. (1997) Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Darmstadt, Germany: VDLUFA-Verlag.

Palander S., Näsi M. und Palander P. (2010) Digestibility and energy value of cereal-based diets in relation to digesta viscosity and retention time in turkeys and chickens at different ages estimated with different markers. *Arch Anim Nutr*. 64(3):238-253.

Sales J. und Janssens G.P. (2003) Methods to determine metabolizable energy and digestibility of feed ingredients in the domestic pigeon (Columba livia domestica). *Poult Sci*. 82(9):1457-1461.

Wang J.P., Yoo J.S., Kim H.J., Lee J.H. und Kim I.H. (2009) Nutrient digestibility, blood profiles and fecal microbiota are influenced by chitooligosaccharide supplementation of growing pigs. *Livestock Science*. 125(2-3):298-303.

## Autorenanschrift

Dr. Christiane Mair
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11
A-1190 Wien
E-Mail: christiane.mair@boku.ac.at

Schröckenfuchs Projekt-Agentur

# Going back to the roots, we found the future:

# OptiCell®

EUBIOTIC FIBRE

**The intelligent solution for gut-friendly feeding**
**Functional dietary fibre · Well-balanced digestion**

To learn more about how OptiCell® can positively influence your future, visit us at *www.opticell.at*

agromed Austria GmbH
Bad Hallerstr. 23
A-4550 Kremsmünster
T +43 (0)7583/ 5105
F +43 (0)7583/ 5105-40

info@agromed.at | www.agromed.at

agromed
natural effects

# Influence of Yeast culture supplementation in the diet of dairy cows on rumen fermentation and milk yield

**Petr Doležal[1], Jan Doležal[1], Katarzyna Szwedziak[2], Roman Poštulka[1] and Marek Tukiendorf[2]**

[1] Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy, Department of Animal Nutrition and Forage Production, Czech Republic
[2] University of Technology Opole, Poland

## Abstract

The aim of this study was to determine the effect of a 5 g yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae* SC 47) addition in the diet of dairy cows on their rumen fermentation and milk production. Animals received a diet TMR consisting of good maize silage with a higher dry matter content (14 kg), 14 kg of lucerne-grass haylage, 5 kg of crushed ears of maize, 5 kg of beet pulp silage, 3 kg of crimped corn wheat, 2 kg of meadow hay, and 7.0 kg feed mixture. The yeast culture was added to the mixture. The supplement of yeast culture showed a positive effect on ruminal VFA production by the experimental group of cows in comparison with the control, higher production ($P< 0.05$) on sampling day 30 and 60 ($114 \pm 25.44^{a}$ vs. $125 \pm 26.49^{b}$, resp. $146 \pm 32.47^{b}$ vs. $149 \pm 36.64^{d}$). The average utilisation of ammonia was higher by cows in the control group, and the difference vs. the treated group was significant. The difference in the number of protozoa of cows in the control and experimental groups was significantly ($P< 0.01$) different ($353\pm 6.97^{A}$ vs. $386\pm 3.91^{C}$ ths /1 ml of rumen fluid), resp. $343\pm 4.77^{B}$ vs $398\pm 6.51^{D}$. Average FCM milk production was higher in the experimental group ($38\pm3.33^{B}$ vs $33\pm1.64^{A}$).

## Introduction

The effect of yeast action on animals was well documented in the last twenty years namely in dairy cows (Dawson, 1999). The response of cows to the administration of yeast is relatively changeable and ranged from 2% to 30%. The response of animals to the addition of yeast cultures into feeding diets also depends on the treatment of animals and on their feeding regimes. Apart from this, it is also necessary to point out great individual differences between animals in the groups. According to Doreau and Jouany (1998), yeasts reduce the size of variability in dairy cows fed with higher amounts of cereals.

The beneficial influence of yeasts on the production efficiency of animals can be explained also by the fact that after their application, the animals show increased fodder intake and improved digestibility of nutrients (Edwards et al., 1990; Williams et al., 1991; Erasmus et al., 1992; Mutsvanga et al., 1992). Lyons (1997) and Rose (1987) inform that the capacity of yeast to produce glutamic acid may enhance the palatability of feeds for ruminants. Regarding the fact that yeasts in the rumen accelerate the decomposition of solids contained in the fodder during the first 6-8 hours after feeding, the animals can take in their digestive tract a larger amount of dry matter and the rate of chyme removal from the rumen may increase. This physical regulation may be one of reasons for the higher intake of fodder, which is as a rule observed in experimental animals. Reducing the accumulation of lactic acid, the yeasts stimulate the development of bacteria in rumen. The tight relation that exists in the rumen between microbes participating in the micro-structure of the bacterial population is responsible for the

fact that even these low amounts of stimulators are sufficient for bacteria connected with the yeast. The stimulation of the growth of bacteria and their activities causes a more intensive decomposition of cell walls in higher plants, which finally results in the generally increased fodder intake. Together with the improved digestibility, which is usually observed under these circumstances, the animals receive more nutrients and their production efficiency is increasing. Moreover, yeast has a positive influence on the prevention of acidoses and may stimulate the immunological system of the animal organism (Maekawa et al., 2002; Nagaraja and Chengappa, 1998). Finally yet importantly, the yeast cell walls are characterized by a certain affinity to toxins and thus reduce the risk of the development of toxicoses. All these factors together serve to explain the positive effects of yeast on ruminants. Many works (Sune, 1998; Alshaikh et al., 2002 and others) document the favourable effects of yeast cultures not only on the rumen environment of dairy cows itself but also on the improved microbial activity (Blake, 1993) because they facilitate digestion of fibre, reduce lactate accumulation, suppress oxygen concentration in the rumen fluid and enhance utilisation of starch in the ration. Thus they effect (slow down) the production of volatile fatty acids (VFA), which results in an improved stability of rumen environment and extent of digestion (Bax, 2004). Similarly, Sullivan and Martin (1999) inform that the yeast culture of *Saccharomyces cerevisiae* in the diet of dairy cows increases the utilisation of lactate and hence improves cellulose digestion. Some yeast strains have a higher capacity of utilising lactate or they stimulate the utilisation of lactates by the bacteria of propionic fermentation (Strohlein, 2003). Doreau and Jouany (1998) recorded that yeast reduce the daily fluctuation of pH value and mitigate individual differences between various individuals. In one of our earlier studies (Doležal et al., 2005) we observed a similar situation. We found out that with the increasing concentration of yeast in the diet of dairy cows, the rumen fluid shows not only an increasing total content of VFA, an increasing percentage share of propionic and acetic acids, a decreasing amount of ammonia but also an increasing total count of bacteria and infusorians in the rumen. Similar conclusions were reported by Sullivan and Martin (1999), Nursoy and Baytok (2003), Strohlein (2003), Enjalbert et al. (1999), Kamra et al. (2002), Sune (1998) and others. Doreau and Jouany (1998), Zhang et al. (2000) and Strohlein (2003) claim furthermore that the supplementation of yeast *Saccharomyces cerevisiae* into the feeding ration of lactating dairy cows improves milk production and the content of milk components (Erasmus et al., 1992).

A number of works point out the favourable influence of yeast on the production efficiency of dairy cows (milk production increased by 7 – 10%, milk protein content increased by 0.1 – 0.2%, milk fat production increased by 0.1 – 0.2%, daily gain increased by 5 – 10% and lower loss of good condition (Lyons, 1993; Blake, 1993 and others). In some experiments, the milk production efficiency increased by 1.4 – 1.8 litres. Günther (1989) informs that the effect of yeast preparations is highest during the first 100 days of lactation.

# Material and method

The experiment included 12 dairy cows of Holstein breed, which were divided by ten into 2 equal groups with respect to productivity, order of lactation and live weight. The experimental period lasted 120 days. The cows were kept at loose and fed 3-times daily the same ration (TMR) with the experimental group of animals receiving in the production feeding ration mixture supplemented by yeast culture *Biosaf®* (*Saccharomyces cerevisiae* – SC 47). The feed additive *Biosaf®* is nontoxic and is not to be dangerous for man and animals. The additive at feed ration of additive on level 5 g per animal and day. The control group of cows did not receive any yeast supplement. Residual fodder was removed after each feeding. The cows were milked in a milking shed 2-times daily. Samples of rumen fluids were taken from the cows of both groups by using oesophageal probe by a method described by Hofírek and Dvořák (2002) within 3 hours after feeding in the fourth month of the experiment as a response to feeding diet. Rumen fluid was analyzed for the total content of volatile fatty acids (VFA), relative % share of acetic, propionic and butyric acids, pH value, abundance of infusorians and am-

monia content. VFAs were measured by the method of gas chromatography and the ammonia content was ascertained by the AOAC method (1980). The total content of infusorians was established according to a method described by Hofírek and Dvořák (2002). The values were compared with reference values according to Vrzgula et al. (1990).

## Results and discussion

Results of the effect of yeast culture SC-47 supplementation on the biochemical indicators of rumen fermentation in cows are presented in Tab. 1 and Graphs 1-3 and they are compared with those recorded in cows of the control group and with the reference value. The achieved results show that the pH value of experimental cows is within the reference range and after 30 and 60 days it is lower (6.27±0.3 and 6.3±0.01 resp.) than that recorded in the control group after 30 (6.48±0.02) resp. after 60 days (6.4±0.06). In this experimental survey, we did not succeed to prove the conclusions of other authors (Lyons, 1993; Auclair, 2004; Kamra et al., 2002) about the increased and stabilized rumen fluid pH through the supplementation of yeast. On the opposite, our results rather correspond to findings reported by Kung et al. (1997), Putnam et al. (1997), Garg et al. (2000), who similarly did not prove any profound stabilizing effect on pH and other products of fermentation.

The achieved results of yeast culture effect on VFA production showed that the yeast culture supplementation led to increased (P<0.05) TMK production (124.98±26.49 mmol/litre after 30 days resp. 149.14±36.64 mmol/litre after 60 days) as compared with cows in the control group (114.36±25.44 mmol/litre after 30 days resp. 145.46±32.47 mmol/litre after 60 days). A significant increase was detected in both sampling terms. The achieved results agree with the findings of other authors (Lyons, 1993; Pestevsek et al. 1998; Brydl et al., 2002; Kamra et al., 2002 and others).

**Table 1**: Average biochemical parameters of rumen fluid of cows experimental and control groups

| Group | Day of collection | pH | VFA (mmol/l) | | $NH_3$ (mmol/l) | | infusoria (thous/ml) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| control | 0. | 6.49±0.04 | 113±25.38 | / | 8.95±0.03 | / | 341±6.53 | / |
| | 30. | 6.47±0.02 | 114±25.44 | a | 8.46±0.32 | a | 353±6.97 | A |
| | 60. | 6.4±0.06 | 146±32.47 | b | 8.15±0.16 | b | 343±4.77 | B |
| experimental | 0. | 6.62±0.03 | 114±24.84 | / | 8.05±0.18 | / | 346±9.90 | / |
| | 30. | 6.26±0.03 | 125±26.49 | c | 7.92±0.07 | c | 386±3.91 | C |
| | 60. | 6.29±0.01 | 149±36.64 | d | 7.69±0.13 | d | 398±6.51 | D |
| Reference value | | 6.2-6.8 | 80-120 | / | 6.00-16.00 | / | 300-500 | / |

a, b, c, d – (P< 0.05); A, B, C, D – (P< 0.01)

The supplementation of yeast in conditions of our experiment resulted in a better utilisation of ammonia (8.045±0.18 mmol/litre, resp. 7.92±0.072 mmol/litre, resp. 7.69±0.13 mmol/litre) as compared with cows in the control group (8.95±0.034 mmol/litre, resp. 8.46±0.32 mmol/litre, resp. 8.15±0.16 mmol/litre). Differences in the ammonia content between the two groups of cows were significant ($P<0.05$). Our results corroborate the findings of Lyonse (1993), Kamra et al. (2002), Alshaikh et al. (2002). Similarly, Enjalbert et al. (1999), Nursoy and Baytok (2003) and Strohlein (2003) confirmed the reduced ammonia content in the rumen fluid of cows after the addition of yeast. On the other hand, Putnam et al. (1997) did not observe any significant effect of supplemented yeast on the content of ammonia in the rumen fluid while Neewbold et al. (1990) demonstrated even its increased level. The effect of yeast culture supplementation on the content of rumen infusorians is analyzed in Graph 2. The achieved results show clearly that the yeast concentration used in the feeding diet significantly ($P<0.01$) stimulated the metabolic activity of infusorians in the rumen, which showed in their increased ($P<0.01$) abundance (345.67±9.898 thous./ml, resp. 386±3.910 thous./ml, resp. 398 thous.±6.511 thous./ml). Following out of these results is an unambiguously significant link between the yeast culture supplementation and the number of infusorians in 1 ml of rumen fluid. By contrast, other studies (Eramus et al., 1992; Putnam et al., 1997; Yoon and Stern, 1996) demonstrate that the counts of rumen micro-organisms and infusorians were not affected by the addition of yeast or that their counts even decreased. Kamra et al. (2002) concluded too, that the addition of yeast culture did not affect the number of infusorians in the rumen fluid. Values detected in our experiment are in a good agreement with the conclusions of other authors (Lyons, 1993; Sune, 1998; Ando et al., 2004; Strzetelski et al., 1996; Auclair, 2004; Alshaikh et al., 2002).

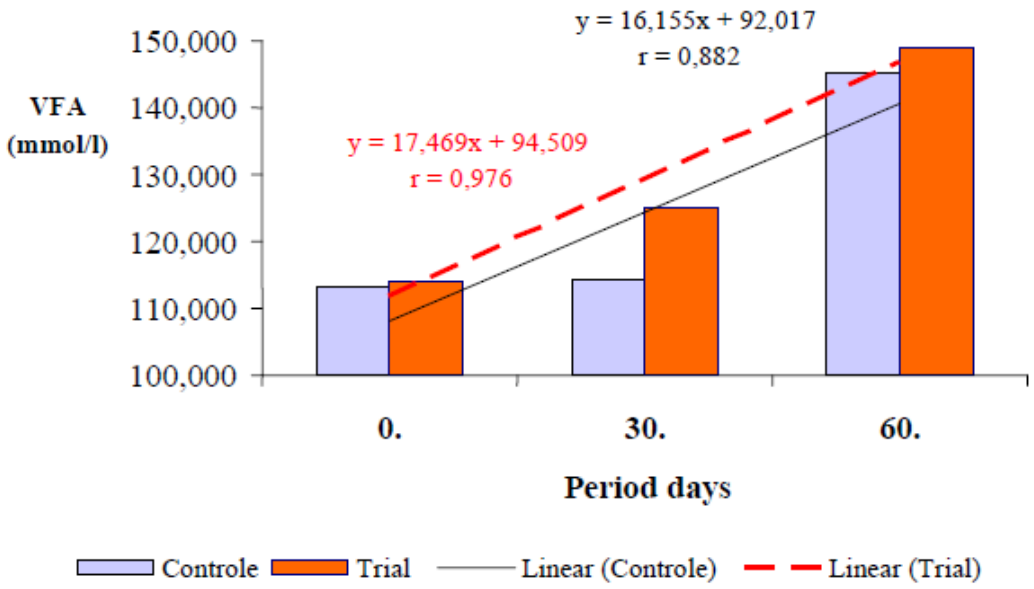



**Figure 1**: The effect of yeast culture on the rumen VFA productuion

It followed out from analyzing the effect of yeast culture on milk production efficiency resp. on the content of milk components that the highest milk production efficiency was found in the cows of experimental group (48.7±4.54 litre) as compared with the cows in the control group (44.43±4.98 litre) on day 112 of lactation. The trend to higher milk yield in the cows of experimental group persisted also in later sampling terms. Cows of the experimental group achieved milk production higher by 5.8%, resp. 4%, resp. 2.3% as compared with cows of the control group. The positive effect of yeast culture on milk production was further confirmed by Dawson and Tricario (2002), Kung et al. (1996)

and Sinclair et al. (2006). Roth et al. (2007) concluded too, that the supplement of live yeast to the feed ration resulted in the increased milk FCM by 1.7 kg as compared with dairy cows of the control group. On the other hand, Erdman and Sharma (1989), Alshaikh et al. (2002), Cooke et al. (2007), Dann et al. (2000) and other authors did not observe any positive influence of supplemented yeast on milk productivity efficiency.

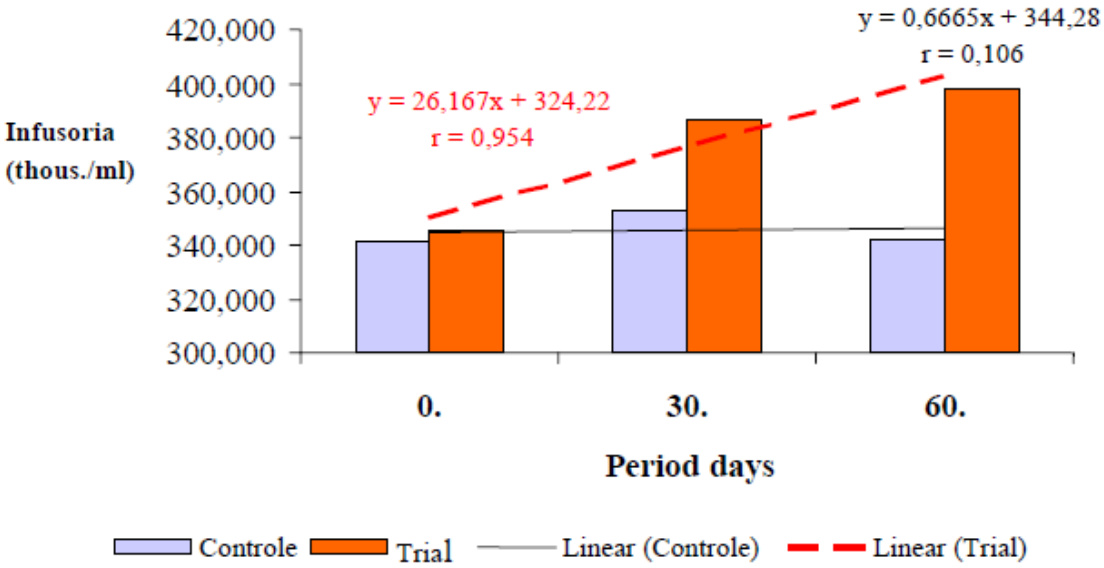



**Figure 2**: The effect of yeast culture on the ruminal infusoria content

**Table 2**: Milk yield and content of milk constituents

| Group | Lactation (days) | Milk yield (L) | | FCM (kg) | | Fat (%) | | Fat (kg) | | Milk Protein (%) | | Milk Protein (kg) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 305 | 11344 ±1155 | a | 10164 ±500 | A | 3,17 ±0,63 | a | 353 ±40,89 | a | 3,15 ±0,24 | a | 357 ±41,22 | a |
| Experimental | | 11647 ±1314 | b | 11714 ±1016 | B | 3,75 ±0,30 | b | 433 ±33,92 | b | 3,27 ±0,24 | b | 378 ±36,85 | b |

| Group | Milk yield (L/den) | | FCM (kg/den) | |
|---|---|---|---|---|
| Control | 37±3,79 | a | 33±1,64 | A |
| Experimental | 38±4,31 | b | 38±3,33 | B |

a, b, – (P< 0.05); A, B – (P< 0.01)

The milk of cows in the experimental group also showed a higher milk fat content in individual months (3.6±0.71%, resp. 3.45±0.51%, resp. 3.76±0.19%) as compared with the milk of cows in the control group (2.93±0.5%, resp. 3.13±0.59%, resp. 3.34±0.4%). The results indicate that the addition of yeast culture had a positive effect on the milk production efficiency of cows in the experimental group. The effect was demonstrated on the increase of milk fat and protein contents in cows of the experi-

mental group. All differences were statistically significant (P<0.05) and in favour of the experimental group. Similarly, Zhang-ying Lai et al. (2000) reported the increased milk production efficiency, production of milk, protein, lactose and dry matter in cows receiving the *Saccharomyces cerevisiae* supplement in the diet by 7.1% (2.01 kg), 20.2% (175.6 g), 8.6% (68.4 g), 7.9% (104.3 g) and 11% (361.4 g) as compared with the control groups. Henderson (2004) and Wohlt et al. (1991) confirmed, too, the positive effect of yeast cultures on daily milk production, which increased by up to 2 litres.

# Conclusion

The aim of this work was to review the influence of the addition of yeast culture *Saccharomyces cerevisiae* (SC–47) in the total mixed ration with higher starch content on rumen fermentation and milk production in the puerperal period dairy cattle. The yeast culture significantly (P < 0.05) influenced the production of VFA in rumen as compared with the control group. The addition of yeast culture decreased the content of ammonia in comparison with the control group. The cows of the experimental group were diagnosed the higher counts of infusorians for all donations as compared with the cows in the control group. The significant difference was high (P < 0.01). Compared with the control group, the cows of experimental group had higher average daily yield (38±4.31 kg) and FCM production (38±3.33 kg).

## Acknowledgement

This study was supported by the Research Plan No. MSM 6215648905 "*Biological and technological aspects of sustainability of controlled ecosystems and their adaptability to climate change*", which is financed by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

## References

Alshaikh, M. A., Alsiadi, M. Y., Zahran, S. M., Mogawer, H. H., Aalshowime, T. A. (2002): Effect of feeding yeast culture from different sources on the performance of lactating holstein cows in Saudi Arabia. Asian–Aust. J. Anim. Sci., 15: 352–356.

Ando, S., Khan, R. I., Takahasi, J. (2004): Manipulation of rumen fermentation by yeast: the effects of dried beer yeast on the in vitro degradability of forages and methane production. Asian–Asstralas Journal Animal Science, 17:68–72.

Aoac (2005): Official Methods of Analysis, AOAC International, 18th Edition. Gaithersburg, USA, ISBN 0-935584-375-37.

Auclair, E. (2004): Kvasinky Sacharomyces cerevisiae: Nová skupina krmných aditiv pro budoucnost. Perspektivní aditiva ve výživě zvířat, Průhonice u Prahy, (osobní nepublikované sdělení).

Bax, J. (2004): Ovlivnění činnosti bachoru. In: Perspektivní aditiva ve výživě zvířat, Průhonice u Prahy, osobní nepublikované sdělení).

BLAKE, J. S. (1993): Význam stabilního bachorového prostředí pro užitkovost přežvýkavců a způsoby jeho dosažení. In: Biotechnologie ve výživě zvířat, DT Brno, s. 25–32.

Brydl, E., Bata, A., Rafai, P. et al. (1995): Effect of viable Saccharomyces cerevisiae on rumen fermentation, acid-base metabolism and milk production in dairy cows. Magyar-Allatorvosok–Lapja, 50:9, 543-548.

Cooke, K. M., Bernard, J. K., West J. W. (2007): Performance of lactating dairy cows fed whole cottonseed coated with gelatinized starch plus urea or yeast culture. Journal of Dairy Science, 90: 360–364.

Dann, H. M., Drackley, J. K., Mccoy, G. C., Hutjens, M. F., Garrett, J. E. (2000): Effects of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. Journal of Dairy Science, 83: 123–127.

Dawson, K. A. (1999): The effect of the digestible undegradable protein concentration of concentrates and protein source offered to ewes in late pregnancy on kolostrum production and lamb performance. Animal Feed Science of Technology,82: 21–36.

Dawson, K. A., Tricarico, J. (2002): The evolution of yeast cultures – 20 years of research. In: Navigating from Niche Markets to Mainstream. Proceedings of Alltech´s European, Middle Eastern and African Lecture Tour, p. 26–43.

Doležal, P., Doležal, J., Třináctý, J.: The effect of Saccharomyces cerevisiae on ruminal fermentation in dairy cows. Czech Journal of Animal Science, 50, 2005, (11): 503–510.

Doreau, Jouany, J. P. (1998): Effect of a Saccharomyces cerevisiae culture on nutrient digestion in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 81:214–221.

Edwards, E., Mutsvangwa, T., Topps, J. H., Paterson, G. F. M. (1990): The effect of supplemental yeast culture (Yea-Sacc 1026) on patterns of rumen fermentation and growth performance of intensively fed bulls. Animal Production, 50:579.

Enjalbert, F., Garrett, JE, Moncoulon, R. et al. (1999): Effects of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) on ruminal digestion in non-lactating dairy cows. In: Animal–Feed–Science–and-Technology, 76:3–4:195–206.

Erasmus, L. J., Botha, P. M., Kistner, A. (1992): Effect of yeast culture supplement on production, rumen fermentation, and duodenal nitrogen flow in dairy cows. Journal of Dairy Science, 75:3056–3065.

Erdman, R. A., Sharma, B. K. (1989): Effects of yeast culture and sodium bicarbonate on milk yield and composition in dairy cows. Journal of Dairy Science, 72:1929–1932.

Garg, M. R., Siddiqui, M. U., Singh, D. K., Bhanderi, B. M. (2000): Effect of supplementing Yea Sacc–1026 in ration of Holstein Friesian cows on milk production. Indian Journal of Animal Nutrition, 17(2): 175–177.

Günther, K. D. (1989): Yeast cultue success under German dairy conditions. In: Biotechnology in the Feed Industry, vol. 5, Alltech´s Technical Publiacations, Nicholasville, KY, USA, pp. 38.

Henderson, I. R. (2004): Chov mléčného skotu ve Skotsku, sestavování krmných dávek a výhledy do budoucna. In: Nutratech, s. 1 – 11.

Hofírek, B., Dvořák, R. (2002): Metody odběru bachorové tekutiny a její praktický význam. Farmář, 7, 46–47.

Kamra, D. N., Chaudhary, L. C., Agarwal, N., Singh, R., Pathak, N. N. (2002): Growth performance, nutrient utilization, rumen fermentation and enzyme activites in calves fed on Saccharomyces cerevisiae supplemented diet. Indian Journal of Animal Sciences, 72: 472–475.

Kung, L., Tung, R. S. et al. (1997): Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. Journal of Dairy Science, 80, 9 : 2045-2051.

Kung, L., Kreck, E. M., Tung, R. S. et al. (1996): Effects of a live yeast culture and enzymes on in vitro ruminal fermentation and milk production of dairy cows. Journal of Dairy Science, 80:9, 2045–2051.

Lyons, T. P. (1993): Požadavky současnosti na vývoj biotechnologických metod v oblasti výživy a krmení zvířat. In: Biotechnologie ve výživě zvířat. VII. Evropské přednáškové turné, Brno, s. 11–24.

Lyons, T. P. (1997): A new era in animal production: the arrival of the scientifically proven natural alternatives. In: Biotechnology in the Feed Industry Proceedings of the 13th Annual Symposium. (eds. Nottingham University Press., Nottingham, UK).

Maekawa, M., Beauchemin, K. A., Christensen, D. A. (2002): Effect of Concentrate Level and Feeding Management on Chewing Activities, Saliva Production, and Ruminal pH of Lactating Dairy Cows. Journal of dairy science, vol. 85, no. 5:1165–1175.

Mutswanga, T., Edwards, I. E., Topps, J. H., Paterson, G. F. M. (1992): The effect of dietary inclusion of yeast culture (Yea - Sacc) on patterns of rumen fermentation, food inatake and growth of intensively fed bulls. Animal Production, 55:35-40.

Newbold, C. J. et al. (1990): The effects of yeast culture on yeast numbers and fermentation in the rumen of sheep. Proc. Nutr. Soc., 49:47A.

Nagaraja, T. G., Chengappa, M. M. (1998): Liver abscesses in feedlot cattle: a review, Journal of Animal Science, 76:287–298.

Nursoy, H., Baytok, F. (2003): The effects of bakeŕ s yeast (Saccharomyces cerevisae) in dairy cow diets on milk yield, some rumen fluid parameters and blood metabolites of dairy cow diets. Turk Veterinerlik ve Hayvanclk Dergisi, 27:7–13.

Pestevsek, U., Pitamic, S., Zust, J. (1998): Influence of addition of yeast culture to diets of dairy cows in postpartal period on body weight ruminal fermentation and milk production. Zbornik-Veterinarske-Fakultete Univ. Ljubljana, 35:1–2, 63–69.

Putnam, D. E., Schwab, C. G., Socha, M. T. et al. (1997): Effect of yeast culture in the diets of early lactation dairy cows on ruminal fermentation and passage of nitrogen fractions and amino acids to the small intestine. Journal of Dairy Science, 80:2, 374–384.

Rose, A. H. (1987): Yeast, a microorganism for all species: a thoretical look at its mode of action. In: T.P. Lyons, Editor, Biotechnology in the Feed Industry, Alltech Technical Publications, Nicholasville, Kentucky, USA, pp. 113–118.

Roth, S., Scheidemann, C., Steingass, H., Andrieu, S. (2007): Einsatz von Lebendhefe bei Hochleistenden Milchkühen unter deutshen Bedingungen. In: 6. BOKU-Symposium Tierernährung, Wien, s. 239-247.

Sinclair, L. A., Ranson, K., Ames, S., Wilde, D. (2006): The effect of including Yea Sacc® 1026 yeast culture on the intake and performance of high yielding dairy cows fed a diet high in starch. In Proceeding of the 22th Annual Symposium „Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries" (Suppl. 1), Lexington, KY, USA, pp. 62.

Strohlein, H. (2003): Back to nature. Live yeasts in feed for dairy cows. DMZ, Lebensmittel Industrie Milchwirtschafts, 124:68–71.

Strzetelski, J., Maciejewicz, J., Bilik, K., Stasiniewicz, T., Lipiarska, E., Stecka, K. (1996): Effect of new yeast preparations of calf rearing, rumen fermentation and protozoa population in the rumen of young bulls. Rocz. Naukowe Zoot., 23:123–141.

Sulivan, H. M., Martin, S. H. (1999): Effects of Saccharomyces cerevisiae culture on in vitro mixed ruminal microorganism fermentation. Journal of Dairy Science, 82:2011.

Sune, R. W. (1998): The yeast culture (Saccharomyces cerevisiae) strain 1026 as manipulator of ruminal fermentation in relation to milk yield and composition. Revista–Cientifica – Rural, 3, 1:70–79.

Vrzgula, L., Alijev, A. A., Barej, W., Bartko, P. et al. (1990): Poruchy látkového metabolizmu hospodárských zvierat a ich prevencia. Príroda, Bratislava, 494 s.

Williams, P. E. V., Tait, C. A. G., Innes, G. M., Newbold, C. J. (1991): Effects of the inclusion of yeast culture (Saccharomyces cerevisiae plus growth medium) in the diet of dairy cows on milk yield and forage degradation and fermentation patterns in the rumen of steers. Journal Anim. of Science, 69 : 3016-3026.

Wohlt, J. E., Finkelstein, A. D., Chung, C. H. (1991): Yeast culture to improve intake, nutrient digestibility, and performance by dairy cattle during early lactation. Journal of Dairy Science, 74:1395–1400.

Yoon, I. K., Stern, M. D. (1996): Effects of Saccharomyces cerevisiae and Aspergillus oryzae cultures on ruminal fermentation in dairy cows. Journal of Dairy Science, 79:3, 411–417.

Zhang–Ying Lai, Cheng Qifang, Cao Yanxu, Wang YunHeng et al. (2000): Effects of yeast (Saccharomyces cerevisiae) on milk production and composition in Holstein dairy cows. China Dairy Cattle, 5: 20–22.

## Corresponding author

Prof. Dr. Ing. Petr Doležal, CSc.
Department of Animal Nutrition and Forage Production,
Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno,
Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic
E-mail: dolezal@mendelu.cz

# Efficacy of benzoic acid and sodium-benzoate in weaned piglets

**Holger Kluge[1], Jiri Brož[2] and Gabriele I. Stangl[1]**

[1] Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
[2] DSM Nutritional Products Ltd., Animal Nutrition and Health R&D

## Introduction

Benzoic acid (BA) and calcium-benzoate were evaluated as feed additives in swine diets because of their antimicrobial activity and their beneficial effects on performance and nitrogen retention (Mroz et al, 2000; Kluge et al., 2006, Bühler et al., 2006; Guggenbuhl et al., 2007). In contrast to other organic acids, BA is metabolized in the liver to hippuric acid (HA) which is excreted by urine (Bridges et al., 1970). HA increases urine acidity, which in turn prevents rapid ammonia release to the environment (Canh et al. 1998; Halas, et al. 2010; Murphy et al. 2011). These effects were observed with BA and calcium-benzoate, but data on the impact of sodium-benzoate (SB) were not available till now. The aim of this study was to test the effect of 0.4% dietary SB in comparison with two dietary levels of BA (0.35 and 0.5%) on growth performance, nitrogen and mineral balance, HA excretion and urinary pH. A diet with 0.5% of BA represent commonly used BA dosages in piglet diets, whereas the diet with 0.35% BA was used as reference diet for the 0.4% SB diet, because it contained equal amounts of benzoic acid than the 0.4% SB diet. A diet without BA and SB was used as control diet.

## Materials and methods

A total of 120 hybrid piglets [(German Landrace x German Edelschwein) x Pietrain] were included in this study. They were weaned at the age of 3 weeks with an average initial body weight (BW) of 6.5 kg and were divided into 4 groups of 30 animals each and placed into flatdeck pens (one castrated male and one female per pen). A total of 15 replicates of two piglets each were assigned to each dietary treatment. During the first two weeks of the experiment, all animals received pre-starter diets. The following four weeks they received starter diets. The pre-starter and starter diets (see Table 1), respectively, were supplemented with a premix and 0 (control diet), 0.5 or 0.35 % of BA, respectively, or 0.4 % of SB as shown in Table 2. During the experiment, feed intake by pen and individual body weight gains were measured each week. At day 28 of trial, five castrated piglets per treatment were transferred to metabolism cages. After a one-day acclimatization period, feed, water, urine and faeces were collected quantitatively over five days to estimate the nitrogen, calcium, phosphate and sodium retention, to measure the urinary pH and to quantify the transformation of BA to HA. The urinary pH was measured in the collected daily urine with a pH meter (pH-M 761 Calimatik, Knick).

Dietary and urine BA as well as urine HA were determined by HPLC (Kubota et al., 1988). Faeces and feed samples were dried at 105°C to determine dry matter prior to analysis of crude ash and minerals. Fresh faeces and urine were analyzed for crude protein (Kjeldahl-N x 6.25) by the Kjeltec system (Foss, Germany). To determine phosphorus, calcium and sodium content the diets and faeces were hydrolysed with 6 N HCl and $HNO_3$ and analyzed by ICP according to standard VDLUFA methods (Naumann and Bassler, 1997). The results were subjected to analysis of variance by using one-way ANOVA. For statistical significant F values ($P<0.05$), means of the four groups were compared by Tukey's HSD test. Means were considered significantly different at $P<0.05$.

**Table 1**: Composition of the basal diets (%)

| Ingredients | Pre-starter | Starter |
|---|---|---|
| Wheat | 23.50 | 24.10 |
| Barley | 20.00 | 20.00 |
| Maize | 20.50 | 25.00 |
| Soybean meal (44 % CP) | 20.15 | 20.00 |
| Whey powder | 8.00 | 4.00 |
| Wheat semolina bran | 3.00 | 3.00 |
| Soybean oil | 3.00 | 2.00 |
| Monocalcium phosphate | 0.50 | 0.50 |
| L-Lysine·HCl | 0.65 | 0.42 |
| DL-Methionine | 0.23 | 0.16 |
| L-Threonine | 0.25 | 0.18 |
| L-Tryptophan | 0.07 | 0.05 |
| L-Valine | 0.15 | 0.09 |

**Table 2**: Composition of the experimental diets and calculated nutrient contents of the pre-starter and starter diets

| | Control | 0.5 % BA | 0.35 % BA | 0.4 % SB |
|---|---|---|---|---|
| Basal diet (Pre-starter/starter) | 98.00 | 97.50 | 97.65 | 97.60 |
| Mineral vitamin premix* | 2.00 | 2.00 | 2.00 | 2.00 |
| BA (VevoVitall®) | 0 | 0.50 | 0.35 | 0 |
| Na-Benzoate | 0 | 0 | 0 | 0.40 |
| Calculated ME (MJ/kg), crude protein, SID amino acids and minerals (g/kg) | | | | |
| Diet | Pre-starter | | Starter | |
| Metabolizable energy | 13.90 | | 13.80 | |
| Crude protein | 180.00 | | 175.00 | |
| SID Lysine | 12.10 | | 10.10 | |
| SID Met+Cys | 6.81 | | 6.15 | |
| SID Threonine | 7.38 | | 6.60 | |
| Calcium | 7.70 | | 7.40 | |
| Total phosphorus | 6.00 | | 5.90 | |

*premix per kg: calcium 265g, phosphorus 40g, sodium 60g, magnesium 5,5g, vitamin A 1000000IE, vitamin D3 100000IE, vitamin E 2000mg, vitamin K 150mg, vitamin B1 200mg, vitamin B2 500mg, vitamin B6 300mg, vitamin B12 2000µg, biotin 1mg, folic acid 30mg, nicotinic acid 2600mg, pantothenic acid1250mg, cholin chloride 20000mg, iron 2850mg, manganese 730mg, zinc 2200mg, copper 750mg, iodine10mg, selenium 10mg, cobalt 15mg, aromatic substance 1500mg

# Results

Piglets fed diets supplemented with BA or SB had higher final BW and daily weight gains (DWG) than piglets fed the control diet (see Table 3). This effect reached significance level in the starter period, but not in the pre-starter period. No differences were observed between piglets fed 5, 3.5 g/kg of BA and 4 g/kg of SB. Feed conversion ratio (FCR) was significantly improved by piglets fed BA and SB in the pre-starter period and showed a tendency ($p=0.06$) toward lower feed:gain-ratio in the starter period compared to piglets fed the control diet.

**Table 3**: Performance parameters in the pre-starter and starter period in piglets fed diets containing 5.0 or 3.5 g kg$^{-1}$ benzoic acid and 4 g kg$^{-1}$ Na-benzoate

| Parameter | Benzoic acid, g kg $^{-1}$ | | | Na-benzoate g kg $^{-1}$ | SEM[1] | P-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 5 | 3.5 | 4 | | |
| **Pre-starter period** | | | | | | |
| Initial body weight, kg | 6.46 | 6.44 | 6.52 | 6.56 | 0.08 | 0.954 |
| Weight gain, g day$^{-1}$ | 91 | 109 | 116 | 112 | 4.13 | 0.131 |
| Feed intake, g day$^{-1}$ | 127 | 137 | 136 | 131 | 2.66 | 0.524 |
| Feed:gain, kg kg$^{-1}$ | 1.48$^{a}$ | 1.28$^{ab}$ | 1.22$^{b}$ | 1.19$^{b}$ | 0.03 | 0.004 |
| **Starter period** | | | | | | |
| Final body weight, kg | 21.04$^{a}$ | 22.96$^{b}$ | 23.01$^{b}$ | 22.13$^{ab}$ | 0.30 | 0.072 |
| Weight gain, g day$^{-1}$ | 475$^{a}$ | 532$^{b}$ | 530$^{b}$ | 500$^{ab}$ | 8.16 | 0.037 |
| Feed intake, g day$^{-1}$ | 693$^{a}$ | 758$^{b}$ | 771$^{b}$ | 742$^{ab}$ | 11.43 | 0.081 |
| Feed:gain, kg kg$^{-1}$ | 1.46$^{ab}$ | 1.42$^{a}$ | 1.45$^{ab}$ | 1.49$^{b}$ | 0.01 | 0.060 |

[1] Standard error of means (n=5)
[ab] Values in a row not sharing the same superscript letter are significantly different (P<0.05)

Dietary supplementation with BA and SB did not influence the digestibility of total organic matter and crude protein. The group that received 0.5 % of BA showed higher nitrogen retention than the control group and the other treatment groups (see Table 4).

The urinary pH was lower in the groups fed BA than that of the control group and the SB group (Table 5). The extent of acidification depended on the amount of ingested BA. Groups that received 0.5 and 0.35% of BA, respectively, had 0.68 and 0.53 lower pH levels in urine than the control group.

**Table 4**: Apparent digestibility of organic matter and crude protein, faecal and urinary excretion and retention of nitrogen in piglets fed diets supplemented with 5 or 3.5 g kg$^{-1}$ benzoic acid and 4 g kg$^{-1}$ Na-benzoate

| Parameter | Benzoic acid, g kg $^{-1}$ | | | Na-benzoate g kg $^{-1}$ | SEM[1] | P-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 5 | 3.5 | 4 | | |
| Apparent digestibility, % | | | | | | |
| Organic matter | 90.1 | 90.3 | 90.5 | 90.4 | 0.23 | 0.935 |
| Crude protein | 85.4 | 86.2 | 85.9 | 87.1 | 0.43 | 0.621 |
| Nitrogen balance | | | | | | |
| Intake, g day $^{-1}$ | 18.7 | 19.1 | 17.4 | 17.8 | 0.28 | 0.105 |
| Faecal excretion, g day $^{-1}$ | 2.7 | 2.6 | 2.5 | 2.3 | 0.10 | 0.501 |
| Urinary excretion, g day $^{-1}$ | 4.1 | 3.3 | 3.4 | 3.6 | 0.15 | 0.125 |
| Retention, g day $^{-1}$ | 11.8$^{a}$ | 13.2$^{b}$ | 11.5$^{a}$ | 11.9$^{a}$ | 0.30 | 0.003 |
| Retention, % | 63.5$^{a}$ | 69.0$^{b}$ | 66.3$^{ab}$ | 66.8$^{ab}$ | 0.71 | 0.038 |

[1] Standard error of means (n=5)
[ab] Values in a row not sharing the same superscript letter are significantly different (P<0.05)

The intake of BA was 28.7 mmol/day in piglets fed 0.5 % of BA, and 18.7 and 19.2 mmol/day in those fed 0.35 % of BA or 0.4 % of SB. When BA was added to the diet in amounts of 0.35% it was completely metabolized to HA. In piglets fed with 0.5% of BA or 0.4% of SB, 70% of the benzoic acid was metabolized to HA. In those animals 3.7 and 4.0 mmol/day were excreted as non-metabolized BA via urine (Table 5).

**Table 5**: Urinary pH, and renal excretion of hippuric acid (HA) and benzoic acid of piglets fed diets supplemented with 5 or 3.5 g $kg^{-1}$ of benzoic acid (BA) and 4 g $kg^{-1}$ Na-benzoate

| Parameter | Benzoic acid, g $kg^{-1}$ | | | Na-benzoate g $kg^{-1}$ | SEM[1] | P-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 5 | 3.5 | 4 | | |
| Urinary pH | $6.64^{a}$ | $5.96^{b}$ | $6.11^{b}$ | $6.78^{a}$ | 0.09 | 0.000 |
| BA intake, mmol $d^{-1}$ | $0^{a}$ | $28.7^{c}$ | $18.7^{b}$ | $19.3^{b}$ | 2.40 | 0.000 |
| HA in urine, mmol $l^{-1}$ | $5.3^{a}$ | $44.8^{c}$ | $41.4^{c}$ | $25.3^{b}$ | 3.89 | 0.000 |
| BA in urine, mmol $l^{-1}$ | 3.7 | 6.9 | 2.4 | 5.8 | 0.68 | 0.074 |
| HA excretion, mmol $d^{-1}$ | $2.4^{a}$ | $21.3^{c}$ | $18.9^{c}$ | $13.5^{b}$ | 1.75 | 0.000 |
| BA excretion, mmol $d^{-1}$ | 1.7 | 3.7 | 1.4 | 4.0 | 0.43 | 0.053 |

[1] Standard error of means (n=5)
[ab] Values in a row not sharing the same superscript letter are significantly different (P<0.05)

However, HA excretion was lower in piglets fed the SB diet than in piglets fed the BA diets. Daily intake of P and Ca and faecal and urinary excretions of these minerals were not significantly affected by the treatment (Table 6), although urinary excretion of phosphorus tended to be higher in groups fed BA than in those fed SB or in the control group (p=0.078). Data further show that sodium was mainly excreted via urine. Urinary Na excretion was significantly higher in the group fed SB than in the control group or the groups fed BA.

**Table 6**: Faecal and urinary excretion and apparent total tract retention of P, Ca and Na in piglets fed diets containing 5 or 3.5 g $kg^{-1}$ benzoic acid and 4 g $kg^{-1}$ Na-benzoate

| Parameter | Benzoic acid, g $kg^{-1}$ | | | Na-benzoate g $kg^{-1}$ | SEM[1] | P-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 5 | 3.5 | 4 | | |
| **Phosphorus** | | | | | | |
| Intake, g $day^{-1}$ | 3.61 | 3.70 | 3.41 | 3.40 | 0.05 | 0.125 |
| Faecal excretion, g $day^{-1}$ | 1.46 | 1.34 | 1.28 | 1.39 | 0.04 | 0.569 |
| Urinary excretion, g $day^{-1}$ | 0.16 | 0.21 | 0.21 | 0.14 | 0.01 | 0.078 |
| Retention, g $day^{-1}$ | $1.98^{ab}$ | $2.14^{b}$ | $1.92^{a}$ | $1.87^{a}$ | 0.03 | 0.003 |
| Retention, % | 55.0 | 58.0 | 56.6 | 55.0 | 0.87 | 0.548 |
| **Calcium** | | | | | | |
| Intake, g $day^{-1}$ | 4.57 | 4.59 | 4.35 | 4.42 | 0.06 | 0.506 |
| Faecal excretion, g $day^{-1}$ | 1.53 | 1.42 | 1.44 | 1.48 | 0.06 | 0.931 |
| Urinary excretion, g $day^{-1}$ | 0.14 | 0.24 | 0.22 | 0.27 | 0.02 | 0.203 |
| Retention, g $day^{-1}$ | $2.90^{bc}$ | $2.92^{c}$ | $2.69^{ab}$ | $2.66^{a}$ | 0.04 | 0.005 |
| Retention, % | 63.6 | 63.8 | 62.4 | 60.3 | 0.92 | 0.562 |
| **Sodium** | | | | | | |
| Intake, g $day^{-1}$ | $1.15^{a}$ | $1.07^{a}$ | $1.04^{a}$ | $1.36^{b}$ | 0.03 | <0.001 |
| Faecal excretion, g $day^{-1}$ | 0.09 | 0.09 | 0.13 | 0.12 | 0.01 | 0.541 |
| Urinary excretion, g $day^{-1}$ | $0.36^{a}$ | $0.33^{a}$ | $0.37^{a}$ | $0.60^{b}$ | 0.03 | <0.001 |
| Retention, g $day^{-1}$ | 0.70 | 0.65 | 0.55 | 0.65 | 0.02 | 0.075 |
| Retention, % | $60.7^{a}$ | $60.8^{a}$ | $52.9^{ab}$ | $47.5^{b}$ | 1.95 | 0.026 |

[1] Standard error of means (n=5)
[ab] Values in a row not sharing the same superscript letter are significantly different (P<0.05)

# Discussion

In the current study BA was added at 0.5 % level to piglet diets according to the amounts of benzoic acid that has been officially authorized within the European Union for use in piglet feeds. This dosage of BA compared to non-supplemented diets improved the animal performance (FI, DWF, FCR). Thus, the present data are in accordance with previously published results in this field (Kluge et al., 2006; Guggenbuhl et al., 2007; Torrallardona et al., 2007). Feeding diets with 0.35 % BA resulted in similar improvements of the animal performance as 0.5% BA. The use of 0.4% SB in the piglet diets which correspond to equimolar concentrations of benzoic acid amounts as the 0.35% BA diet, led to somewhat improved animal performance data, which were not as high as those obtained with the BA diets. Recent studies (Kluge et al., 2006; Murphy et al., 2010) reported an improved N-retention with high levels of BA in the diet. This effect could be also observed in the current study because piglets fed the 0.5% BA diet retain more N than piglets fed 0.35% BA. Also the reduction of urinary pH in response to BA supplementation which we observed in this study, were in agreement with recent findings of Kluge et al. (2006) and Halas et al. (2010). The urinary pH reduction results from the metabolization of BA to HA. Urinary excretion of BA and HA are biomarkers which indicate the conversion rate of BA and also SB into HA. However, this study showed that urinary pH was not reduced in response to a diet with 0.4% of SB. This was a surprising effect because the HU excretion was markedly higher in these animals than in those fed the control diet. However, the renal excretion of HU was significantly lower in piglets fed SB than in piglets fed BA. Additionally, animals fed SB had higher intakes of sodium which was mainly excreted via urine. Both factors could have contributed to the fainling effect on urine pH. Urinary excretion of phosphorus tended to be higher in piglets fed the BA diets, an effect that had been also observed in a study of Nørgaard et al. (2010). Nevertheless, the mineral balance of both phosphorus and calcium was not significantly affected by BA. The diet containing 0.4% of SB had similar effects on retention and excretion of both minerals as the 0.35% BA diet.

# Conclusion

This study showed that sodium-benzoate led to somewhat improved animal performance data, which were not as high as those obtained with the BA diets. Standard pre-starter and starter diets for piglets supplemented with benzoic acid strongly reduce pH in urine, without affecting the mineral balance. In contrast, sodium-benzoate did not reduce the urinary pH. This could be due to the lower hippuric acid excretion via urine and the high amounts of ingested and renal excreted sodium compared to animals fed the BA diets.

### References

Bühler, K., Wenk, C.; Broz, J., Gebert, S., 2006. Influence of benzoic acid and dietary protein level on performance, nitrogen metabolism and urinary pH in growing-finishing pigs. Arch. Nutr. 60, 382-389.

Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Mroz, Z., Jongbloed, A.W., Schrama, J.W., Verstegen, M.W.A. 1998. Influence of electrolyte balance and acidifying calcium salts in the diet of growing –finishing pigs on urinary pH, slurry pH and ammonia volatilization from slurry. Livest. Prod. Sci. 56, 1-13

Guggenbuhl. P., Seón, A., Piñòn Quintana, A., Simões Nunes, C., 2007. Effects of dietary supplementation with benzoic acid (VevoVitall®) one the zootechnical performance, the gastrointestinal microflora and the ileal digestibility of the young pig. Livest. Sci. 108, 218-221

Halas, D., Fink Hansen, C., Hampson, D.J., Kim, J.C., Mullan, B.P., Wilson, R.H., Pluske, J.R., 2010. Effects of benzoic acid and inulin on ammonia-nitrogen excretion, plasma urea levels, and the pH in faeces and urine of weaner pigs. Livest. Sci. 134, 243-245

Kluge, H., Broz, J., Eder, K., 2006. Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal microflora and parameters of microbial metabolism in piglets. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 90, 316-324.

Kubota K., Horai Y., Kushida K., Ishizaki T. 1988. Determination of benzoic acid and hippuric acid in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 425, 67-75.

Mroz, Z., Jongbloed, A.W., Partanen, K.H., Vreman, K., Kemme, P.A., Kogut, J., 2000. The effect of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients and manure characteristic in swine. J. Anim. Sci. 78, 2622-2632.

Murphy, D.P., O´Doherty, J.V., Boland, T.M., O´Shea, C.J., Callan, J.J.,Pierce, K.M., Lynch,M.B., 2011.The effect of benzoic acid concentration on nitrogen metabolism, manure ammonia and odour emission in finishing pigs. Animal Feed Sci. Tech. 163, 194-199.

Naumann, C., Bassler, R., 1997. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Methodenbuch, Band III, 3. Ausgabe, 4. Ergänzungslieferung. VDLUFA-Verlag, Darmstadt, Germany.

Nøgaard, J.V., Fernández, J.A., Sørensen, K.U., Wamberg, S., Poulsen, H.D., Kristensen, N.B., 2010. Effect of benzoic acid supplementation on acid-base status and mineral metabolism in catheterized growing pigs. Livest. Sci. 134, 116-118.

Torrallardona, D., Badiola, I., Broz, J., 2007. Effects of benzoic acid on performance and ecology of gastrointestinal microbiota in weanling piglets. Livest. Sci. 108, 210.213.

## Corresponding author

Holger Kluge
Institute of Agricultural and Nutritional Science
Martin-Luther-University Halle-Wittenberg
Von Danckelmann Platz 2, 06120 Halle/Saale
E-mail: holger.kluge@landw.uni-halle.de

# Added value
## for the swine industry

- **VITAMINS**
  ROVIMIX®
  STAY-C®
  Hy•D®
- **ENZYMES**
  RONOZYME®
  ROXAZYME®
- **EUBIOTICS**
  VevoVitall®
  CYLACTIN®
  CRINA® Finishing Pigs & Sows
  CRINA® Piglets
- **TRACE ELEMENTS**
  VEVOMIN®
  MICROGRAN®
- **PREMIXES**
  ROVIMIX®
  OVN®

DSM Nutritional Products offers a comprehensive range of high-quality products and innovative solutions for the swine industry to help our customers to meet the ever-increasing expectations of consumers.

Our customers' business never stand still, and neither do we. Working with our customers we try to think ahead of the needs and seeking new opportunities.

DSM Nutritional Products Ltd
PO Box 2676, CH-4002 Basel, Switzerland
www.dsmnutritionalproducts.com

HEALTH · NUTRITION · MATERIALS

DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

# Performance improvement in weaned pigs by use of dietary acidifiers

**Renata Urbaityte and Angela Riemensperger**

BIOMIN Holding GmbH, Industriestrasse 21, 3131 Herzogenburg, Austria

## Introduction

Weaning exposes piglets to nutritional, environmental and social stress that usually results in a post-weaning lag phase manifested by slow growth and scouring. This postweaning lag is a complex phenomenon and evidence suggests that it may be related in part to a limited capacity to maintain proper gastric pH (Cranwell and Moughan, 1989; Ravindran and Kornegay, 1993). Insufficient hydrochloric acid (HCl) secretion impairs the enzyme inactivation and together with the stress of weaning and sudden change in feed consistency, may also disturb the balance of intestinal flora and allow the proliferation of coliforms resulting in scours and poor performance. The failure to maintain a low gastric pH has major implications for the performance of early weaned pigs. Dietary supplementation with acidifiers showed to decrease the occurrence of pathogenic bacteria in the gastrointestinal (GI) tract thus improving animals' growth performance and health status. Additionally dietary acidification with organic acids has been shown to contribute to environmental hygiene preventing feed raw materials, compound feed and water from bacterial and fungal deterioration and reducing the transmission of disease to animal and human populations.

The extent to which acidifiers affect production performance of animal depends on the type and inclusion level of acid, as well as diet and animal factors. Various studies have been carried out to determine the efficacy of organic acids on performance in weaned pigs (Giesting et al., 1991; Ravindran and Kornegay, 1993; Partanen and Mroz, 1999). It was confirmed that individual organic acids are effective growth promoters, however, their efficacy might be improved by blending them together. In the present study performance improvements through supplementation of diet with a blend of formic (FO) and propionic (PR) acids were determined in weaned pigs.

## Materials and methods

Sixty weaned pigs were randomly allocated into two groups with 5 replicates in each group and 6 piglets in each replicate according to genetics, sex and body weight (BW) (7.58±0.15). The piglets were kept in the cages, equipped with feeders and nipple drinkers. Feed and water was provided *ad libitum*. The basal diet was calculated to reach nutrient requirements for piglets 5 to 10 kg BW (NRC, 1998). The diet composition and nutrient analyses of the diets is shown in Table 1. The basal diet of control group contained no acidifier, whereas the basal diet of the trial group was supplemented with a blend of FO and PR (Biotronic® SE forte, BIOMIN Holding GmbH) acids at inclusion level of 4 kg per ton of feed. The animals were weighed at the beginning and at the end of the trial. The trial was carried out in a period of 30 days. Feed intake (FI) was recorded daily.

At the end of the trial six piglets from each group were slaughtered by electrocutation followed by exsanguinations. The viscera were exposed via a midline incision and stomach, duodenum, jejunum, ileum, colon were aseptically isolated, double ligated and removed. The content of stomach and different intestinal compartments was collected and kept at -20 °C. The contents of stomach and duodenum were pooled and the activity of digestive enzymes pepsin, amylase and lipase were measured.

Enzyme activity was measured by diluting the stomach and duodenum chyme with deionized water within ratio 1:5 w/v and centrifuged at 10 000 RPM for 10 min. The pepsin activity in the supernatant was determined by a detection kit (Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute). Amylase activity was determined by the method of Rick and Stegbauer (1974). Lipase content was determined titrimetrically by the method of Erlanson-Albertsson et al. (1987).

The pH was determined in the diets and digesta of the control and trial groups. The pH of the diet was measured according to the method of Radecki (1988). The 20 g of the diet was taken and diluted with 40 ml of deionized water. The mixture was blended for 10 min and afterwards the pH was measured (pH-meter 537, WTW, Germany). The digesta pH was measured according to Burnell (1988). Digesta were mixed with deionized water in the ratio 1:8 w/v and blended for 5 min prior to pH measurement (pH-meter 537, WTW, Germany).

**Table 1**: The composition of the experimental diets♦

| Item, % | Control diet | Trial diet |
|---|---|---|
| Corn | 56.80 | 56.80 |
| Soybean meal | 14.00 | 14.00 |
| Expended soybean | 6.00 | 6.00 |
| Soy protein concentrate | 4.00 | 4.00 |
| Wheat middling | 2.00 | 2.00 |
| Corn protein powder | 3.00 | 3.00 |
| Fish meal | 3.00 | 3.00 |
| Whey powder | 3.00 | 3.00 |
| Glucose | 2.00 | 2.00 |
| Soybean oil | 1.20 | 1.20 |
| DL-Methionine | 0.05 | 0.05 |
| L-Lysine-HCl | 0.25 | 0.25 |
| Choline | 0.16 | 0.16 |
| Dicalcium phosphate | 1.20 | 1.20 |
| Limestone | 1.00 | 1.00 |
| NaCl | 0.30 | 0.30 |
| Premix* | 1.00 | 1.00 |
| Sweetener | 0.10 | 0.10 |
| Zeolite Powder | 0.94 | 0.54 |
| Acidifier | - | 0.40 |
| Total | 100 | 100 |

*Premix contains per kg: vitamin A, 10350 IU; vitamin $D_3$, 2300 IU; vitamin E, 23 IU; vitamin $K_3$, 2.3 mg; vitamin $B_1$, 1.15 mg; vitamin $B_2$, 6.9 mg; vitamin $B_6$, 0.46 mg; vitamin $B_{12}$, 29 µg; pantothetic acid, 115 mg; niacinamide, 23 mg; biotin, 23 µg; folacin, 0.46 mg; choline, 800 mg; aureomycin, 75 mg; Fe, 150 mg; Cu, 250 mg; Zn, 150 mg; Mn, 40 mg; I, 1 mg; Se, 0.35 mg. ♦Calculated nutrient composition of the diet: DE, 3.36 Mcal/kg; crude protein, 20.34%; Ca, 0.88%; total P, 0.64%; available P, 0.46%; Lysine, 1.19%; Methionine, 0.41%; Threonine, 0.81%

Acid binding capacity of the diet was measured according to Bolduan et al. (1988). The 100 g air-dry diet was mixed with 200 ml of deionized water, heated in a thermostatic water bath up to 37 °C and blended with a magnetic stirrer. The initial pH value of the feed slurry was determined (pH-meter 537, WTW, Germany) and then the feed slurry was titrated with 1*M* HCl acid to pH 4.0. The acid binding capacity was represented as the amount of 1*M* HCl acid (ml) needed to reach pH value 4.0.

The data were analyzed using one way analyses of variance program of Statistica 7.0. The Student t-test was used to determine the effect of the diet between two different groups. The data are expressed as means±standard deviation.

# Results and discussion

Generally performance response to organic acid supplementation is more pronounced in piglets than in fattening pigs due to immature digestive physiology of the younger animal (Metzler and Mosenthin, 2007). In the present study the dietary supplementation with the blend of FO and PR acids showed the slight improvement in growth performance compared with those in the control group. The growth performance data are shown in Table 2. The supplementation of the blend of FO and PR acids did not have significant effect on average daily weight gain (ADWG) and final BW. The FI in the trial group was numerically decreased by 3.6 percentage units compared to that of the control group ($p > 0.05$). The decrease in FI did not have a negative impact on ADWG, which was slightly numerically higher compared with that in the control group.

**Table 2**: Effect of the blend of formic and propionic acids on the growth performance

| Item | Control group | Trial group |
|---|---|---|
| No. animals/group | *n* = 30 | *n* = 30 |
| Initial weight, kg | 7.61±0.12 | 7.56±0.18 |
| Final weight, kg | 19.47±1.31 | 19.49±1.06 |
| Feed intake, kg | 19.13±1.80 | 18.44±1.45 |
| Average daily weight gain, g | 395±0.04 | 398±0.03 |
| Feed conversion rate | 1.62±0.11 | 1.55±0.03 |

Feed conversion rate (FCR) was improved by 4.3 percentage units in the trial group compared to the control group. The available reports have shown the growth and feed efficiency improvements adding formic or propionic acids in weaned pigs' diets (Bolduan et al. 1988; Mathew et al. 1991). The improvement in growth performance correlated directly with inclusion level of the acid. In the present study the improvement in FCR might be attributed to the optimization of feed efficiency by the reduction of the pH and buffer capacity in the diets, and due to the pH decrease in GI tract, which stimulated the secretion of pepsin and pancreatic enzymes (Tables 3 and 4).

The observed differences in performance responses to dietary organic acids may also be due to differences in dietary buffer capacity (B-value). Buffer capacity is lowest in cereal and cereal by-products, intermediate or high in protein feedstuffs and very high in mineral sources (Partanen and Mroz, 1999). High protein and mineral content of feed ensures rapid animal growth, but generates high buffering capacity, thus reducing levels of HCl in the stomach. Results of some studies demonstrated that high B-value of the diet increased gastric pH and resulted in decreased amino acids digestibility (Lawlor et al. 1994; Blank et al., 1999). Lowering dietary buffering capacity, via acidification with organic acids, has been shown to inhibit luminal growth of enterotoxigenic microflora and to enhance swine performance (Ravindran and Kornegay, 1993; Gabert and Sauer, 1994). In the present study it was shown that dietary supplementation with a blend of FO and PR acids decreased the buffer capacity by 11 percentage units in the trial group compared with the control group. This is in good agreement with the study carried out by Bolduan et al. (1988) where dietary supplementation with the blend of FO and PR acids at inclusion rate of 1% reduced the weaned piglet diet by 11 percentage units.

Various studies have reported pH levels of swine diets ranging from 4.36 to 5.79 (Kluge et al., 2006; Partanen et al. 2007; Mroz et al., 2000), which is in a good agreement with the pH values determined in the present study. Due to acidification of the diet the pH value was decreased by 0.05 pH units in

the trial group. The decrease in the pH value in weaned pigs' diets supplemented by various organic acids and their salts was determined in the studies by Bolduan et al. (1988), Blank et al. (1999), Partanen et al. (2007).

**Table 3**: Effect of the blend of formic and propionic acids on buffer capacity and pH of the diet and on pH of the intestinal content

| Item | Control group | Trial group | Delta Δ |
|---|---|---|---|
| No. animals/group | *n* = 6 | *n* = 6 | |
| **Diet** | | | |
| Buffer value | 33.1 | 29.4 | 3.70 |
| pH | 5.63 | 5.58 | 0.05 |
| | | | |
| **Chyme samples** | | | |
| Stomach | 4.02±0.59 | 3.56±0.85 | 0.46 |
| Duodenum | 5.87±0.94 | 5.42±0.47 | 0.45 |
| Jejunum | 6.42±0.36 | 6.23±0.30 | 0.19 |
| Ileum | 7.04±0.26 | 6.87±0.33 | 0.17 |
| Colon | 6.38±0.33 | 6.36±0.36 | 0.06 |

Dietary acidification is important to create unfavorable conditions for microorganisms and for reduction of pH and stimulation of GI tract enzymes. In the present study the lowest pH was determined in the stomach, followed by the duodenum, jejunum, colon and ileum. The dietary supplementation with the blend of FO and PR acids decreased the pH value from 4.02 to 3.56 in the stomach ($p > 0.05$). Due to the diet acidification the pH values were decreased in the duodenum, jejunum, ileum and colon ranging from 0.02 to 0.46 pH units difference ($p > 0.05$). The smallest decrease in pH value in the trial group was noticed in the colon compared to the control group. On average the decrease in pH values supplemented with different organic acids in the stomach by 0.34, in the jejunum by 0.21, in the ileum by 0.09 and cecum by 0.19 pH units was reported in various studies (Risley et al., 1992; Kim et al., 2005). Only few studies documented that dietary acidification significantly decreased GI tract pH, whereas most of the studies have failed to show any significant effect despite large numerical decrease in pH. High variations in the GI tract pH measurements indicate that it is difficult to obtain the representative sample, as the proportion of feed and endogenous excretions can vary from sample to sample (Partanen and Mroz, 1999).

According to the other studies carried out in weaned pigs the reduction of pH in GI tract lead to decrease in pathogenic bacteria counts along the GI tract, decreasing scouring of piglets (Bolduan et al., 1988, Mathew et al., 1991). It has been shown that acidic conditions favor the growth of lactobacilli in the stomach, which possibly inhibits the proliferation of *E. coli* and produces lactic acid and other metabolites which lower the pH and inhibit *E. coli*. In the present study the counts of *E. coli* was not determined, however it might be assumed that the number of pathogenic bacteria was decreased in the GI tract of the trial group compared to the control group.

It is known, that due to insufficient production of HCl and pancreatic enzymes, and sudden changes in feed consistency and intake, piglets have limited digestive capacity and absorption at weaning. In the present study it was shown that the dietary supplementation with the blend of FO and PR acids stimulated secretion of pepsin, amylase and lipase by 57, 18 and 32 percentage units, respectively, compared to the control (Table 4).

**Table 4**: Effect of the blend of formic and propionic acids on the enzyme activity in the intestinal tract.

| Item | Control group | Trial group |
|---|---|---|
| No. animals/group | *n* = 6 | *n* = 6 |
| Pepsin (IU*/ml) | 1660.4±520.7 | 2608±173.9 |
| Amylase (IU /ml) | 10.3±7.18 | 12.2±16.29 |
| Lipase (IU /ml) | 15.5±5.32 | 20.5±12.11 |

*International Units per ml

The highest difference in enzymes content was for pepsin, which might be related to optimum pH needed for this enzyme activation. Inactive form of pepsin, pepsinogen, is rapidly activated at pH 2, but very slow at pH 4, and it remains inactive at pH 6 (Kidder and Manners, 1978). Moreover, the end products of pepsin digestion and the low pH of digesta entering the duodenum are involved in the stimulation of pancreatic secretion (Partanen and Mroz, 1999). It might be assumed that due to the higher induced secretion of pancreatic enzymes, the digestibility of nutrients might be improved leading to better FCR. This is in a good agreement with studies carried on weaned piglets with various organic acids, where the dry matter, nitrogen and amino acids digestibility were improved (Kirchgessner and Roth, 1982; Mosenthin et al., 1992).

# Conclusions

The data of the present study showed that dietary supplementation with the blend of formic and propionic acids enhanced growth performance by optimizing feed efficiency in weaned pigs. Due to acidification the pH value in the diet and GI tract and buffer capacity in the diet were reduced leading to improved enzyme activity and improved nutrient utilization.

## References

Blank R., Mosenthin R., Sauer W.C., Huang S. 1999. Effect of fumaric acid and dietary buffering capacity on ileal and fecal amino acid digestibilities in early-weaned pigs. *Journal of Animal Science* 77:2974-2984.

Bolduan G., Jung H., Schneider R., Block J., Klenke J. 1988. Die Wirkung von Propion-und Ameisensäure in der Ferkelaufzucht. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 59:72-78.

Burnell T.W., Cromwell G.L., Stahly T.S. 1988. Effects of dried whey and copper sulfate on the growth responses to organic acid in diets for weanling pigs. *Journal of Animal Science* 66:1100-1108.

Cranwell P.D., Moughan, P.J. 1989. Biological limitations imposed by the digestive system to the growth performance of weaned pigs. Manipulating Pig Production 2, APSA, pp. 140-159.

Erlanson-Albertsson C., Larsson A., Duan, R. 1987. Secretion of pancreatic lipase and colipase from the rat pancreas. *Pancreas* 2:531-535.

Gabert V.M., Sauer W.C. 1994. The effects of supplementing diets for weanling pigs with organic acids. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences* 3:73-87.

Giesting D.W., Roos M.A., Easter R.A. 1991. Evaluation of the effect of fumaric acid and sodium bicarbonate addition on performance of starter pigs fed diets with different types. *Journal of Animal Science* 69:2489-2496.

Kidder D.E., Manners M.J. 1978. Digestion of proteins. In: Digestion in the pig. (Ed. Scientechnica). Bristol, pp. 150–171.

Kim Y.Y., Kil D.Y., Oh H.K., Han In K. 2005. Acidifier as an alternative material to antibiotics in animal feed. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 18:1048-1060.

Kirchgessner M., Roth F.X. 1982. Propionsäure als Futteradditiv in der Ferkelaufzucht und Schweinemast. *Das wirtschaftseigene Futter* 28:225-234.

Kluge H., Broz, J., Eder K. 2006. Effect of benzoic acid on growth performance, nutrient digestibility, nitrogen balance, gastrointestinal microflora and parameters of microbial metabolism in piglets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90:316-324.

Lawlor P.G., Lynch P.B., Caffrey, P.J. 1994. Studies on the acidification of piglet starter diets. *Journal of Animal Science* 72 (Suppl. 1): 164.

Mathew A.G., Sutton L.A., Scheidt A.B., Forsyth D.M., Patterson J.A., Kelly D.T. 1991. Effects of propionic acid containing feed additive on performance and intestinal microbial fermentation of the weaning pig. Proceedings of the Vth International Symposium on Digestive Physiology in Pigs, EAAP Publication, pp. 464-469.

Metzler B., Mosenthin R. 2007. Effect of organic acids on growth performance and nutrient digestibilities in pigs. In: Acidifier in Animal Nutrition. A Guide for Feed Preservation and Acidification to Promote Animal Performance. (Ed. C. Lückstädt). Nottingham University Press, Nottingham, pp. 39-54.

Mosenthin R., Sauer W.C., Ahrens F., de Lange C.F.M., Bornholdt U. 1992. Effect of dietary supplements of propionic acid, siliceous earth or a combination of these on energy, protein and amino acid digestibilities and concentrations of microbial metabolites in the digestive tract of growing pigs. *Animal Feed Science and Technology* 37:245-255.

Mroz Z., Jongbloed A.W., Partanen K.H., Vreman K., Kemme P.A., Kogut J. 2000. The effects of calcium benzoate in diets with or without organic acids on dietary buffering capacity, apparent digestibility, retention of nutrients, and manure characteristics in swine. *Journal of Animal Science* 78:2622-2632

NRC. 1998. Nutrient requirements of swine. 10th revised edition. National Academy Press, Washington, D.C.

Partanen K., Jalava T., Valaja J. 2007. Effects of a dietary organic acid mixture and of dietary fibre levels on ileal and faecal nutrient apparent digestibility, bacterial nitrogen flow, microbial metabolite concentrations and rate of passage in the digestive tract of pigs. *Animal* 1:389-401.

Partanen K.H., Mroz Z. 1999. Organic acid for performance enhancement in pig diets. *Nutrition Research Review* 12:117-145.

Radecki S.V., Juhl M.R., Miller E.R. 1988. Fumaric and citric acids as feed additives in starter pig diets: effect on performance and nutrient balance. *Journal of Animal Science* 66:2598-2605.

Ravindran V., Kornegay E.T. 1993. Acidification of weaner pig diets: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62:313-322.

Rick W., Stegbauer H.P. 1974. Alpha amylase measurement of reducing groups. In: Methods of Enzymatic Analysis. (Ed. H.V. Bergmeyer). 2nd Ed, Vol 2, Academic Press, New York.

Risley C.R., Kornegay E.T., Lindemann M.D., Wood C.M., Eigel W.N. 1992. Effect of feeding organic acids on selected intestinal content measurements at varying times postweaning in pigs. *Journal of Animal Science* 70:196-206.

## Corresponding authors

Dr. Renata Urbaityte and Dr. Angela Riemensperger
BIOMIN Holding GmbH
Industriestrasse 21
3131 Herzogenburg, Austria
E-mail: renata.urbaityte@biomin.net, angela.riemensperger@biomin.net

# Organische Säuren in der Putenfütterung – neue Erkenntnisse mit einem Produkt auf Formiat-Basis

**H. Glawatz, H. Meyer und C. Lückstädt**

ADDCON EUROPE GmbH, Bonn, Germany

## Summary

Gastrointestinal diseases pose a serious threat to commercial poultry production. Infections with pathogenic bacteria and their subsequent translocation to other organs and tissues, cause deterioration of feed conversion, increase mortality and reduce productivity.

A number of studies have shown enhanced nutritional and growth parameters in poultry, using organic acids. However, most acids are corrosive, with negative impacts on work safety as well as on the feed intake of birds. In a new study, the effects of a non-corrosive sodium formate/formic acid combination, which overcomes such problems, investigated the performance parameters in poultry. Due to scarcity of published data on the use of dietary organic acids in turkey, the trial was carried out with Big 6 turkeys in a 6-phase-feeding program.

Each of the two groups (treatment: 0.4% acidifier FORMI NDF; negative control) consisted of 308 one day old male Big 6 turkeys, which were raised till 145 days in 4 replicate groups. The dietary acidifier was included from feeding-phase 3 (starting week 6) onwards.

Sodium formate/formic acid addition was found to enhance the individual live weight of birds. By the end of the experiment, treatment improved daily weight gain of turkey by 2.9%. The dietary acidifier also improved survival rates by 3% and thus had an overall beneficial impact on the productivity index by 2.9% (496 vs. 482 for treatment and control respectively). Furthermore, birds in the treated group showed improved health status of pads.

These findings lead to the conclusion that addition of dietary acidifier in male turkeys may result in improved performance parameters as well as on the overall condition of turkeys. The trial further supports already published beneficial data on the use of sodium formate/formic acid products in poultry nutrition.

## Säuren in der Tierernährung

Tiere benötigen eine konstante Zufuhr an hochwertigen Nährstoffen, um Wachstum und Reproduktion gewährleisten zu können. Diese Nährstoffe werden in Form von Futter aufgenommen. Die Qualität des Futters ist dabei von herausragender Bedeutung und spiegelt sich durch eine ausgewogene Formulierung der essentiellen Inhaltsstoffe wie z.B. Aminosäuren, Fettsäuren, Vitaminen und Spurenelementen wider.

Um diesen Nährwert des Futters zu erhalten, haben sich in den letzten Jahren organische Säuren und deren Salze als vielversprechende Additive erwiesen.

Der Einsatz von organischen Säuren in der Tierernährung ist dabei nicht neu. Bereits in den 60er Jahren des letzten Jahrhunderts wurden Säuren in der direkten Fütterung von Tieren eingesetzt (Freitag, 2007). Allerdings beschränkte sich dieser Einsatz auf die Schweinefütterung.

Das Potential von organischen Säuren in der Futterkonservierung als auch in der Tierernährung selbst, ist durch viele wissenschaftliche Versuche belegt. Dabei leisten Säuren einerseits einen grundlegenden Beitrag zur Futterhygiene, da sie das Wachstum von Schimmelpilzen unterdrücken und damit die potentielle Wirkung von Mykotoxinen einschränken.

Andererseits können Säuren das Wachstum von gram-negativen Bakterien hemmen. Dabei konnte z.B. für die Ameisensäure eine starke bakterizide und bakteriostatische Wirkung nachgewiesen werden.

## Wirkmechanismen von Säuren im Tier

Diese genannten Wirkungen beruhen einerseits auf einer Senkung des pH-Wertes durch Zusatz der Säure im Futter und nach dessen Aufnahme auch im Tier und andererseits auf der anti-mikrobiellen Wirkung der Säure.

Die Wirkungsweise der einzelnen Säuren ist dabei unterschiedlich, bedingt durch z.B. ihren spezifischen pH-Wert, ihren Dissoziationsgrad sowie die Kettenlänge und Molekül-Größe. Eine Senkung des pH-Wertes führt zu einer geringeren Pufferkapazität desselben und fördert dadurch auch die Verdauung im Tier, da weniger Salzsäure im Magen produziert werden muss, um das Pepsin zu aktivieren und dadurch eine optimale Proteinverdauung gewährleistet wird. Durch eine stabile Verdauung wird weiterhin ein ausgewogenes Gleichgewicht in der Darmflora (Eubiose) gefördert.

Zusätzlich werden durch die Reduzierung des pH-Wertes erschwerte Bedingungen für das Wachstum von potentiell gefährlichen Bakterien geschaffen. Eine Senkung des pH-Wertes hat dadurch auch indirekt eine anti-mikrobielle Wirkung.

Diese beruht jedoch hauptsächlich auf dem Vermögen von organischen Säuren im undissoziierten Zustand die Zellwand von gram-negativen Bakterien zu durchbrechen und in die Zelle einzudringen. In der Zelle dissoziieren die Säuren in Wasserstoffkation und Säureanion. Das Kation reduziert ebenfalls den pH-Wert im Zellinneren, welcher unter hohem Energieverlust für die Zelle wieder korrigiert werden muss und das Anion greift direkt in die DNS-Synthese des Zellkerns ein. Dieser duale Wirkungsmechanismus hemmt effektiv die Vermehrung der Bakterien (Lückstädt, 2003).

## Säureeinsatz in der Geflügelfütterung

Auch in der Geflügelfütterung gelten diese theoretischen Grundlagen. Auf Grund einer signifikant höheren Salzsäure-Produktion im Proventriculus im Vergleich zum Schwein ist allerdings die Notwendigkeit einer pH-Wert Senkung durch Säuren im Magen nicht so stark gegeben wie z.B. beim Ferkel.

Daher begann der Einsatz von Säure-Zusätzen in der Geflügelfütterung erst bedeutend später. Erste Einsätze von z.B. Ameisensäure sind durch Vogt et al. (1981) belegt. Hier konnten verbesserte Wachstumsparameter in der Aufzucht von Broilern erreicht werden.

Spätere Studien konzentrierten sich häufig auf den Effekt gegen potentielle Schadkeime wie z.B. *Salmonella*. Humphrey und Lanning (1988) als auch Hinton und Linton (1988) konnten u.a. nachweisen, dass der Einsatz von Ameisensäure, Propionsäure und abgepufferter Propionsäure im Futter zu signifikant-reduzierten Keimzahlen führte.

Einen guten Überblick zum Einsatz von organischen Säuren in der Geflügelproduktion bietet darüber hinaus Desai et al. (2007). Der Einsatz von organischen Säuren geht aber häufig zu Lasten der Sicherheit von Mensch und Technik, da diese korrosive Zusatzstoffe sind. Zudem kann der erhöhte Einsatz bestimmter Säuren zu verringerten Futteraufnahmen führen. Die Forschung arbeitet daher schon seit Jahren an nicht-korrosiven, aber weiterhin effizienten Produkten auf Säure-Basis.

In diesem Zusammenhang werden bereits seit einigen Jahren sogenannte Säure-Salze auf Kaliumdiformiat-Basis angeboten, die als erste EU-zugelassene nicht-antibiotische Leistungsförderer für Schweine eingesetzt werden können. Für die Geflügelproduktion ist FORMI NDF erhältlich, ebenfalls Ameisensäure/Formiat-basierend (NDF), jedoch an Natrium gebunden.

## Kartzfehner Fütterungsversuch – Material und Methoden

Durch einen Fütterungsversuch in der Kartzfehner Testfarm sollte überprüft werden, ob durch den Einsatz von NDF im Mastputenfutter ab Phase 3 eine Verbesserung der Gesundheit und Mastleistung durch Darmstabilisierung und Hemmung von bakteriellen Erkrankungen erzielt werden kann.

Im Versuchszeitraum Sommer 2009 (März bis September) wurden jeweils 308 Eintagsküken (Hähne Big 6) in zwei Gruppen (Behandlung und Nullkontrolle) über eine Periode von 145 Tagen (20,7 Wochen) nach der Kartzfehner Fütterungsempfehlung (Tabelle 1) gefüttert. Die Tiere wurden in 4 Boxen mit jeweils 77 Puten gehalten.

**Tabelle 1**: Kartzfehner Fütterungsempfehlung – Futterprogramm für Putenhähne (Auszug) – [Kartzfehner feeding suggestion – feeding program for male turkey (extract)]

| Futtersorte | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Woche | 1-2 | 3-5 | 6-9 | 10-13 | 14-17 | 18-22 |
| Pelletgröße, mm | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Rohprotein, % | 27,5 | 26,0 | 23,5 | 21,0 | 18,0 | 16,0 |
| ME, MJ/kg | 11,4-11,6 | 11,6-11,8 | 12,0-12,2 | 12,4-12,6 | 12,7-12,9 | 13,1-13,3 |
| Futterbedarf, kumuliert; Hahn (kg/Phase) | 0,47 | 2,95 | 10,47 | 22,03 | 36,67 | 59,23 |

Dabei handelte es sich um ein 6-Phasen-Putenmastfutter, welches in der behandelten Gruppe ab Phase 3 letztendlich 4 kg/t des Säure-Salzes NDF enthielt. Während des Versuches wurden Daten zu den Wachstums-Parametern, zum Futterverbrauch sowie zur Mortalität und zum allgemeinen Herdenbild (visuell) erhoben.

## Ergebnisse

Die Tiere beider Gruppen zeigten sich im Wesentlichen gewohnt ruhig. Der Zusatz des Testproduktes führte zu einer höheren Futteraufnahme (Tabelle 2). Die Gewichtsentwicklung der Puten verlief bis zum Wechsel auf das Futter der 6. Phase relativ gleichmäßig.

Die Tiere der Testgruppe verzeichneten jedoch während der Phase 6 eine erhöhte Gewichtsentwicklung, so dass am Ende des Versuches die behandelten Tiere ein um etwa 2,7 % höheres Endgewicht erreichten. Dieses lag um gut 530 g höher als in der Nullkontrolle. Damit waren die Tageszunahmen um 4 g pro Tag verbessert (2,9 %).

**Tabelle 2**: Wachstumsparameter von Big 6-Hähnen (20 Wochen, 5 Tage) mit und ohne Zusatz von NDF im Futter [Performance parameters of male turkeys fed with or without the dietary acidifier NDF]

| | Kontrolle | FORMI NDF | Differenz [%] |
|---|---|---|---|
| Gewicht nach P3 [kg] | 5,78 | 5,63 | -2,6 |
| Gewicht nach P4 [kg] | 10,70 | 10,99 | +2,7 |
| Gewicht nach P5 [kg] | 16,11 | 16,16 | +0,3 |
| Endgewicht [kg] | **19,90** | **20,43** | **+2,7** |
| Tagesgewichtszunahme [g] | **137** | **141** | **+2,9** |
| Futteraufnahme [kg] | 45,22 | 47,06 | +4,1 |
| FCR* | **2,49** | **2,50** | **+0,4** |
| Mortalität [%] | **12,46** | **12,09** | **-3,0** |

*um Mortalität korrigiert

# Diskussion

Die Futterverwertung war in beiden Gruppen annähernd gleich, während die Mortalität in der Säure-Salz-Gruppe um gut 3% niedriger als die der Kontrollgruppe war. Basierend auf einer Kennzahl der Geflügelproduktion, dem Europäischen Broiler Index EBI (Tageszunahme [g] x Überlebensrate [%] / Futterverwertung x 10) ergibt sich für die NDF-gefütterten Puten ein um 2,9% verbesserter Produktionsindex (496 vs. 482).

Teilweise schien die säurebasierte Fütterung die Aufnahme und Wirksamkeit von Medikamenten zu verzögern. Die Behandlung einer auftretenden Durchfallerkrankung schlug in der Testgruppe etwa einen Tag später an.

In der letzten Futterphase erschien die Darmstabilität der Testgruppen verbessert, was sich auch in einer Reduzierung der Fußballenveränderungen erkennen ließ. Insgesamt sind die Leistungen beider Gruppen unter den Versuchsbedingungen während des Sommerdurchgangs als nicht optimal zu bezeichnen. Durch den Einsatz von NDF war das kompensatorische Wachstum in der Futterphase 6 offenbar besonders ausgeprägt, so dass die Tiere der Versuchsgruppe in dieser Phase einen Vorsprung von 0,53 kg gegenüber der Kontrolle aufbauten.

Die in der Versuchsplanung beinhaltete Überprüfung auf Salmonellen war nicht aufschlussreich, da in allen Versuchs- und Kontrollboxen nur negative Befunde auftraten.

Möglicherweise ist jedoch die leicht reduzierte Mortalität in der behandelten Gruppe auf die bakterienhemmende Wirkung anderer potentiell pathogener Bakterien zurückzuführen, wie es bereits von Lückstädt und Theobald (2009) beschrieben wurde.

Das im Versuchsansatz erwartete Ziel der Verbesserung der Mastleistung wurde erreicht, was auch durch den verbesserten Produktionsindex EBI verdeutlicht wird.

# Ausblick

In den letzten Jahren trat verstärkt die Sicherheit und Qualität des Futters für Nutztiere in den Vordergrund, nicht zuletzt durch gesteigertes Medieninteresse. Durch den Wegfall von antibiotischen Leistungsförderern im Futter mussten alternative Fütterungskonzepte gefunden werden, die jedoch auch als Chance zu verstehen sind. Wenn die potentiellen Wirkungen der Säurezusätze praxisgerecht ein- und umgesetzt werden, können Ameisensäure/Formiat-basierte Produkte ein Teil der Fütterungskonzepte sein, die zu einer ökonomischen aber auch nachhaltigen Geflügelproduktion führen können.

## Literatur

Desai D., Patwardhan D. and Ranade A. (2007) Acidifiers in Poulktry Diets and Poultry Production, pp. 63-69. In: Acidifiers in Animal Nutrition – A Guide for Feed preservation and Acidification to Promote Animal Performance (Lückstädt, C., ed.). Nottingham University Press, Nottingham.

Freitag M. (2007) Organic acids and salts promote performance and health in animal husbandry, pp. 1-11. In: Acidifiers in Animal Nutrition – A Guide for Feed preservation and Acidification to Promote Animal Performance (Lückstädt, C., ed.). Nottingham University Press, Nottingham.

Hinton M. and Linton A. H. (1988) Control of *Salmonella* infections in broiler chickens by the acid treatment of their feed. *Veterinary Record* 123: 416-421.

Humphrey T.J. and Lanning D.G. (1988) The vertical transmission of salmonellas and formic acid treatment of chicken feed. A possible strategy for control. *Epidemiology and Infection* 100: 43-49.

Lückstädt C. (2003) Effekte Organischer Säuren in der Tierernährung – Alternativen für Futtersicherheit und Tiergesundheit. *Kraftfutter* 11-12: 370-372.

Lückstädt C. and Theobald P. (2009) Effect of a formic acid-sodium formate premixture on *Salmonella*, *Campylobacter* and further gut microbiota in broilers. Proceedings and Abstracts of the 17th European Symposium on Poultry Nutrition, p. 246.

Vogt H., Matthes S. und Harnisch S. (1981) Der Einfluß organischer Säuren auf die Leistungen von Broilern und Legehennen. *Archiv für Geflügelkunde* 45: 221-232.

## Autorenanschrift

Dr. Christian Lückstädt
ADDCON EUROPE GmbH -Zweigniederlassung Bonn-
Kaiserstraße 1a
D-53113 Bonn
E-Mail: christian.lueckstaedt@addcon.com

ADDCON

# FORMI® NDF

## mit Sicherheit mehr Leistung!

**Studien mit FORMI NDF zeigen:**

- **reduziert Salmonellen und Campylobacter**
  **(Lückstädt und Theobald, 2009)**
- **verbessert Wachstum und Futterverwertung**
  **(Lückstädt und Theobald, 2010)**
- **erhöht Proteinverdaulichkeit**
  **(Cresswell und Swick, 2010)**

weiterführende Informationen zur FORMI Produktgruppe finden Sie unter: www.addcon.com

**neueste Ergebnisse bei Puten: siehe Artikel Dr. Ch. Lückstädt**

www.addcon.com

**ADDCON GROUP GmbH**
Kaiserstr. 1a • 53113 Bonn
Tel.: 0228-91910-0
Fax: 0228-91910-60
E-Mail: info@addcon.com

# Growth performance of broilers as affected by dietary nutrient density and supplementation with essential oils

**L. Perić[1], S. Bjedov[1], N. Milošević[1], M. Vukic Vranjes[2] and T. Steiner[3]**

[1] University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Trg Dositeja Obradovica 8, 21000 Novi Sad, Serbia
[2] Institute for Science Application in Agriculture, Bul. Despota Sefana 68b, 11000 Belgrade, Serbia
[3] BIOMIN Holding GmbH, Industriestrasse 21, 3130 Herzogenburg, Austria

## Abstract

1200 Ross 308, mixed sex broilers were used in order to investigate performance and nutrient sparing effect of dietary supplementation with two blends of essential oils. Birds were assigned to 6 treatments with 5 replications each and either fed a standard basal diet (SD; standard diet) meeting their nutrient requirements, or a basal diet with reduced energy, protein, amino acid, calcium and phosphorus concentrations (RD; reduced specification diet). Each of these basal diets were supplemented or not supplemented with one of two essential oil additives (EO-1: blend of essential oils from oregano, anise and citrus adsorbed to an organic carrier, 125 mg/kg; and EO-2: blend of essential oils from oregano, thyme, anise and citrus, encapsulated in a carbohydrate matrix, 100 g/t). Active ingredients in EO-1 and EO-2 were carvacrol, thymol, anethol and limonene. Treatments were: (1) SD; (2) SD + EO-1; (3) SD + EO-2; (4) RD; (5) RD + EO-1; and (6) RD + EO-2. BW was affected by diet (SD vs. RD) at 14 ($P<0.05$) and 42 days of age ($P<0.01$). Supplementation of the standard diets with both essential oil additives increased ($P<0.05$) BW at 42 days of age. Although throughout the experiment BW of birds fed the reduced diets was numerically lower ($P>0.05$) compared with birds fed the standard diet, this difference was significant ($P<0.05$) at 14 days of age only. Mortality and FCR did not differ ($P>0.05$) between treatments. In conclusion, moderate down-specification of diets for energy, protein, amino acids, calcium and phosphorus reduced broiler BW at 14 days of age. Furthermore, supplementation of the diets with essential oils improved BW, hence confirming a growth-promoting effect of plant bioactive substances in broilers.

## Introduction

There has been growing interest in plant-derived substances as ingredients or supplements in commercial poultry feeds (Windisch et al., 2008). An increasing number of scientific reports are available pertaining to the efficacy of essential oils in broilers (Wallace et al., 2010). Essential oils contain a number of antimicrobial, antifungal and antioxidative compounds predominantly belonging to the groups of phenols, terpenes or aldehydes. It was shown that essential oils improved digestibility and growth performance in broilers (Hernandez et al., 2004). Thus, it was hypothesized that, due to a nutrient-sparing effect, dietary supplementation with essential oils might compensate for a reduction in nutrient density in terms of growth performance in broilers. Thus, the objective of the present study was to determine the effects of two blends of essential oils (non-encapsulated vs. matrix-encapsulated) on growth performance of broilers fed standard diets or diets with reduced energy and nutrient concentrations.

# Materials and methods

*Animals, housing and dietary treatments*

1200 day-old as-hatched Ross 308 broiler chicks were assigned to 6 treatments, with 5 pens per treatment and 40 birds per pen and a stocking density of 15 birds/$m^2$. Birds were either fed a standard diet (**SD**; standard diet) meeting the nutrient requirements of the breed, or a diet with reduced energy, protein, amino acid, calcium and phosphorus concentrations (**RD**; reduced specification diet) (Table 1), each supplemented or not with one of two essential oil (EO) additives (EO-1: blend of EOs from oregano, anise and citrus adsorbed to an organic carrier, 125 mg/kg; and EO-2: blend of EOs from oregano, thyme, anise and citrus, encapsulated in a carbohydrate matrix, 100 g/t):

Treatment 1: Standard diet (SD)
Treatment 2: SD + EO-1 (Biomin® P.E.P. 125 poultry, 125 g/t)
Treatment 3: SD + EO-2 (Biomin® P.E.P. MGE, 100 g/t)
Treatment 4: Reduced specification diet (RD)
Treatment 5: RD + EO-1 (Biomin® P.E.P. 125 poultry, 125 g/t)
Treatment 6: RD + EO-2 (Biomin® P.E.P. MGE, 100 g/t)

Active ingredients in EO-1 and EO-2 were carvacrol, thymol, anethol and limonene. All birds were subjected to three feeding phases: Starter (day 1-14), grower (day 15-35) and finisher (day 36-42).

*Measurements*

Individual body weights (BW) were recorded on days 7, 14, 21, 28, 35 and 42. Average daily feed intake was measured in the starter, grower and finisher period. Mortality was recorded on a daily basis.

*Statistical analysis*

Data were analyzed by factorial ANOVA with diet and essential oils supplementation as fixed factors, followed by a LSD post-hoc test to separate means, using StatSoft software (STATISTICA 8, 2009). Differences were considered significant at a P-value <0.05.

# Results and discussion

Studies investigating the nutrient-sparing effect of essential oils are scarce. In the present study, broiler BW was affected by diet (SD vs. RD) at 14 ($P<0.05$) and 42 days of age ($P<0.01$) (Figure 1). Supplementation of the standard diets with both essential oils increased ($P<0.05$) BW at 42 days of age. This finding confirms the result of Cross et al. (2008), who reported improved BW in broilers fed diets supplemented with essential oils from thyme. On the other hand, the increase in BW obtained in the present study is in contrast to Buchanan et al. (2008) who reported no improvement in BW, but a reduction in FCR (1.81 vs. 1.84), when a diet with standard nutrient concentration was supplemented with a mixture of essential oils. In the present experiment, FCR did not differ ($P>0.05$) between treatments.

Although throughout the experiment BW of birds fed the down-specified diets was numerically lower ($P>0.05$) compared with birds fed the standard diet, this difference was significant ($P<0.05$) only at 14 days of age. It is speculated that a higher reduction in dietary energy, protein and amino acid concentrations would have resulted in lower growth rates of birds receiving the down-specified diet.

Mortality did not differ ($P>0.05$) between treatments (4.0; 4.0; 3.5; 6.0; 2.0; 4.5% for treatments 1-6, respectively).

**Table 1**: Formulation and chemical composition of the experimental diets

| | Standard specification (SD) | | | Reduced specification (RD) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Starter | Grower | Finisher | Starter | Grower | Finisher |
| *Ingredients (%)* | | | | | | |
| Corn | 43.83 | 37.33 | 35.46 | 45.72 | 39.26 | 37.40 |
| Wheat | 6.00 | 15.00 | 18.00 | 6.00 | 15.00 | 18.00 |
| Sorghum | 5.00 | 8.00 | 10.00 | 5.00 | 8.00 | 10.00 |
| Full fat soya | 6.00 | 7.00 | 7.00 | 6.00 | 7.00 | 7.00 |
| Soybean meal (44% CP) | - | 24.28 | 20.67 | - | 23.27 | 19.67 |
| Soybean meal (46% CP) | 32.32 | - | - | 30.37 | - | - |
| Plant oil | 2.69 | 4.36 | 4.62 | 1.78 | 3.48 | 3.73 |
| Monocalcium phosphate | 1.92 | 1.43 | 1.41 | 1.92 | 1.43 | 1.41 |
| Limestone | 1.44 | 1.31 | 1.33 | 1.44 | 1.32 | 1.34 |
| Salt | 0.13 | 0.18 | 0.12 | 0.13 | 0.18 | 0.12 |
| Sodium bicarbonate | 0.25 | 0.18 | 0.26 | 0.25 | 0.18 | 0.26 |
| DL-Methionine | 0.39 | 0.24 | 0.27 | 0.37 | 0.22 | 0.25 |
| L-Lysine | 0.28 | 0.08 | 0.20 | 0.27 | 0.08 | 0.19 |
| Choline chloride | 0.13 | 0.10 | 0.10 | 0.13 | 0.10 | 0.10 |
| Minerals and vitamins | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| *Chemical composition* | | | | | | |
| ME (MJ/kg) | 22.00 | 19.00 | 18.00 | 21.70 | 18.70 | 17.70 |
| Crude protein (%) | 12.65 | 13.20 | 13.40 | 12.47 | 13.03 | 13.23 |
| Lysine (%) | 1.05 | 0.90 | 0.90 | 1.05 | .090 | 0.90 |
| Methionine (%) | 0.9 | 0.77 | 0.76 | 0.90 | 0.77 | 0.76 |
| Met + Cys (%) | 0.5 | 0.42 | 0.42 | 0.50 | 0.42 | 0.42 |
| Calcium | 1.41 | 1.06 | 1.06 | 1.39 | 1.04 | 1.04 |
| Total P | 0.70 | 0.52 | 0.53 | 0.68 | 0.50 | 0.51 |
| Available P | 1.05 | 0.83 | 0.83 | 1.03 | 0.81 | 0.81 |

**Table 2**: Broiler feed conversion ratio as affected by diet specification (standard vs. reduced) and supplementation with phytogenic feed additives (PFA)

| Age | Standard specification diet | | | Reduced specification diet | | | SEM | P value | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | EO-1 | EO-2 | Control | EO-1 | EO-2 | | Diet | EO | Diet × EO |
| 1-14 | 1.54 | 1.50 | 1.53 | 1.55 | 1.53 | 1.53 | 0.012 | n.s. | n.s. | n.s. |
| 15-35 | 1.76 | 1.78 | 1.77 | 1.79 | 1.80 | 1.77 | 0.010 | n.s. | n.s. | n.s. |
| 36-42 | 2.04 | 2.00 | 1.97 | 2.07 | 2.01 | 2.03 | 0.018 | n.s. | n.s. | n.s. |
| 1-42 | 1.80 | 1.79 | 1.79 | 1.81 | 1.79 | 1.81 | 0.008 | n.s. | n.s. | n.s. |

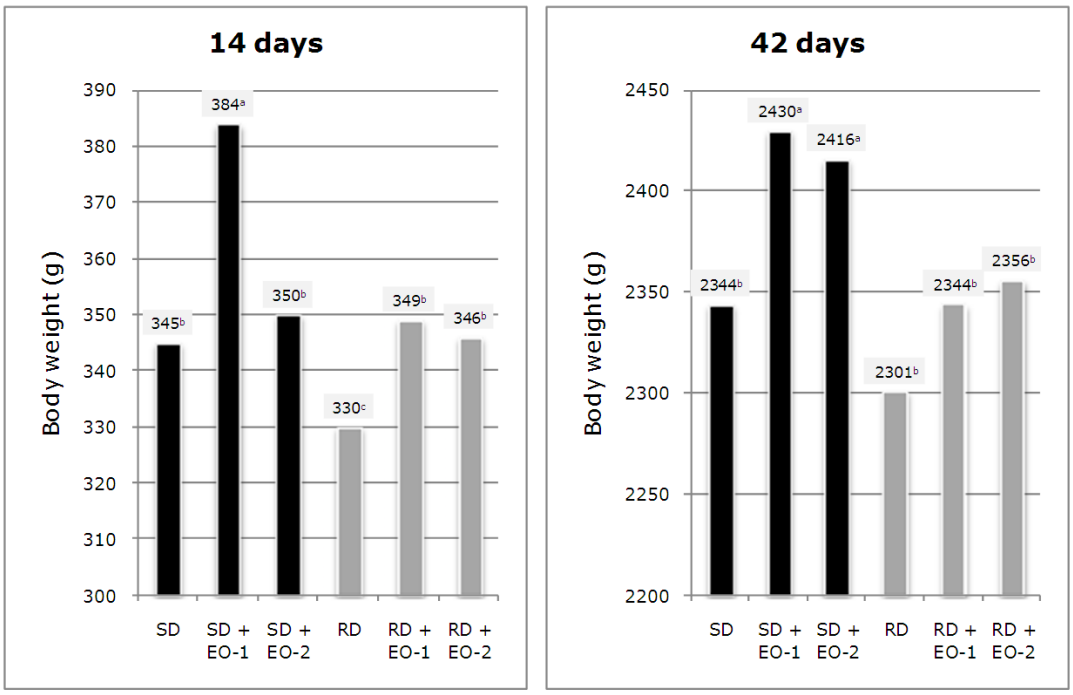



**Figure 1**: Broiler body weight as affected by diet (standard specification diet, SD vs. reduced specification diet, RD) and supplementation with essential oils (EO-1 and EO-2)

# Conclusion

Down-specification of diets in terms of energy, protein, amino acids, calcium and phosphorus reduced broiler growth rate at 14 days of age. Supplementation of diets with essential oils improved BW, hence confirming a growth-promoting effect of essential oils in broilers.

## References

Cross D.E., McDevitt R.M., Hillman K., Acamovic T., 2008. The effect of herbs and their associated essential oils on performance, dietary digestibility and gut microflora in chickens from 7 to 28 days of age. Br. Poult. Sci. 48(4):496–506.

Buchanan N.P., Hott J.M., Cutlip S.E., Rack A.L., Asamer A., Moritz J.S., 2008. The effects of a natural antibiotic alternative and a natural growth promoter feed additive on broiler performance and carcass quality. J. Appl. Poult. Res. 17:202–210.

Hernández F., Madrid J., Garcia V., Orengo J., Megías M.D., 2004. Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility and digestive organ size. Poult. Sci. 83:169–174.

Wallace R.J., Oleszek W., Franz C., Hahn I., Baser K.H.C., Mathe A., Teichmann K., 2010. Dietary plant bioactives for poultry health and productivity. Br. Poult. Sci. 51:461–487.

Windisch W., Schedle K., Plitzner C., Kroismayr A., 2008. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. J. Anim. Sci. 86:E140–E148.

## Corresponding author

Dr. Tobias Steiner
BIOMIN Holding GmbH
Industriestrasse 21
A-3130 Herzogenburg
E-Mail: tobias.steiner@biomin.net

# Experimentelle Untersuchungen zur Wirkung phytogener Pflanzenextrakte auf die Darmmorphologie beim Broiler

**Elke Humer, Elisabeth Rohrer, Wilhelm Windisch und Karl Schedle**

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

## Einleitung

Das Geflügel und da vor allem das Mastgeflügel reagiert auf Stressoren wie pathogene Keime sehr empfindlich. Daher fanden antimikrobielle Substanzen aufgrund der Steigerung der Lebendmassezunahme und besseren Futterverwertung lange Zeit breite Anwendung (Kim et al. 2008). Aufgrund zunehmender Antibiotikaresistenzen im human- und veterinärmedizinischen Bereich wurde seit Jänner 2006 in der Europäischen Union der Einsatz antibiotischer Leistungsförderer in der Nutztierhaltung verboten. Auf der Suche nach Alternativen, welche die Effizienz der Tierproduktion steigern können, ohne dabei die tierischen Produkte und die Umwelt negativ zu beeinflussen, rückten in den letzten Jahren neben Probiotika, Prebiotika und organischen Säuren phytogene Zusatzstoffe immer mehr in den Mittelpunkt des Interesses. Diese scheinen auch vergleichbare gesundheits- und leistungsfördernde Eigenschaften wie antibiotische Wirkstoffe aufzuweisen.

Unter phytogenen Futterzusätzen versteht man Mischungen aus speziellen pflanzlichen Rohstoffen oder deren Extrakten und fallweise mineralischen Trägerstoffen. Hauptsächlich finden ätherische und pflanzliche Öle, sowie hochwertige Kräuter und Gewürze Verwendung. Da phytogene Pflanzenextrakte wegen der botanischen Herkunft, Gewinnung und Zusammensetzung sehr heterogen sind, ist ihre Wirkungsweise trotz steigender Anzahl wissenschaftlicher Publikationen in den letzten Jahren unzureichend erforscht (Windisch et al. 2008).

Bezüglich der Wirkung auf die Morphologie des Darmes zeigten unterschiedliche Studien divergierende Ergebnisse. In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss eines pflanzlichen Futtermittelzusatzstoffes auf morphologische Merkmale des Dünndarms bei Broilern analysiert. Ziel war es festzustellen, ob die Parameter Zottenlänge, Zottenbreite, Zottenfläche, Kryptentiefe, Verhältnis der Zottenlänge zur Kryptentiefe, Dicke der Muscularis circularis, sowie als Indikator für die Schleimproduktion die Anzahl der Becherzellen im Jejunum, proximalen und distalen Ileum durch den phytogenen Zusatzstoff beeinflusst werden. Neben einer empfohlenen Dosierung von 150 ppm wurde auch untersucht, ob bei einer 10-fach höheren Verabreichung mögliche positive Effekte aufgehoben werden, oder sogar negative Wirkungen eintreten könnten.

## Material und Methoden

Im Versuch wurden 432 gesunde Eintagsküken beiden Geschlechts der Hybridmastlinie Ross 308 im Geflügelversuchsstall Äußere Wimitz mit einem Durchschnittsgewicht von 44 ±0,14 g zu je 12 Tieren auf 36 Boxen getrennt geschlechtlich aufgeteilt. Jede Versuchsgruppe wurde in 12-facher Wiederholung geprüft. Die Kontrollgruppe erhielt eine Basisration ohne Additiv. Der zweiten Gruppe wurde eine praxisübliche Dosierung von 150 ppm eines phytogenen Futterzusatzstoffes beigemengt. Die dritte Gruppe erhielt eine Basisration mit 10-fach höherer Dosierung des phytogenen Futterzusatzstoffes (1500 ppm). Der pflanzliche Futterzusatzstoff basierte auf ätherischen Ölen mit der Leitsubstanz Thymol.

Die Fütterung erfolgte *ad libitum* in mehliger Form über einen Zeitraum von 35 Tagen bis zur Schlachtung mit einem Lebendgewicht von 2158 ±17,43 g. Die Tiere erhielten eine praxisübliche 3-Phasenfütterung, deren Soll-Nährstoffgehalte an die Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie für Broiler angepasst waren. Das Starterfutter wurde bis zum 14. Masttag, das Hühnermastfutter 1 (HMF I) bis zum 28. Masttag und das Hühnermastfutter 2 (HMF II) bis zum Mastende gefüttert. Die Rohproteingehalte betrugen im Starterfutter 22%, im HMF I 21% und im HMF II 19% und die Energiegehalte 12,4, 12,8 und 12,7 MJME/kg.

Am 35. Masttag wurden die Tiere unter standardisierten Bedingungen geschlachtet. Pro Box wurden zwei repräsentative Broiler (insgesamt 72) in Bezug auf den Median des Gewichtes für die Probennahme herangezogen. Aus dem Bereich des Jejunums, des proximalen und distalen Ileums wurden unverzüglich Gewebeproben entnommen, in flüssigem Formalin bei 5°C für 48 Stunden fixiert, entwässert und anschließend paraffiniert. Am Mikrotom wurden 4 µm dicke Gewebeschnitte quer zur Längsachse angefertigt, auf Glasobjektträger aufgezogen und anschließend einer Alcianblau-PAS (Periodic-Acid-Schiff)-Färbung unterzogen.

Die morphometrische Auswertung der histologischen Schnitte erfolgte mit Hilfe eines computergestützten Bildanalysesystems. Dabei wurde das Bild des zu vermessenden Schnittes mit dem Lichtmikroskop Leica DM 6000 B (Leica, Darmstadt, Deutschland) über eine Kamera auf einen Computermonitor übertragen. Es wurde ein Standbild erstellt, um diese Projektion des Gewebeschnittes mit Hilfe der Leica Microsystems DFC Camera Software (Leica, Darmstadt, Deutschland) bearbeiten zu können. Zunächst wurden mit dem Mikroskop bei 50-facher (Zotten, Muscularis circularis) sowie bei 100-facher (Krypten) und bei der Ermittlung der Anzahl der Becherzellen bei 200-facher Vergrößerung Standbilder aufgenommen. Anschließend erfolgte die Vermessung der einzelnen Parameter. Die Zottenlänge wurde als die Länge einer zentral gelegenen Linie von der Zottenspitze bis zur Lamina muscularis mucosae definiert. Die Messung der Breite erfolgte an der Zottenbasis, wobei dieser Bereich mit dem Niveau der Kryptöffnung festgelegt wurde. Die Zottenfläche wurde mit Hilfe eines speziellen Werkzeuges der Software vom Niveau der Kryptus-Villus-Achse bis zur Zottenspitze ermittelt. Die Krypttiefe wurde als die Länge der Verbindung zwischen der Kryptbasis und der Kryptöffnung entlang des Kryptlumens gemessen. Die Breite der Muscularis circularis wurde definiert als die Breite der zwischen der Muscularis longitudinale und Submucosa gelegenen Ringmuskelschicht. Für die Ermittlung der Anzahl der Becherzellen wurden im Bereich von 200 µm ab der Kryptus-Villus-Achse sämtliche Becherzellen ausgezählt.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mittels zweifacher Varianzanalyse. Als kritisches Signifikanzniveau wurde ein α von 0,05 herangezogen. Ein α von <0,1 wurde als statistische Tendenz angesehen. Neben der Versuchsgruppe wurde die Wiederholung als fixer Effekt in das Merkmalsmodell aufgenommen. Der Unterschied zwischen den Versuchsgruppen wurde mittels Tukey-Kramer Test ermittelt.

# Ergebnisse

Die Zottenlänge nahm mit durchschnittlich 1539 µm im Jejunum, 981 µm im proximalen Ileum und 892 µm im distalen Ileum rectumwärts ab, wobei die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen nicht signifikant waren (Abbildung 1). Die Breite der Zotten variierte mit durchschnittlich 165 µm zwischen den einzelnen Abschnitten nicht signifikant. Bei den Zottenflächen wurde in allen Abschnitten kein Einfluss des phytogenen Zusatzstoffes festgestellt. Diese nahmen von proximal nach distal ab und betrugen im Jejunum durchschnittlich 0,164 $mm^2$, im proximalen Ileum 0,099 $mm^2$ und im distalen Ileum 0,088 $mm^2$.

Auch die Kryptentiefe verringerte sich vom Jejunum zum Ileum (Abbildung 2). Die Durchschnittswerte betrugen von proximal nach distal 195 µm, 166 µm und 169 µm. Zwischen den Versuchsgruppen ergaben sich jedoch keine Unterschiede in den untersuchten Darmabschnitten.

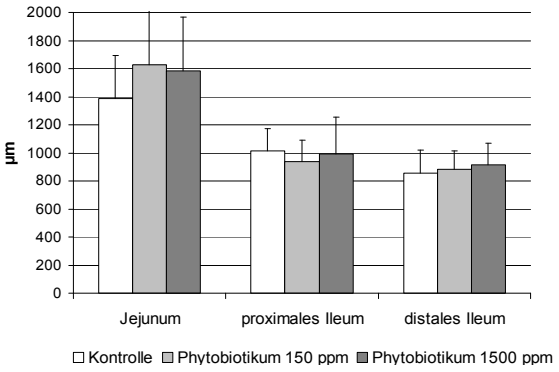



**Abbildung 1**: Zottenlänge

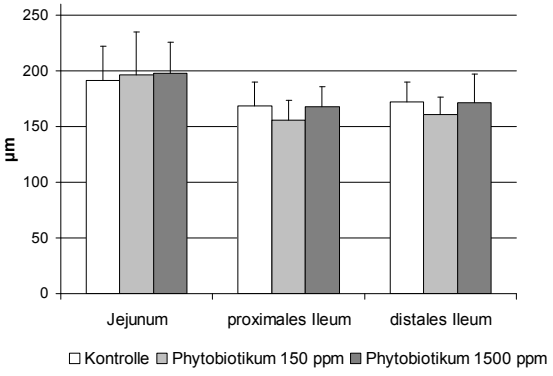



**Abbildung 2**: Kryptentiefe

Das Verhältnis zwischen Zottenlänge und Kryptentiefe nahm mit durchschnittlich 8,56, 5,83 und 5,31 rectumwärts ab (Abbildung 3). Bei diesem Parameter verzeichneten die Versuchsgruppe mit 150ppm phytogenem Zusatz ein tendenziell höheres Zotten Krypten Verhältnis als die Kontrollgruppe ($p<0,1$).

Für die Anzahl der Becherzellen konnte eine Zunahme im Ileum festgestellt werden (Abbildung 4). Im Jejunum wurden durchschnittlich 17,3, im proximalen Ileum 20,7 und im distalen Ileum 20,3 Becherzellen im Bereich von 200 µm ab der Kryptus-Villus-Achse gezählt. Während im Jejunum die Tiere der Gruppe mit 150 ppm phytogenem Zusatz um 11,5% signifikant weniger Becherzellen aufwiesen ($p<0,05$), waren im Ileum keine Unterschiede festzustellen.

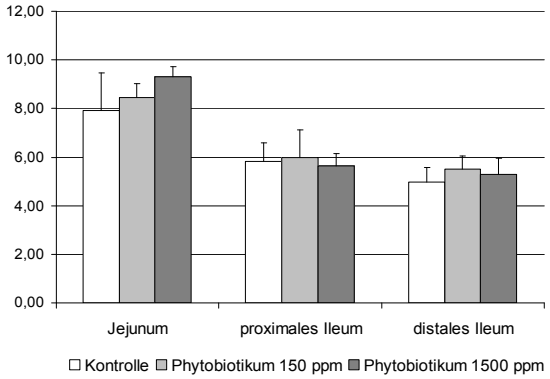



**Abb. 3**: Verhältnis der Zottenlänge zur Kryptentiefe

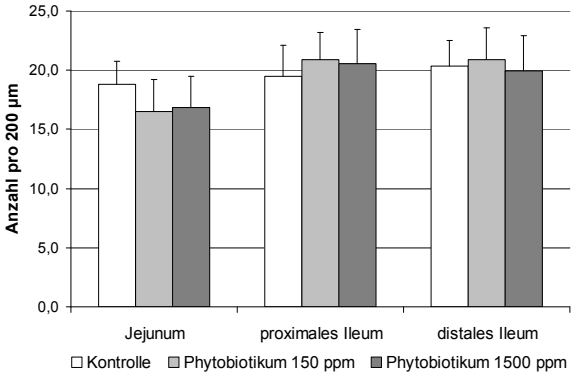



**Abbildung 4**: Anzahl der Becherzellen

Die Dicke der Muscularis circularis war im distalen Ileum mit durchschnittlich 235 µm höher als im Jejunum (210 µm) und im proximalen Ileum (190 µm). Im Jejunum verzeichnete bei diesem Parameter die Versuchsgruppe mit 150ppm phytogenem Zusatz eine tendenziell dickere Schicht ($p<0,1$).

# Diskussion

In der vorliegenden Arbeit führte der Einsatz eines phytogenen Futtermittelzusatzes sowohl in der empfohlenen Dosierung von 150 ppm als auch in 10-fach höherer Verabreichung zu keiner Beeinflussung der Zottenlänge und Zottenfläche im Jejunum und Ileum von Masthühnern. Diese Ergebnisse

decken sich mit den vorliegenden Literaturdaten bei Schwein und Geflügel (Garcia et al. 2007, Jamroz et al. 2006, Manzanilla et al. 2004, Nofrarías et al. 2006, Kroismayr et al. 2008, Oetting et al. 2006, Sehm et al. 2007).

Das Verhältnis der Zottenlänge zur Kryptentiefe war im distalen Ileum bei den Tieren mit der Supplementierung von 150ppm phytogenen Futterzusatz im Vergleich zur Kontrollgruppe um 10% größer. Das größere Verhältnis könnte auf eine geringere Belastung des Intestinaltraktes mit unerwünschten Keimen oder deren Stoffwechselprodukte hinweisen. Denn ein weites Verhältnis von Zottenlänge zur Kryptentiefe deutet auf einen stressfreien Zustand des Darmepithels hin. Demir et al. (2005) konnten für Knoblauchpulver und Thymianpulver eine signifikante Reduktion der Kryptentiefe im Vergleich zum Einsatz eines antibiotischen Leistungsförderers, Oreganopulver und Du-Sacch im Ileum von Broilern feststellen. Im Gegensatz dazu konnten Garcia et al. (2007) und Jamroz et al. (2006) diesen Effekt nicht nachweisen. Eine in der Tendenz dickere Muscularis circularis des Jejunums verzeichneten die Tiere der 150ppm phytogenen Futterzusatz. Eine Zunahme der Muskelschichtdicke kann eine höhere Barriere für das Eindringen unerwünschter Stoffe ins Körperinnere darstellen, benötigt aber dadurch mehr Energie und Protein für die Erhaltung (Kaspar, 2011).

Auf die Anzahl der Becherzellen bezogen zeigte die Gruppe mit 150 ppm Supplementation des phytogenen Mischproduktes im Vergleich zur negativen Kontrollgruppe im Jejunum um 13% weniger Becherzellen. Eine verminderte Anzahl an Becherzellen weist auf eine geringere Besiedlung des Dünndarms mit pathogenen Faktoren hin. Studien zeigen dass Tiere in keimarmer Umgebung eine reduzierte Anzahl an Becherzellen aufweisen (Deplancke und Gaskins 2001). Im Gegensatz zu der vorliegenden Studie konnten Nofrarías et al. (2006) keinen Einfluss eines Pflanzenextraktes auf die Becherzellenanzahl bei Absetzferkeln feststellen.

Da im distalen Ileum kaum Einflüsse bemerkbar waren, kann davon ausgegangen werden, dass der Zusatzstoff eher in den proximalen Darmabschnitten resorbiert wird bzw. wirkt. Dies ist darauf zurückzuführen, dass ätherische Ölen aufgrund ihrer geringen Molekülgröße und Lipophilie rasch aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert werden (Teuscher et al. 2004).

# Schlussfolgerungen

Allgemein kann festgehalten werden, dass bei 10-fach höherer Dosierung des phytogenen Zusatzstoffes keine negativen Auswirkungen auf alle untersuchten morphologischen Parameter im Dünndarm von Broilern zu erwarten sind. Weiters scheinen geschlechtsspezifische Unterschiede vorzuliegen. Die verminderte Anzahl an Becherzellen, sowie das größere Verhältnis von Zottenlänge zur Kryptentiefe weisen auf einen gesünderen Zustand des Darmepithels bei Zusatz von 150 ppm des phytogenen Zusatzes hin. Die Hauptwirkungen scheinen eher in den proximalen Darmabschnitten aufzutreten.

## Literatur

Demir, E., Sarica, S., Özcan, M.A. und Suicmez, M. (2005) The use of natural feed additives as alternative to an antibiotic growth promoter in broiler diets. Archiv für Geflügelkunde. 69: 110-116.

Deplancke, B. und Gaskins, H.R. (2001) Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. The American Journal of Clinical Nutrition. 73(suppl): 1131S-41S.

García, V., Catalá-Gregori, P., Hernández, F., Megías, M.D. und Madrid, J. (2007) Effect of Formic Acid and Plant Extracts on Growth, Nutrient Digestibility, Intestine Mucosa Morphology, and Meat Yield of Broilers. Journal of Applied Poultry Research. 16: 555-562.

Jamroz, D., Wertelecki, T., Houszka, M. und Kamel, C. (2006) Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 90: 255-268.

Kaspar, P. (2011) Energy demand and energy metabolism in the immune system. Proceedings of the Society of Nutrition Physiology. DLG Verlag, Frankfurt: 17-21.

Kim, S.W., Fan, M.Z. und Applegate, T.J. (2008) Nonruminant Nutrition symposium on natural phytobiotics for health of young animals and poultry: Mechanisms and application. Journal of Animal Science. 86: E138-E139.

Kroismayr, A., Sehm, J., Pfaffl, M.W., Schedle, K., Plitzner, C. und Windisch, W. (2008) Effects of avilamycin and essential oils on mRNA expression of apoptotic and inflammatory markers and gut morphology of piglets. Czech Journal of Animal Science, 53, 2008(9): 377- 387.

Manzanilla, E.G., Perez, J.F., Martin, M., Kamel, C., Baucells, F. und Gasa, J. (2004) Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. Journal of Animal Science. 82: 3210-3218.

Nofrarías, M., Manzanilla, E.G., Pujols, J., Gibert, X., Majò, N., Segalés und Gasa, J. (2006) Effects of spray-dried porcrine plasma and plant extracts on intestinal morphology and on leukocyte cell subsets of weaned pigs. Journal of Animal Science. 84: 2735-2742.

Oetting, L.L., Utiyama, C.E., Giani, P.A., Ruiz, U.D. und Miyada, V.S. (2006) Effects of herbal extracts and antimicrobials on apparent digestibility, performance, organs morphometry and intestinal histology of weaning pigs. Revista Brasileira de Zootecnia. 35: 1389-1397.

Sehm, J., Lindermayer, H., Dummer, C., Treutter, D. und Pfaffl, M.W. (2007): The influence of polyphenol rich apple pomace or red-wine pomace diet on the gut morphology in weaning piglets. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 91(7-8): 289-296.

Teuscher, E., Melzig, F. und Lindequist, U. (2004) Biogene Arzneimittel. Ein Lehrbuch der Pharmazeutischen Biologie. 6. Auflage Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart: 245, 394-397.

Windisch, W., Schedle, K., Plitzner, C. und Kroismayr, A. (2008) Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. Journal of Animal Science. 86: E140-E148.

## Autorenanschrift

DI Elke Humer
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11, A-1190 Wien
E-Mail: elke.humer@boku.ac.at

# Effects of a phytogenic feed additive on gut morphology and nutrient digestibility in broilers

**L. Jungbauer[1], K. Wendler[1], K. Männer[2] and J. Zentek[2]**

[1] Delacon Biotechnik, Steyregg, Austria
[2] Freie Universität Berlin, Institute of Animal Nutrition, Germany

## Introduction

Intensive research was done on alternatives to antibiotic growth promoter in poultry nutrition since the European Union decided to ban this subtherapeutical in feed use of antibiotics (Regulation (EC) No 1831/2003). Phytogenic feed additives (PFA) seem to be an adequate alternative to antibiotic growth promoters (AGP) e.g. Kang et al. (2010). PFA show clear potential to promote performance and productivity in poultry fattening (Windisch et al. 2008). Several studies indicated improved feed conversion, most probably due to enhanced nutrient digestion. Increased enzyme activity might improve nutrient breakdown and thus, increase availability of nutrients and minerals (Loh et al. 2008). Herbs and spices are known to increase activity of digestive enzymes (e.g. Platel and Srinivasan 1996). Lee et al. (2003) showed a positive effect of a PFA on amylase and trypsin activity. Recent studies have shown that PFAs can have a positive impact on the gut morphology and thus, increase gut surface and consequently the area for nutrient absorption and enzyme release. Demir et al. (2005) reported significantly reduced crypt depth in the ileum due to inclusion of PFA in diets ($P<0.05$) which might have a positive effect on performance and nutrient digestibility. The phytogenic feed additive BIOSTRONG® 510 is a standardized combination of selected essential oils with herbs and spices, rich in pungent substances, flavonoids, and saponins. This feed additive was developed to improve the performance of broilers and laying hens.

## Material and methods

A total of 288 one day old male Cobb broilers were randomly allotted to 2 treatments each 6 pens of 24 broilers. The broilers were fed a basal diet mainly containing corn, soybean meal and wheat without the phytogenic feed additive (NC) and the basal diet containing BIOSTRONG® *510* (BSG) at the recommended dosage of 150 ppm, respectively.

Biostrong® *510* is a standardized mixture partially micro-encapsulated essential oils of thyme and staranise, dried herbs and spices and saponins.

During the feeding period of 42 days two basal diets for the feeding intervals 1st to 21st day of age (starter diet) and 22nd to 42nd day of age (finisher diet) were formulated to meet or exceed the nutrient requirements recommended by GfE (1999) and by the breeder (Table 1). Chromic oxide (5 g Cr2O3/kg diet) was used as an indicator for the ileal digestibility measurement. Feed and water were available *ad libitum*.

For apparent ileal digestibility measurements of crude protein (XP), crude fat (XL), crude ash (XA), organic matter (OM) and the minerals Ca and P, six broiler per treatment (one per pen) were selected according to the average weight. Birds were stunned and euthanized and digesta samples were taken from the ileum from the Meckel diverticel to 2 cm before *ostium ileocaecale*. Ileal digestibility 2was measured on day 42.

**Table 1**: Diet composition and calculated nutrients in starter and finisher diet

| Ingredients, % | Starter diet (day 1-21) NC/BSG | Finisher diet (22-42) NC/BSG |
|---|---|---|
| Soybean meal (48% CP) | 34.50 | 31.80 |
| Maize | 28.31 | 29.32 |
| Wheat | 24.69 | 24.29 |
| Soy oil | 6.80 | 9.35 |
| Limestone | 1.80 | 1.51 |
| Monocalcium-phosphate | 1.40 | 1.35 |
| Premix | 1.20 | 1.20 |
| Chromium oxide | 0.50 | 0.50 |
| DL-Methionine | 0.30 | 0.29 |
| L-Lysine | 0.25 | 0.14 |
| Carrier/Biostrong® 510 | 0.15 | 0.15 |
| Salt | 0.10 | 0.10 |
| Nutrient | Starter diet (day 1-21) NC/BSG | Finisher diet (22-42) NC/BSG |
| $AME_n$, MJ/kg | 12.59 | 13.29 |
| Crude protein, % | 22.89 | 21.50 |
| Crude fibre, % | 2.39 | 2.32 |
| Total lysine, % | 1.43 | 1.26 |
| Total methionine, % | 0.64 | 0.61 |
| Total met + cys, % | 1.02 | 0.98 |
| Total threonine, % | 0.87 | 0.82 |
| Calcium, % | 1.03 | 0.90 |
| Phosphorus, % | 0.70 | 0.68 |
| Sodium, % | 0.18 | 0.18 |

For histomorphological investigations tissue samples were taken from the middle part of the jejunum from 9 representative broilers per treatment on day 42. After histological preparation 16 intact villus-crypts units were selected by using stereological image software. For each tissue sample villus height was measured from the tip of the villus to the villus-crypt junction. Crypt depth was defined as the depth for the invagination between to villi.

Data were statistically analyzed using the statistical software SAS. After checking the homogeneity of the variances, analysis of variance was performed (proc glm) and means were compared (Tukey test). The significance level was set at $p \leq 0.05$.

# Results and discussion

**Performance** results are given in Table 2. The average initial body weight among all treatments was 39.8 g. During the starter phase the dietary addition of BIOSTRONG® 510 (BSG) increased body weight by 1.8% (+ 15g) and daily weight gain by 1.9% (+ 0.6g). Feed intake was slightly reduced by 1.9% and feed conversion ratio was improved by 2.9%. During the grower phase daily weight gain was 1.9 % (+ 2g) higher for the broilers fed the diet supplemented with BSG. Similar to the starter phase feed intake was reduced through the addition of the PFA by 1.9%. FCR was significantly improved by 3.8% (p=0.01).

Overall the addition of BSG to the basal diet improved final body weight by 51 g (+1.7%), reduced daily feed intake by 2.2 g (-2.1%) and significantly improved feed conversion 3.3% (p=0.02).

**Table 2**: Performance results for starter phase (day 1-21), finisher phase (day 22-42) and overall period (day 1-42) (means ± SD)

| *Starter phase, d 1-21* | **Control** | | **Biostrong** | | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| Body weight, g | 837 | ± 66 | 852 | ± 27 | *0.62* |
| Daily weight gain, g | 32.1 | ± 3.0 | 32.7 | ± 1.3 | *0.74* |
| Daily feed intake, g | 53 | ± 5 | 52 | ± 4 | *0.76* |
| Feed conversion, g/g | 1.40 | ± 0.07 | 1.36 | ± 0.08 | *0.28* |
| *Finisher phase, d 22-42* | | | | | |
| Body weight, g | 2946 | ± 134 | 2997 | ± 172 | *0.58* |
| Daily weight gain, g | 100 | ± 4.9 | 102 | ± 7.1 | 0.64 |
| Daily feed intake, g | 159 | ± 6 | 156 | ± 10 | 0.49 |
| Feed conversion, g/g | 1.58[a] | ± 0.04 | 1.52[b] | ± 0.02 | 0.01 |
| *Overall, d 1-42* | | | | | |
| Body weight, g | 2946 | ± 134 | 2997 | ± 172 | *0.58* |
| Daily eight gain, g | 69.2 | ± 3.2 | 70.4 | ± 4.1 | *0.58* |
| Daily feed intake, g | 106 | ± 4.8 | 104 | ± 6.8 | *0.54* |
| Feed conversion, g/g | 1.53[a] | ± 0.04 | 1.47[b] | ± 0.01 | *0.01* |

[ab] Values with different superscripts within lines differ significantly (p<0.05)

**Ileal digestibility** values are given in Table 3. The dietary addition of BSG improved ileal nutrient digestibility of most nutrients.

On day 42 the ileal digestibility of XP (p<0.01) and Ca (p=0.03) were significantly higher through the addition on BSG. There were no effects observe on organic matter digestibility when added BSG to the diet. Furthermore there were not differences in ileal digestibility on the day 21, 35 and 42 between the nutrients.

The increase in ileal nutrient digestibility might be explained by an increase in the activity of digestive enzymes. Lil et al. (2010) showed in an experiment with the same product that the activity of sucrose was significantly improved by 15% (p<0.05) and maltase activity was slightly increased.

**Table 3**: Ileal nutrient digestibility in broilers on day 42 (means ± SD)

| Nutrients, % | **Control** | | **Biostrong** | | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| Crude ash | 33.4 | ± 4.3 | 36.4 | ± 2.3 | *0.16* |
| Crude protein | 75.3[b] | ± 1.0 | 80.2[a] | ± 2.4 | *<0.01* |
| Crude fat | 93.0 | ± 1.0 | 94.1 | ± 0.9 | *0.08* |
| Organic matter | 71.1 | ± 9.7 | 73.8 | ± 3.0 | *0.53* |
| Calcium | 38.4[b] | ± 1.9 | 41.1[a] | ± 2.2 | *0.03* |
| Phosphorus | 38.3 | ± 2.2 | 40.8 | ± 2.5 | *0.09* |

[ab] Values with different superscripts within lines differ significantly (P<0.05)

**Histomorphological analyses** showed only small difference in villus height. Villus height was slightly increased by 122 µm (+ 8.4%) in birds in the BSG group. Crypt depth tended to be reduced (p=0.062) by 20 µm (- 11.2%) in broilers fed BSG compared with the control. Results are shown in

Figures 1 and 2. The ratio between villus height and crypt depth was in the control group 7.3±0.8 whereas in the BSG group the ratio of 8.8±0.9 was significantly higher (p=0.004).

The crypt can be regarded as the "villi factory" and a large crypt indicates fast tissue turnover, which increases the nutrient requirement for maintenance of the gut wall (Savage et al. 1997). It might be concluded from the reduction in crypt depth in the jejunum that BIOSTRONG® *510* reducesd the turnover rate of the epithelial cells, saving energy which is then be available for performance (growth). This would at least partly explain the improvements seen in body weight gain and feed efficiency.

Furthermore the improvement of ileal nutrient digestibility might be explained through the increased surface of the gut wall. The changes in gut morphology indicate an increased surface area for nutrient absorption and digestive enzymes release.

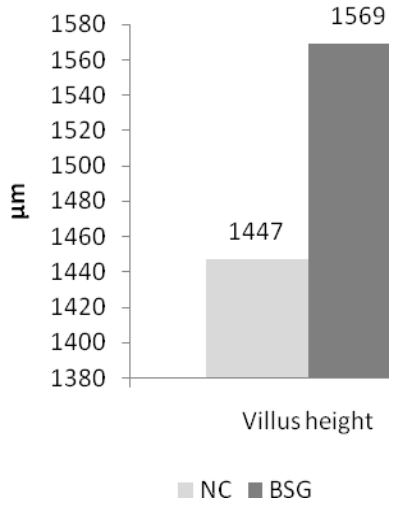



**Figure 1**: Effects of Biostrong® 510 in villus height (µm) in the jejunum of 42 day old broilers (means)

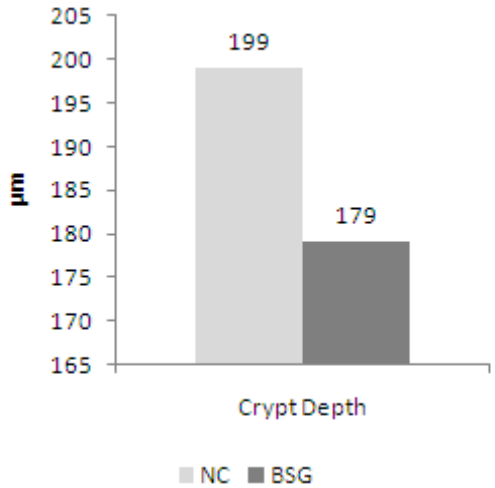



**Figure 2**: Effects of Biostrong® 510 in crypt depth (µm) in the jejunum of 42 day old broilers (means)

# Conclusion

Broilers fed with the phytogenic feed additive BIOSTRONG® *510* showed slightly better growth performances and significantly improved feed conversion ratio. This might be explained by the improved ileal nutrient digestibility of crude fat, crude protein, calcium and phosphorus. The increased nutrient digestibility could result from increased digestive enzyme activity as shown in a previous trial (Lil et al. 2010) and through the positive effects on the jejunal intestinal wall.

## References

Demir,E., S.Sarica, M.A.Oezcan, and M.Suicmez. 2005. The use of natural feed additives as alternative to an antibiotic growth promoter in broiler diets. Arch. Geflugelkd. 69:110-116.

Kang C.W. , Jungbauer L., Mader A. and Jolain S. 2010. Effects of a Phytogenic Feed Additive on Performance and Bioavailability of Nutrients in Broilers. Proceedings European Poultry Conference, Tours 2010

Lee,K.W., H.Everts, H.J.Kappert, M.Frehner, R.Losa, and A.C.Beynen. 2003. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. Br. Poult. Sci. 44:450-457.

Lil K.H., Hsieh H.H., Jungbauer L., Mader A. and Jolain S. 2010. Effects of a Phytogenic Feed Additive on Growth Performance, GI Tract Morphology and Digestive Enzymes in Broilers. Proceedings XIII European Poultry Conference, Tours 2010

Loh,T.C., H.G.Ling, N.T.Thanh, H.L.Foo, M.A.Rajion, and S.I.David. 2008. Effects of feeding phytogenic substances and phytase on growth performance and nutrient digestibility of young broilers. Journal of Applied Animal Research 33:187-192.

Platel,K., andK.Srinivasan. 1996. Influence of dietary spices or their active principles on digestive enzymes of small intestinal mucosa in rats. Int J Food Sci Nutr 47:55-59.

Savage T.F., Zakrzewska E.I., Andreasen J.R.J. 1997. The effects of feeding mannan oligosaccharide supplemented diets to poults on performance and the morphology of the small intestine. Poultry Science 76 , p. 139. Abstract

Windisch,W., K.Schedle, C.Plitzner, and A.Kroismayr. 2008. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. J Anim Sci 86:E140-E148.

## Corresponding author

Leopold Jungbauer
DELACON Biotechnik GmbH
Weissenwolffstr. 14
A-4221 Steyregg, Austria
E-Mail: leopold.jungbauer@delacon.com

# BIOSTRONG®

Sparen Sie bis zu EUR 5,– pro Tonne Futter
durch das **BIO**STRONG® **PERFORM**IZER®-Konzept.

Kontaktieren Sie: michael.binder@delacon.com
**www.delacon.com**

facebook.com/delacon

DELACON
Phytogenic Feed Additives

# Effects of a phytogenic feed additive on reduction of ammonia and odor concentrations in growing-finishing pigs

**M. Veit[1], E. Zentner[2], L. Jungbauer[1] and K.R. Wendler[1]**

[1] Delacon Biotechnik, Steyregg, Austria
[2] AREC Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Austria

## Introduction

Structural changes in agriculture towards fewer farms with higher numbers of animals per farm are causing problems due to ammonia but especially odor emissions. Approval processes for new buildings are often delayed due to conflicts between farmers and neighbors. Most EU countries have admitted to reduce their ammonia emissions. Thus, extensive research is done to identify solutions for ammonia abatement. There are various techniques listed in the so called Best Available Technique – List (BAT), which mainly includes housing systems and techniques for e.g. slurry spreading. Besides ammonia reduction, effects on animal welfare, economics and applicability have to be considered for getting listed as BAT. Feed additives including saponins have been reported to reduce ammonia emissions (Colina et al., 2001; Zentner, 2007). This effect might be explained by the direct binding of ammonia to saponins (Killeen et al., 1998) and/or the inhibition of the bacterial enzyme urease (Nazeer et al., 2002; Yeo and Kim, 1997), which catalyzes the hydrolysis of urea into ammonia and carbon dioxide. In comparing techniques like air cleaners or slurry spreading, PFA´s can reduce the ammonia production/concentration already at animal level, which is increasing animal welfare. Calculations on economics for ammonia reducing techniques reveal that feed additives which increase performance can results in profits instead of costs per unit of ammonia. For these reasons PFA´s might meet the demands for a BAT.

The objective of this study was to investigate the effects of the phytogenic feed additive FRESTA® *F Plus* (essential oils, herbs, spices and saponins) on reduction of ammonia ($NH_3$) and odor concentrations as well as correlations between these factors in growing-finishing pigs.

## Material and methods

A total of 32 three-way hybrids, (Large White x Landrace) x Pietrain, were distributed to two treatment groups by weight and sex. Pigs were housed in two identical barns with two pens each with fully slatted floors for 8 fattening pigs from 30 to 110 kg live weight. Both groups received a basal diet during a 10 day adaption phase. During the experiment, the control group was fed in the basal diet while the treatment group received the basal diet plus 150 ppm of the phytogenic feed additive FRESTA® *F Plus* (Delacon Biotechnik GmbH, Austria) for 94 days. Diets were provided as a grower (day 1-35) and finisher phase (day 36-78). Feed and water were available *ad libitum* during the whole trial period. Feed intake was recorded per group, while weights of animals were recorded individually.

Ammonia and carbon dioxide were measured with two portable devices (Dräger, Germany) at an interval of 10 minutes. Temperature and humidity were measured in the barns at animal level, the attic and outside. The means of 10 minutes were recorded in a Mikromec-multisens-data-logger.

**Table 1**: Calculated nutrients in starter and finisher feed

| | Grower phase | Finisher phase |
|---|---|---|
| Energy (MJ/kg) | 13.20 | 13.10 |
| Crude protein (%) | 17.50 | 16.00 |
| Crude fiber (%) | 3.40 | 3.50 |
| Crude fat (%) | 3.10 | 3.20 |
| Lysin (%) | 1.10 | 1.00 |
| Methionin + Cystein | 0.68 | 0.63 |
| Ca | 0.70 | 0.74 |
| P | 0.44 | 0.44 |
| Na | 0.23 | 0.23 |

Samples for odor measurement were taken 4 times during the trial. Each sample was analyzed by 2 teams composed of 4 subjects each. For quality assurance purposes, the subjects were tested with n-Butanol prior to each measurement, pursuant to DIN EN 13725.

For the evaluation of the odor reducing effect of the additive an olfactometer (Mannebeck, Germany) was used. The odor threshold measurement (determination of the odor substance concentration) was selected as the measurement method. The odor substance concentration of the exhaust air sample to be measured is determined by thinning it out with synthetic air until the odor threshold is reached. In addition, an increasing concentration of a constant, odorless stream of air is mixed with an odor-intensive gas flow that is fed through a flow meter. This mixture is provided to the test subjects through nose masks for evaluation. In order to determine the personal odor threshold, each subject must make a yes/no decision (it smells/it doesn't smell). The results of the odor substance concentration measurements are provided in OU/m³ (odor units per cubic meter), with all corresponding statistical values.

# Results and discussion

Measurements on temperature and humidity proved that same climate conditions were achieved in both barns (Table 2). For feed intake and performance no significant differences were detected.

**Table 2**: Temperature and humidity

| | Temperature Control (°C) | Temperature Treatment (°C) | Humidity Control (%) | Humidity Treatment (%) |
|---|---|---|---|---|
| Average | 22.7 | 22.4 | 53.4 | 51.5 |
| Max | 29.2 | 26.4 | 91.9 | 99.9 |
| Min | 10.6 | 10.0 | 27.1 | 23.5 |

The statistical analyses of ammonia concentrations showed a significant reduction in grower and finisher phase as well as for the whole fattening period by the application of the PFA. The difference was 25% and 36% in the grower and finisher phase, respectively. Reasons for the lower difference in grower phase might the generally low levels of ammonia in control and treatment group reducing the relative difference. For the whole trial a difference of 32% was calculated. The average ammonia concentration in control and treatment group was 11 ppm and 17 ppm $NH_3$, respectively. This reduction level is in line with other results achieved with PFA´s. Results from fattening pigs showed reductions of 38% (Zentner, 2007) and in piglets a reduction of 31.2% was reported (Veit et al., 2010).

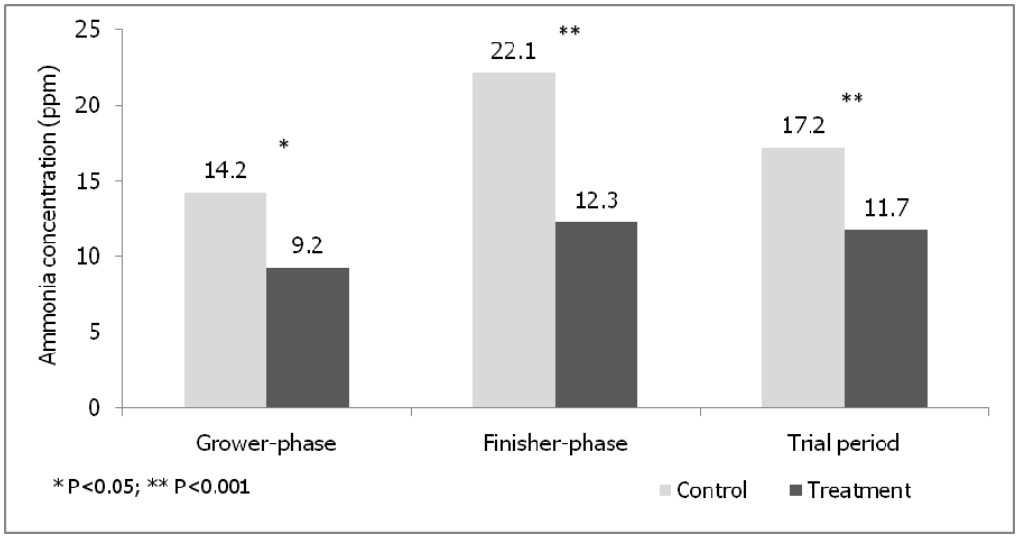



**Figure 1**: Ammonia concentration in grower- and finisher-phase, and for the whole trial period (ppm)

The $CO_2$ levels did not differ between the groups and were in average at a level of 2884 ppm in the control and 3117 ppm in the treatment group.

The olfactometric test for determining the OU/m$^3$ showed in average of all four measurements a reduction of 29% in the treatment group. In Figure 2 the relation between OU/m$^3$ and $NH_3$ level is clearly represented.

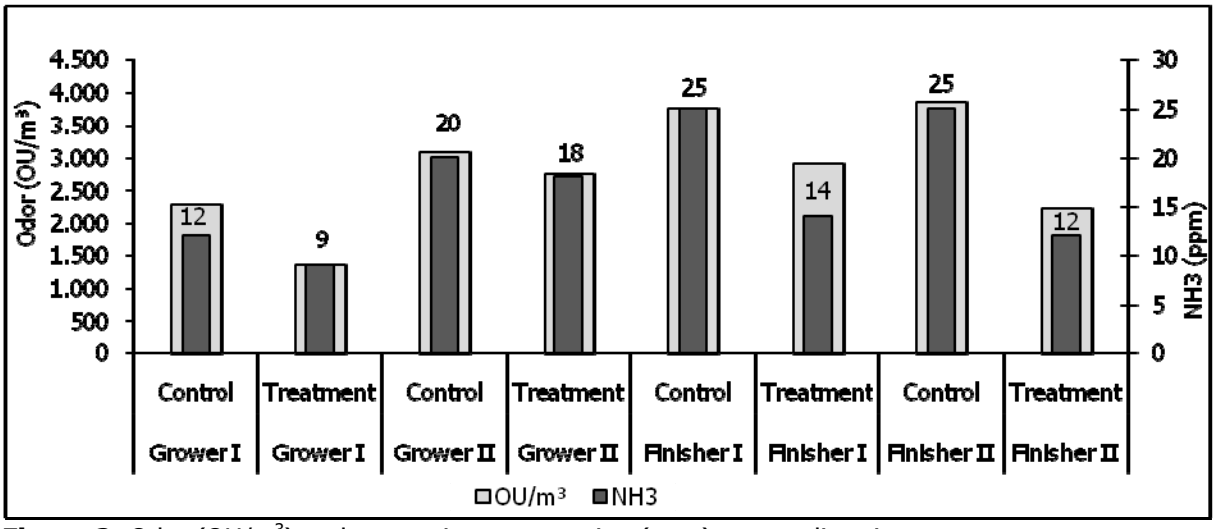



**Figure 2**: Odor (OU/m$^3$) and ammonia concentration (ppm) at sampling time

Temperature and humidity values as well as the zootechnical performance were at the same level in the control and treatment group and thus, did not affect ammonia concentrations and odor.

# Conclusions

Results of the current study show that ammonia concentrations can be substantially reduced by the application of PFA. Thus, PFA might help to meet the guidelines of the IPPC (Integrated Pollution Prevention and Control) directive. The measured reduction in odor shows some potential to improve working conditions in swine production, which is of importance for production sites that have immediate neighbors.

## References

Colina, J. J., A. J. Lewis, P. S. Miller, and R. L. Fischer. (2001): Dietary manipulation to reduce aerial ammonia concentrations in nursery pig facilities. J.Anim.Sci. 79:3096-3103.

Killeen, G. F., C. R. Connolly, G. A. Walsh, C. F. Duffy, D. R. Headon, and R. F. Power. (1998): The effects of dietary supplementation with Yucca schidigera extract or fractions thereof on nitrogen metabolism and gastrointestinal fermentation processes in the rat. J.Sci.Food Agri. 76:91-99.

Nazeer, M. S., T. N. Pasha, S. Abbas, and Z. Ali. (2002). Effect of Yucca Saponin on Urease Activity and Development of Ascites in Broiler Chickens. Int.J.Poult.Sci. 1:174-178.

Veit, M., Mader, A., Cypriano, L., Piccini, I., Gabbi, A. M., and Zanoni, D. (2010): Impact of a phytogenic feed additive on performance and ammonia emission in piglets. 9. Boku-Symposium Tierernährung. Tagungsband - Eiweiss in der modernen Tierernaehrung - Bedarf, Qualitaet, neue (alte) Futtermittel.

Yeo, J. and K. I. Kim. (1997): Effect of feeding diets containing an antibiotic, a probiotic, or yucca extract on growth and intestinal urease activity in broiler chicks. Poult.Sci. 76:381-385.

Zentner, E. (2007): Einsatz von phytogenen Futterzusätzen im Hinblick auf Ammoniakreduktion und tägliche Zunahmen in der Mastschweinehaltung. Bautagung Raumberg-Gumpenstein. Zukunftsorientierte Stallbaulösungen für die Rinder- und Schweinehaltung.

## Corresponding author

DI Martin Veit
R&D Species Manager Ruminants
Delacon Phytogenic Feed Additives
Weissenwolffstr. 14, A-4221 Steyregg
E-mail: martin.veit@delacon.com

# FRESTA® *F*

## Die Nummer 1 in Europa!

Die phytogene Lösung für eine wirtschaftliche Schweineproduktion.

Delacon hat mit dem **FRESTA**® *F* Dossier als erster Hersteller phytogener Futterzusätze in Europa ein Produkt zur Genehmigung als zootechnischer Futterzusatz für die Verbesserung der Leistung abgesetzter Ferkel gemäß der Verordnung (EC) 1831/2003 bei der EU Kommission eingereicht.

Kontaktieren Sie: michael.binder@delacon.com
**www.delacon.com**

facebook.com/delacon

DELACON
Phytogenic Feed Additives

# Einfluss eines phytogenen Futterzusatzes auf die Schlachtkörperausprägung und die sensorischen Eigenschaften von Geflügelfleisch

**Renate Thieme und Christina Lohner**

MICRO-PLUS Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf, Deutschland

## Einleitung

digestarom zählt zu den phytogenen Futteradditiven und wird nach der EG-Verordnung Nr. 1831/2003 des Europäischen Parlaments und des Rates Artikel 6 Abs. 1 b, sensorische Zusatzstoffe, Anhang 1, Pkt.2, b den Aromastoffen zugeordnet. Es ist eine Kombination etherischer Öle, Kräutern, Aromaextrakten, Gewürzen, zugelassenen Hilfsstoffen und Lösungsmitteln bzw. Trägerstoffen.

Neben der Aromawirkung, die anregend auf den Appetit der Tiere und somit auch auf die Futteraufnahme wirkt, stimuliert digestarom die innere Sekretion. Die gesteigerte Sekretion von körpereigenen Verdauungsenzymen optimiert sowohl den Aufschluss und den Abbau der Stoffwechselprodukte als auch die Resorption und die metabolische Umsetzung der zugeführten Futternährstoffe.

Seit mehr als 10 Jahren berücksichtigt MICRO-PLUS Konzentrate GmbH, Stadtoldendorf in den wissenschaftlichen Untersuchungen nicht nur die zootechnischen Leistungsdaten bei dem Einsatz von digestarom in der Ration von Broilern, sondern auch den Einfluss von diesem phytogenen Futterzusatzstoff auf die sensorischen Eigenschaften des Fleisches und auf die Schlachtkörperausprägung.

Diese genannten Faktoren dürfen von einem Futterzusatzstoff, welcher wie oben beschrieben den Aromastoffen zugeordnet ist, positiv beeinflusst werden. Das Aroma des Fleisches hingegen darf laut EG-Verordnung 1831/2003, Artikel 5 (Bedingungen für die Zulassung) nicht verändert werden, damit die Beschaffenheit der tierischen Erzeugnisse den Konsumenten nicht in die Irre führt (Amtsblatt Europäische Union, 2003).

Die im Feldeinsatz gesammelten positiven Erfahrungen von Konsumenten hinsichtlich der sensorischen Eigenschaften und der Schlachtkörperausprägung der mit digestarom gefütterten Tiere wurden in wissenschaftlichen Untersuchungen mehrfach bestätigt.

## Material und Methoden

In zwei Versuchen an der Georg-August-Universität Göttingen aus 2008 wurde geprüft, ob die von Konsumenten beobachteten sensorischen Eigenschaften objektiviert werden können.

In der ersten Arbeit wurden 120 gemischtgeschlechtliche Eintagsküken (Genotyp: Ross 308) zufällig in eine Versuchs- und eine Kontrollgruppe aufgeteilt. Das Futter der Versuchsgruppe A unterschied sich lediglich hinsichtlich der Beimischung von digestarom von dem der Kontrollgruppe B.

Nach einer Mastzeit von 32 Tagen wurden zur Beantwortung der Fragestellung jeweils 50 Tiere beider Gruppen zufällig ausgewählt und geschlachtet. Das Gewicht wurde ermittelt und die Proben beider Gruppen von geschultem Personal sensorisch bewertet.

In dem zweiten Versuch wurden 300 Tiere (Genotyp: Ross 308) in zwei Gruppen aufgeteilt. Die Versuchsgruppe A bekam im Gegensatz zur Kontrollgruppe B digestarom in die Ration.

Die unbeschrifteten Proben der Brust wurden bei 180°C in einem Heißluftdämpfer Typ Lainox Heart auf Grillrosten gegart. Nach dem Erreichen der Kerntemperatur (+70°C) wurden aus jedem Bruststück drei Einzelproben gewonnen. Die geschulten Prüfer ermittelten die sensorischen Eigenschaften.

# Ergebnis

1. Versuch:

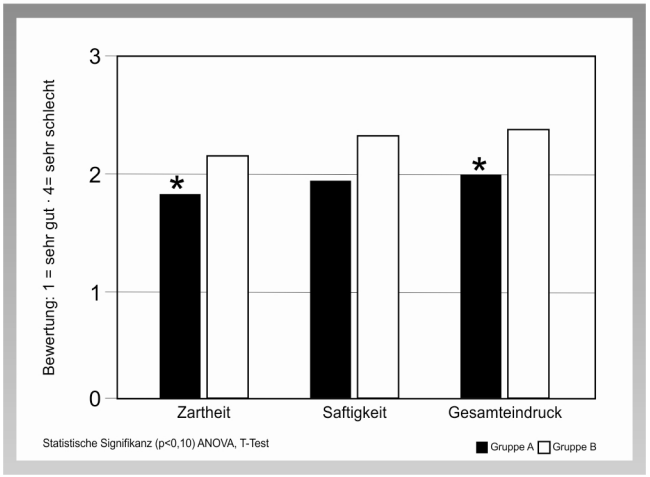
Das Schlachtgewicht der Versuchsgruppe A betrug 1610 g, das Gewicht der Kontrollgruppe B 1562 g. Die Tiere der Versuchsgruppe A wiesen einen größeren Fleischanteil auf als die Tiere der Kontrollgruppe B. Die Zartheit und der Gesamteindruck der Versuchsgruppe A unterschieden sich statistisch gesichert von der Zartheit und dem Gesamteindruck der Kontrollgruppe B (Tabelle 1, Abbildung 1). Das Fleisch der digestarom-Gruppe wurde als saftiger bezeichnet.

Tab. 1: Sensorische Bewertung der Schenkel

| Kriterium | Gruppe A | Gruppe B |
|---|---|---|
| Zartheit | 1,83 [b] | 2,17 [a] |
| Saftigkeit | 1,94 | 2,33 |
| Gesamteindruck | 2,00 [b] | 2,39 [a] |

Bewertung: von 1= sehr gut bis 4= sehr schlecht
Statistische Signifikanz: (p < 0,10) ANOVA · T-Test

Abb. 1
Sensorische Bewertung der Schenkel



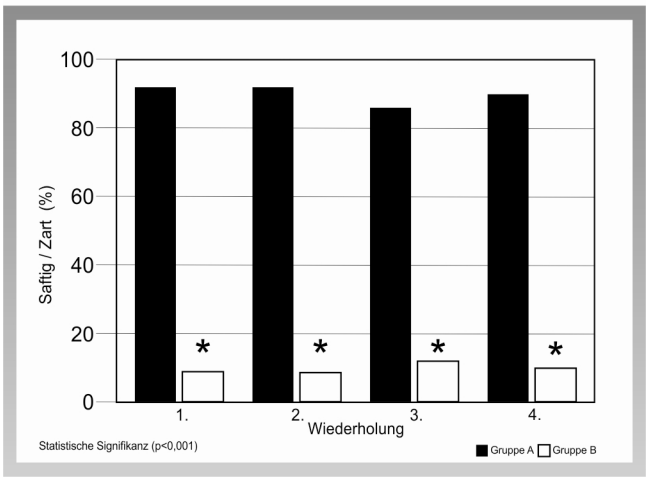

2. Versuch:

Die Probanden beurteilten die sensorischen Eigenschaften des Fleisches der Versuchsgruppe A in vier Wiederholungen als saftiger und zarter als das Fleisch der Kontrollgruppe B. Dieses Ergebnis ist signifikant gesichert (p < 0,001) (Tabelle 2; Abbildung 2). Der Anteil des intramuskulären Fettes im Fleisch der Versuchsgruppe war erhöht.

Tab. 2: Bewertung der sensorischen Eigenschaften des Broilerfleisches (%)

| Anzahl der Wiederholungen | Versuchsgruppe A Saftig / Zart % | Versuchsgruppe B Saftig / Zart % |
|---|---|---|
| 1. | 90,9 | 9,1 |
| 2. | 90,9 | 9,1 |
| 3. | 87,5 | 12,5 |
| 4. | 90,0 | 10,0 |

Abb. 2
Bewertung der sensorischen Eigenschaften von Broilerfleisch




# Diskussion

Der Pro-Kopf-Verbrauch von Geflügelfleisch lag im Jahr 2002 bei 17,5 kg (Weiß et al., 2005) und stieg bis 2008 auf 18,8 kg (ZMP, 2008). Dieses ist auf das gesteigerte Gesundheitsbewusstsein der Konsumenten und der, der heutigen Zeit angepassten Ernährungsweise zurückzuführen.

Das Geflügelfleisch ist reich an hochwertigem Eiweiß, es enthält ein ausgewogenes Fettsäuremuster, zahlreiche Vitamine und hat im Gegensatz von zum Beispiel Schweinefleisch einen geringen Energiegehalt (Tabelle 3).

Tab. 3: Energiegehalt von Geflügel- und Schweinefleisch in kcal

| | Geflügel | Schwein |
|---|---|---|
| Energie in kcal | 166 | 276 |

(Sourci et al., 2008)

Angesichts der steigenden Nachfrage der Konsumenten nach Geflügelfleisch kommt den sensorischen Eigenschaften (Zartheit und Saftigkeit) und der Schlachtkörperqualität eine immer größere Bedeutung zu. Die Verbraucher erwarten mageres, aber dennoch saftiges und zartes Fleisch. Da der Anteil des intramuskulären Fettes einen großen Einfluss auf die Genussqualitäten Saftigkeit und Zartheit hat, ist es möglich, diese Verbraucherwünsche durch die Verschiebung der Fettanteile hin zu einem höheren Anteil des intramuskulären Fettes zu erfüllen.

Vor diesem Hintergrund wurden die Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses von digestarom auf die sensorischen Eigenschaften und die Schlachtkörperqualität von Geflügel intensiviert. Inzwischen liegen in beiden Bereichen verschiedene Studien vor.

Die Ergebnisse aus einem Institutsversuch der Bundesanstalt für Fleischforschung in Kulmbach (Branscheid et al., 1998) zeigten schon 1998, dass der Einsatz von digestarom in der Broilermast nicht nur zu einer Erhöhung des Edelfleischanteiles (Steigerung des Brustfleisches um 7% und Steigerung des Schenkelfleisches um 22%), sondern auch zu einer Veränderung des Fettanteiles führte (Abbildung 3).

Das Abdominalfett wurde durch den Einsatz von digestarom in der Ration um 28% reduziert. Der Anteil des intramuskulären Fettes hingegen erhöhte sich, so dass es bei den geschmackstragenden Komponenten innerhalb der Fleischanteile zu einer günstigen Verschiebung in der digestarom-Gruppe kam.

Die von der Bundesanstalt für Fleischforschung in Kulmbach 1998 erzielten Resultate wurden von demselben Institut in einem ähnlichen Versuch in 2002 bestätigt (Branscheid, 2002). Der Einsatz von digestarom in der Ration verbesserte erneut den Anteil der Schenkel signifikant ($p < 0,01$) und den Anteil des Brustfleisches tendenziell.

Die bereits beschriebenen Ergebnisse wurden von der Universität in Warschau experimentell bestätigt (Koreleski et al., 2005). Die mit digestarom gefütterten Tiere wiesen einen höheren Anteil des Brustfleisches und eine reduzierte Abdominalfettauflage auf.

In drei weiteren Mastversuchen wurde der Einfluss phytogener Zusätze auf den Schlachtkörperwert geprüft (Ristic et al., 2005). digestarom hatte einen signifikanten Einfluss ($p \leq 0,05$) auf das Gewicht der wertvollen Teilstücke und reduzierte in dieser Untersuchung den Anteil des Abdominalfettes um 1 %.

Die Beurteilung des Schlachtkörpers und der sensorischen Eigenschaften von Geflügelfleisch durch die Warschauer University of Agriculture (Niemec et al, 2006) bestätigten ein Jahr später erneut diese Ergebnisse. Die mit digestarom gefütterten Tiere wiesen im Gegensatz zur Kontrollgruppe einen erhöhten Anteil an wertvollen Fleischstücken auf.

Der Artikel „Dietary supplemenation with plant extracts, xantophylls and synthetic antioxidants: Effect on fatty acids profile and oxidative stability of frozen stored chicken breast meat" (Koreleski und Swiatkiewicz, 2007), veröffentlicht im Journal of Animal and Feed Sciences, belegte die Ergebnisse der bisherigen Studien. In diesem Versuch wurden Masthähnchen 20 Tage lang mit einer Grundration aus Mais, Sojamehl, Rapsöl und Fischfett gefüttert. Diese Grundration wurde mit verschiedenen Zusätzen, zum Beispiel mit Thymian ergänzt. Am 42. Tag wurden acht Tiere geschlachtet und die rechte Brust ohne Haut sechs Monate bei – 20°C tiefgefroren. In dieser Studie sollte unter anderem der Einfluss der Futterzusätze auf die Saftigkeit und Zartheit und damit auf den Geschmack untersucht werden. Die Autoren belegten, dass Thymianextrakt, welches unter anderem auch in digestarom verwendet wird, die Saftigkeit und Zartheit auch nach sechs Monaten im Gefrierschrank positiv beeinflusst. Die Verfeinerung des Geschmackes ist statistisch gesichert (Tabelle 4). Auch in dieser wissenschaftlichen Untersuchung hatten die pflanzlichen Zusätze keinen Einfluss auf das Aroma des verarbeiteten Fleisches.

Auch Untersuchungen aus Indien (Haldar, S. und Ghosh, T., 2008) bestätigen die seit 1998 wissenschaftlich belegte Verbesserung der Schlachtkörperausprägung und der sensorischen Eigenschaften von Geflügel, die digestarom mit der Grundration erhielten, mit einer statistischen Signifikanz ($p < 0,01$).

Diese angeführten wissenschaftlichen Untersuchungen belegen wiederholt, dass der Einsatz von digestarom in den Standardrationen von Broilern verschiedener Genotypen und unterschiedlichen Haltungsbedingungen den Anteil des intramuskulären Fettes signifikant erhöht. Dies führt infolge des-

sen zu einer positiven Veränderung der sensorischen Eigenschaften. Die Endprodukte wiesen keine Verfettung auf und die Verbraucherakzeptanz wurde erhöht.

Tab. 4 (modifiziert nach Koreleski und Swaitkiewicz, 2003):
Die sensorische Wirkung einer Grundration im Vergleich zu der Wirkung der Ration der Versuchsgruppe

| | Geschmack | Zartheit | Saftigkeit |
|---|---|---|---|
| Kontrollgruppe | 4,42 [bc] | 4,47 | 4,42 |
| Versuchsgruppe mit Thymianextrakt (560 mg) | 4,52 [c] | 4,56 | 4,62 |

($p \leq 0,05$)

Zudem konnte ein signifikant positiver Einfluss des Produktes auf die Ausprägung der wertvollen Teilstücke Brust und Schenkel nachgewiesen werden.

digestarom verbessert nicht nur die zootechnischen Leistungsparameter und beeinflusst damit das Kosten-Nutzen-Verhältnis positiv. Das Produkt hat zudem sowohl einen signifikanten Einfluss auf die sensorischen Eigenschaften als auch auf die Schlachtkörperzusammensetzung und die Fleischqualität.

Dieser durch digestarom erzielten und zuvor beschriebenen Effekte auf die Schlachtkörperausprägung und die sensorischen Eigenschaften sind auch bei anderen Tierarten beobachtet und wissenschaftlich untersucht worden.

## Literatur

Amtsblatt Europäische Union über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung, September 2003, Artikel 5, Bedingungen für die Zulassung, L 268/29

Branscheid et al, 1998, Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, Auswirkungen auf die Schlachtkörperqualität?, DGS-Magazin, Heft 23/1998

Branscheid, 2002, Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach, Einsatz von Kräutermischungen auf die Mastleistung von Hähnchen

Koreleski, Prof. Dr. hab et al., 2005, Unia Sp. Z o.o. ul. Poland, The efficacy of APC and digestarom feed additives as alternatives for antibiotics in broiler chickens nutrition

Niemec, Jan et al., 2006, Warsaw University of Agriculture, Department of Poultry Breeding, Poland, Effect of the selected replacers of antibiotic growth stimulators on the results of rearing of broiler chickens

Haldar, S. und Ghosh, T., 2008, West Bengal University of Animal & Fishery Science, Dep. of Animal Nutrition, Kolkata Indian, Effect of Digestarom 1317 Poultry Premium on zoo technical performance and carcass composition in broilers

Ristic, M; Damme, K.; Freudenreich, P.; 2005, Einfluss phytogener Futterzusatzstoffe auf die Qualität von Geflügelfleisch, technologija mesa 46 (2005) 1 – 2, 51 - 55

Source, Fachmann, Kraut, 2008, Die Zusammensetzung der Lebensmittelnährwerttabellen, 7. Revidierte Auflage

Zentrale Markt- und Preisberichtberichtstelle GmbH (ZMP), 2008

Weiß, J. Pabst, W., Strack, K. E., Granz, S., 2005, Tierproduktion, Parey-Verlag Stuttgart

## Autorenanschrift

MICRO-Plus Konzentrate GmbH
Am Güterbahnhof 7a
D-37627 Stadtoldendorf
E-Mail: christina.lohner@micro-plus.de

digestarom®

RevestArom®

NeoSweet®

micro-plus

KONZENTRATE GMBH

innovativ
kompetent
richtungweisend

innovative
competent
trend-setting

MADE IN GERMANY

gegründet 1984 established

FAMIqs

ISO 9001 : 2008

ABCERT.

www.micro-plus.de
info@micro-plus.de

# Einfluss eines Lignozellulosezusatzes auf die Mast- und Schlachtleistung bei Schweinen

**Michael Bernscherer, Christiane Mair und Karl Schedle**

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

## Einleitung

In der Schweinefütterung kann sich eine adäquate Versorgung mit Nahrungsfasern günstig auf die Gesunderhaltung des Verdauungsapparates auswirken. Aktuelle Studien bestätigen die positiven Einflüsse schwerverdaulicher ligninreicher Faserzusätze auf die Darmgesundheit und zootechnischen Parameter bei Nutztieren (Schedle et al., 2008a, Dusel et al., 2007, Gidenne et al., 2004). In der praktischen Schweinemast werden Futtermittel mit hohen Faseranteilen nur begrenzt eingesetzt, weil diese Komponenten die Energie- und Proteinkonzentration verdünnen. Einen deutlich höheren Fasergehalt als beispielsweise Weizenkleie oder Trockenschnitzel weisen die aus Holz hergestellten Lignozelluloseprodukte auf. Durch diese Faserkonzentrate kann der Fasergehalt im Futter trotz einer niedrigen Beimischrate (1-1,5 %) erhöht werden. Gleichzeitig ergeben sich durch die geringe Dosierung kaum Einflüsse auf die Nährstoffkonzentration des Futters (Schedle et al., 2011).

In der vorliegenden Studie sollte überprüft werden, in wieweit ein Zusatz von Lignozellulose in einem praxisüblichen Schweinemastfutter einen Einfluss auf die Mast- und Schlachtleistung der Tiere hat.

## Material und Methoden

Der Fütterungsversuch wurde in einem Mastabteil der österreichischen Schweineprüfanstalt in Streitdorf (Niederösterreich) durchgeführt. Es standen 8 konventionelle Mastbuchten mit voll perforiertem Boden zur Verfügung. Die Mastbuchten waren mit Fütterungsautomaten ausgestattet, über die der tägliche Futterverzehr tierindividuell erfasst werden konnte. Die Trinkwasserversorgung erfolgte über Tränkenippel.

Für den Fütterungsversuch wurden 40 weibliche Mastschweine (Dreirassenkreuzung, ÖHYB) mit einem durchschnittlichen Anfangsgewicht von 31,6 ± 0,3 kg verwendet. Die Tiere wurden in Gruppen zu je fünf Tieren auf die verfügbaren Buchten aufgeteilt. Die Zuteilung der Schweine erfolgte unter möglichst gleichmäßiger Verteilung der Lebendmasse und der genetischen Herkunft. Jeweils 20 Tiere (4 Buchten) erhielten eine der folgenden Futterrationen:

1. Kontrollgruppe: Basisration ohne Faserzusatz
2. Versuchsgruppe: Basisration mit 1,5 % Lignozellulose

Bis zu einer Lebendmasse von durchschnittlich 76,1 ± 0,6 kg erhielten die Tiere eine Vormastration. Anschließend wurden die Schweine bis zur Schlachtung mit einer Endmastration gefüttert. Die Basisration (Tabelle 1) bestand hauptsächlich aus Mais, Weizen, Gerste und Sojaextraktionsschrot sowie einem Mineralstoff- und Vitaminmix. Das Futter wurde in beiden Mastabschnitten in geschroteter Form *ad libitum* angeboten. Die Soll-Nährstoffgehalte der Futtermischungen waren nach den Empfehlungen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie (GfE, 2006) ausgerichtet. Um die Versuchsmischungen isonitrogen und iso-kalorisch zu halten, wurden die Futterrationen der Kontroll- bzw. der Versuchsgruppe

auf gleiche Energie- und Proteingehalte bzw. auf gleiche Gehalte an präcaecal verdaulichen (pcv) Aminosäuren eingestellt.

**Tabelle 1**: Sollnährstoffgehalte der Basisration bzw. Versuchsmischung

| | Vormastrationen | Endmastrationen |
|---|---|---|
| ME, MJ/kg | 13,30 | 13,30 |
| Rohprotein, % | 16,30 | 14,00 |
| pcv Lysin, % | 0,93 | 0,72 |
| pcv Methionin, % | 0,30 | 0,21 |
| pcv Threonin, % | 0,65 | 0,49 |
| pcv Tryptophan, % | 0,18 | 0,13 |
| Futterkalk, % | 0,65 | 0,56 |
| verdaulicher Phospor, % | 0,24 | 0,20 |
| Viehsalz, % | 0,15 | 0,15 |

Für die Datenerhebung zur Ermittlung der Mastleistungsparameter wurden die Tiere wöchentlich gewogen. Mit einem durchschnittlichen Lebendgewicht von 116,9 ± 0,3 kg wurden die Versuchstiere in der betriebseigenen Schlachtstätte der Schweineprüfanstalt unter standardisierten Bedingungen geschlachtet und die Schlachtleistungsparameter erhoben.

Die erhobenen Daten der Studie wurden mit dem Statistical Analysis Software System Paket (SAS, Version 9.2) ausgewertet. Das bevorzugte Signifikanzniveau betrug $\alpha$ = 5 %. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt mit den LS Means.

# Ergebnisse

Der Fütterungsversuch verlief über den gesamten Zeitraum ohne nennenswerte Komplikationen. Aufgrund von Problemen mit dem Bewegungsapparat mussten insgesamt 2 Schweine (ein Schwein aus der Kontroll- und ein Schwein aus der Versuchsgruppe) vorzeitig aus dem Versuch genommen werden. Ein Zusammenhang mit der Fütterung kann ausgeschlossen werden.

Bei den im Anschluss angeführten Mastleistungsparametern der Vormastphase konnten keine statistisch abgesicherten Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen ermittelt werden. Sowohl in der Vor- als auch in der Endmast erreichten die Schweine mit dem Lignozellulosezusatz im Futter nummerisch höhere Tageszunahmen als die Kontrolltiere. Während der Vormastphase war bei den Schweinen der Lignozellulosegruppe im Durchschnitt ein täglicher Lebendmassezuwachs von 834 g festzustellen. Im Vergleich dazu weisen die Schweine der Kontrollgruppe tägliche Zunahmen von 812 g auf. Die Tiere mit dem Faserzusatz im Futter erreichten somit durchschnittlich um 2,5 % höhere Tageszunahmen als die Schweine der Kontrollgruppe.

Im Parameter „Tägliche Futteraufnahme" konnte bei den Schweinen der Versuchsgruppe ein Wert von 1,90 kg erhoben werden. Die Schweine der Kontrollgruppe nahmen während der Vormastperiode durchschnittlich 1,84 kg Futter pro Tier und Tag auf.

Die Ergebnisse der Futterverwertung zeigen nur sehr geringe Differenzen zwischen den Vergleichsgruppen. Bei den Schweinen mit dem faserreichen Futterzusatz waren rund 2,27 kg und bei den Tieren der Kontrollgruppen rund 2,28 kg Futter pro kg Lebendmassezuwachs notwendig. Eine grafische

Gegenüberstellung der erhobenen Mastleistungsparameter der Vergleichsgruppen in der Vormastphase erfolgt in Abbildung 1.

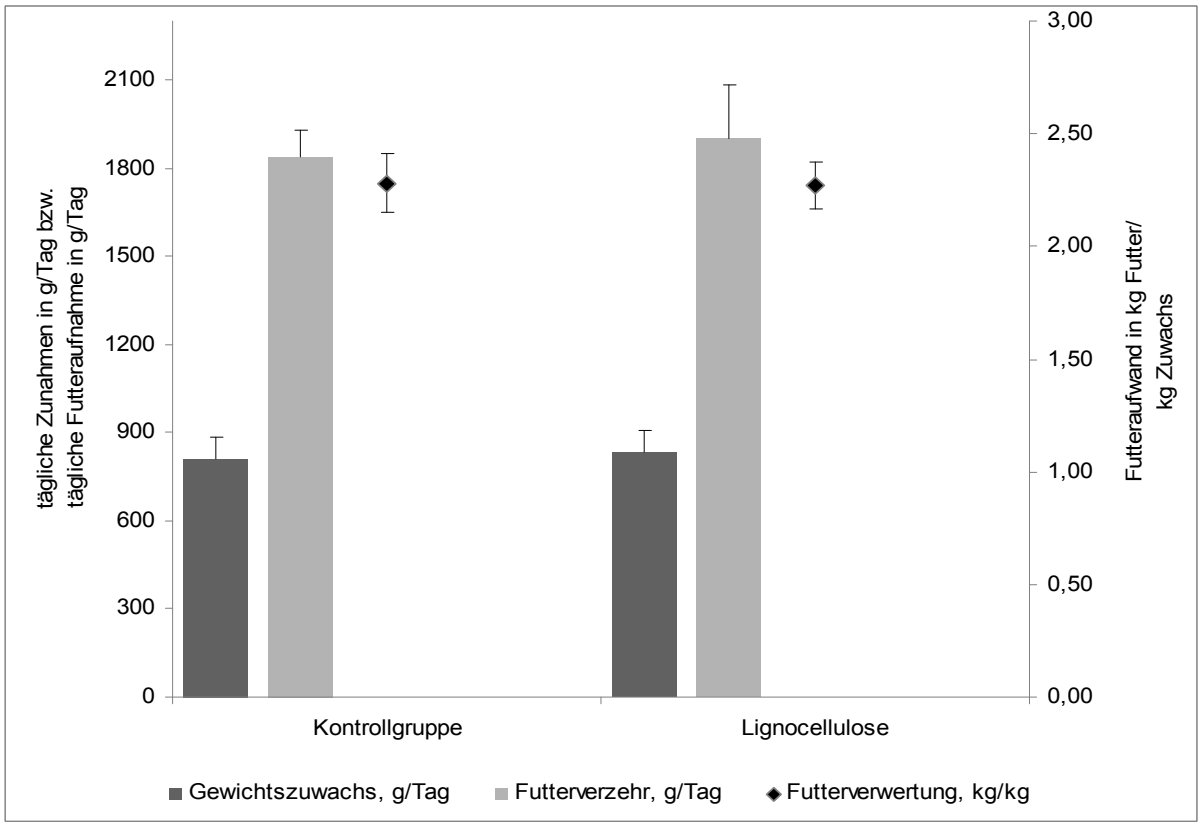



**Abbildung 1**: Mastleistungsdaten in der Vormastperiode

Bei Betrachtung der Mastleistungsparameter in der Endmast konnten ebenfalls keine statistisch abgesicherten Unterschiede zwischen der Kontroll- bzw. Versuchsgruppe gefunden werden. Tendenzielle Unterschiede ($p<0,1$) zeigten sich bei der Futterverwertung in der Endmastphase.

Die Schweine der Kontrollgruppe erreichten in der Endmastperiode durchschnittlich tägliche Zunahmen von 771 g. Bei den Tieren mit dem faserreichen Futterzusatz konnte eine Zuwachsleistung von 817 g pro Tag beobachtet werden. Der Unterschied in der Endmastphase von 46 g oder rund 6 % bei den Tageszunahmen war statistisch nicht abzusichern.

Im Parameter „Tägliche Futteraufnahme" waren nur geringfügige Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen zu beobachten. Im Durchschnitt nahmen die Schweine der Kontrollgruppe 2,38 kg Futter und die Schweine der Lignozellulosegruppe 2,39 kg Futter täglich auf.

Eine tendenziell bessere Futterverwertung ($p<0,1$) zeigten die Schweine der Lignozellulosegruppe. Diese Tiere benötigten für einen Körpermassezuwachs von einem Kilogramm durchschnittlich 2,93 kg Futter in der Endmast. Hingegen war bei der Kontrollgruppe eine Futtermenge von 3,09 kg notwendig. In Abbildung 2 werden die oben beschriebenen Ergebnisse grafisch dargestellt.

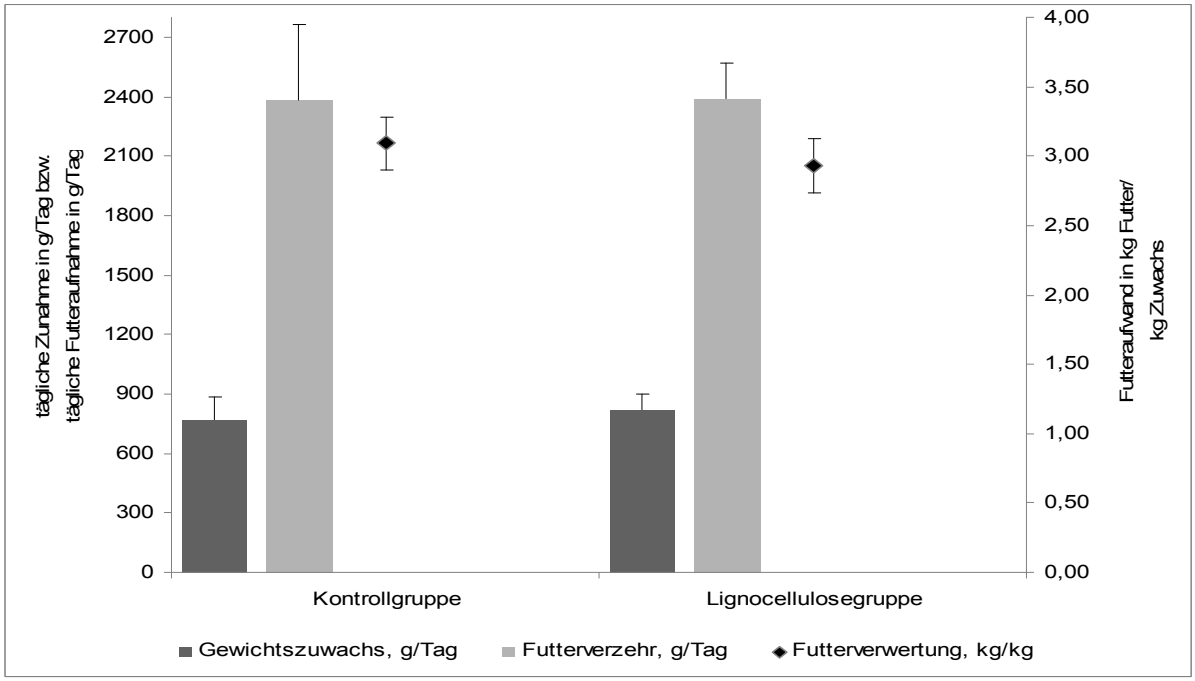



**Abbildung 2**: Mastleistungsdaten in der Endmast

Bei Betrachtung der statistischen Ergebnisse zur Gesamtmastphase zeigte sich in keinem der untersuchten Mastleistungsparameter ein signifikanter bzw. tendenzieller Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen.

Im Rahmen dieser Studie wurden neben den zootechnischen Parametern auch die Schlachtleistungsparameter Muskelfleischanteil, Rückenspeckdicke, Karreefläche, Anteil wertvoller Teilstücke, Leitfähigkeitsmessungen im Rückenmuskel und Schinken, pH-Wert Messungen im Rückenmuskel und Schinken, intramuskulärer Fettgehalt, Fleischhelligkeit, Tropfsaftverlust sowie das Fleisch/Fett-Verhältnis erhoben. Das Fleisch/Fett-Verhältnis zeigte in der Kontrollgruppe im Durchschnitt einen um 11 % höheren Wert als in der Versuchsgruppe mit dem Lignozellulosezusatz. Der Unterschied konnte mit einer statistischen Tendenz ($p<0,1$) abgesichert werden.

# Diskussion

Statistisch signifikante Effekte durch den faserreichen Futterzusatz konnten im Rahmen der vorliegenden Studie nicht beobachtet werden. Tendenzielle Effekte durch die Lignozellulosesupplementierung im Futter zeigten sich bei der Mastleistung im Parameter „Futterverwertung" in der Endmastperiode und beim Schlachtleistungsparameter „Fleisch/Fett-Verhältnis".

Die Schweine mit dem Lignozellulosezusatz erreichten sowohl in der Vor- als auch in der Endmastperiode nummerisch höhere Tageszunahmen als die Tiere der Kontrollgruppe. Abgesicherte Unterschiede bei der Futteraufnahme in der Vor- und Endmast zwischen den Vergleichsgruppen wurden nicht beobachtet. Aufgrund der Tatsache, dass die Tiere der Lignozellulosegruppe in beiden Mastabschnitten geringfügig mehr Futter aufgenommen haben, lassen sich die höheren Tageszunahmen zumindest teilweise erklären. Eine hochsignifikante Korrelation ($r = 0,808$; $p<0,0001$) zwischen Futteraufnahme und Tageszunahmen konnte nachgewiesen werden.

Nach den Angaben der unterschiedlichen Hersteller hat Lignozellulose eine deutlich höhere Wasserhaltekapazität als andere Rohfaserträger. Die Tiere wurden bei der wöchentlichen Gewichtserhebung nicht nüchtern gewogen. Eine Lignozellulosesupplementierung zum Futter bei Aufzuchtferkel bewirkte in einer Studie von Große Liesner et al. (2009) einen deutlichen Anstieg des Gewichtes des Mageninhaltes. Bei der Bindung des Wassers im Magen durch den Faserzusatz wäre zu erwarten, dass der Mageninhalt einen höheren Wassergehalt aufweist. Die Trockensubstanzgehalte der Mageninhalte wurden in der genannten Untersuchung durch die Lignozellulose allerdings nicht gerichtet beeinflusst. In der vorliegenden Studie waren jedoch keine Unterschiede bei den Schlachtverlusten zwischen den Versuchsgruppen zu verzeichnen. Eine Vergrößerung des Gastrointestinaltraktes und eine damit verbundene Erhöhung der Lebendmasse, kann somit ausgeschlossen werden.

In der Endmastphase konnte eine um rund 5 % verbesserte Futterverwertung ($p<0,1$) durch die Lignozellulosesupplementation beobachtet werden. Andere Ergebnisse zeigte die Studie von Schedle et al. (2008a) bei Ferkeln. Die Autoren setzten aber im Vergleich zur vorliegenden Studie höhere Konzentrationen an Faser ein. Bei der genannten Studie wurden die Auswirkungen einer Faserzulage in der für Verdauungsprobleme besonders anfälligen Absetzphase und der anschließenden Aufzuchtphase untersucht. Dabei zeigten sich positive Auswirkungen auf die Gesunderhaltung des Verdauungstraktes und es konnten unter anderem signifikante Unterschiede bei den zootechnischen Leistungen ermittelt werden.

Hinsichtlich des Schlachtleistungsparameters „Fleisch/Fett-Verhältnis" lässt sich in der vorliegenden Studie eine tendenziell stärkere Verfettung der Schweine der Lignozellulosegruppe erkennen. Auch die Rückenspeckdicke der Tiere mit dem faserreichen Futterzusatz liegt im Durchschnitt nummerisch über dem Wert der Kontrollgruppe. Es bleibt jedoch offen, warum die Schweine der Lignozellulosegruppe die Tendenz zu einer stärkeren Fettauflage zeigten. Ein Erklärungsansatz könnte sein, dass die geringfügig höhere Futter- und somit Nährstoffaufnahme zu einer stärkeren Verfettung geführt hat. Möglicherweise hat der faserreiche Futterzusatz aber auch Veränderungen in der Darmmorphologie bewirkt (Schedle et al, 2008b). Ein erhöhtes Resorptionsvermögen der Darmzotten könnte auch zu einer verbesserten Nährstoff- und Energieversorgung geführt haben (Pluske et al., 1997).

## Literatur

Dusel, G., Trautwein, J., und Vikari, A. (2007) Einfluss von Vitacel® Rohfaserkonzentrat auf zootechnische Parameter, den Gesundheitszustand und die Entwicklung des Gastrointestinaltraktes beim Kalb. 6. BOKU-Symposium Tierernährung. Universität für Bodenkultur, Wien. 122-129.

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

Gidenne, T., Mirabito, L., Jehl, N., Perez, J.-M., Arveux, P., Bourdillon, A., Briens, C., und Corrent, E.(2004) Impact of replacing starch by digestible fibre, at two levels of lignocelluloses, on digestion, growth and digestive health of the rabbit. Animal Science 78 (3): 389-398.

Grosse Liesner, V., Taube, V., Leonhard-Marek, A., Beineke, A., und Kamphues, J. (2009) Integrity of gastric mucosa in reared piglets – effects of physical form of diets (meal/pellets), pre-processing grinding (coarse/fine) and addition of lignocellulose (0/2,5 %). Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. 93 (3): 373-380.

Pluske, J.R., Hampson, D.J., Williams, I.H. (1997) Factors influencing the strukture and funktion of the small intestine in the weaned pig: A review. Livestock Production Science 51: 214-236.

Schedle, K., Trunk, V., und Leitgeb, R. (2011) Effects of lignin rich dietary fibre on zootechnical performance, carcass characteristics as well as dry matter and $NH_3$ content in excrements of broiler chicks. 65. Tagung: Berichte der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. 15.-17.03.2011, Göttingen: 133.

Schedle, K., Plitzner, C., Ettle, T., Zhao, L., Dorning, K.J., Windisch, W. (2008a) Effects of insoluble dietary fibre differing in lignin on performance, gut microbiology and digestibility in weanling piglets. Archives of Animal Nutrition 62 (2): 141-151.

Schedle, K., Pfaffl, M.W., Plitzner, C., Meyer, H.H.D., Windisch, W. (2008b) Effect of insoluble fibre on intestinal morphology and mRNA expression pattern of inflammatory, cell cycle and growth marker genes in a piglet model. Archives of Animal Nutrition 62 (6): 427-438.

## Autorenanschrift

Michael Bernscherer
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11, A-1190 Wien
E-Mail: michael.bernscherer@boku.ac.at

# Effect of xylanase and beta glucanase supplementation of the diet on the ileal and postileal digestibility of nutrients in growing pigs

**J. Tossenberger[1], J. Tenke[1], A. Horák[1], A. Tischler[1] and D. Feuerstein[2]**

[1] Kaposvár University, Dept. of Animal Nutrition, H-7400 Kaposvár, POB 16, Hungary
[2] BASF SE, 67056 Ludwigshafen, Germany

## Introduction and objectives

In Hungary the most prevalent diets used in swine feeding are based on soybean and corn. Nowadays, however, corn is not only grown in large quantities for feeding purposes, as substantial volumes are also consumed by the bioethanol industry. Besides affecting the availability of corn for livestock production this can also influence its price. Another factor having a major impact on corn yields is the extreme arid weather that is usually less damaging for winter cereals, provided there had been sufficient winter precipitation. All of this means that at the northern extremity of the corn belt – and thus in Hungary as well – cereals are expected to gain importance in the feeding of farm animals. Cereals, however, can have rather high non-starch polysaccharide (NSP) levels, which may be detrimental for the digestibility of nutrients, and when used at high rates can also impair livestock performance. This is particularly important in the case of cereals with high arabinoxylan and beta-glucan levels (wheat, rye, triticale, barley). The cause of the reduced performance is that pigs do not produce sufficient amounts of the enzymes needed to digest these NSP substances (Gdala et al., 1997; Mézes, 2007). In consequence the bulk of dietary NSP remains indigestible for the animal, at the same time changing the viscosity of the digesta and reducing the digesta transit time, which together also reduces the digestibility of the other nutrients (Bedford, 2000). These unfavourable effects can be alleviated by the use of NSP digesting enzymes, which by now are produced industrially.

Our trial series is aimed at determining how the xylanase and beta-glucanase supplementation of diets (Natugrain® TS) influences the ileal, postileal and total tract digestibility of nutrients in growing pigs.

## Materials and methods

The trial was conducted with 6 canulated hybrid growing barrows per treatment in two replicates (12 animals / treatment), with an initial live weight of 40.2 ±5.2 kg. Before starting the trial the animals were fitted with PVTC-canula. The surgical operations were performed in accordance with Van Leeuwen et al. (1991). Basal diets were formulated on a wheat-barley-rye-soybean basis taking into account the nutrient recommendations of AminoDat2.0 (2001). The experiments were performed with 2 dietary treatments. The basal diet without enzyme supplementation (treatment 1) was serve as negative control and was compared to the same basal diet supplemented with Natugrain® TS at a level of 560 TXU/kg and 250 TGU/kg (treatment 2). The coarse meal diets were given to the experimental animals twice daily, in rations of the energy maintenance requirement (450 KJ MEs/ $kg^{0.75}$/d) x 2.6. The composition and nutrient content of the basal diets is presented in Table 1.

The experiment was consisted of a 9 days adaptation 5 days faeces and 3 day long (3x12 hours) digesta collection period. The daily rations of the animals were weighed with gram precision. The volume of feed eventually not consumed was also weighed with gram precision. Faeces produced were collected two times daily (digesta continually), weighed with gram precision and stored at -18 °C until

further processing. At the end of the trial the entire quantity of faeces and digesta was homogenized and 30 % of the total quantity was carefully lyophylised, ground and prepared for laboratory analysis.

**Table 1**: Composition and calculated nutrient content of the basal diets (g/kg)

| **Ingredients** | | **Nutrient content** | |
|---|---|---|---|
| Wheat | 400.0 | Dry matter | 886,9 |
| Barley | 92.2 | MEs* (MJ/kg) | 13.2 |
| Rye | 180.0 | Crude protein | 169,2 |
| Wheat bran | 60.0 | Crude fat | 17,9 |
| Soybean meal (extracted) | 122.0 | Crude fiber | 66,9 |
| Sunflower meal (extracted) | 55.0 | Crude ash | 63,8 |
| Soybean hulls | 60.0 | N-free extract | 569,1 |
| Limestone | 11.2 | NDF | 188,1 |
| MCP | 4.2 | ADF | 86,1 |
| Salt | 5.0 | Lysine* | 9.5 |
| Lysine-HCl | 3.2 | M+C* | 6.4 |
| Dl-methionine | 0.9 | Threonine* | 6.8 |
| L-threonine | 1.3 | Tryptophan* | 2.0 |
| Premix | 5.0 | Ca | 6.3 |
| **Total** | **1000.0** | P | 5.7 |

*: calculated value

The nutrient content (dry matter, gross energy, crude protein, crude fat, crude fiber, ADF, NDF, crude ash) of feed, digesta and faeces samples (+ calcium and phosphorus content of feed samples) were determined in accordance with the provisions of AOAC (1989). The xylanase activity of the feed samples were determined by viscosimetric assay (CRL Feed additives - FAD-2007-0044) in the Competence Center Analytics of BASF SE (Ludwigshafen, Germany). The experimental data were evaluated by means of ANOVA (SAS, 2004). Significant differences were tested by the LSD Test (SAS, 2004).

# Results and discussion

The most important results of the digestibility studies are summarized in Table 2. According to our data the ileal digestibility of nutrients was improved when the diet was supplemented by the Natugrain TS® enzyme product (560 TXU/kg and 250 TGU/kg), and this improvement was significant for all of the nutrients ($P \leq 0.05$). When expressed in percentage, the rate of improvement was 2.2% for crude protein, 2.1% for crude fat, 3.4% for crude fiber, 1,2% for N-free extract, 3.0% for NDF and 3.2% for ADF, respectively. The digestibility of dietary energy (GE) increased by 1.9% ($P \leq 0.05$) The improvement of individual nutrients resulted in a total improvement of 1.6% of the dietary dry matter content ($P \leq 0.05$). It is clearly apparent from the data presented that the improvement caused by the tested enzyme product was the strongest in the case of crude protein, ADF and NDF. The rate of improvement in crude protein and crude fat digestibilities is also remarkable though, and can be attributed to a 3.7% higher ($P \leq 0.05$) ileal protein absorption (9.55 $g/kg^{0.75}/d$ vs 9.90 $g/kg^{0.75}/d$) and to an about 5.3% higher ($P \leq 0.05$) ileal fat absorption (0.643 $g/kg^{0.75}/d$ vs 0.677 $g/kg^{0.75}/d$) (data are not included in a table).

In addition to protein and fat, animals fed the diet supplemented with the enzyme product (Natugrain TS®) also absorbed 16% more fiber (1.19 $g/kg^{0.75}/d$ vs 1.38 $g/kg^{0.75}/d$), 9.6% more NDF (5.02 $g/kg^{0.75}/d$ vs 5.50 $g/kg^{0.75}/d$), 23.1% more ADF (1.04 $g/kg^{0.75}/d$ vs 1.28 $g/kg^{0.75}/d$) and 3.5% more energy (0.840 $MJ/kg^{0.75}/d$ vs 0.869 $MJ/kg^{0.75}/d$) until the end of the ileum than their control peers

(P≤0.05) (these data are not included in a table).The difference found for N-free extract (2.3%) was statistically not verifiable (P≥0.05). The higher rate of nutrient absorption and improvement of digestibility are likely to be attributed to the altered viscosity of the digesta and to the lengthening of the transit time. A similar improvement of digestibility was found in our previous studies also (Babinszky et al., 2010) when the basal diet was supplemented with xylanase (8000 BXU/kg thermostable Xylanase from *Trichoderma reesei*). It should be noted, however, that besides the properties of the enzyme product, the rate of improvement in digestibility is also very much subject to the NSP level and NSP composition of the basal diet.

When the basal diet was supplemented with the enzyme product Natugrain TS®, the total tract digestibility of the nutrients showed a development similar to that discussed in the foregoing, i.e. with the exception of crude fiber it improved significantly for all nutrients (P≤0.05). The rate of increase was 1.4% for crude protein, 6.9% for crude fat, 0.6% for N-free extract, 3.1% for NDF and 3.4% for ADF, respectively. The digestibility of energy (GE) increased by 0.9%, which enhanced the DEs content of the basal diet by 0.15 MJ/kg (1.2%) (12.95 MJ/kg vs 13.10 MJ/kg) (data are not included in a table).

**Table 2**: Effect of xylanase and ß-glucanase supplementation on the digestibility of nutrients in growing pigs

| **Parameters** | **T R E A T M E N T S*** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **I** | | **II** | |
| | **x** | **sd** | **x** | **sd** |
| **ILEAL DIGESTIBILITY (%)** | | | | |
| Dry matter | 63.9 [a] | 0.6 | 65.5 [b] | 0.6 |
| Crude protein | 68.2 [a] | 1.8 | 70.4 [b] | 1.7 |
| Crude fat | 43.4 [a] | 2.1 | 45.5 [b] | 2.5 |
| Crude fiber | 21.4 [a] | 1.4 | 24.8 [b] | 1.8 |
| N-free extract | 66.7 [a] | 1.6 | 67.9 [b] | 1.1 |
| NDF | 32.2 [a] | 2.3 | 35.2 [b] | 3.0 |
| ADF | 14.6 [a] | 2.0 | 17.8 [b] | 1.5 |
| Energy | 62.5 [a] | 1.0 | 64.4 [b] | 1.0 |
| **POSTILEAL DIGESTIBILITY (%)** | | | | |
| Dry matter | 81.9 [a] | 0.7 | 82.6 [a] | 1.2 |
| Crude protein | 88.7 [a] | 1.6 | 89.4 [a] | 2.8 |
| Crude fiber | 72.5 [a] | 3.5 | 74.7 [a] | 2.8 |
| N-free extract | 78.5 [a] | 1.5 | 79.2 [a] | 1.5 |
| NDF | 76.0 [a] | 3.1 | 75.9 [a] | 3.6 |
| ADF | 71.6 [a] | 3.5 | 71.5 [a] | 3.4 |
| Energy | 82.8 [a] | 1.4 | 83.7 [a] | 1.6 |
| **TOTAL-TRACT DIGESTIBILITY (%)** | | | | |
| Dry matter | 82.0[a] | 0.4 | 82.9 [b] | 0.8 |
| Crude protein | 79.5 [a] | 1.6 | 80.9 [b] | 1.6 |
| Crude fat | 29.1 [a] | 1.4 | 36.0 [b] | 2.9 |
| Crude fiber | 48.9 [a] | 2.5 | 50.1 [a] | 2.4 |
| N-free extract | 88.1 [a] | 0.7 | 88.7 [b] | 0.6 |
| NDF | 56.2 [a] | 2.1 | 59.3 [b] | 1.4 |
| ADF | 42.9 [a] | 2.0 | 46.3 [b] | 2.7 |
| Energy | 79.8 [a] | 0.5 | 80.7 [b] | 0.9 |

*: I: control without Natugrain® TS II: with Natugrain® TS (560 TXU/kg and 250 TGU/kg)
a,b: P≤0,05

The improvement measured in crude protein digestibility however is less important from the practical point of view in this case, because the protein (amino acids) absorbed from the postileal section does not participate in the protein biosynthesis of the body (Zebrowska, 1973).

It is also quite obvious from the data presented that when looking at the total tract, the tested enzyme product yielded the most notable improvement in crude fat, ADF and NDF digestibility, in consequence of the 24.1% higher apparent fat absorption (0.431 g/kg$^{0.75}$/d vs 0.535 g/kg$^{0.75}$/d), the 8.5% higher ADF absorption (3.06 g/kg$^{0.75}$/d vs 3.32 g/kg$^{0.75}$/d) and the 5.9% higher NDF absorption (8.75 g/kg$^{0.75}$/d vs 9.27 g/kg$^{0.75}$/d) (data are not included in a table).

When examining the postileal digestibility of nutrients (Table 2) it was found that the supplementation of the basal diet with the Natugrain TS® enzyme product (560 TXU/kg and 250 TGU/kg) led to a slight improvement of the digestibility of most nutrients – except fat – the rate of improvement, however, was statistically not verifiable ($P \leq 0.05$). The digestibility of fat was – numerically – the highest in the control group, the likely cause of which has already been discussed in the foregoing. The digestibility of NDF and ADF was practically the same also numerically. In our study there was only a limited change in the place of energy absorption.

In the control group 78.3% of the total amount of energy uptake was absorbed from the ileal section and 21.7% from the postileal section. These proportions changed in the trial group to 79.9% (ileal) and 20.1% (postileal) (data are not included in a table). In our previous studies – when feeding diets of similar composition – it was found that in the group without enzyme supplementation 74.7% of total absorbed energy was absorbed from the ileal and 25.3% from the postileal section – beside a 61.2% ileal energy digestibility. As a result of enzyme supplementation, however, the proportion of ileal absorption increased from 74.7% to 81.2%, and the rate of postileal absorption decreased from 25.3% to 18.8% (Babinszky et al., 2010). In this case the change in the absorption location was less spectacular, but at the same time 78.4% of total absorbed energy was already absorbed from the ileum in the control group. This suggests that the basal diet was probably less loaded with antinutritive factors (ß-glucan, arabinoxylan, etc.). This could also have been the cause of the lower improvement in digestibility as well.

# Conclusion

Adding Natugrain TS® enzyme product (560 TXU/kg and 250 TGU/kg) to the basal wheat-barley-rye based diet significantly improved the ileal and faecal digestibilities of all tested nutrients ($P \leq 0.05$). The improvement of digestibility measured at the end of the ileum is more expressed, and except for crude fat, NDF and ADF could be determined for all of the tested nutrients. In case of dietary NDF and ADF, the enzyme supplementation (560 TXU/kg and 250 TGU/kg Natugrain TS®) led to virtually the same rate of improvement both at the end of the ileum and for the total intestinal tract (NDF: 3.0 vs 3.1%, ADF: 3.2% vs 3.4%). When the wheat-barley-rye based diet was supplemented with Natugrain TS® (560 TXU/kg and 250 TGU/kg) the percentage of energy absorbed until the end of the ileum increased significantly, while the percentage of postileal absorption was only numerically increased and on the same statisitical level as the control diet.

## References

AOAC (1989). Association of Official Analytical Chemists. 1989. Official methods of analysis. 3rd ed. AOAC, Washington, DC.

AMINODat® 2.0 (2001). The amino acid composition of feedstuffs. Degussa AG, Frankfurt, Germany

Bedford, M.R. (2000). Exogenous enzymes in monogastric nutrition–their current value and future benefits. *Anim. Feed Sci. Technol.* 86, 1–13.

Babinszky, L., J. Tossenberger, D. Ottó, I. Kühn (2010) Effect of xylanase supplementation in a pig diet on ileal and postileal energy and fiber fraction digestibility. In: *Journal of Animal Science* Vol. 88, E-Suppl. 371.

FAD-2007-0044: http://irmm.jrc.ec.europa.eu/SiteCollectionDocuments/FinRep-FAD-2007-0044.pdf

Gdala, J., H. N. Johansen, K. E. Bach Knudsen, I. H. Knap, P. Wagner, and O. B. Jorgensen. (1997). The digestibility of carbohydrates, protein and fat in the small and large intestine of piglets fed non-supplemented and enzyme supplemented diets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 65:15-33.

Mézes, M. (2007). Enzimek felhasználása a sertéstakarmányozásban, *Agronapló* 11 (8): 97-98.

SAS (2004). Statistical Analysis System Institute. SAS. User's Guide: Statistics Cary, NC. USA

Van Leeuwen, P., van Kleef, D. J., van Kempen, G. J. M., Huisman, J. and Verstegen. M. W. A. (1991). The post valve T-caecum cannulation technique in pigs applied to determine the digestibility of amino acid in maize, groundnut and sunflower meal. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 65:183-193.

Zebrowska, T. (1973). Digestion and absorption of nitrogenous compounds in the large intestine of pigs. *Roczn. Nauk Roln*. Ser. B. 95B:85-90.

## Corresponding author

Dr. J. Tossenberger
Kaposvár University, Department of Animal Nutrition,
H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40./Hungary
E-mail: tossenberger.janos@ke.hu

# Natugrain® *TS*

## Entscheiden Sie sich für die wirtschaftliche Lösung.

**Natugrain®-Produkte erhöhen die Verwertung von Nicht-Stärke-Polysacchariden und vermindern deren antinutritive Effekte. Dadurch kann mit weniger Futtermitteleinsatz mehr Leistungsfähigkeit erzielt werden.**

**Für Schweine und Geflügel.**

natugrain® *TS*

DAS FLEXIBLE NSP-ENZYM

**BASF Nutrition – the healthy decision.**

BASF
The Chemical Company

www.nutrition.basf.com | e-mail: nutrition@basf.com

Natugrain® *TS* ist eine eingetragene Marke der BASF Gruppe, Deutschland.

# Effects of a novel microbial phytase on nutrient digestibility in gestating sows

**Matej Brestenský[1], Soňa Nitrayová[1], Peter Patráš[1], Jaroslav Heger[1] and Jiří Brož[2]**

[1] Animal Production Research Centre, Nitra
[2] DSM Nutritional Products, Animal Nutrition and Health R&D, Basel, Switzerland

## Introduction

The amount of phosphorus (P) released to the environment with manure in intensive livestock production areas is high and for that reason the P excretion by the animals should be reduced as much as possible. An efficient way to decrease P excretion is the supplementation of diets with microbial phytase (Kornegay, 1996).

Microbial phytase is now an accepted feed additive that is used extensively in commercial diets for both pigs and poultry (Selle and Ravindran, 2008). It effectively improves the availability of phytate phosphorus and decreases P excretion, thereby reducing environmental pollution (Vats et al. 2005). In some instances, phytase has been shown to increase the utilization of nutrients other than P. Jongbloed et al. (2004) reported that phytase also improved digestibility of various other minerals. Effects of phytase supplementation may also vary, depending on physiological status of pigs (Kemme et al., 1997) and origin of the supplemented phytase (Paditz et al., 2004). Effect of microbial phytase on P digestibility may differ among pig categories, because of variation in gastric emptying, stomach capacity and pH in gastric contents (Low, 1990). Jongbloed et al. (1992) reported that the main site of phytase activity is the stomach. Effect of supplemental phytase on digestibility of P decreased in the following order: lactating sows, growing-finishing pigs, sows at the end of gestation, piglets and sows at mid-gestation (Kemme et al., 1997). The number of studies demonstrating the effect of microbial phytase on P digestibility in sows is still very limited (Jongbloed et al., 2004, Kemme et al., 1997).

The purpose of the present study was to evaluate the effect of a novel phytase preparation (RONOZYME HiPhos) on the digestibility of organic matter, nitrogen, P and Ca in a practical-type diet fed to gestating sows during the last third of gestation.

## Materials and methods

### Animals and experimental design

A total of 24 sows (initial BW 239.8 ± 3.8 kg) were obtained from a breeding farm. The sows were of the same genotype (Large White x Landrace), in the range from 3$^{rd}$ to 5$^{th}$ parity and between days 98 and 113 of gestation.

On day 95 of gestation the sows were housed in 24 individual pens in a stable with individual feeding. Drinking water was continuously supplied by drinking bowls. From day 95 to 98 of gestation there was an adaptation period within which the sows were fed with commercial diet for gestating sows. After 10 days of preliminary period during which the animals were fed with the experimental diets followed a 5-day collection period during which the faeces were collected daily.

## Diets and feeding

The basal diet contained maize, barley, soybean meal and rapeseed meal as the main ingredients.

The nutrient composition of diets was according to the requirements for gestating sows (NRC 1998). The basal diet was fed either without phytase addition (diet F0), or supplemented with RONOZYME HiPhos (M) at three levels equivalent to 500, 1000 and 2000 U/kg, thus forming three experimental diets (F1, F2, F3). Chromic oxide was included in the diets as an indigestible marker. The ingredient composition and calculated content of nutrients of the basal diet is given in Table 1.

**Table 1**: Composition of basal diet and calculated nutrient concentration (g/kg air dry basis)

| | |
|---|---|
| Maize | 470.50 |
| Barley | 200.00 |
| Soybean meal (46 % CP) | 118.00 |
| Rapeseed meal (33 % CP) | 80.00 |
| Premix[1] | 29.50 |
| Cellite | 10.00 |
| Chromic oxide | 3.00 |
| Wheat flour T 39000 | 10.00 |
| Sunflower meal (27 % CP) | 64.00 |
| Sunflower oil | 15.00 |
| Calculated values | |
| Metabolizable energy (MJ/kg) | 12.7 |
| Crude protein | 171.7 |
| Fibre | 55.0 |
| Lysine | 9.6 |
| Threonine | 6.7 |
| Methionine + Cystine | 6.3 |
| Tryptophan | 1.9 |
| Calcium | 8.0 |
| Phosphorus total | 6.0 |
| Phosphorus digestible | 2.4 |
| Sodium | 2.0 |

[1]Contents per kg Premix: lysine 6 %; methionine 1 %; threonine 1 %; Ca 21 %; P 4.50 %; Na 6 %; Cu 650 mg; Fe 3500 mg; Zn 4500 mg; Mn 2500 mg; Co 40 mg; I 100 mg; Vit. A 370000 m.j.; Vit. D3 60000 m.j.; Vit. E (α– tocopherol) 2500 mg; Vit. K3 100 mg; Vit. B1 70 mg; Vit B2 150 mg; Vit. B6 100 mg; Vit. B12 1000 mcg; biotin 6 mg; niacin amid 900 mg; folic acid 40 mg; calcium pantothenate 600 mg; cholin chloride 12500 mg; etoxiquin (E321) 242 mg; citric acid (E330) 42 mg; silicic acid (E551a) 515 mg; propylgalat (E310) 33 mg; pigortek 3350 mg.

The diets were fed twice daily at 6.00 and 16.00 hours, in two equal meals at a total amount of 3.6 kg/day. Water was offered *ad libitum*.

## Chemical analyses

Air-dried samples of faeces and samples of diets were finely ground to pass through a 1-mm screen prior to the chemical analyses.

Analyses of diets and faeces for DM, N, P, Ca, ash were performed in accordance with standard methods of AOAC (1990).

Chromic oxide was analysed by atomic absorption spectrophotometry as described by Williams et al. (1962).

### Calculations

Coefficients of total tract digestibility of nutrients were calculated using the following formula:

$$\text{Digestibility (\%)} = 100 \times [1-(N_i \times M_d)/(N_d \times M_i)]$$

where $N_d$ = dietary concentration of the nutrient under study, $M_d$ = dietary concentration of marker, $N_i$ = concentration of the nutrient in faeces and $M_i$ = concentration of marker in faeces (all values in $g.kg^{-1}$ dry matter).

### Statistical analysis

Data were subjected to ANOVA using Statgraphic Plus 3.1. package. When significant value for treatment effect ($P<0.05$) was observed, the differences between means were assessed using Fisher's LSD procedure. Regression analysis was used to evaluate the relationship between supplemental phytase level and nutrient digestibility.

## Results

The experimental sows were in good health throughout the whole experiment and consumed the offered feed. The mean values of total tract digestibility of DM, OM, N, Ca and P are given in Table 2.

Analysis of variances showed that the graded levels of phytase supplementation had significantly effect on DM digestibility. The lowest digestibility was observed in the control diet. Digestibility of DM was improved relatively by 1.88 % and 1.30 % in diets supplemented with phytase at 1000 and 2000 U/kg, respectively, in comparison to the control group. In the diet containing 500 U/Kg no significant improvement of DM digestibility was noted. Similar results were obtained in digestibility of OM.

The sows that consumed diets F2 and F3 had significantly higher digestibility of N when compared with the sows receiving diets F0 and F1.

**Table 2**: Effect of supplementation phytase on nutrient digestibility (%)

| Phytase addition (U/kg diet) | DM | OM | N | Ca | P |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 83.1 $^{a}$ | 86.7 $^{a}$ | 82.9 $^{a}$ | 35.5 $^{a}$ | 26.7 $^{a}$ |
| 500 | 83.7 $^{ab}$ | 87.1 $^{ab}$ | 83.5 $^{a}$ | 41.6 $^{b}$ | 33.6 $^{b}$ |
| 1000 | 84.7 $^{c}$ | 88.1 $^{c}$ | 86.3 $^{b}$ | 47.8 $^{c}$ | 39.0 $^{c}$ |
| 2000 | 84.2 $^{bc}$ | 87.5 $^{bc}$ | 85.1 $^{b}$ | 44.1 $^{b}$ | 37.2 $^{bc}$ |
| Pooled SEM | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.5 | 0.7 |

$^{abc}$ Means within a column followed by the different superscript are significantly different ($P<0.05$)

The digestibility of both P and Ca was significantly increased as a result of phytase supplementation. In comparison with the control group, the total tract digestibility of P was increased relatively by 25.81, 46.27 and 39.27 % in diets supplemented with phytase at 500, 1000 and 2000 U/kg, respectively. The digestibility of Ca increased in diets supplemented with 500, 1000 and 2000 U/kg by 17.06, 34.52 and 24.23 %, respectively, when compared to the control diet.

As shown Table 3, added phytase significantly increased total tract digestibility of P and Ca in comparison with the diet without added phytase. The highest increase of digestibility, both P and Ca, was observed in the diet with phytase level of 1000 U/kg.

Similarly the digestibility of N was significantly higher in the diets supplemented with phytase at 1000 and 2000 U/kg. The response of P and Ca digestibility was linear until the phytase inclusion at 1000 U/kg diet. At the phytase inclusion level of 2000 U/kg a slight decrease of digestibility values was observed.

**Table 3**: Summary of effects of microbial phytase on the experimental parameters (expressed as % change relative to control group)

| Parameter | Phytase level (U/kg) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 500 | | 1000 | | 2000 | |
| Total tract digestibility (%): | | | | | | |
| Dry matter | 0.67 | | 1.88 | * | 1.30 | * |
| Organic matter | 0.45 | | 1.65 | * | 0.96 | * |
| Nitrogen | 0.68 | | 4.16 | * | 2.62 | * |
| Calcium | 17.06 | * | 34.52 | * | 24.23 | * |
| Phosphorus | 25.81 | * | 46.27 | * | 39.27 | * |
| Concentration of P in faeces (g/kg DM) | -6.51 | * | -6.56 | * | -7.99 | * |

* Denotes significant effect (P<0.05)

# Discussion

The addition of microbial phytase to the experimental diets for gestating sows significantly improved the digestibility of phosphorus. The relative improvement for total P digestibility by 25.81, 46.27 and 39.27 % was observed in the diets supplemented with phytase at 500, 1000 and 2000 U/kg, respectively. Similar results reported Jongbloed et al. (2004), who also found an improvement of P digestibility in gestating sows fed with phytase supplemented diets. In contract to these results, Lyberg (2006) reported that dietary supplementation with a commercial microbial phytase resulted only in a minor effect on the apparent digestibility of P. Such a limited effect on P digestibility might be explained by high levels of intrinsic phytase in the diets used in this experiment. High levels of intrinsic phytase reduce the effect of phytase supplementation on IP6 degradation (Carlson and Poulsen, 2003). Kemme et al. (1997) reported that on day 60 of pregnancy phytase supplementation to the diets did not affect P digestibility, but on day 100 there was a significant increase of P digestibility. In general, phytase addition to the diets for gestating sows improved P digestibility.

A significant beneficial effect of supplemental phytase on Ca digestibility was observed in our study, and there was a positive correlation with P digestibility. However, some reports in the literature showed no effect (Yi et al., 1994, Sands et al., 2001) while others also demonstrated that phytase increased total tract digestibility of Ca (Kemme et al., 1997). Our results are in a full agreement with those reported by Hanczakowska et al. (2009), showing that gestating sows on day 100 of gestation fed with phytase supplemented diets had higher Ca digestibility in comparison with the negative control group. Similar results achieved Kemme et al. (1997b) in lactating sows. P and Ca are important minerals responsible for growth and development of bones. In gestating sows, the amount of digestible P and Ca is particularly important during the last third of gestation, because the embryos are most developed in this period. The higher P digestibility, as the result of adding microbial phytase to the diets, may by responsible for better growth of the progeny, especially for bones of fetal embryos. This

may be an important prerequisite for better development of newborn piglets. In spite of this fact, phytase supplementation to the diets did not affect reproduction parameters in gestating sows (Hanczakowska et al., 2009).

In the present study a positive effect of phytase supplementation on total tract digestibility of crude protein (CP) was also observed. However, the improvement of CP digestibility in experimental groups was much lower when compared with the improvement of P and Ca digestibilities. Significant effects ($P<0.05$) were achieved in experimental groups fed the diets supplemented with phytase at 1000 and 2000 U/kg, respectively. The relative improvement was 4.16 % and 2.62 %, respectively, in comparison with the control group which was fed the diet without phytase. Similar results were reported by Hanczakowska et al. (2009). Ketaren et al. (1993) reported an increase of protein retention due to the addition of phytase to the diets. Improvement of protein digestibility indicates that phytate-protein bindings are to some extent broken down by phytase, or by reducing phytic acid level its inhibiting effect on proteases is reduced (Nair et al., 1991). Positive effects of adding phytase on the digestibility at least some amino acids have been reported by several authors (Officer and Batterham, 1992, Kornegay et al., 1998, Kemme et al., 1999). In contract, some other experiments demonstrated no favourable effects of phytase addition on either protein or amino acid digestibility (Traylor et al., 2001; Copado et al., 2003; Cervantes et al., 2004,). Patráš et al. (2006) reported that phytase supplementation had no effect, neither on retention nor on digestibility of nitrogen. As mentioned by Selle and Ravindran (2008) these conflicting results might be caused by the different methodologies used in the respective experiments.

In our study, phytase supplementation of the diets significantly reduced faecal P excretion. Similar results have been reported by other authors (Sands et al., 2001, Nitrayová et al., 2009). Baido et al. (2003) found a decrease of the P content in faeces by 27.2 % in sows fed diets supplemented with phytase. The effect of phytase on P excretion depends on the dietary concentration of digestible P.

# Conclusion

Digestibility of P and Ca was significantly higher in all phytase supplemented experimental diets in comparison with the control diet. In conclusion, the novel phytase RONOZYME HiPhos is efficient in improving the digestibility of plant phosphorus and calcium and is able to reduce the concentration of P in faeces.

## References

AOAC Method 920.36, 955.03, 962.11, 968.08. 1990. In: Official Methods of Analysis, 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.

Baidoo S. K., Yang Q. M., Walker R. D. 2003. Effects of phytase on apparent digestibility of organic phopsphorus and nutrients in maize-soya bean meal based diets for sows. Anim. Feed Sci. Technol. 2003, 104, 133-141

Carlson D., Poulsen H.D. 2003. Phytate degradation in soaked and fermented liquid feed - effect of diet, time of doaking, heat treatment, phytase activity, pH and temperature. Anim Feed Sci Technol 103, 141-154.

Cervantes M., Yanez J., Barrera M.A., Figueroa J.L., Torrentera N., Sauer W. 2004. Ileal amino acid digestibility and performance of pigs fed grain sorghum-based diets supplemented with phytase. Interciencia 29, 527-531.

Copado F., Cervantes M., Figueroa J.L., Cuca M., Yanez J., Sauer W. 2003. Effect of phytase and/or pancreatin supplementation to grain sorghum=soybean meal diets on the apparent ileal digestibility in pigs. J. Anim. Sci. 81, Suppl.1, 258 (Abst.)

Hanczakowska E., Swiatkiewicz M., Kuhn I. 2009. Effect of microbial phytase supplement to feed for sows on apparent digestibility of P, Ca and crude protein and reproductive parameters in two consecutive reproduction cycles. Medycyna Wet. 2009, 65 (4), 250-254.

Jongbloed A.W., van Diepen J.Th.M., Kemme P.A., Dias H., Broz J. 2004. Efficacy of microbial phytase on mineral digestibility in diets for gestating and lactating sows. Livest. Prod. Sci. 91, 143-155.

Jongbloed, A. W., Mroz Z., and P., Kemme A. 1992. The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. J. Anim. Sci. 70, 1159-1168.

Kemme P.A., Jongbloed A.W., Mroz Z., Kogut J., Beynen A.C. 1999. Digestibility of nutrients in growing-finishing pigs is affected by *Aspergillus niger* phytase, phytate and lactic acid levels. 1. Apparent ileal digestibility of amino acids. Livest. Prod. Sci. 58, 107-117.

Kemme P. A., Radcliffe J. S., Jongbloed A. W., Mroz Z. 1997b. The effects of sow parity on digestibility of proximate components and minerals during lactation as influenced by diet and microbial phytase supplementation. J. Anim. Sci., 75, 2147-2153.

Kemme, P.A., A.W. Jongbloed, Z. Mroz and A.C. Beynen. 1997. The efficacy of Aspergillus niger phytase in rendering phytate phosphorus available for absorption in pigs is influenced by pig physiological status. *Journal of Animal Science* 75, 2129-2138.

Ketaren, P. P., E. S. Batterham, and E. B. Dettmann. 1993. Phosphorus studies in pigs. 3. Effect of phytase supplementation on the digestibility and availability of phosphorus in soya-bean meal for growing pigs. Brit. J. Nutr. 70:289–311.

Kornegay, E. T. 1996. Effect of phytase on the bioavailability of phosphorus, calcium, amino acids and trace minerals in broilers and turkeys. BASF Technical Symposium, Atlanta, GA, January 23. pp 3968.

Kornegay E.T., Radcliffe J.S., Zhang Z. 1998. Influence of phytase and diet composition on phosphorus and amino acid digestibilities, and phosphorus and nitrogen excretion in swine. BASF Technical Symposium, BASF Corp., Mount Olive, NJ, pp. 125-155.

Low, A. G. 1990. Nutritional regulation of gastric secretion, digestion and emptying. Nutr. Res. Rev. 3:229-252.

Lyberg, K. 2006. Phosphorus in Pig Diets - Effect of liquid feeding, phosphorus levels and phytase supplementation on digestibility and performance. Doctoral thesis. ISSN 1652-6880, ISBN 91-576-7062-5

Nair V. C., Laflamme J., Duvnjak Z. 1991: Production of phytase by Aspergillus ficuum and reduction of phytic acid content in canola meal. J. Sci. Food Agric., 54, 355-365.

Nitrayová, S., Patráš, P., Brestenský M., Zelenka J., Brož J., Heger J. 2009. Effect of microbial phytase and diet fermentation on ilela and total tract digestibility of nutrients and energy in growing pigs. Czech J. Anim. Sci. 54, 163-174.

NRC. 1998. Nutrient Requirements of Swine, 10th ed. National Academy Press, Washington, D.C.

Officer D.I., Batterham E.S. 1992. Enzyme supplementation of Linola™ meal for growing pigs. Proc. Austral. Soc. Anim. Prod. 9, 1-8.

Paditz, K., H. Kluth and M. Rodehutscord. 2004. Relationship between graded doses of three microbial phytases and digestible phosphorus in pigs. *Animal Science* 78, 429-438.

Patráš P., Nitrayová S., Sommer A., Heger J. 2006. Effect of microbial phytase on apparent digestibility and retention of phosphorus and nitrogen in growing pigs. Czech J. Anim. Sci. 51, 437-443.

Sands J.S., Ragland D., Baxter C., Joern B.C., Sauber T.E., Adeola O. 2001. Phosphorus bioavailability, growth performance, and nutrient balance in pigs fed high available phosphorus corn and phytase. J. Anim. Sci. 79, 2134-2142.

Selle P.H., Ravindran V. 2008. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. Livest. Sci. 113, 99-122

Traylor S.L., Cromwell G.L., Lindemann M.D., Knabe D.A. 2001. Effects of level of supplemental phytase on ileal digestibility of amino acids, calcium, and phosphorus in dehulled soybean meal for growing pigs. J. Anim. Sci. 79:2634-2642.

Vats P., Bhattacharyya M.S., Benerjee U.C. 2005. Use of phytases (myo-Inositolhexakisphosphate phosphohydrolases) for combatting environmental pollution: A biological approach. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 35, 469-486.

Williams, C.H.; David, D.J.; Lismoa, O., 1962: The determination of chromic oxide in fecal samples by atomic absorption spectrophotometry. J. Agric. Sci. 59, 1962, 381-390.

Yi Z., Kornegay E.T., Lindemann M.D., Ravindran V. 1994. Effect of Natuphos phytase for improving the bioavailabilities of phosphorus and other nutrients in soybean meal-based semipurified diets for young pigs. J. Anim. Sci. 72, 7 (Suppl. 1).

## Corresponding author

Dipl. Ing. Matej Brestensky
Animal Production Research Centre, Institute of Nutrition
Hlohovecká 2, 95141 Lužianky, Slovakia
E-mail: m_brestensky@cvzv.sk

# Einfluss von NSP-hydrolysierenden Enzymen auf die zootechnischen Leistungen und Verdaulichkeitsparameter beim Schwein in der Vor- und Endmast nach Verabreichung getreidereicher Futtermischungen

**Anne Winkler[1], Julia Trautwein[1], Joachim Bauer[1], Dieter Feuerstein[2], Peter Ader[2], Peter Lindner[3] und Georg Dusel[1]**

[1] University of Applied Sciences, Berlinstrasse 109, 55411 Bingen, Germany
[2] BASF SE, Agricultural Center, Limburgerhof, Germany
[3] Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum für Schweinehaltung, Schwarzenau, Germany

## Einleitung

Die Futtermischungen in der heutigen Mastschweinehaltung werden basierend auf Getreide und Nebenprodukten der Getreideverarbeitung optimiert. Der Faseranteil dieser eingesetzten Futtermittel weist einen hohen Gehalt an sogenannten wasserlöslichen Nicht-Stärke-Polysacchariden (NSP) auf, welcher zudem in Abhängigkeit von der Herkunft (Standort, Klima etc.) der Pflanze stark variieren kann (Dusel et al., 1997). Zu den NSP zählen u.a. Arabinoxylane, β-Glucane und Cellulose, welche der Monogaster mittels körpereigener Enzyme nicht abbauen kann (Dänicke et al., 1999). Die antinutritiven Effekte der NSP sind insbesondere auf die wasserlöslichen Arabinoxylane und β-Glucane im Endosperm zurückzuführen, welche die Digestaviskosität erhöhen und somit die Passagerate des Futters senken (Steenfeldet et al., 1998). Desweiteren wird durch die Anwesenheit von NSP in getreidereichen Futtermischungen eine geringere Verdaulichkeit von Nährstoffen erreicht, da NSP aufgrund ihrer Struktur hochverdauliche Inhaltsstoffe wie Protein oder Stärke binden („Käfigeffekt"). Dies kann sich negativ auf die zootechnischen Parameter auswirken (Dusel et al., 1999; Dänicke et al., 1998).

Bisherige Untersuchungen zeigen, dass diese, durch getreidereiche Rationen in der Schweinemast verursachten antinutritiven Effekte, durch Supplementierung von NSP- spaltenden Enzymen reduziert werden können (Dusel et al., 1999; Dänicke et al., 1998).

In dieser zweigeteilten Studie sollen im Mastschweinebereich zum einen der Effekt des NSP-spaltenden Enzympräparates NATUGRAIN® TS auf die zootechnischen Parameter, nach Verabreichung getreidereicher Futtermischungen, quantifiziert werden. In einem Verdaulichkeitsversuch wurde die gleiche Futterration mit dem supplementierten Produkt auf seine Nährstoffverdaulichkeit getestet.

## Material und Methoden

Diese Untersuchungen umfassen einen Leistungs- und einen Verdaulichkeitsversuch, welche zum einen auf dem Versuchszentrum für Schweinehaltung im LfL Schwarzenau und zum anderen auf dem Versuchs- und Demonstrationsbetrieb St. Wendelinhof der Fachhochschule in Bingen durchgeführt wurden.

### Leistungsversuch

Im Rahmen des Leistungsversuches wurden 120 gesunde und vitale Mastschweine der Rasse TOPIGS in einem Abteil mit 10 Buchten zu je 12 Tieren in eine Kontroll- und eine Versuchsgruppe eingeteilt (5 Wiederholungen pro Variante). Das durchschnittliche Anfangsgewicht der Tiere betrug zu Versuchsbeginn 28,7 kg.

Währenddessen die Kontrollgruppe eine getreidereiche Ration ohne jeglichen Zusatz (K) erhielt, bekamen die Tiere der Versuchsgruppe eine Futterration mit einem NSP-spaltenden Enzympräparat (NATUGRAIN® TS, Kontrolle+Enzym) verabreicht. Die Versuchsdiäten basierten auf Weizen, Gerste, Roggen und DDGS und waren in der Rohwarenzusammensetzung gleich konzipiert (isoenergetisch und isonitrogen - Tabelle 1). Nach einer vorgeschalteten 6-tägigen Adaptionsphase, welche zur Gewöhnung der Tiere an die transpondergesteuerten Futterautomaten diente, erhielten die Mastschweine zunächst ein Vormastfutter (< 60 kg Lebendmasse). Danach wurde auf Endmastfutter umgestellt, welches den Mastschweinen von 60 kg bis 115 kg Schlachtendgewicht verfüttert wurde. Sowohl die Mastschweinemischungen als auch Wasser standen den Tieren ad libitum zur Verfügung.

**Tabelle 1**: Versuchsdesign, Konzentrationen der Enzymzulagen und Futterzusammensetzung

| Varianten | Enzymzulage | |
|---|---|---|
| Kontrolle (K) | --- | |
| Versuch K+ NATUGRAIN®TS (K+E) | 560 TXU/kg; 250 TGU/kg | |
| Futterzusammensetzung (analysiert – Periode 1/2) | XP % | 19,9 / 14,9 |
| | Lys % | 1,05 / 0.96 |
| | XF % | 4,3 / 5,8 |
| | ME MJ/kg | 13,0 / 12,4 (kalkuliert) |

Bereits ab der Adaptionsphase bis zu Versuchsende wurden die Lebendgewichte (LG), Tageszunahmen (TZ) und die Futteraufnahmen (FA) der Mastschweine wöchentlich tierindividuell erfasst. Die Futterverwertung (FVW) wurde in kg Futter pro kg Zuwachs errechnet. Mit einem durchschnittlichen Lebendgewicht von 113 kg wurden die Mastschweine geschlachtet. Die Standartschlachtparameter, einschließlich der Schlachtkörperqualität, wurden ermittelt und analysiert.

Die Rohnährstoffe im Futter wurden nach gängigen Vorschriften der VDLUFA ermittelt. Die metabolische Energie wurde anhand der Analyseergebnisse errechnet.

### Verdaulichkeitsversuch

Der Verdaulichkeitsversuch wurde auf dem Versuchs- und Demonstrationsbetrieb St. Wendelinhof der Fachhochschule in Bingen durchgeführt. In dieser Untersuchung sollte der Effekt des Produktes NATUGRAIN® TS auf die Nährstoffverdaulichkeit in der Mastschweinefütterung, nach Verabreichung getreidereicher Futterrationen, ermittelt werden. Dafür wurden zu Versuchsbeginn 4 gesunde und vitale Mastschweine mit einem mittleren Lebendgewicht von 60 kg in Bilanzstoffwechselkäfige eingestallt. Die Tiere waren in Einzelhaltung im Stoffwechselraum aufgestallt und wurden in einem Cross-Over-Verfahren mit 4-facher Wiederholung der beiden Versuchsgruppen zugeordnet. Für diesen Versuch wurde ausschließlich Vormastfutter (Phase I) eingesetzt. Die Verdaulichkeitskoeffizienten für die organische Masse (OM), Rohasche (XA), Rohprotein (XP) und Bruttoenergie (BE) wurden bestimmt.

Die statistische Auswertung der erfassten Daten erfolgte mit dem Programm Statistica for Windows 2007. Die korrigierten Mittelwerte der Versuchs- und Kontrollgruppe wurden mittels eines T-Tests auf signifikante Unterschiede geprüft. Signifikante Mittelwertunterschiede ($p<0,05$) werden durch unterschiedliche Kleinbuchstaben (a, b) gekennzeichnet.

# Ergebnisse und Diskussion

## Leistungsversuch

**Tabelle 2**: Lebendgewicht, Tageszunahme, Futteraufnahme und Futterverwertung über die gesamte Versuchsperiode

| | 1 | | 2 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Versuchstag | Kontrolle | | K+ NATUGRAIN®TS | | t-Test |
| | $\bar{x}$ | S | $\bar{x}$ | s | |
| | | | Lebendgewicht (kg) | | |
| 0 | 28,2 | 3,5 | 29,1 | 4,1 | 0,208 |
| 42 (Futterumstellung) | 64,5[a] | 5,8 | 67,5[b] | 6,3 | **0,007** |
| 77 | 97,0 | 7,0 | 99,5 | 8,4 | 0,080 |
| | | | Tageszunahmen (g) | | |
| Gesamt | 876[a] | 69 | 905[b] | 87 | **0,049** |
| Vormast | 855[a] | 70 | 913[b] | 87 | **0,000** |
| Endmast | 895 | 92 | 899 | 99 | 0,795 |
| Mastperiode (Tage) | 96,7 | 10,0 | 93,6 | 11,2 | 0,116 |
| | | | Futteraufnahme (kg/d) | | |
| Gesamt | 2,47 | 0,19 | 2,51 | 0,21 | 0,305 |
| Vormast | 1,85[a] | 0,21 | 1,98[b] | 0,23 | **0,002** |
| Endmast | 2,96 | 0,28 | 2,95 | 0,29 | 0,894 |
| | | | Futterverwertung (kg Futter/kg Zuwachs) | | |
| Gesamt | 2,79 | 0,24 | 2,77 | 0,20 | 0,568 |
| Vormast | 2,14 | 0,21 | 2,17 | 0,15 | 0,412 |
| Endmast | 3,29 | 0,26 | 3,27 | 0,27 | 0,680 |

Die analysierten Schlachtparameter und die Schlachtqualitäten wurden durch Supplementierung NSP-spaltender Enzyme nicht beeinflusst.

## Verdaulichkeitsversuch

**Tabelle 3**: Verdaulichkeitskoeffizienten

| | 1 | | 2 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Parameter | Kontrolle | | K+ NATUGRAIN® TS | | t-Test |
| | MW | S | MW | s | |
| Organische Masse (OM) | 83,5[a] | 1,4 | 86,0[b] | 0,9 | **0,028** |
| Rohprotein (XP) | 81,0[a] | 1,8 | 84,2[b] | 1,0 | **0,029** |
| Rohasche (XA) | 50,2 | 4,7 | 57,0 | 0,9 | 0,061 |
| Bruttoenergie (BE) | 81,2[a] | 1,7 | 83,9[b] | 1,0 | **0,037** |

# Fazit

Ziel des Leistungsversuches war es, nach Verabreichung getreidereicher Futtermischungen, den Effekt eines NSP-spaltenden Enzympräparates NATUGRAIN® TS auf die zootechnischen Parameter in der Mastschweinehaltung zu ermitteln.

In der Vormast (Phase I) konnte durch Supplementierung von NSP-hydrolysierenden Enzymen eine signifikante Steigerung der LG (+4,6%) und der TZ der Tiere (+6,8%) erreicht werden. Über den gesamten Versuchszeitraum wurden signifikant erhöhte TZ ermittelt.

Durch Supplementierung von NATUGRAIN® TS in der Vormast (Phase I) wurde die FA signifikant beeinflusst (p=0,002). Über die gesamte Versuchsdauer betrachtet, konnten keine Effekte des Produktes bestimmt werden.

Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der FVW zwischen den beiden Versuchsgruppen ermittelt, da die erhöhten TZ durch gesteigerte Futteraufnahmen (FA) verursacht wurden. Mögliche signifikante Effekte auf die Schlachtparameter und Schlachtqualität konnten durch Zulage von NSP-spaltenden Enzymen nicht nachgewiesen werden.

Ziel des Verdaulichkeitsversuches war es, den Effekt eines NSP-spaltenden Enzympräparates NATUGRAIN® TS auf die Nährstoffverdaulichkeit zu testen.

Durch Supplementierung des Produktes NATUGRAIN® TS konnten die Verdaulichkeitskoeffizienten der OM (+3,0%), der XP (+4,0%) und der BE (+3,3%) signifikant gesteigert werden (Tabelle 3).

## Literatur

Dänicke, S., Dusel, G., Jeroch, H., Kluge, H. (1999): Factors affecting efficiency of NSP-degrading enzymes in rations for pig and poultry, Agrarbiological Research 52: 1-24.

Dänicke, S., H. Jeroch, G. Dusel, O. Simon, Bedford, M. (1999): Effects of dietary fat type, pentosan level and xylanase supplementation on performance and carcass characteristics of male broilers, Arch. Geflügelk. 63 (5), 194-203.

Dusel, G., H. Kluge, K. Gläser, O. Simon, G. Hartmann, J.V. Lengerken and Jeroch H. (1997): An investigation into the variability of extract viscosity of wheat – Relationship with the content of non-starch polysaccharide fractions and metabolisable energy for broiler chickens, Arch. Anim. Nutr. 50: 121-135 .

Dusel, G., Kluge H., Jeroch, H. (1998): Xylanase supplementation of wheat-based rations for broilers: Influence of wheat charecterictics, J. Appl. Poultry Res. 7: 119-131.

Steenfeldet, S., Mullertz A., Jensen, J.F. (1998): Enzyme supplementation of wheat-based diets for broilers. Anim. Feed Sci. Technol., 75: 27–43.

## Autorenanschrift

Dipl. Ing. (FH) Anne Winkler
Abteilung: Tierernährung
Fachhochschule Bingen, Fachbereich 1- Life Science and Engineering
Berlinstrasse 109, D-55411 Bingen am Rhein
E-Mail: winkleran@fh-bingen.de

# A comparison of the effect of organic and inorganic zinc and manganese forms on the activity of superoxide dismutase in heparin blood of boars

**P. Horký, P. Jančíková and L. Zeman**

Mendel University in Brno

## Introduction

The paper compares two different forms of mineral elements (organic and inorganic) by evaluating superoxide dismutase (SOD) activity in the blood of breeding boars. Two elements (manganese and zinc), which are component parts of the enzyme were used in the experiment.

According to available literary sources, the organic form of mineral substances is more readily available and better utilizable than the inorganic forms of trace elements.

Zinc and manganese are acting in animal organisms as component parts of enzymes (Cu, Zn-SOD, Mn-SOD) and they have also structural and regeneration functions. Administration of zinc favourably affects cellular immunity. Zinc is an important anti-oxidant (YOUNG, 1996; cit., ŠTÍPEK et al., 1999).

Free radicals are atoms, molecules or ions capable of autonomous existence, which have in their electron envelope one unpaired electron or multiple unpaired electrons. This is why they attempt to capture another electron and complete the electron pair to reach a stable configuration. This explains their high reactivity and limited lifetime (RACEK and HOLEČEK, 1999). As pointed out by SURAI (2000); cit., SURAI (2002), superoxide dismutase and glutathion peroxidase constitute the first level of antioxidant defence against free radicals.

The disclosure of superoxide dismutase was a milestone in studying the biological importance of superoxide and other free radicals. SOD is contained in each cell (ŠTÍPEK et al., 2000). According to RACEK and HOLEČEK (1999), a superoxide is formed in the organism, which is the most frequently occurring free radical in the body. By itself, the compound does not represent a great risk. The danger of superoxide consists in the fact that it can give rise to much more harmful reactive forms of oxygen. The organism is therefore focused on prevention with the aim to remove the excessive superoxide. The SOD enzyme accelerates the superoxide dismutation by four orders. As mentioned by SURAI (2002), three different forms of this enzyme exist that are divided according to the central atom of metal into:

**1. Cu, Zn-SOD** consists of two identical sub-units; each of them contains one atom of copper and one atom of zinc (ŠTÍPEK et al., 1999). According to HARRIS (1999, cit. SURAI, 2002), the form of enzyme occurs in the cytoplasm and in the inter-membrane space of mitochondria. The atom of copper provides for the transition of electron from one molecule to another. Zinc has a stabilization function and does not participate in the catalysis (ŠTÍPEK et al., 1999). PEEKER et al. (1997 cit., SURAI, 2002) found out in their experiments that SOD activity is 20-times higher in the ejaculate of males than in the blood plasma and that the Cu, Zn-SOD form predominates. **2. Mn-SOD**: is the main form occurring in the mitochondrial matrix. It is considered crucial for the survival of aerobic organisms as it provides for cellular resistance to free radicals (FRIDOWICH, 1995; cit., SURAI, 2002). **3. Fe-SOD** was isolated from various bacteria but it was not found in animal tissues (MICHALSKI, 1992; cit., SURAI 2002).

# Material and methods

Our experiment was conducted at ISK Velké Meziříčí and included 31 boars divided into two groups consisting of animals equable in age (1-3 years) and in breeding characteristics. Breeds included in the experiment were Durok, Czech Improved White, Landrace and paternal breeds SL 38 (Pn x DU), SL 48 (LW x Pn).

The two groups of animals were fed with the basic fodder mixture (hereinafter KS – see Table 1), which did not contain either zinc or manganese in the basic premix. The two elements were added in the inorganic form (zinc oxide, manganese oxide) to the feeding ration for the control group (n = 17) and in the organic form (zinc and manganese bound in amino acid methionine) to the feeding ration for the experimental group (n = 13). Bioplex originated through hydrolyzation of soya protein by means of specific enzymes and water-soluble zinc sulphate and manganese oxide. The mixture of amino acids and peptides together with ions is injected under high pressure into the drying cylinder in which remaining water is evaporated and bioplexes (proteinates with a high content of zinc and manganese) are formed. Zinc and manganese were added into the feeding ration of both the control and the experimental group at 99.88 mg/kg/KS and 98.80 mg/kg/KS, respectively. The basic feeding ration contained 26.25 mg zinc per kg/KS and 29.23 mg manganese per kg/KS. The boars were fed 3.3 kg of fodder mixture. The premix was applied to the animals every day with the morning feeding ration. Carriers in the experimental premix were wheat seed and fodder limestone. The duration of the experiment was 63 days.

**Table 1**: Composition of the feed ration for boars

| Component | Barley | Wheat | Oat seed | Soybean meal | Molcolac | Monodicalcium-phosphate |
|---|---|---|---|---|---|---|
| % share | 32.07 | 26 | 20 | 14 | 2.5 | 1.3 |

| L-Lysin HCl | Bergafat | Calcium carbonate | KA 0.5 % | Magnesium oxide | Sodium chloride | Methionine DL |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1.5 | 1.5 | 1.15 | 0.5 | 0.3 | 0.3 | 0.02 |

At the end of the experimental period, blood was sampled from each animal by vet from *vena jugularis* into plastic sample bottles with the anticoagulant solution – heparin. The animals were sampled ca. two hours after feeding. Blood samples were transported in a cooler box and analyzed on the same day for SOD activity by using the COBAS MIRA PLUS metering device made by Randox. This method makes use of xanthine and xanthine oxidase generating superoxide radicals reacting with 2-(4-iodophenyl)-3(-4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT). The SOD activity is measured by the degree of inhibition of this reaction. In heparin plasma, the level of studied micro elements was established in the blood plasma by the instrument KONELAB T 20 xt. The analyses were carried out at the Ruminant Clinic, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences in Brno and at the Department of Animal Morphology, Physiology and Genetics, Mendel University in Brno. The blood sampling was carried out in compliance with the rules for experiments on animals (Act No. 91/1996 Coll. and Act No. 544/2002 Coll). The results were statistically processed by means of Student t-test.

## Results and discussion

During the experiment, the animals did not show any health problems. After the analysis of heparin blood it was found out that SOD activity was higher in the group, which was administered organically fixed zinc and manganese (181.3 ± 23.79 U/ml) as compared with the group that received inorganic forms of zinc and manganese (162.9 ± 30.37 U/ml). The SOD level increased in animals supplemented with the organic form of trace elements by 10.15%; the increase was however statistically insignificant (P > 0.05). Resulting values are shown in figure 1. BORAH et al. (2011) conducted an experiment with 24 pigs divided into three groups receiving resp. 100 mg Zn/kg KS, 100 mg Zn/kg KS + 1.5% Ca and 500mg Zn/kg KS. They concluded that SOD activity increased already after 15 days (P < 0.01) in the group of animals supplemented with 500 mg Zn/kg KS as compared with the control animals. The same situation was recorded after the end of experiment, which lasted 120 days. A similar trend was recorded in our experiment even with the administered dose of zinc being about four-times lower. However, our results were not statistically significant. Li et al. (2007) administered in their experiment intramuscularly a Zn supplement (metallothionein) to slaughter pigs at 0.8 and 1.6 mg/kg BW, by which they succeeded –similarly as in our experiment- to increase the SOD activity.

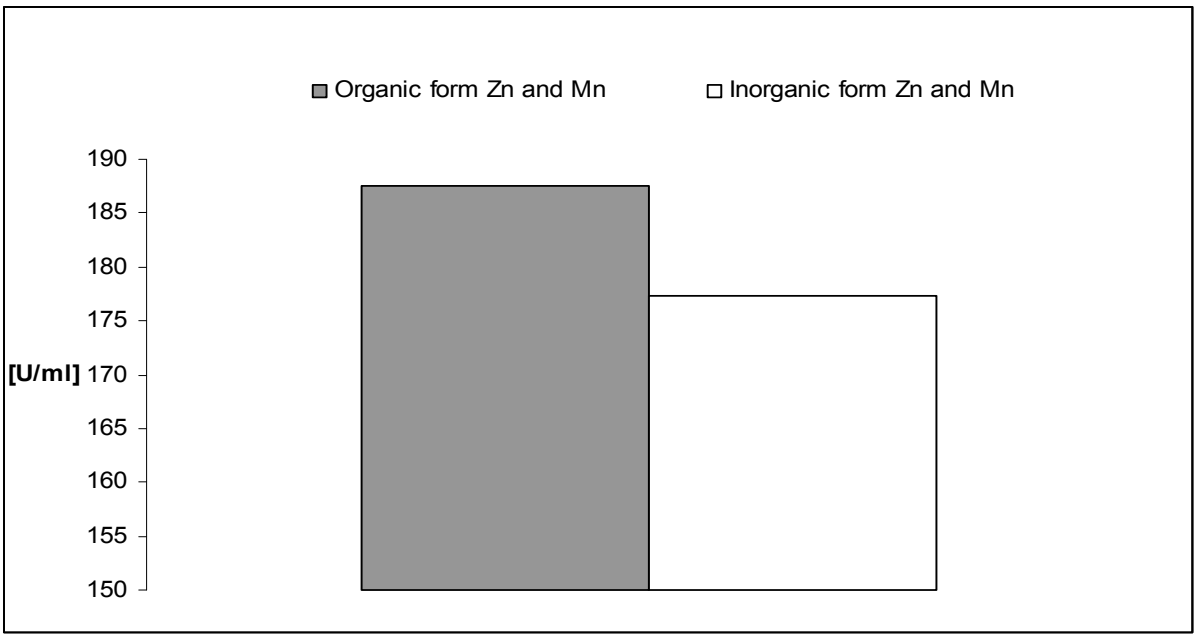



**Figure 1**: SOD activity in the blood of boars supplemented with different Zn and Mg forms

The levels of zinc and copper, which are parts of SOD, were studied in the blood plasma of boars. The SOD activity is supposed to increase with the increasing level of these elements. In our experiment, higher zinc and copper concentrations were detected in the experimental group of animals in which the zinc level amounted to 15.89 ± 4.34 µmol/l while the control group exhibited the level of 13.46 ± 2.27 µmol/l. The difference between the groups was insignificant (P > 0.05). A statistically significant difference (P < 0.05) was recorded in the case of copper content where the experimental group ranged between 27.33 ± 2.72 µmol/l and the control group ranged between 24.68 ± 3.54 µmol/l – see figure 2. All measured values corresponded to reference values published by SVOBODA and DRÁBEK (2005) according to whom physiological ranges of zinc and copper in the blood plasma of pigs are from 10.7-22.9 µmol/l and 16-39 µmol/l respectively.

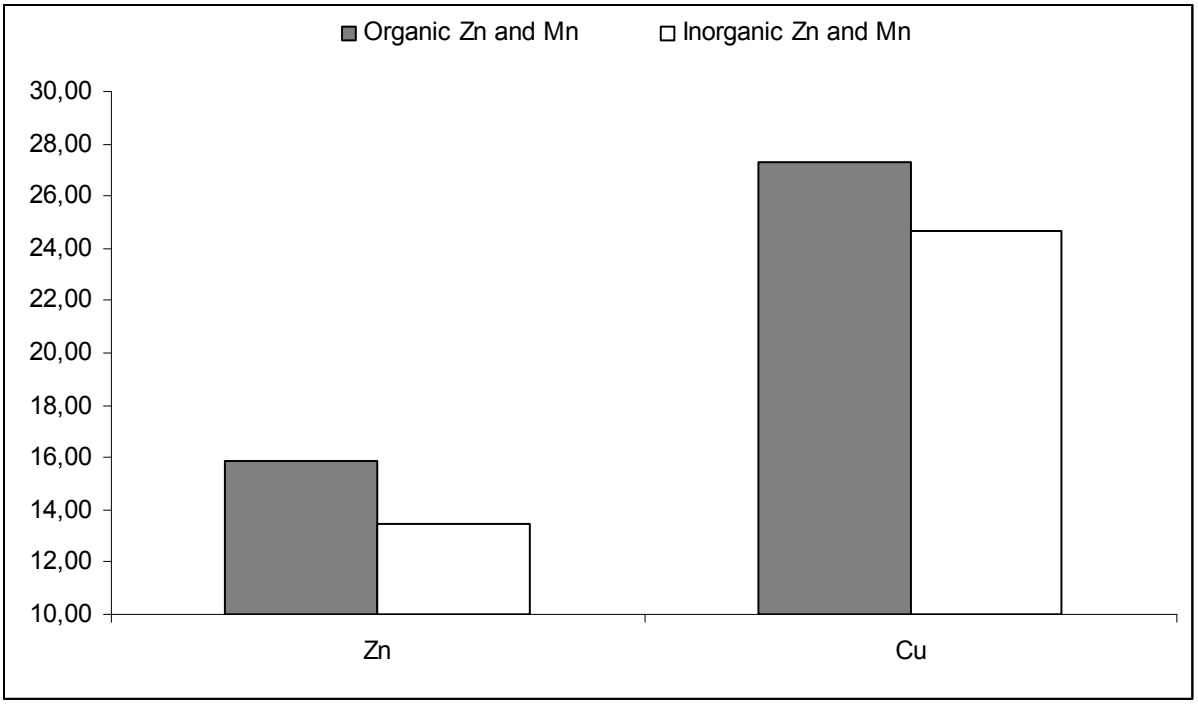



**Figure 2**: Zinc and copper concentrations in the blood plasma of boars

SOD activity is apparently increasing with the increasing zinc and copper contents in the blood plasma. The finding might be used to decrease oxidation stress caused by free radicals. Free radicals act not only in the body but also in the ejaculate of breeding boars. In their experiment, ROCA et al. (2005) found out that the increased SOD activity resulted in the occurrence of a lower percentage of pathological sperms and in improved survival and motility. VALLORANI et al. (2010) observed a similar trend of the ejaculate quality at a higher SOD activity. Their research results indicate that the storage life of such semen can be extended without any negative impacts on reproduction indicators. These facts should be subjected to further research

# Conclusions

Our study was focused on the comparison of different zinc and manganese forms (organic, inorganic) and on their influence on the activity of superoxide dismutase in the heparin blood of breeding boars. The experimental group of animals showed higher SOD activity (181.3 ± 23.79 U/ml) than the control group (162.9 ± 30.37 U/ml) ($P > 0.05$). The assessment of zinc and copper level in blood plasma revealed that the experimental group of animals exhibited an insignificant increase of zinc (15.89 ± 4.34 µmol/l) as compared with the control group (13.46 ± 2.27 µmol/l). During the administration of organically bound microelements, a significant increase ($P < 0.05$) was observed in copper (27.33 ± 2.72 µmol/l as compared with inorganic counterparts (24.68 ± 3.54 µmol/l). We can deduce from these results that the administration of organically bound microelements of zinc and manganese can reduce oxidation stress by means of higher SOD activity in blood. It would be interesting to learn within our experiment whether a similar trend of higher SOD activity occurs under given conditions also in the ejaculate of the boars.

## Acknowledgement

This project was funded from Grant No. IGA TP 8/2010.

## References

Borah, S., et al. Effect of zinc supplementation on serum levels of certain enzymes in pigs. *Indian Journal of Animal Research* [online]. 2011, [cit. 2011-02-08]. Dostupný z WWW: <http://arccjournals.com/forums/index.php?/topic/296-effect-of-zinc-supplementation-on-serum-levels-of-certain-enzymes-in-pigs/>.

Li, L.L., et al. Intramuscular administration of zinc metallothionein to preslaughter stressed pigs improves anti-oxidative status and pork quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2007, 20, s. 761-767. ISSN 10112367.

Racek, J.; Holeček, V. Enzymy a volné radikály. *Chemické listy*. 1999, 93, s. 774-780.

Roca, J., et al. Survival and in vitro fertility of boar spermatozoa frozen in the presence of superoxide dismutase and/or catalase. *Journal of Andrology*. 2005, 26, s. 15-24. ISSN 15611562.

Surai, P. F. *Natural Antioxidant in Avian Nutrition and Reproduction*.Vyd. 1. Nottingham : Nottingham University Press, 2002. 615 s. ISBN 1-897676-95-6.

Svoboda, M.; Drábek, J. Veterinární péče v chovech prasat. Brno : Veterinární a farmaceutická univerzita, 2005. Charakteristika biochemických parametrů, s. 197. ISBN 80-7305-553-8.

Štípek, S, et al. *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a v nemoci*.Vyd. 1. Havlíčkův Brod : Garda Publishiing, 2000. 320 s. ISBN 80-7169-704-4.

Vallorani, C., et al. Effects of antioxidants on boar spermatozoa during sorting and storage. *Animal Reproduction Science*. 2010, 122, s. 58-65. ISSN 03784320.

## Corresponding author

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy
Mendel University in Brno
Zemědělská 1
613 00 Brno, Czech Republic
E-mail: pavel.horky@mendelu.cz

# VITACEL® ARBOCEL®

## Das HPC-fibrillierte Rohfaserkonzentrat für alle Tierarten

ARBOCEL® RFC
Gute Verdauung Garantiert
VITACEL® RFC

## Darmzotten-Management und Durchfall-Prävention

- Längere Darmzotten ✓
- Besserer Immunstatus ✓
- Höhere Zunahmen ✓
- Weniger Durchfall ✓

ARBOCEL®
NEU: HPC-Fibrillierung


J. RETTENMAIER & SÖHNE GMBH+CO.KG
JRS Fibers designed by Nature

73494 Rosenberg (Germany)
Phone: + 49 (0) 7967 / 152 595

www.rawfibreconcentrates.com

# The effect of vitamins and organic source of zinc and copper on the quality and growth of hair in horses

**P. Jančíková, P. Horký and L. Zeman**

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Czech Republic

## Introduction

Unlike most tissues that are in a state of dynamic flux, hair is formed in a relatively short period of time, after which it is expelled from the skin surface to become isolated from the body's continuing metabolic processes. Hair is in essence a recording filament reflecting those metabolic effects that occurred during its time of formation (Combs, 1987). Attempts have been made to use hair analysis as an indicator of the whole body status of minerals, such as calcium and phosphorus (Wysocki and Klett, 1971) and trace elements such as copper, zinc and selenium (Wichert et al., 2002). However, there are still uncertainties as to whether hair content is well correlated with whole body levels and the validity of the approach in the horse remains to be confirmed (Hintz, 2000). Zinc is vitally important for the cytokinesis, maturation of keratinocytes and interactions among proteins (Kellon, 2008). Copper is cofactor for the activation of thiol-oxidase, which is responsible for the formation of disulphide-bonds in keratins (Geyer, 2005). The aim of our experiment was to find out how the application of feed additives affects the growth and quality of horse hair.

## Material and methods

The trial was realized at the Boudky – Velke Nemcice and lasted for 12 months. Sixteen Bohemian Warmblood horses were gradually included in the experiment. The horses were stabled in box stalls with feeding pump, with the access to an outdoor pen. The horses of diverse age (5-19 years), sex (15 mares and 1 gelding), similar weight class and light-to-medium workload were divided into two groups and subjected to different mineral feeding modes. During the experiment, the animals received the same basic feeding ration, which represented approx. 10 kg of hay, 1.0 kg of oats and 1.5 kg of wheat- barley meal. The intake of zinc (Zn) and copper (Cu) in both groups was calculated from feed analyses. The control group (n=8) received approx. 330 mg Zn/day and 60 mg Cu/day from the basic feeding ration. Mares in the experimental group (n=8) were fed a mixture of feed additives (Tab. 1) at 10 g/day. The total daily intake of zinc and copper in this group was 430 mg and 80 mg, respectively, the values corresponding to the recommended daily intake of trace elements (NRC, 2007). Sources of zinc and copper were organic forms of these elements (complex of amino-acids n-hydrate). The amount of mineral substances in water was not taken into account.

On the first day of the experiment, a piece of mane on the nape in horses was removed and further samplings followed after 10 weeks. The samples were dried at a temperature of 55 °C for five days. The contents of individual elements in horse hair were established by using the AAS method (atomic absorption spectrometry). The samples were collected in line with regulations for experiments on animals and analyzed according to methods used in the laboratories of Mendel University Brno pursuant to the Commission Regulation (EC) no. 152/2009. The obtained results were statistically evaluated by using the Student's t-test for paired samples.

**Table 1**: The contents of substances in 1 kg of premix

| Composition | Unit | Content |
|---|---|---|
| **Copper** | mg | 2000 |
| **Zinc** | mg | 10000 |
| **Biotin** | mg | 6000 |
| **Pyridoxine** | mg | 1500 |
| **Riboflavin** | mg | 2000 |
| **Vit. $B_{12}$** | mg | 10 |
| **Vit. D** | IU | 100000 |
| **Methionin** | g | 200 |
| **Glucose** | g | 100 |
| **BHT** | mg | 25 |
| **BHA** | mg | 5 |
| **Etoxyquin** | mg | 50 |

BHT – Butylhydroxytoluen, BHA – Butylhydroxyanisol

# Results

The initial amounts of individual elements in the samples of mane hair were compared with the final samples collected after ten weeks of experimental monitoring. The average initial and final level of monitored elements in the experimental and control group, their standard deviations and statistical correlations are presented in Table 2. The results show that the intervention into the feeding ration of mares experimental group resulted in a significant decrease of manganese and calcium content deposited in the dry matter (DM) of horse hair. In spite of the fact that the contents of iron and phosphorus in the final samples were considerably lower than in the initial samples, the decrease in the final sampling was insignificant. We found out that the zinc and copper amounts in the mane of mares decreased only very slightly after the addition of feed additive. Differences in the contents of individual elements in hairs of the control group of horses without the premix addition were insignificant between the initial and final samplings.

**Table 2**: The statistical evaluation of changes in the contents of monitored elements ($mg.kg^{-1}$ DM) in mane hair of the horses

| Component | Experimental group | | Control group | |
|---|---|---|---|---|
| | Initial taking | Final taking | Initial taking | Final taking |
| **Zinc** | 150.34 ± 40.92 | 140.22 ± 13.16 | 139.12 ± 19.29 | 142.27 ± 12.73 |
| **Copper** | 8.81 ± 3.08 | 7.29 ± 1.14 | 7.91 ± 2.07 | 7.11 ± 1.13 |
| **Manganese** | 16.63 ± 7.16 | 6.26 ± 1.81 * | 12.06 ± 5.96 | 8.23 ± 3.04 |
| **Iron** | 299.60 ± 131.32 | 200.95 ± 90.42 | 291.98 ± 150.56 | 211.19 ± 82.86 |
| **Calcium** | 2822.99 ± 709.37 | 1826.19 ± 340.20 * | 2497.03 ± 792.46 | 2055.05 ± 465.05 |
| **Phosphorus** | 571.95 ± 168.25 | 437.29 ± 50.52 | 483.41 ± 89.11 | 422.99 ± 56.57 |

* significant changes ($P < 0.05$) between the samplings in terms of groups

During ten weeks of the experiment, the average rate was monitored and evaluated of hair increment, which exhibited a significant difference ($P < 0.01$) between the experimental and control groups. The mean increment in mares receiving the feed additive amounted to 45.30 ± 3.79 mm, being by 16.7 %

higher than in the control groups with a growth rate of 38.82 ± 3.08 mm. Another measurement concerned the dependence of hair growth rate on the amount of microelements deposited in the horse hair. In both groups, the measure of mutual relation between the variables was not statistically significant in any of the monitored elements. Nevertheless, Figure 1 suggests a decreasing amount of the deposited element with the increasing growth rate. In the experimental group, a growth rate increase of 1 mm resulted in a decrease of copper amount deposited in the dry matter of hair by 0.14 $mg.kg^{-1}$. The control group was depositing copper less by 0.23 $mg.kg^{-1}$ DM with each increasing millimetre.

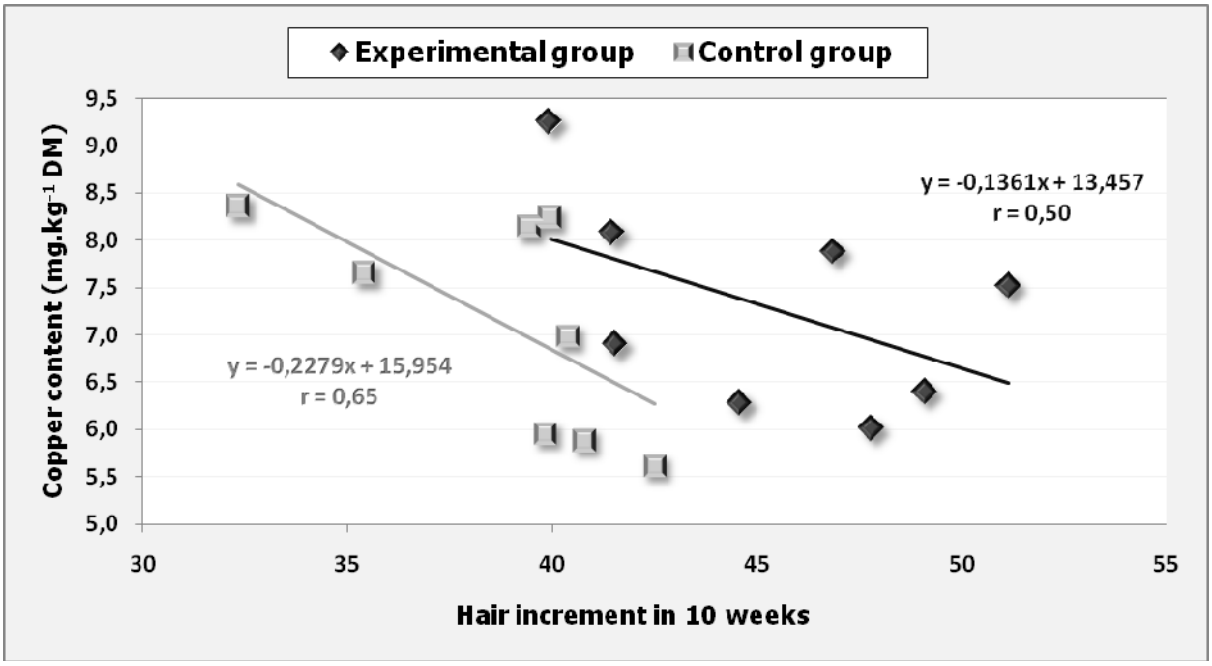



**Figure 1**: Mutual relation between the hair growth rate and the amount of copper deposited in mane hair

# Discussion

Despite the lack of scientific data to prove reliability, hair analysis has been advertised as a prognostic and diagnostic test for dietary mineral imbalances in horses (Wells et al., 1990). Mineral content of animal hair apparently varies not only with mineral intake, but also with the season (Biricik et al., 2005), breed (O'Mary et al., 1970), sex (Wells et al., 1990), age (Asano et al., 2002), hair color (Asano et al., 2005a) and body location (Combs, 1987). However, Asano et al. (2005b) revealed no significant differences among males, females, and castrated horses ($P > 0.05$), among breeds ($P > 0.05$), or as a result of the age of the horses. Wells et al. (1990) inform that the multiple relationships between minerals and their effect on metabolism could have a greater effect on hair mineral content than a single mineral deficiency or excess.

Dunnett and Less (2003) reported that both mane and tail hair growth is relatively constant over a 12 month period. Growth rate was highest in cranial part of the manes; the average was 0.789 mm/day. Our results demonstrated an similar trend. The average daily mane increment in mares receiving the feed additive amounted to 0.647 mm.

Wichert et al. (2002) determined the contents of trace elements in the hair of horses. The average amounts of Zn and Cu were 126 ± 38 $mg.kg^{-1}$ and 7.3 ± 1.7 $mg.kg^{-1}$ dry matter of horse hair, respec-

tively. The authors inform that in horses with a sporadic nontoxic oversupply of these elements, high trace element contents in plasma and hair could be seen. O'Mary et al. (1970) reported that level of dietary Cu affected concentration of Cu in hair of Holstein and Hereford cattle. White hair from both breeds was affected more than pigmented hair, and Cu content of black Holstein hair was not consistent with increasing levels of dietary Cu. Anke (1966), cited in Combs (1982) reported that pigmented hair of dairy cattle was not influenced by dietary supplementation with Cu. By comparison colour of mane of horses in our experiment was not found any significant difference in amount deposited copper. Asano et al. (2005) observed twenty-eight major and trace elements concentrations in mane hair of adult riding horses. The zinc amount in the hair reached 178 ± 36 $mg.kg^{-1}$ dry matter, copper 6.72 ± 1.96 $mg.kg^{-1}$ DM, calcium 1288 ± 341 $mg.kg^{-1}$ DM, phosphorus 294 ± 81 $mg.kg^{-1}$ DM. Armelin et al. (2003) evaluated effect of chelated mineral supplementation (Cu, Fe, K, Mg, Mn and Zn) on the depositing in horse hair. There were significant differences ($P < 0.05$) in Fe, K and Zn concentrations between the samples suggesting that supplementation increases the absorption of these elements by the animal organism. However, it cannot be said that the increase in Fe, K and Zn concentrations was due to Fe-glycine, K-glycine, Zn-glycine or the combination of these six mineral complexes that make part of the supplement. On the other hand, the supplementation had not significant effect on the Cu, Mg and Mn concentrations in the horse hair. Marycz et al. (2009) examined the correlation of elemental composition and morphological properties of the horses' hair after 110 days of feeding with high quality commercial food enriched with Zn and Cu organic forms. Average concentration of Cu, Zn, S, Si, Mg, Co, Fe and P in examined hair of experimental horses before the research was lower than at the end of the supplementation program. With reference to control horse group eating only hay and oats decrease of mentioned element concentrations was noticed. Our results demonstrated an opposite trend. It is logical that at a higher growth rate of hairs, horses in the experimental group deposited less monitored elements. Should the increment of hairs in the experimental group be identical with the increment of the control group, mares receiving the feed additive would have likely deposited more elements.

# Conclusion

During the experiment, the initial amounts of individual elements in the samples of mane hair were compared with the values of final samples taken after ten weeks of monitoring. Mares in the experimental group showed significantly decreased ($P < 0.05$) amounts of manganese and calcium deposited in the hair. Significant differences were not found in the contents of copper, zinc, iron and phosphorus. Differences in the contents of individual elements in the horse hair between the initial and final samplings were insignificant in the control group without the premix addition. The experiment was also focused on monitoring the average rate of hair increment, which was recorded in the experimental group to be 0.647 mm/day, which was significantly ($P < 0.01$) higher than in the control group with a growth rate of 0.555 mm/day. The assessment of the dependence of hair growth rate on the amount of deposited microelements in mane hair did not reveal any significant differences in these variables between the two groups. Nevertheless, the experimental results suggested a decreasing amount of the deposited elements with the increasing growth rate.

### Acknowledgement

This work has been realised in the context of grant IP 9/2010, financed by the Internal Grant Agency (IGA) of Mendel University in Brno.

## References

Armelin, M. J. A.; Ávila, R. L.; Piasentin, R. M.; Saiki, M. Effect of chelated mineral supplementation on the absorption of Cu, Fe, K, Mn and Zn in horse hair. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2003, 258: 449-491.

Asano, K., et al. Influence of the Coat Colour on the Trace Elemental Status Measured by Particle-Induced X-ray Emission in Horse Hair. *Biological Trace Element Research*. 2005a, 103: 169-176.

Asano, K., et al. Twenty-Eight Element Concentrations in Mane Hair Samples of Adult Riding Horses Determined by Particle-Induced X-Ray Emission. *Biological Trace Element Research*. 2005b, 107: 135-140.

Asano, K., et al. Concentrations of Toxic Metals and Essential Minerals in the Mane Hair of Healthy Racing Horses and Their Relation to Age. *The Journal of Veterinary Medical Science*. 2002, 64: 607-610.

Biricik, H., et al. Seasonal Changes of Some Mineral Status in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2005, 25, s. 346-348.

Combs, D. K. Hair Analysis as an Indicator of Mineral Status of Livestock. *Journal of Animal Science*. 1987, 65: 1753-1758.

Combs, D. K.; Goodrich, R. D.; Meiske, J. C. Mineral Concentrations in Hair as Indicators of Mineral Status: a Review. *Journal of Animal Science*. 1982, 54: 391-398.

Dunnett, M.; Lees, P. Trace element, toxin and drug elimination in hair with particular reference to the horse. *Research in Veterinary Science*. 2003, 75, s. 89-101.

Geyer, H. Nutritional management to keep the hoof healthy. In *Applied equine nutrition: Equine Nutrition Conference (ENUCO) 2005*. 1. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2005. s. 43-59.

Hintz, H. F. Hair as an Indicator of Nutritional Status. *Journal of Equine Veterinary Journal*. 2000, 21: 199.

Kellon, E. M. Feeding the hoof. Equine Nutritional Solutions [online]. 2008, [cit. 2010-07-31]. WWW: http://laminitis.webnode.cz/news/feeding-the-hoof-C-2008-eleanor-m-kellon-vmd-1/.

Marycz, K., Moll, E., Zawadzki, W., Nicpoń, J. The correlation of elemental composition and morphological properties of the horses hair after 110 days of feeding with high quality commercial food enriched with Zn and Cu organic forms. *EJPAU*. 2009, 12, 3.

NRC (National Research Council). *Nutrient Requirements of Horses*. 6. Washington, D. C.: The National Academies Press, 2007. 341 s. ISBN 0-309-10212-X.

O'Mary, C. C.; Bell, M. C.; Sneed, N. N.; Butts, W. T. Influence of Ration Copper on Mineral in the Hair of Hereford and Holstein Calves. *Journal of Animal Science*. 1970, 31: 626-630.

Wells, L. A.; Leroy, R.; Ralston, S. L. Mineral Intake and Hair Analysis of Horses in Arizona. *Equine Veterinary Science*. 1990, 10, s. 412-416.

Wichert, B.; Frank, T.; Kienzle, E. Zinc, Copper and Selenium Intake and Status of Horses in Bavaria. *The Journal of Nutrition*. 2002, 132: 1776-1777.

Wysocki, A. A.; Klett, R. H. Hair as an Indicator of the Calcium and Phosphorus Status of Ponies. *Journal of Animal Science*. 1971, 32: 74-78.

## Corresponding author

Ing. Petra Jančíková
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno
Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic
E-mail: petra.jancikova@mendelu.cz

# The effect of selenium in different forms on chicken growth

**Šárka Hošková, Marie Balabánová, Petr Mareš and Ladislav Zeman**

Mendel University in Brno, Department of Animal Nutrition and Forage production

## Introduction

The element selenium (Se) was discovered in 1817 and it is essential for all animals, including poultry. A biologically active form was found in 1973, when glutathione peroxidase was identified as a very potent antioxidant protecting the body from damage due to oxidation by free radicals (WANG and XU, 2008). Selenium deficiency causes growth depression of chickens, worse feathering, lower digestion of fats, atrophy of pancreas, turkey chicks can have injured muscular stomach and ducklings can have necrotic tissues and ascites. HEINDL *et al.* (2010) presented that the acceptable amount of selenium in diet for poultry in the European Union, including the Czech Republic, is 0.5 mg/kg. The organic form of selenium is deposited to a greater extent than the inorganic form. It is clear from the literature that each source of selenium is utilizable in a different way. The question is whether different levels of different resources will function similarly. WANG *et al.* (2010) published that organic Se had higher bioavailability than inorganic Se for the Se deposition on the tissue, it is probably due to their different absorption mechanism: inorganic Se is passively absorbed from the intestine by a simple diffusion process, competing with a number of mineral elements for the same absorption route, whereas organic Se is actively absorbed through the amino acid transport mechanisms. Selenium in both forms is also available for selenoprotein biosynthesis, but only Se-Met can be incorporated non-specifically into body proteins in place of Met because the methionine-tRNA cannot distinguish between Met and Se-met. WANG and XU (2008) reported that organic selenium from yeast is a highly available form of selenium for chickens and other livestock and provides antioxidant protection greater than inorganic selenium. Organic selenium from selenium yeast has been shown to enhance meat quality, growth of feathers and positively influence on thyroxine conversion to tri-iodothyronine. CHEKANI-AZAR *et al.* (2010) showed in their experiment with 240 male broilers that the replacing Sodium Selenite by Se-Yeast in broilers diets protected with a strong natural antioxidant was more effective in Se-enrichment of tissues plus the oxidative stability of stored meat. PERIC *et al.* (2009) published that birds fed 0.3 ppm of organic Se had decreased drip loss from breast meat and lower levels of apparent liver damage (indicated by lower plasma concentrations of indicator enzymes). Feathering was improved at 21 d by feeding organic Se. Feathering is influenced by the levels of methionine and cysteine in the diet. These aminoacids can be expressed in their Se form (selenomethionine and selenocysteine), rather than their more usual sulphur configuration, when organic Se is provided in feed. The Se forms are used for keratin synthesis required for feathering, and may have a sparing effect on the cysteine reserves in liver and muscle. Because organic Se is stored in tissues, when broilers are growing quickly and require amino acids for feathers, such sparing effects may improve muscle deposition.

The aim of our study was to compare the influence of organic and inorganic form of selenium on growth characteristic of broilers Ross 308.

# Materials and methods

We used 128 cockerels Ross 308 which were divided into two groups – with organic or inorganic form of selenium in experimental feed mixture. They were housed in cages and they were fed experimental feed mixtures till 10th to 41st day of age. Feed mixtures BR 2 were formulated as iso-energetic and they contained 0 %, 3 %, 6 % or 9 % of Salvia hispanica seed. Selenium was supplemented in 0.15 mg/kg with sodium selenite or bioplex (Sel-Plex, Alltechnology). Composition of experimental feed mixtures is presented in Table 1 and calculated nutrient composition is presented in table 2. Individual weighing was realized in 10th, 19th, 26th, 33rd and 41st day of age.

**Table 1**: Composition of experimental feed mixtures BR 2

| | BR 2 -1 | BR 2 - 2 | BR 2 - 3 | BR 2 - 4 |
|---|---|---|---|---|
| Wheat | 28.5 | 28.5 | 28.5 | 28.5 |
| Corn | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Soybean meal | 28.5 | 28.5 | 28.5 | 28.5 |
| Salvia hispanica | 0 | 3 | 6 | 9 |
| Starch | 9 | 6 | 3 | 0 |
| Premix (sodium selenite or bioplex) | 4 | 4 | 4 | 4 |

**Table 2**: Calculated nutrient composition of experimental feed mixtures BR 2

| | BR 2 -1 | BR 2 - 2 | BR 2 - 3 | BR 2 - 4 |
|---|---|---|---|---|
| Dry matter (g/kg) | 880.1 | 880.7 | 881.3 | 881.9 |
| Med (MJ/kg) | 11.3 | 11.3 | 11.3 | 11.3 |
| Crude protein (g/kg) | 209.2 | 215.3 | 221.6 | 227.7 |
| Fat (g/kg) | 19.0 | 28.6 | 38.2 | 47.8 |
| Fiber (g/kg) | 31.6 | 39.6 | 47.7 | 55.7 |
| Lyzin (g/kg) | 15.1 | 15.4 | 15.7 | 16.0 |
| Methionin (g/kg) | 6.7 | 6.7 | 6.7 | 6.7 |
| Selenium (mg/kg) | 0.15 | 0.15 | 0.15 | 0.15 |

# Results and discussion

Average weights of chickens in 10th, 19th, 26th, 33rd and 41st day of age and daily weight gain are presented in Table 3. Final live weights were higher in group with organic form of selenium than group with inorganic form, but these results were not significant. NIU *et al.* (2009) and PERIC *et al.* (2007) also found an insignificant effect of selenium on body weight. Also WANG and XU (2008) reported that final weight and daily gain were not affected by the dietary Se source. DLOUHÁ *et al.* (2008) recorded higher body weight after selenium supplementation in organic form.

**Table 3**: Average weights in 10th, 19th, 26th, 33rd and 41st day of age and daily weight gain (g)

| BR 2 - 1 | 10 days of age (g) | 19 days of age (g) | 26 days of age (g) | 33 days of age (g) | 41 days of age (g) | daily weight gain (g/d) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sodium selenite | 338 [a] | 677 [a] | 1059 [a] | 1664 [a] | 2312 [a] | 63.68 [a] |
| Bioplex | 341 [a] | 675 [a] | 1039 [a] | 1656 [a] | 2377 [a] | 65.68 [a] |
| BR 2 - 2 | | | | | | |
| Sodium selenite | 338 [a] | 698 [a] | 1080 [a] | 1711 [a] | 2383 [a] | 65.97 [a] |
| Bioplex | 341 [a] | 692 [a] | 1060 [a] | 1637 [a] | 2383 [a] | 65.87 [a] |
| BR 2 - 3 | | | | | | |
| Sodium selenite | 339 [a] | 679 [a] | 1054 [a] | 1745 [a] | 2400 [a] | 66.48 [a] |
| Bioplex | 343 [a] | 712 [a] | 1101 [a] | 1762 [a] | 2430 [a] | 67.32 [a] |
| BR 2 - 4 | | | | | | |
| Sodium selenite | 340 [a] | 657 [a] | 1052 [a] | 1708 [a] | 2375 [a] | 65.65 [a] |
| Bioplex | 343 [a] | 735 [b] | 1152 [a] | 1834 [a] | 2417 [a] | 66.90 [a] |

# Conclusion

We recorded higher final weights in group of chicken with organic form of selenium in feed mixtures than in group with inorganic form, but these differences were not significant.

### Acknowledgments

This project was supported by IGA of Mendelu as project no. TP 2/2011.

### References

Dlouhá, G., Ševčíková, S., Dokoupilová, A., Zita, L., Heindl, J., Skřivan, M., 2008: Effect of dietary selenium sources on growth performance, breast muscle selenium, glutathione peroxidise and oxidative stability in broilers. *Czech J. Anim. Sci.*, 53, p. 265-269.

Heindl, J., Ledvinka, Z., Englmaierová, M., Zita, L., Tůmová, E., 2010: The effect of dietary selenium sources and levels on performance, selenium content in muscle and glutathione peroxidise activity in broiler chickens. *Czech J. Anim. Sci.*, 55 (12), p. 572-578.

Chekani-Azar, S., Mansoub, N. H., Tehrani, A. A., Aghdam, F. V., Mizban, S., 2010: Effect of replacing inorganic by organic selenium sources in diet of male broilers on selenium and vitamin E contents and oxidative stability of meat. Journal of Animal and Veterinary Advances, 9 (10), p. 1501-1505.

Niu, Z., Liu, F., Yan, Q., Li, L., 2009: Effects of different levels of selenium on growth performance and immunocompetence of broilers under heat stress. *Archives of Animal Nutrition*, 63, p. 56-65.

Peric, L., Milosevic, N., Zikic, D., Kanacki, Z., Dzinic, N., Nollet, L., SPRING, P., 2009: Effect of selenium sources on performance and meat characteristics of broiler chickens. Journal of Appůied Poultry Research, 18 (3), p. 403-409.

Peric, L., Nollet, L., Milosevic, N., Zikic, D., 2007: Effect of Bioplex and Sel-Plex substitution inorganic trace mineral sources on performance of broilers. *Archiv für Geflügelkunde*, 71, p. 122-129.

Wang, Y., XU, B., 2008: Effect of different selenium source (sodium selenite and selenium yeast) on broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 144, p. 306-314.

Wang, Y., Zhan, X., Zhang, X., Wu, R., Yuan, D., 2010: Comparison of Different Forms of Dietary Selenium Supplementation on Growth Performance, Meat Quality, Selenium Deposition, and Antioxidant Property in Broilers. *Biological Trace Element Research*, 2010, p. 1-13.

## Corresponding author

Ing. Sarka Hoskova
Mendel University in Brno
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Zemedelska 1, 613 00 BRNO
E-mail: sarka.hoskova@mendelu.cz

# Futterverwertung, Vertrauen, Produktqualität, Hohe Leistung, Profitabilität, **Gesunde Tiere,** Optimale Ausnutzung des Genetischen Potentials, Hochwertige Lebensmittel

## Der optimale Gesundheitsstatus Ihrer Tiere – die Basis für Höchstleistungen!

Seit 1980 entwickelt Alltech natürliche Futtermittelkonzepte für die Tierernährung und Tiergesundheit. Mit großem Engagement in Forschung und Entwicklung werden Produkte erarbeitet, die positive Effekte auf die Gesundheit und die Leistungsfähigkeit moderner Hochleistungstiere haben.

### Alltechs erfolgreiches Produktprogramm

**Yea-Sacc®1026** - Lebendhefe
**Bioplex®** - organisch gebundene Spurenelemente
**Sel-Plex®** - organische Selenhefe
**Optigen®** - sichere Stickstoffquelle für Pansenbakterien
**Mycosorb®** - Hefeprodukt, dessen Fütterung die Adsorption von Mykotoxinen reduziert
**Bio-Mos®** - MOS-Produkt zur Förderung der Darmgesundheit
**Actigen™** - neue und kosteneffektive MOS-Technologie
**NuPro®** - funktionales Protein zur Unterstützung einer guten Darmfunktion
**Sil-All®4x4** - Siliermittel
**Synergen™** - neue Technologie aus der Festphasenfermentation

Alltech (Deutschland) GmbH
Wiesenstraße 21 (W 21), 40549 Düsseldorf
Tel.: +49 (0) 211 5066858-0
Fax: +49 (0) 211 5066858-9
E-Mail: deutschland@alltech.com
www.alltech.com • www.alltech.com/deutschland

Alltech®
**Ernährung, Gesundheit, Leistung ...*natürlich***

# Influence of different dry matter content and used silage additive on the organic matter digestibility in alfalfa silage

**Roman Poštulka and Petr Doležal**

Mendel University in Brno, Faculty of Agronomy, Department of Animal Nutrition and Forage Production

## Abstract

The alfalfa silages are the main source of vegetable protein. In our experiment we evaluated the influence of different length of wilting and used silage additive on the organic matter digestibility in the alfalfa silage. The alfalfa matter was from the first cut. The length of wilting was in the first case about 20 hours, in the second case about 30 hours. The chopped forage was treated by a bacterial inoculant or by chemical preparation at the ensile. The different length of wilting had a high significant influence ($P<0.01$) on the organic matter digestibility in the alfalfa silage. The high significant differences were detected in control silages (68.82 ± 1.810; 60.77 ± 1.478 %), in inoculated silages (68.85 ± 0.346; 57.91 ± 0.793 %) and chemically treated silages (70.03 ± 2.405; 61.96 ± 1.751 %) as well. The longer length of wilting influenced negatively the values of organic matter digestibility. The used silage additive had nonsignificant effect on the values of organic matter digestibility.

## Introduction

The alfalfa silages along with maize silages form the main parts of total mixed rations. Legumes form the main source of protein, dry matter and minerals. They produce substantial yields without any requirements for nitrogen fertiliser (DEVITTE et al., 2008). The quality of fodder can vary in dependence on the age of plants, i.e. vegetation phase at the harvest. The alfalfa has a very bad ensilability. Its ensilability can be improved by the increasing of dry matter or by using of a silage additive. The optimal dry matter content is according to LOUČKA (1997) from 38 to 45 %. The nutritive value of silages is being evaluated on the basis of their nutrient composition and fermentation process quality. At the nutrient value evaluation is necessary to make allowance for digestibility of particular nutrient and energy (POZDÍŠEK et al., 2008). The digestibility is according to FOREJTOVÁ et al., (2005) an important factor, which influences the nutritive value of feedstuff. The Quality silages are produced from young plants. Typical for these silages is a high organic matter digestibility. It is known that the organic matter digestibility is negatively affected by the content of acid detergent fibre. The correlation between the content of acid detergent fibre and organic matter digestibility is being used in prediction of feedstuffs nutritive value. (POZDÍŠEK et al., 2008). RICHTER a TŘINÁCTÝ (2009) mention for the organic matter digestibility calculation following equation: OMD = 134.2-0.211*ADF ($R^2$=0.99). According to HAKL et al., (2008) can be the content of fibre negatively influenced by the plants density.

## Material and method

The alfalfa (Medicago Sativa) variety Pálava was used in our experiment. The matter was from the first cut. The optimal vegetation phase was determined on the basis of stand control, the harvest was done in the vegetation phase early budding. The matter was wilted after the harvest. The length of wilting was 20 hours and 30 hours. After the wilting was the matter cut (theoretical length of particle

size was from 2 to 3 cm). At the ensile was the chopped forage treated (without the control variant) with a different silage additive. The bacterial inoculant (amount 15 g/t of matter, composition: *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacilus buchneri, Enterococcus faecium* and *Pediococcus spp.*, CFU: 30 x 109/g) was used. Moreover we used the chemical preparation on the basic on organic acids and salts (5l/t of matter, composition: formic acid 43 %, propionic acid 10 %, butyric acid 2 %, ammonium formate 30 %). The treated matter was used for the experimental silage making. Each variant had three repeating. After 80 days of fermentation we took the samples of silages and we analysed the samples for the content of basic nutrients, energy concentration and organic matter digestibility. The organic matter digestibility was measured by the method *in vitro*, (pepsin-cellulase method).

The significance of differences was tested by the help of Tukey test, we used two significance levels (P<0,05; P<0,01).

# Results and discussion

The different length of wilting had a high significant effect (P<0.01) on the organic matter digestibility (OMD) in alfalfa silage. The average content of dry matter was 401.5 g/kg of matter (20 hours of wilting) and 479.2 g/kg of matter (30 hours of wilting). The nutrient composition and fermentation process characteristics are shown in the tables below.

The average values of OMD were in the control silages 68.82 ± 1.810 % (20 hours of wilting) and 60.77 ± 1.478 % (30 hours of wilting). The greatest differences in the OMD were detected in inoculated silages – 68.85 ± 0.346 % (20 hours of wilting), resp. 57.91 ± 0.793 % (30 hours of wilting). The highest values of OMD were measured in the chemically treated silages 70.03 ± 2.405 % (20 hours of wilting), resp. 61.96 ± 1.751 % (30 hours of wilting). The increasing of dry matter content leaded to the significant decreasing of OMD. According to WILKINSON (2005) the good preserved silages have the OMD value getting over 70 %. FOREJTOVÁ et al., (2005) compared the values of OMD in alfalfa silage, which were measured by the method *in vivo*, by the method according to Tilley a Terry and by the method *in vitro*. In the case of the method *in vivo* it was measured 69.6 %, according to T. a T. was measured 65 % and by pepsin-cellulase method 65.9 %. The similar values published BULANG et al., (2005). It was achieved the OMD decreasing from 71.3 % (OMD of fresh matter) to 59.15 %, resp. to 59.13 % (wilted matter after 20 and 30 hours) by the wilting.

The chemical treated silages had the highest values of OMD in comparison with control and inoculated silages. The differences were nonsignificant.

McAllister et al., (1998) compared the OMD in control silages with silages inoculated by a preparation with *Enterococcus faecium* and *Lactobacilus plantarum* and with preparation including only *Lactobacilus plantarum*. These authors mention the average value of OMD in control silages 63.5 % (dry matter content 301 g/kg of matter), inoculated silages (with two strains of bacteria) had OMD 64 %, in the second inoculant was the OMD value 67.8 %.

KOMPRDA, HOMOLKA, HARAZIM (1996) evaluated the influence of different silage additive on the OMD in alfalfa silage. They used chemical preparation, two bacterial-enzymatic preparations and a combination of chemical preparation with a phytogenic additive. The highest values of OMD were achieved by the using of the preparation on the basis of formic acid (65.1 %). The silages treated by a bacterial-enzymatic preparation had 63.2 and 64.3 %. The lowest values of OMD were typical for the silages treated by formic acid in combination with a phytogenic additive (62 %).

FILIA, MUCK a CONTRERA (2007) claim that the inoculation of alfalfa leaded to the significant improving in the fermentation process, but the values of OMD were not affected by the using of inoculant.

**Table 1**: Chemical composition of alfalfa silages (20 hours of wilting)

| | Ash | Protein | EE | ADF | NDF | BE | OMD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 8,13 | 17,33 | 4,86 | 30,99 | 37,45 | 15,61 | 68,82 |
| Inoculant | 8,15 | 18,99 | 5,47 | 30,97 | 37,91 | 15,79 | 68,85 |
| Chem.treat. | 7,99 | 19,13 | 5,39 | 30,41 | 36,26 | 15,74 | 70,03 |

Ash, EE (ether extract), ADF, NDF and OMD are interpreted in %, BE (brutto energy) in MJ

**Table 2**: Chemical composition of alfalfa silages (30 hours of wilting)

| | Ash | Protein | EE | ADF | NDF | BE | OMD |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 8,25 | 18,06 | 3,45 | 34,80 | 38,88 | 15,96 | 60,77 |
| Inoculant | 8,20 | 17,37 | 6,50 | 36,16 | 41,14 | 15,90 | 57,91 |
| Chem.treat. | 7,88 | 18,64 | 2,91 | 34,24 | 37,30 | 15,87 | 61,96 |

**Table 3**: The characteristics of fermentation process quality (20 hours of wilting)

| | DM | pH | LA | AA | PA | BA | AWE | TA | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 41,27 | 4,44 | 3,24 | 0,79 | 0,00 | 0,00 | 1962,6 | 4,03 | 6,02 |
| Inoculant | 37,49 | 4,27 | 4,13 | 0,75 | 0,00 | 0,00 | 2110,3 | 4,87 | 5,93 |
| Chem.treat. | 38,64 | 4,45 | 2,65 | 0,56 | 0,00 | 0,00 | 1761,6 | 3,21 | 8,04 |

DM – dry matter (%), LA – lactic adic, AA – acetic acid, PA – propionic acid, BA - butyric acid (%), AWE – acidity water extract, TA – total acid (%), DP – degree of proteolysis (%).

**Table 4**: The characteristics of fermentation process quality (30 hours of wilting)

| | DM | pH | LA | AA | PA | BA | AWE | TA | DP |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | 47,13 | 4,39 | 5,37 | 1,16 | 0,05 | 0,12 | 2341,3 | 6,70 | 7,80 |
| Inoculant | 46,23 | 4,31 | 5,23 | 0,41 | 0,05 | 0,12 | 2311,0 | 5,81 | 5,03 |
| Chem.treat. | 48,87 | 4,11 | 6,41 | 0,87 | 0,06 | 0,14 | 2360,6 | 7,48 | 6,41 |

# Conclusion

The aim of this work was to evaluate the influence of different length of wilting and various silage additive on the OMD value in the alfalfa silages. The different length of wilting had a high significant effect ($P<0.01$) on the OMD values. These differences were measured in control silages (68.82 ± 1.810; 60.77 ± 1.478 %), in inoculated (68.85 ± 0.346; 57.91 ± 0.793 %) and in chemical treated silages as well (70.03 ± 2.405; 61.96 ± 1.751 %). The longer time of wilting influenced negatively the OMD values. The used silage additive had no effect on OMD. The negative correlation between OMD and ADF content was confirmed. The wilting affected the decreasing of OMD. The increasing of dry matter content is necessary to achieve the good fermentation process.

## Acknowledgement

This work has been realised in the context of grant IP 20/2010, financed by the Internal Grant Agency (IGA) of Faculty of Agronomy.

## References

Bulang, M, et al. Studies on the use of lucerne silage as a forage source for high-yielding dairy cows. *Journal Of Animal Physiology And Animal Nutrition* [online]. 2006, 90, 3-4, [cit. 2011-03-18]. Dostupný z WWW: <www.scopus.com>. ISSN 0931-2439.

Dewitte, K, et al. Culture, harvest and ensiling of some grain legumes. In *Forage Conservation : 13th International Conference*. 1. Nitra : SARC,RIAP Nitra, 2008. s. 54-55. ISBN 978-80-88872-87-8.

Forejtová, J, et al. Comparison of organic matter digestibility determined by in vivo and in vitro methods.*Czech Journal of Animal Science*. 2005, 50, 2, s. 47-53. Dostupný také z WWW: <http://www.cazv.cz/attachments/1-Forjetova.pdf>. ISSN 1212-1819.

Filya, I; Muck, RE; Contreras-Govea, FE. Inoculant effects on alfalfa silage: Fermentation products and nutritive value. *Journal of Dairy Science* [online]. 2007, 90, 11, [cit. 2011-03-18]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>. ISSN 0022-0302.

Hakl, J, et al. Interaction between stand structure and forage quality of alfalfa in the first cut. In *Forage Conservation : 13th International Conference*. 1. Nitra : SARC,RIAP Nitra, 2008. s. 64-65. ISBN 978-80-88872-87-8.

Komprda, Tomáš; Homolka, Petr; Harazim, Jiří. Influence of chemical, enzymatic and phytogenic ensiling preparations on digestibility, degradability and PDI and NEL content of lucerne and red clover. *Animal Feed Science and Technology* [online]. 1996, 41, 1-4, [cit. 2011-03-18]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.

Loučka, Radko. *Metodiky pro zemědělskou praxi : Silážování do vaků*. 1. Praha : ÚZPI, 1997. 38 s. ISBN 80-86153-15-0.

Mc Allister, T.A., et al. Inoculants for alfalfa silage: Effects on aerobic stability, digestibility and the growth performance of feedlot steers. *Livestock production science* [online]. 1998, 53, 2, [cit. 2011-03-18]. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.

Pozdíšek, Jan, et al. *Metodická příručka pro chovatele k výrobě konzervovaných krmiv (siláží) z víceletých pícnin a trvalých travních porostů*. 1. Rapotín : KartoTISK, s.r.o., Šumperk, 2008. 38 s. ISBN 978-80-87144-06-0.

Třináctý, Jiří; Richter, Michal; Křížová, Ludmila. *Hodnocení energie krmiv pro dojnice dle NRC (2001)*. 1. Rapotín: KartoTISK, s.r.o., Šumperk, 2009. 41 s. ISBN 978-80-87144-12-1.

Wilkinson, J.M. *Silage*. 1. Lincoln : Chalcombe Publications, 2005. 254 s. ISBN 0948617500.

## Corresponding author

Ing. Roman Poštulka
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno
Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic
E-mail: roman.postulka@mendelu.cz

# Einfluss der Energieversorgung vor und nach der Abkalbung auf Produktionsdaten und Blutparameter von Milchkühen

**M. Urdl[1], L. Gruber[1], W. Obritzhauser[2], J. Gasteiner[1], J. Häusler[1] und A. Schauer[1]**

[1] Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein
[2] Tierarztpraxis Dr. Walter Obritzhauser

## Einleitung

Die Fütterung von Milchkühen in der Trockenstehzeit übt nicht nur auf das fötale Wachstum sondern auch auf Milchleistungskriterien, Gesundheit und Fruchtbarkeit in der Folgelaktation einen entscheidenden Einfluss aus. Der Übergang von der Hochträchtigkeit in die Laktation, die sogenannte Transitphase, stellt für den Stoffwechsel eine besondere Herausforderung dar. Da die Futteraufnahme zu Laktationsbeginn nicht in gleichem Maße wie die Milchleistung ansteigt, besteht in der Regel eine negative Energiebilanz. Um den zusätzlichen Bedarf an Nährstoffen zu decken, mobilisieren die Tiere Körperreserven. Dadurch werden alternative energieliefernde Substrate – freie Fettsäuren und Ketonkörper – für den Stoffwechsel zur Verfügung gestellt. Über physiologische Grenzen gehende Belastungen verursachen Störungen dieses homöostatischen Regelmechanismus und führen zu Azetonämie und Fettlebersyndrom. In den letzten Jahrzehnten wurden zahlreiche Studien zur Fütterungsstrategie in der Trockenstehzeit und zur Vorbereitungsfütterung durchgeführt. Im vorliegenden Versuch wurde der Einfluss mangelnder und überhöhter Energiezufuhr gegenüber normgerechter Versorgung vor und nach der Abkalbung auf Produktionsdaten und Stoffwechselparameter von Milchkühen geprüft.

## Material und Methoden

Der Versuchszeitraum umfasste 12 Wochen vor bis 15 Wochen nach der Abkalbung. Die Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der Energieversorgung (75, 100 und 140 bzw. 125 % des Bedarfs nach GfE 2001, Tabelle 1), wobei Nach- und Wechselwirkungen der Fütterung vor der Abkalbung auf Parameter der Milchleistung und des Stoffwechsels nach der Abkalbung geprüft wurden.

Die unterschiedliche Energieversorgung wurde sowohl durch eine differenzierte Grundfutterration [Variation der Anteile an Maissilage, unterschiedliche Heuqualitäten (Heu gut (g)/schlecht (s))], vor allem jedoch durch stark verschiedene Kraftfutteranteile erreicht. Wenn die Energieaufnahme mit der jeweiligen Ration den Bedarf der Versuchsgruppe überstieg, wurde die Futteraufnahme beschränkt. Dies galt nicht für die Gruppe 125 postpartum (.../125), da eine über dieses Niveau hinausgehende Energieaufnahme nicht zu erwarten war (daher Fütterung ad libitum). Die Zusammensetzung der Grundfutterrationen und die Kraftfutteranteile sind in Tabelle 2 dargestellt.

Von den Versuchstieren wurden wöchentlich Blutproben an der Schwanzvene gezogen, welche unmittelbar nach der Entnahme gekühlt, nach 30 Minuten zentrifugiert und das gewonnene Serum bis zur Analyse bei -18°C tiefgefroren wurde. Zur Beurteilung des Energie- und Leberstoffwechsels wurden die Parameter Aspartat-Amino-Transferase (AST), Glutamat-Dehydrogenase (GLDH), Gesamtbilirubin, Cholesterol, Glukose, β-Hydroxybutyrat und nichtveresterte freie Fettsäuren (NEFA) bestimmt.

**Tabelle 1**: Versuchsplan

| Energieversorgung[1] | | | |
|---|---|---|---|
| präpartum | | postpartum | |
| 75 | *(n = 27)* | 75 | *(n = 9)* |
| | | 100 | *(n = 9)* |
| | | 125 | *(n = 9)* |
| 100 | *(n = 27)* | 75 | *(n = 9)* |
| | | 100 | *(n = 9)* |
| | | 125 | *(n = 9)* |
| 140 | *(n = 27)* | 75 | *(n = 9)* |
| | | 100 | *(n = 9)* |
| | | 125 | *(n = 9)* |

[1] in % des Bedarfs nach GfE (2001)

**Tabelle 2**: Grundfutterration und Kraftfutteranteile in den Versuchsgruppen

| Energie-niveau | 75 | 100 | 140/125 |
|---|---|---|---|
| Grundfutter-Zusammensetzung (% der GF-TM) | | | |
| Heu s | 40 | 20 | – |
| Heu g | – | 20 | 40 |
| Grassil. | 40 | 30 | 20 |
| Maissil. | 20 | 30 | 40 |
| Kraftfutteranteile (% der IT) | | | |
| präp. | -0,250 +0,014×ECM | -0,275 +0,028×ECM | -0,183 +0,037×ECM |
| postp. | -0,250 +0,014×ECM | -0,275 +0,028×ECM | -0,300 +0,060×ECM |

Die statistischen Analysen erfolgten mit dem Softwarepaket SAS, Version 9.2 (2010). Die Produktionsdaten wurden mit der Prozedur *GLM* mit den fixen Effekten „Energieversorgung präpartum", „Energieversorgung postpartum" sowie deren Interaktion, „Rasse" und „Laktationszahl" ausgewertet. Die Auswertung der Blutparameter erfolgte getrennt für die Versuchszeiträume vor und nach der Abkalbung mit der Prozedur *Mixed* (Varianzkomponentenschätzung Methode *REML*, Freiheitsgradapproximation *KR*). Nicht normalverteilte Daten wurden vor der statistischen Analyse logarithmisch transformiert. Für die Auswertung der Stoffwechselparameter wurden zusätzlich zu den genannten fixen Effekten die wöchentlich erhobenen Blutwerte im *repeated statement* als wiederholte Messungen am Einzeltier berücksichtigt. Bei jenen Variablen, bei denen eine signifikante Interaktion zwischen „Energieversorgung × Woche" auftrat, wurde dieser Effekt ins statistische Modell integriert. Zur Modellierung der Kovarianz wurden mehrere Strukturen geprüft, aufgrund des Akaike-Informationskriteriums (*AIC*) die autoregressive Struktur *AR(1)* gewählt.

# Ergebnisse

### Produktionsdaten

Die Energieversorgung vor der Abkalbung wirkte sich signifikant auf die postpartale Milchleistung aus (Tabelle 3). Diese stieg von 25,3 kg in der Gruppe präp.75 auf 28,2 kg (präp.100) und dann noch geringfügig auf 29,4 kg/Tag (präp.140). Ein stärkerer Effekt war bei der Energieversorgung postpartum zu verzeichnen, wo die Gruppe postp.75 (20,9 kg) den Gruppen postp.100 und postp.125 deutlich unterlegen war (29,6 bzw. 32,3 kg). Bei Betrachtung des Einflusses der präpartalen Energieversorgung auf die Milchinhaltsstoffe lag lediglich die energiemäßig restriktiv versorgte Gruppe (präp.75) etwas niedriger im Laktosegehalt als die Gruppe präp.140 (4,74 zu 4,80 %). Postpartum gab es bei allen Milchinhaltsstoffen signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Die Energieversorgung wirkte sich hier am stärksten auf den Eiweißgehalt aus (3,00 zu 3,27 und 3,40 % bei postp.75, postp.100 bzw. postp.125). Der Fettgehalt sank von 4,41 % in der Gruppe postp.75 auf 4,07 % in der postp.125-Gruppe.

Bezüglich der Milchleistung und den Milchinhaltsstoffen gab es keine Wechselwirkungen zwischen der Energieversorgung präpartum und der Energieversorgung postpartum.

**Tabelle 3**: Produktionsdaten der Folgelaktation in Abhängigkeit von der Energieversorgung prä- und postpartum (Haupteffekte)

| | | präpartum | | | postpartum | | | RSD | P-Werte | | $R^2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 75 | 100 | 125 | 75 | 100 | 125 | | $E_{präp.}$ | $E_{postp.}$ | |
| Grundfutter | kg TM | 10,56 | 10,81 | 10,55 | 11,76 | 9,98 | 10,19 | 0,81 | 0,514 | <0,001 | 0,737 |
| Kraftfutter | kg TM | 7,12 | 7,79 | 8,05 | 1,75 | 9,20 | 12,01 | 1,05 | 0,010 | <0,001 | 0,967 |
| Gesamt | kg TM | 17,89 | 18,82 | 18,83 | 13,72 | 19,40 | 22,43 | 1,36 | 0,029 | <0,001 | 0,930 |
| Rohprotein | g/Tag | 2516 | 2690 | 2683 | 1677 | 2826 | 3386 | 256 | 0,036 | <0,001 | 0,932 |
| nXP | g/Tag | 2550 | 2715 | 2722 | 1663 | 2871 | 3453 | 227 | 0,017 | <0,001 | 0,950 |
| NEL | MJ/Tag | 111,7 | 118,5 | 119,1 | 72,9 | 125,6 | 150,8 | 9,9 | 0,022 | <0,001 | 0,950 |
| Milch | kg/Tag | 25,3 | 28,2 | 29,4 | 20,9 | 29,6 | 32,3 | 3,5 | <0,001 | <0,001 | 0,846 |
| Fett | % | 4,17 | 4,24 | 4,28 | 4,41 | 4,21 | 4,07 | 0,35 | 0,544 | 0,033 | 0,498 |
| Eiweiß | % | 3,20 | 3,22 | 3,26 | 3,00 | 3,27 | 3,40 | 0,12 | 0,268 | <0,001 | 0,812 |
| Laktose | % | 4,74 | 4,79 | 4,80 | 4,68 | 4,83 | 4,83 | 0,09 | 0,031 | <0,001 | 0,642 |
| ECM | kg/Tag | 25,4 | 28,5 | 30,0 | 21,4 | 30,0 | 32,5 | 3,8 | <0,001 | <0,001 | 0,839 |

Tabelle 4: Stoffwechselparameter in Abhängigkeit von der Energieversorgung prä- und postpartum (Haupteffekte)

| *Trockenstehzeit* | | | | | *Laktation* | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| präpartum | | | | | präpartum | | | postpartum | | |
| 75 | 100 | 140 | Parameter[1] | | 75 | 100 | 140 | 75 | 100 | 125 |
| -15,6[a] | -3,2[b] | 14,6[c] | Energiebilanz | MJ NEL | -8,3[b] | -13,4[ab] | -16,5[a] | -33,3[a] | -9,9[b] | 4,9[c] |
| 24,7[a] | 29,0[b] | 28,2[b] | AST | IU/l | 33,9[a] | 37,7[b] | 35,6[ab] | 35,7 | 34,5 | 36,9 |
| 3,277[a] | 4,292[b] | 5,410[c] | GLDH | IU/l | 5,96 | 6,05 | 6,42 | 5,28[a] | 6,27[b] | 6,99[b] |
| 1,594[b] | 1,283[a] | 1,188[a] | Bilirubin | µmol/l | 1,333 | 1,352 | 1,428 | 1,699[a] | 1,238[b] | 1,224[b] |
| 4,007[b] | 3,713[a] | 3,599[a] | Harnstoff | mmol/l | 3,621[a] | 4,005[b] | 4,016[b] | 3,872[ab] | 4,041[b] | 3,729[a] |
| 2,699 | 2,569 | 2,527 | Cholesterol | mmol/l | 3,909 | 4,148 | 4,079 | 4,060 | 4,123 | 3,953 |
| 3,085[a] | 3,197[a] | 3,335[b] | Glukose | mmol/l | 2,802 | 2,798 | 2,796 | 2,461[a] | 2,926[b] | 3,009[b] |
| 0,709 | 0,712 | 0,646 | β-Hydroxybutyrat | mmol/l | 0,903 | 0,980 | 0,956 | 1,371[c] | 0,880[b] | 0,702[a] |
| 0,164[b] | 0,117[a] | 0,116[a] | NEFA | mmol/l | 0,150[a] | 0,166[ab] | 0,186[b] | 0,258[b] | 0,139[a] | 0,130[a] |

[1] bei logarithmierten Parametern *LSMeans* nach statistischer Auswertung rücktransformiert

## Stoffwechselparameter

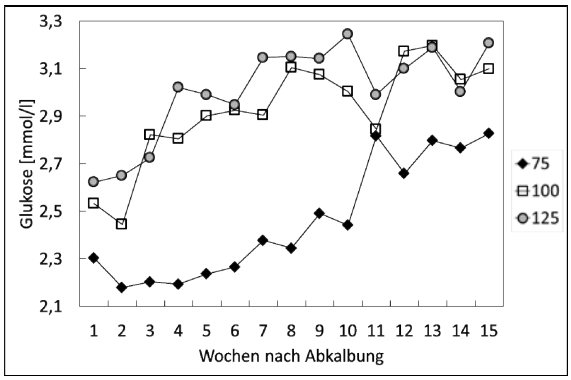
### *Versuchszeitraum Trockenstehzeit*

Signifikant erhöhte NEFA-Werte in der Gruppe präp.75 zeigen, dass eine (zu) niedrige Energieversorgung schon vor der Abkalbung zu einem Einschmelzen von Körperreserven führt. Ebenso weist der höhere Bilirubingehalt auf die Energiemangelsituation bei den Tieren dieser Gruppe hin. Die Blutglukosekonzentration war bei der Gruppe präp.140 signifikant höher (3,34 mmol/l gegenüber 3,20 und 3,09 in den Gruppen 100 bzw. 75). Die Leberenzymwerte (AST, GLDH) lagen trotz statistisch abzusichernder Differenzen generell auf einem niedrigen Niveau (im Schnitt < 30 IU/l bzw. zwischen 3 und 6 IU/l). Obwohl die Differenzierung der Energieversorgung zwischen Mangel- und überversorgter Gruppe ca. 30 MJ NEL ausmachte, waren keine dementsprechend großen Unterschiede bei β-Hydroxybutyrat festzustellen (0,71 vs. 0,65 mmol/l in den Gruppen 75 bzw. 140).

### *Versuchszeitraum Laktation*

Die Energieversorgung postpartum übte den deutlichsten Einfluss auf die untersuchten Stoffwechselparameter aus. Eine nicht bedarfsgerechte Fütterung zu Laktationsbeginn belastet den Stoffwechsel der Tiere zusätzlich zum in der Regel schon bestehenden Energiedefizit. Auf diese Mangelsituation reagierten die Variablen Glukose, β-Hydroxybutyrat und freie Fettsäuren am empfindlichsten. Anhand des Verlaufs dieser diagnostisch vielfach zur Beurteilung der Stoffwechselsituation herangezogenen Werte ist erkennbar (Abbildung 1), dass der Blutglukosespiegel bei den Gruppen 100 und 125 direkt nach der Abkalbung zu steigen beginnt, während dies in der Energiemangelgruppe 75 erst ab der 7. Laktationswoche geschieht. Ebenfalls deutlich zu erkennen ist, dass die Ketogenese zwischen der 4. und 6. Laktationswoche ein Maximum erreicht. Das Niveau von β-Hydroxybutyrat lag in der Gruppe 75 wesentlich höher als bei bedarfsgerecht versorgten Tieren, obwohl auch hier ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt wurde (1,37 mmol/l gegenüber 0,88 und 0,70 in den Gruppen 75, 100 bzw. 125). Die NEFA's pendeln sich bei den Gruppen 100 und 125 nach 4 Wochen auf einem Niveau von ca. 0,11 mmol/l ein, während die unterversorgte Gruppe auch nach 11 Wochen noch deutlich höhere Werte aufweist. Auch im Gesamtbilirubingehalt spiegelt sich die negative Energiebilanz der Gruppe 75 (1,70 µmol/l) gegenüber den anderen Gruppen wider (im Schnitt 1,23 µmol/l). Obwohl bei Glutamat-Dehydrogenase signifikante Unterschiede festgestellt wurden, sind die Aktivitätswerte dieses Leberenzyms in diesem Versuch ungewöhnlich niedrig (5 bi 7 IU/l). Aus den Ergebnissen bei Aspartat-Aminotransferase ist kein gerichteter Einfluss der Energieversorgung erkennbar.

Die Energieversorgung vor der Abkalbung wirkte sich nicht so stark auf die stoffwechselrelevanten Kenngrößen aus. Die signifikant erhöhte Konzentration freier Fettsäuren bei einer energetischen Überversorgung in der Trockenstehzeit (0,19 mmol/l, Gruppe präp.140) deutet auch in diesem Versuch darauf hin, dass Tiere nicht verfettet zur Abkalbung kommen sollten. Dadurch erhöht sich das Risiko, an einem Fettlebersyndrom zu erkranken.



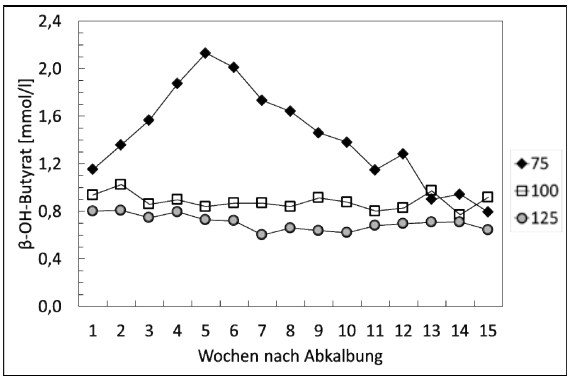




**Abbildung 1**: Glukose und β-Hydroxybutyrat in Abhängigkeit der Energieversorgung postpartum

# Diskussion

Die Ergebnisse zum Einfluss der Energieversorgung vor der Abkalbung auf Produktionsdaten decken sich mit jenen von McNamara et al. (2003), die ebenfalls von signifikant positiven Effekten höherer Energieversorgung auf die Milchleistung in der Folgelaktation berichten. Auch Ryan et al. (2003) verzeichneten eine tendenziell höhere Milchleistung bei gleichen Fett-, Eiweiß- und Laktosegehalten bei einer Überversorgung präpartum im Gegensatz zu bedarfsgerechter Fütterung. Bei Variation der Energieversorgung vor der Abkalbung wurden bei Grummer et al. (Überversorgung, Kalbinnen; 1995), Agenäs et al. (niedrig/mittel/hoch; 2003) und Dann et al. (unter-/bedarfsgerecht/überversorgt; 2006) keine Unterschiede in der Milchleistung und den Milchinhaltsstoffen in der Folgelaktation festgestellt. Beim Versuch von Rabelo et al. (2003), die vor der Abkalbung zwei Gruppen unterschiedlicher Energieversorgung (niedrig/hoch) postpartal in jeweils zwei weitere Untergruppen teilten, konnten dagegen weder Effekte der prä- noch der postpartalen Energieversorgung auf die Milchleistungsparameter von Kühen verzeichnet werden. Allerdings hatten Kalbinnen der präpartal niedrig versorgten Gruppe höhere FCM-Leistungen und Milchfettgehalte. Auch Douglas et al. (2006) berichten von einer durchschnittlich um 2 kg höheren Milchleistung bei ihrer Versuchsgruppe, die im Zeitraum vor der Abkalbung unter dem Energiebedarf gefüttert wurde, im Gegensatz zu einer deutlich überversorgten Gruppe. Die Differenz konnte allerdings nicht statistisch abgesichert werden. Signifikant war jedoch die postpartal höhere Futteraufnahme der präpartum unterversorgten Kühe. Bei den Milchinhaltsstoffen in der Folgelaktation zeigten sich in dieser Studie keine Unterschiede. Umfangreiche Literaturübersichten zum Einfluss der Energieversorgung vor der Abkalbung wurden von Lins et al. (2003) und kürzlich von Remppis et al. (2011) publiziert.

Die enge Beziehung der Stoffwechselmetabolite Glukose, β-Hydroxybutyrat und NEFA mit der Energiebilanz im vorliegenden Versuch wurde in der Arbeit von Kronschnabl (2010) – anhand eines umfangreichen Datenmaterials aus mehreren Fütterungsversuchen – mittels multipler Regressionsanalyse ebenfalls als höchst signifikant identifiziert. Bei der Erstellung von Prognosebereichen übte in den meisten Fällen auch die Laktationswoche laktierender Milchkühen einen signifikanten Einfluss auf die Konzentrationen dieser Blutparameter aus. Auch bei Bilirubin kann diesbezüglich eine Übereinstimmung zwischen beiden Studien festgestellt werden.

Bei Kronschnabl (2010) findet sich auch eine Übersicht publizierter Referenzbereiche von Blutparametern beim Rind. Bei GLDH zeigten sich bei Zusammenfassung der Versuchsdaten zur Berechnung der Prognosebereiche unspezifische Schwankungen und in der Regressionsanalyse konnte kein signifikanter Zusammenhang mit der Energiebilanz beobachtet werden. Die relativ niedrigen, jedoch signifikant unterschiedlichen Aktivitätswerte dieses leberspezifischen Enzyms in vorliegendem Fütterungsversuch liegen deutlich unter den meisten der bei Kronschnabl (2010) zitierten Referenzwerte und erhärten bestehende Zweifel, dass dieser Blutparameter zur Beurteilung von Energiemangelsituationen herangezogen werden kann. Im Gegensatz dazu wurden in einer früheren Untersuchung unserer Arbeitsgruppe (Obritzhauser 2000) GLDH- und AST-Aktivitäten auf ähnlichem Niveau festgestellt und die Glutamat-Dehydrogenase als empfindlichster Parameter einer Leberstoffwechselbelastung identifiziert. Nicht grafisch dargestellt, wurde in Übereinstimmung mit Kronschnabl (2010) festgestellt, dass der Cholesterolgehalt sehr vom Laktationsstadium beeinflusst wird.

Die β-Hydroxybutyrat-Konzentrationen der postpartal nicht bedarfsgerecht und der nach Norm versorgten Gruppe liegen über den Referenzwerten bzw. im subklinischen Ketosebereich und weisen auf die starke Stoffwechselbelastung zu Laktationsbeginn hin. Die alleinige Betrachtung der übrigen Blutparameter und der Vergleich mit Referenzwerten würde keinen Rückschluss auf diese im Versuch bewusst herbeigeführte Situation geben.

# Schlussfolgerungen

Die Energieversorgung vor der Abkalbung übt einen Einfluss auf die Milchleistung postpartum aus:

- Eine energetische Unterversorgung präpartum wirkt sich in einer verminderten Milchmenge in der darauf folgenden Laktation aus. Grund dafür ist die Wiederauffüllung der Körperreserven der Kühe nach der Abkalbung.
- Werden Milchkühe jedoch über ihren Energiebedarf hinaus gefüttert, steigt die Einsatzleistung nach der Abkalbung nicht signifikant gegenüber bedarfsgerecht versorgten Tieren.
- Die Milchinhaltsstoffe werden von der präpartalen Energieversorgung kaum beeinflusst.

Die Energieversorgung von Milchkühen postpartum wirkt noch stärker auf die Milchleistungsparameter:

- Das zu Beginn der Laktation auftretende Energiedefizit wird durch eine nicht bedarfsgerecht ausgerichtete Fütterung noch verstärkt und schlägt sich in einem deutlichen Abfall der Milchleistung gegenüber Norm- und Überversorgung nieder.
- Alle Milchinhaltsstoffe werden signifikant beeinflusst. Mit steigender Energieversorgung nach der Abkalbung sinkt der Fettgehalt, der Eiweiß- und der Laktosegehalt steigen.

Zwischen der Energieversorgung präpartum und der Energieversorgung postpartum zeigten sich im Versuch keine Wechselwirkungen hinsichtlich der Milchleistungsparameter. Bei der Futteraufnahme war die Wirkung unterschiedlicher Energieniveaus vor der Abkalbung auf die verschiedenen Gruppen postpartaler Energieversorgung nahezu gleich.

- Eine energetisch differenzierte Fütterung vor der Abkalbung führt zu keinen dramatisch veränderten Stoffwechselparametern in der Folgelaktation. Bestätigt wurde jedoch, dass eine über den Bedarf hinausgehende Energieversorgung in der Trockenstehzeit eine verstärkte Anflutung nichtveresterter freier Fettsäuren postpartum bewirkt und somit das Risiko eines Fettlebersyndroms erhöht.
- Die am Beginn der Laktation bestehende negative Energiebilanz darf in diesem Zeitraum durch Unterversorgung nicht zusätzlich verstärkt werden. Das Versagen homöostatischer Regelmechanismen, damit einhergehende Stoffwechselentgleisungen und das gehäufte Auftreten von Azetonämien führen zu erheblichen ökonomischen Verlusten in der Milchproduktion.

Bei regelmäßiger Anwendung eignen sich Stoffwechselscreenings zur prophylaktischen Überwachung des Gesundheitszustands von Milchviehherden. Es ist darauf zu achten, dass es bei den Blutwerten hohe tierindividuelle Schwankungen gibt und nicht von Einzeltieren auf den ganzen Bestand geschlossen werden kann.

## Literatur

Agenäs, S., E. Bursted und K. Holtenius, 2003: Effects of feeding intensity during the dry period. 1. Feed intake, body weight, and milk production. J. Dairy Sci. 86, 870-882.

Dann, H.M., N.B. Litherland, J.P. Underwood, M. Bionaz, A. D'Angelo, J.W. McFadden und J.K. Drackley, 2006: Diets during far-off and close-up dry periods affect periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. J. Dairy Sci. 89, 3563-3577.

Douglas, G.N., T.R. Overton, H.G. Bateman II, H.M. Dann und J.K. Drackley, 2006: Prepartal plane of nutrition, regardless of dietary energy source, affects periparturient metabolism and dry matter intake in Holstein cows. J. Dairy Sci. 89, 2141-2157.

GfE (Gesellschaft für Ernährungsphysiologie – Ausschuss für Bedarfsnormen), 2001: Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere, Nr. 8: Empfehlungen zur Energie- und Nährstoff-versorgung der Milchkühe und Aufzuchtrinder. Frankfurt am Main, DLG-Verlag, 135 S.

Grummer, R.R., P.C. Hoffman, M.L. Luck und S.J. Bertics, 1995: Effect of prepartum and postpartum dietary energy on growth and lactation of primiparous cows. J. Dairy Sci. 78, 172-180.

Kronschnabl, C., 2010: Ermittlung von laktationsspezifischen Prognosebereichen zur Beurteilung der Konzentration von Blutparametern beprobter Milchkühe. Diss. LMU München, 230 S.

Lins, M., L. Gruber und W. Obritzhauser, 2003: Zum Einfluss der Energieversorgung vor der Abkalbung auf Futteraufnahme, Körpermasse und Körperkondition sowie Milchleistung und Stoffwechsel von Milchkühen. Übers. Tierernährg. 31, 75-120.

McNamara, S., F.P. O'Mara, M. Rath und J.J. Murphy, 2003: Effects of different transition diets on dry matter intake, milk production, and milk composition in dairy cows. J. Dairy Sci. 86, 2397-2408.

Obritzhauser, W., 2000: Einfluss von Grundfutterqualität und Kraftfutterversorgung auf Stoffwechsel-parameter der Milchkühe. Bericht 27. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 6.-8. Juni 2000, 111-117.

Rabelo, E., R.L. Rezende, S.J. Bertics und R.R. Grummer, 2003: Effects of transition diets varying in dietary energy density on lactation performance and ruminal parameters of dairy cows. J. Dairy Sci. 86, 916-925.

Remppis, S., H. Steingass, L. Gruber und H. Schenkel, 2011: Effects of energy intake on performance, mobilization and retention of body tissue, and metabolic parameters in dairy cows with special regard to effects of pre-partum nutrition on lactation – A review – . Asian-Aust. J. Anim. Sci. 24 (4), 540-572.

Ryan, G., J.J. Murphy, S. Crosse und M. Rath, 2003: The effect of pre-calving diet on post-calving cow performance. Livest. Prod. Sci. 79, 61-71.

SAS Institute Inc., 2010: SAS/STAT 9.22 User's Guide. Cary, NC (USA): SAS Institute Inc., 8460 S.

## Autorenanschrift

DI Marcus Urdl
Institut für Nutztierforschung
Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein
Raumberg 38, A-8952 Irdning
E-Mail: marcus.urdl@raumberg-gumpenstein.at

# Auswirkungen des Einsatzes von getrockneten oder getoasteten Sojabohnen in der Milchviehfütterung

**Thomas Ettle und Anton Obermaier**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft

## Einleitung

Im Jahr 2009 wurden am Versuchsgut Grub auf einer Fläche von 20 ha Soja angebaut. Während ein Teil der Ernte als Vollfettbohnen getrocknet wurde, wurde ein anderer Teil getoastet. In Sojabohnen sind Trypsininhibitoren enthalten, die durch den Toastungsprozess deaktiviert werden. Obwohl die Trypsinhibitoren beim Wiederkäuer nicht einsatzbegrenzend sein sollten, herrscht verschiedentlich die Meinung vor, dass auch in der Milchviehfütterung getoastete Bohnen eingesetzt werden sollten. Als Ursache könnten eine Erhöhung des UDP-Gehaltes oder auch positive Auswirkungen auf die Schmackhaftigkeit angenommen werden. Vor diesem Hintergrund wurde in einem Milchviehfütterungsversuch an der bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) in Grub der Einsatz von getrockneten und getoasteten Sojabohnen verglichen.

## Material und Methoden

34 Milchkühe (Fleckvieh) wurden unter Berücksichtigung von Laktationsstand, Leistung, Futteraufnahme und Milchinhaltsstoffen (jeweils Mittelwerte aus zweiwöchiger Vorperiode) auf zwei Versuchsgruppen (Sojabohne getrocknet, Sojabohne getoastet) aufgeteilt. Es wurden Tiere ab dem 40. Laktationstag für den Versuch herangezogen. Die Kühe befanden sich in der ersten bis achten Laktation (im Mittel 2,3 ± 1 Laktationen).

Den Tieren wurde eine Teilmischration (PMR) ad libitum angeboten, die täglich einmalig mit dem Futtermischwagen angemischt und vorgelegt wurde. Die PMR basierte auf Maissilage, Grassilage, Maiskornsilage, Heu und einem Kraftfutter, in dem je nach Versuchsgruppe entweder getrocknete oder getoastete Sojabohnen enthalten waren (Tabelle 1). Zusätzlich wurde ab einer Milchleistung von 24 kg/Tier und Tag Leistungskraftfutter (LKF; 29 % Gerste, 28 % Weizen, 20 % Rapsextraktionsschrot, 10 % Sojaextraktionsschrot, 10 % Körnermais, 1,5 % Ca-Carbonat, 0,9 % Zuckerrübenmelasse, 06 % Natriumchlorid) nach Leistung verabreicht. Bei einer kalkulierten Aufnahme von 1,5 kg Sojabohnen je Tier und Tag lag der berechnete Gesamtfettgehalt der Tagesration bei mittlerer LKF-Aufnahme bereits über 4 %, so dass neben den Sojabohnen Sojaextraktionsschrot als weiterer Proteinträger mit geringem Fettgehalt in die Rationen aufgenommen wurde. Die Aufnahme an PMR wurde tierindividuell über automatische Wiegetröge erfasst, die Aufnahme an LKF über die Kraftfutterstation des Melkautomaten. Die Milchleistung wurde täglich erfasst, Milchproben wurden alle 2 Wochen von allen Teilgemelken eines Tages gezogen. Von den PMR wurden zweimal wöchentlich Proben gezogen, die zu 4-wöchigen Mischproben vereinigt und nach Naumann und Bassler (1997) auf die Rohnährstoffgehalte hin untersucht wurden.

Die PMR wurden nach den Leitlinien der GfE (1991) mit jeweils 5 Hammeln im Verdauungsversuch auf die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe hin überprüft. Aus den ermittelten Verdaulichkeiten wurden in Verbindung mit den Rohnährstoffgehalten die jeweiligen Energiegehalte nach GfE (1995) berechnet.

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Hilfe einer Varianzanalyse (Proc GLM) mit dem Statistikprogramm SAS. Gruppenmittelwerte wurden ab einem Signifikanzniveau von P<0,05 als signifikant unterschiedlich gewertet.

**Tabelle 1**: Zusammensetzung (% der TM) der Versuchsrationen und Rohnährstoff- und Energiegehalte

| | Versuchsgruppe | |
|---|---|---|
| | Sojabohne, getrocknet | Sojabohne, getoastet |
| Sojabohnen, getrocknet | 8,1 | - |
| Sojabohnen, getoastet | - | 8,1 |
| Grassilage | 26,8 | |
| Maissilage | 39,5 | |
| Heu/Stroh | 5,0 | |
| Maiskornsilage | 7,5 | |
| Weizen | 5,1 | |
| Sojaextraktionsschrot | 5,1 | |
| Melasse | 1,8 | |
| Mineralfutter | 1,2 | |
| Realisierte Rohnährstoff- und Energiegehalte (n=3 je Gruppe): | | |
| TM (g/kg) | 420±14 | 421±18 |
| XP (g/kg TM) | 134±2 | 138±6 |
| nXP (g/kg TM) | 154±0,4 | 157±1,5 |
| RNB (g/kg TM) | -3 | -3 |
| XF (g/kg TM) | 171±11 | 158±8 |
| XL (g/kg TM) | 44±1 | 48±1 |
| NEL (MJ/kg TM) | 7,31±0,01 | 7,46±0,01 |

# Ergebnisse und Diskussion

Zwischen den Versuchsgruppen ergaben sich bei vergleichbarer Aufnahme an Leistungskraftfutter keine Unterschiede in der täglichen Gesamttrockenmasseaufnahme (siehe Tabelle 2). Gegenüber der Vorperiode war die Futteraufnahme in beiden Gruppen vor allem zu Versuchsbeginn vermindert und im Mittel des Versuches lag die Gesamtfutteraufnahme mit unter 20 kg TM/Tag auf vergleichsweise niedrigem Niveau. Auch wenn die analysierten Fettgehalte der PMR mit 4,4 bzw. 4,8 % der TM in den Gruppen Sojabohne getrocknet bzw. getoastet noch nicht als sehr hoch einzustufen sind, ist dieser Rückgang der Futteraufnahme doch im Zusammenhang mit dem Gesamtfettgehalt der Ration zu diskutieren. So wurde gezeigt, dass Sojabohnenzulagen vor allem bei maissilagereicheren Rationen die Verdaulichkeit der pflanzlichen Gerüstsubstanzen reduzieren können (Schwarz und Kirchgessner, 1995). Ein weiterer Einflussfaktor auf den Rückgang der Futteraufnahme im Versuch im Vergleich zur Vorperiode könnte die Rationsumstellung gewesen sein. Beim direkten Vergleich von Rationen, in denen Sojaextraktionsschrot und Maniokmehl durch Vollfettsojabohnen ausgetauscht wurden, beobachteten Preissinger et al. (1997) positive Auswirkungen auf die Futteraufnahme bei der Milchkuh. Dieser Effekt war vor allem bei täglichen Aufnahmen von 1 kg Sojabohnen ersichtlich. Im Vergleich dazu war die Futteraufnahme bei täglich verabreichten Mengen von 2 kg Sojabohnen jedoch tendenziell bis signifikant erniedrigt. Insgesamt scheinen positive Effekte von Sojabohnenzulagen auf die

Futteraufnahme insbesondere bei Rationen mit hohem Anteil an pflanzlichen Gerüstsubstanzen bzw. bei höherem Grassilageanteil möglich (Preissinger et al. 1997).

Die tägliche Milchleistung lag in den Gruppen Sojabohne getrocknet und Sojabohne getoastet mit 28,6 und 28,4 kg/Tier und Tag auf gleichem Niveau. Als Grund für beobachtete Milchleistungssteigerungen nach Zulage von Sojabohnen wird die Erhöhung des Energiegehaltes der Ration diskutiert (Preissinger et al. 1997). In vorliegender Untersuchung wurden in die Rationen beider Versuchsgruppen 1,5 kg Sojabohnen/Tag aufgenommen. Dabei ist ein Effekt des Toastens auf den Fettgehalt und den Energiegehalt nicht zu erwarten. Im Verdauungsversuch ergab sich für die PMR mit getoasteten Sojabohnen ein leichter Vorteil in der Verdaulichkeit der Rohfaser und der organischen Substanz und als Konsequenz eine leicht erhöhte Energiekonzentration (Tabelle 1). Dieser Effekt, der nicht durch das Toasten der Sojabohnen erklärbar ist, egalisiert sich durch die etwas verringerte Gesamtfutteraufnahme in der Gruppe Sojabohnen getoastet, so dass die tägliche Energieaufnahme zwischen den Gruppen gleich ist. In gleicher Weise errechnet sich für die beiden Versuchsgruppen eine nahezu identische Aufnahme an nXP. Allerdings ist anzumerken, dass keine Angaben über den tatsächlichen Gehalt an UDP in den getrockneten und getoasteten Sojabohnen vorliegen, so dass identische Werte gemäß DLG (1997) angenommen wurden.

**Tabelle 2**: Futteraufnahme, Milchleistung und Milchinhaltsstoffe im Mittel der Versuchsperiode

| | Kontrolle | Sojakuchen |
|---|---|---|
| Futteraufnahme, kg TM/d | 19,7±1,8 | 19,4±2,2 |
| LKF-Aufnahme, kg TM/d | 2,4±1,5 | 2,2±1,5 |
| NEL-Aufnahme, MJ/d | 164±14 | 146±17 |
| nXP-Aufnahme, g/d | 3112±312 | 3124±376 |
| Milchleistung, kg/d | 28,6±5,5 | 28,4±6,3 |
| Milchfett, % | 3,76±0,52 | 3,72±0,44 |
| Milcheiweiß, % | 3,49±0,14 | 3,42±0,15 |
| Milchharnstoff, mg/l | 185±24 | 185±26 |
| ECM, kg/d | 27,8±4,8 | 27,3±4,9 |

Neben der täglichen Milchleistung war auch der Milchfett- und Milcheiweißgehalt zwischen den Versuchsgruppen vergleichbar, so dass auch die ECM zwischen den Gruppen nur geringfügig unterschiedlich war.

Im Gegensatz zu vorliegender Untersuchung zeigen Daten von Grummer et al. (1994) nach Austausch von etwa 2,8 kg TM unbehandelten gegen 2,8 kg TM gerösteten Sojabohnen eine signifikante Steigerung der Milchleistung von 43,2 auf 44,7 kg/Tag. In vitro–Untersuchungen zu Folge führte das Rösten zu einer Steigerung des Anteils an UDP am XP von 25 auf 48%. Auch in einer Untersuchung von Faldet und Satter (1991) führte der Austausch von unbehandelten gegen hitzebehandelte Vollfettsojabohnen zu einer Steigerung der Milchleistung von 34,2 auf 38,9 kg/Tag. Auch hier wird die Leistungssteigerung auf einen Anstieg des UDP-Gehaltes infolge der Hitzebehandlung zurückgeführt. Im Vergleich zu vorliegender Untersuchung lag die Milchleistung in den beiden zitierten Studien auf höherem Niveau. Dementsprechend kann diskutiert werden, dass Effekte einer Hitzebehandlung nur bei höheren Leistungen in einer Situation bei der der UDP-Gehalt der Ration und damit zusammenhängend die nXP-Anflutung stärker limitierend wirken, zum Tragen kommt. Darüber hinaus lag die tägliche Aufnahme an Sojabohnen mit 1,5 kg in vorliegender Untersuchung relativ gering, während in den Arbeiten von Grummer et al. (1994) und Faldet und Satter (1991) bei insgesamt wesentlich höheren Futteraufnahmen auch die tägliche Aufnahme an Sojabohnen höher lag. Aus den Daten des vorliegenden Versuches lässt sich ableiten, dass auch bei Annahme eines starken Effektes des Toastens der Sojabohnen auf den UDP-Gehalt die Auswirkungen auf den nXP-Gehalt der Gesamtration und die tägliche nXP-Anflutung nur gering sind. Darüber hinaus scheint die Versorgung mit nXP in beiden Versuchs-

gruppen deutlich über dem Bedarf zu liegen. Dementsprechend ist nicht auszuschließen, dass bei höherer Milchleistung oder in einer Situation mit stärker leistungslimitierender nXP-Versorgung positive Auswirkungen des Toastens der Sojabohnen aufgetreten wären. Allerdings ist darauf hinzuweisen, dass auch der Milchharnstoffgehalt keinerlei Hinweise auf eine Differenzierung des UDP-Gehaltes der Ration, der nXP-Versorgung und der RNB gibt. Dementsprechend können auch aus diesem Parameter keine Rückschlüsse auf mögliche Einflüsse des Toastens auf den UDP-Gehalt der Sojabohnen in vorliegender Untersuchung gezogen werden.

# Fazit

In vorliegender Untersuchung wurde der Einsatz von getrockneten und getoasteten Sojabohnen in der Milchviehfütterung verglichen. Insgesamt lassen sich Vollfettsojabohnen gut in Rationen von Milchkühen integrieren, wobei der hohe Fettgehalt bei der Rationsgestaltung zu berücksichtigen und einsatzbegrenzend ist. Einsatzmengen von 1,5 kg getrockneten oder getoasteten Sojabohnen sind als unproblematisch zu erachten. Effekte des Toastens der Sojabohnen auf Futteraufnahme oder Leistungskriterien waren nicht ersichtlich. Ob ein Einfluss des Toastens auf den UDP-Gehalt der Sojabohnen vorhanden war oder ob sich das Toasten bei sehr hohen Milchleistungen positiv bemerkbar macht, ist aus vorliegenden Untersuchungen nicht abzuleiten.

## Literatur

DLG (1997): DLG Futterwerttabellen Wiederkäuer, DLG-Verlag Frankfurt/Main

Faldet, M.A., Satter, L.D. (1991): Feeding heat-treated full fat soybeans to cows in early lactation. J. Dairy Sci. 74, 3047-3054

GfE (Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie) (1991): Leitlinien zur Bestimmung der Verdaulichkeit von Rohnährstoffen an Wiederkäuern, J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 65, 229 - 234

GfE (Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie) (1995): Zur Energiebewertung beim Wiederkäuer. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 4, 121 - 123

Grummer, R.R., Luck, M.L., Barmore, J.A. (1994): Lactational performance of dairy cows fed raw soybeans, with or without animal by-product proteins, or roasted soybeans. J. Dairy Sci. 77, 1354-1359

Naumann, C., Bassler, R. (2007): Methodenbuch Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 3. Auflage inklusive 1-7. Ergänzungslieferung. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

Preissinger, W., Schwarz, F.J., Kirchgessner, M. (1997): Futteraufnahme und Milchleistung bei Verfütterung von Vollfett-Sojabohnen an Milchkühe. Arch. Anim. Nutr. 50, 347-359

Schwarz, F.J., Kirchgessner, M. (1995): Zum Einfluss von Vollfett-Sojabohnen auf die Verdaulichkeit und den Energiegehalt von Grundfutter in Wiederkäuerrationen. Agribiol. Res. 48, 299-308

## Autorenanschrift

Thomas Ettle
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub
Prof.-Dürrwaechter-Platz 3, 85586 Poing
E-Mail: thomas.ettle@lfl.bayern.de

# Effekte ganzer Maiskörner in einer Trocken-TMR auf Leistungsparameter, Wiederkauaktivität sowie Pansenentwicklung in der Kälberaufzucht

**Julia Trautwein[1], Dorothee Lux[1], Beate Hlawitschka[2], Karl Landfried[2], Andrea Höller[3] und Georg Dusel[1]**

[1] University of Applied Sciences Bingen, FB 1 Life Sciences, Bingen, Germany
[2] LVAV, Hofgut Neumühle, Münchweiler, Germany
[3] Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Eifel, Bitburg, Germany

## Einleitung

Aus der Praxis häufte sich die Nachfrage, ob der Einsatz ganzer Maiskörner in den ersten Lebenswochen zu empfehlen ist. Im Elsass (F) kommt dieses Fütterungsverfahren häufig zur Anwendung. Nach Praxisaussagen sollte die Pansenentwicklung angeregt werden, indem die ganzen Körner in den ersten 3 Lebensmonaten auf Grund ihrer Größe nicht ausgeschieden werden können (SPIEKERS et al., 2009). Wissenschaftliche Studien, die diese positiven Erfahrungen aus der Praxis belegen, sind jedoch bislang in der Literatur kaum zu finden.

In einem 13-wöchigen Fütterungsversuch mit 2 Gruppen á 20 Fleckviehkälbern wurde der Einsatz von ganzen Maiskörnern gegenüber geschroteten Maiskörnern in einer Trocken-TMR überprüft. Neben zootechnischen Leistungsparametern wurde die Pansenphysiologie untersucht, Blutparameter analysiert, die Ausscheidung der Maiskörner im Kot sowie das Wiederkauverhalten der Kälber beobachtet.

## Material und Methode

### Tiermaterial und Haltung

Zwei Gruppen mit je 20 männlichen Fleckvieh-Kälbern wurden in den mit Stroh eingestreuten und wechselseitig zu belegenden Außenklimastall der Lehr- und Versuchsanstalt Hofgut Neumühle eingestallt. Zu Versuchsbeginn lag das mittlere Einstallgewicht im Gruppenmittel bei je 69 kg LM bei einem Alter von 24 (Kontrolle) bzw. 27 (Versuch) Tagen. Der Versuch erstreckte sich über 13 Versuchswochen bzw. einem mittlerem Endgewicht von ca. 160 kg LM.

Die Futtertechnik und Futteranlagen sind für beide Gruppen identisch. Die MAT-Zuteilung erfolgt transpondergesteuert tierindividuell, die Trocken-TMR-Gabe über Längstrog pro Gruppe. Wasser über Selbsttränkebecken stand beiden Gruppen stets zur freien Verfügung.

### Fütterung und Versuchsparameter

Als Milchersatztränke diente der Standard-Milchaustauscher (MAT) Schaumann Kalbi Milch Plus Bayern. Die Kälber wurden mit dem rechnergesteuerten Automatentränkeverfahren 56 Tage lang getränkt (max. 6 Liter, Konzentration: 100g/Liter).

Von Beginn an wurde die Trocken-TMR den Kälbern ad libitum über Längstrog vorgelegt (Tab. 1). Die Versuchsdiäten beider Gruppen waren identisch in der Zusammensetzung der Komponenten. Unterschied war die technische Behandlung des Körnermais, welchen die Kontrollgruppe geschrotet und die

Versuchsgruppe ganz eingemischt in die Trocken-TMR erhielt. Die Futteraufnahme pro Gruppe wurde täglich erfasst.

**Tabelle 1**: Zusammensetzung und Analyse* der Trocken-TMR

| in g/kg TS | | Trocken-TMR | Zusammensetzung in % | |
|---|---|---|---|---|
| TM | % | 84,9 | Heu | 20% |
| | | | Körnermais geschrotet (KONTROLLE) bzw. ganz (VERSUCH) | 20% |
| XP | g/kg | 192 | Weizen/Gerste (50/50) | 28% |
| XF | g/kg | 128 | Leinextraktionsschrot | 10% |
| | | | Sojaextraktionsschrot | 16% |
| ME in MJ/ kg TM | | 12,0 | Pflanzenöl | 2% |
| | | | Mineralfutter | 4% |

*Analyse im Labor der FH Bingen nach VDLUFA-Vorschrift (ME nach DLG-Futterwerttabelle errechnet)

Folgende Versuchsparameter wurden erhoben:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Lebendmasse<br>MAT-Aufnahme<br>TMR-Aufnahme | wöchentlich<br>täglich<br>täglich | tierindividuell<br>tierindividuell<br>pro Gruppe | Lebendgewichte und tägliche Zunahmen |
| Kotauswaschung | wöchentlich | 5 Tiere/Gruppe | Anteil ganzer/gebrochener Maiskörner |
| Pansenphysiologie | Tag 54 | 3 Tiere/Gruppe | Pansengewicht, Pansenzottenzahl, Pansenzottenlänge, Pansenwanddicke |
| Pansensaft (Rumenozentese) | Tag 67 | 4 Tiere/Gruppe | pH-Wert, NH3, Essigsäure, Buttersäure, Propionsäure |
| Blutentnahme | Tag 67 | 4 Tiere/Gruppe | Gesamteiweiß, Harnstoff, Cholesterin, GLDH, NEFA, ß-HBS |
| Kauaktivität | Tag 66-84 | 4 Tiere/Gruppe | Wiederkauaktivität über 24h, Wiederkauintervalle (Anzahl, Länge), Kauschläge pro Sekunde, Wiederkauschläge pro Bolus |

### Statistische Auswertung

Die Daten wurden mit Hilfe des Programmpaketes MS Office Excel 2007 verrechnet. T-test, $\alpha<0,05$.

## Ergebnisse

### Leistungsparameter

Die Aufnahme des Milchaustauschfuttermittels (MAT) war bei beiden Gruppen identisch. Die Futtertrockenmasseaufnahme aus der TMR ist Abb. 1, die Energie- und Proteinaufnahme (MAT+TMR) über den Versuchszeitraum ist Abb. 2 zu entnehmen. Über die gesamte Versuchsdauer nahmen die Tiere der Kontrollgruppe 2,12 kg TM (aus TMR), 35,4 MJ ME (aus MAT+TMR) sowie 532 g XP (aus MAT+TMR) pro Tier und Tag auf. Die Versuchsgruppe lag mit 2,08 kg TM, 34,9 MJ ME sowie 524 g XP auf gleichem Niveau.

Während der Tränkeperiode waren die Tageszunahmen der mit ganzen Maiskörnern gefütterten Kälber nominal um 4,5% erhöht (Tab. 2). In dieser Zeit verlief die Futteraufnahme in beiden Gruppen identisch. Mit Absetzen der Milch stieg die Futteraufnahme der Kontrollgruppe etwas schneller an, die Gewichtsentwicklung beider Gruppen verlief jedoch annähernd parallel. Somit zeigt sich auch tendenziell eine verbesserte Energie- sowie Proteinverwertung in der Versuchsgruppe (Tabelle 2).

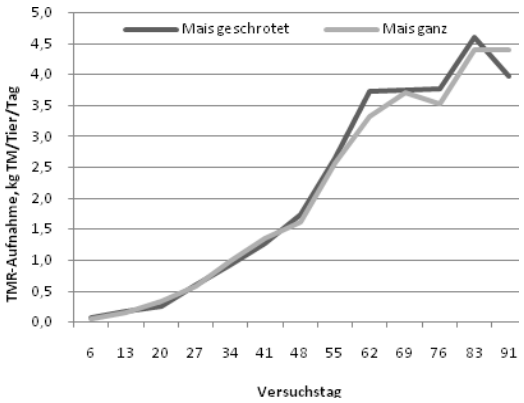



**Abb. 1**: Trockenmasseaufnahme/Tier/Tag aus TMR

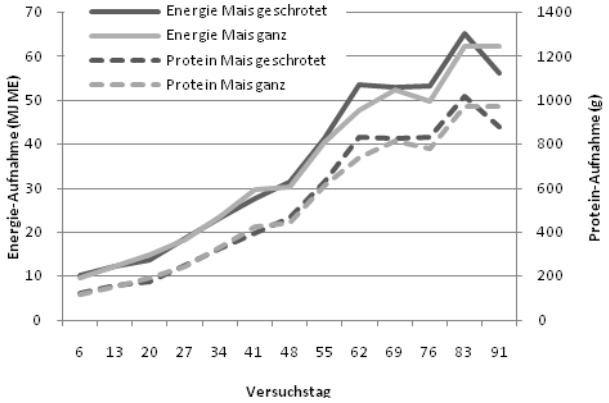



**Abb. 2**: Energie- und Proteinaufnahme/Tier/Tag (aus MAT+TMR)

**Tabelle 2**: Gewichtsentwicklung sowie Energie- und Proteinaufnahme pro kg LM-Zuwachs

| | Mais geschrotet | | Mais ganz | | | Signif. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Versuchstag | x̄ | *s* | x̄ | *s* | *Differenz* | *P-Level* |
| Lebendgewichte (kg) | | | | | | |
| 0 (Start) | 68,6 | 3,3 | 68,8 | 3,0 | 0,2 | 0,873 |
| 55 (Absetzen) | 108,6 | 10,7 | 110,2 | 12,7 | 1,6 | 0,706 |
| 91 (Ende) | 159,1 | 19,4 | 160,4 | 16,2 | -1,1 | 0,842 |
| Tageszunahmen (g) | | | | | | |
| 0-55 | 724 | 182 | 758 | 213 | 34 | 0,625 |
| 55-91 | 1403 | 321 | 1395 | 175 | -8 | 0,929 |
| 0-91 | 992 | 198 | 1010 | 171 | 17 | 0,790 |
| Energieaufnahme (MJ ME) pro kg Lebendmassezunahme | | | | | | |
| 0-55 | 39,6 | | 32,7 | | -6,89 | |
| 55-91 | 41,2 | | 40,4 | | -0,79 | |
| 0-91 | 40,2 | | 35,7 | | -4,55 | |
| Proteinaufnahme (g) pro kg Lebendmassezuwachs | | | | | | |
| 0-55 | 532 | | 445 | | -88 | |
| 55-91 | 642 | | 629 | | -12 | |
| 0-91 | 574 | | 516 | | -59 | |

## Kotwaschung

An Hand der Kotwaschung sollte bestimmt werden, ab welchem Alter sich die ganzen Maiskörner im Kot wiederfinden. Bis zur 7. Lebenswoche konnte bei keinem Kalb Spuren von Maiskörnern im Kot gefunden werden. Danach stieg stark tierindividuell der Anteil kleiner/zerteilter Maiskörner im Kot an. Ein hoher Anteil großer Maisstücke bzw. ganzer Maiskörner konnte ab einem Alter von 9 bis 15 Wochen festgestellt werden, bzw. einem Gewichtsbereich von 100-130kg LM.

### Pansenentwicklung

An Hand der Parameter Pansenfrischgewicht, Pansenzottenzahl, Pansenwanddicke sowie Pansenzottenhöhe konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Behandlungsgruppen bestimmt werden (Tab. 3). Die Pansenfärbung war subjektiv beurteilt in der Versuchsgruppe dunkler.

Auch hinsichtlich der Säurebestimmung und des pH-Wertes im Pansensaft konnten keine signifikanten Gruppeneffekte bestimmt werden (Abb. 4 und 5). Die Essigsäure war in der Gruppe mit ganzem Mais um 20% gegenüber der Kontrolle erhöht (p=0,173).

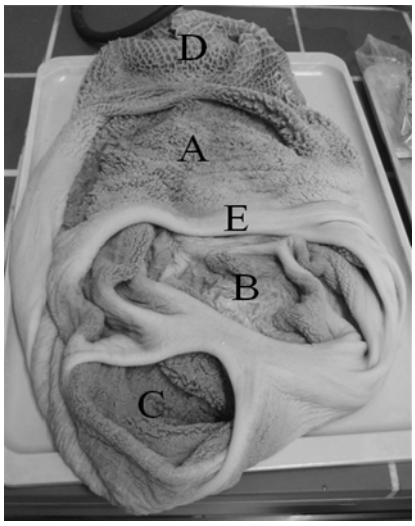



**Abb. 3**: Pansenregionen

**Tab. 3**: Parameter zur Beurteilung der Pansenphysiologie

| Pansen-region | Mais geschrotet | | Mais ganz | | Signif. |
|---|---|---|---|---|---|
| | x̄ | *s* | x̄ | *s* | *P-Level* |
| Pansengewicht frisch (g) / 100kg LM | | | | | |
| | 1.574 | *170* | 1.651 | *125* | 0,873 |
| Pansenzottenzahl / $cm^2$ | | | | | |
| A | 116 | *2* | 124 | *20* | 0,598 |
| B | 162 | *23* | 147 | *19* | 0,414 |
| C | 118 | *8* | 105 | *15* | 0,281 |
| Pansenwanddicke (mm) | | | | | |
| A | 2,6 | *0,3* | 2,3 | *0,4* | 0,303 |
| B | 2,2 | *0,5* | 1,9 | *0,2* | 0,401 |
| C | 2,0 | *0,2* | 2,0 | *0,3* | 0,939 |
| D | 2,9 | *0,6* | 2,9 | *0,8* | 0,971 |
| E | 5,3 | *0,8* | 4,9 | *0,9* | 0,622 |
| Pansenzottenhöhe incl. Pansenwand (mm) | | | | | |
| A | 9,0 | *1,2* | 7,7 | *0,5* | 0,171 |
| B | 4,3 | *0,2* | 3,7 | *0,3* | 0,069 |
| C | 5,4 | *0,8* | 5,5 | *0,7* | 0,907 |
| D | 11,1 | *1,1* | 10,7 | *3,3* | 0,858 |

### Blutparameter

Bei den o.g. untersuchten Blutparametern konnten keine Gruppenunterschiede bestimmt werden. Alle Werte lagen nach FÜRLL (2005) im Referenzbereich.

### Kauaktivität

Mit einem Kälbergewicht von ca. 130-150 kg LM und einem Alter von 90-110 Lebenstagen wurde nach Hohenheimer Methode, beschrieben in VAN ACKEREN (2006) die Kauaktivität über 24h gemessen. Nach Auswertung der Messungen konnten lediglich 2 Messungen in der Gruppe mit ganzem Mais sowie 4 Messungen in der Kontrollgruppe in die Auswertung mit einbezogen werden. Ein Ausschnitt einer Kauaktivitätsaufzeichnung ist in Abb. 6 dargestellt. An Hand Regel- bzw. Unregelmäßigkeit kann das Wiederkauen von der Futteraufnahme unterschieden werden.

Die Messungen zeigten, dass das Fress- bzw. Wiederkauverhalten stark tierindividuell geprägt war und weniger von Lebendmasse und Gewicht abhängig war. Das Wiederkauverhalten zeigte sich auf Niveau adulter Kühe (vgl. Tabelle 4).

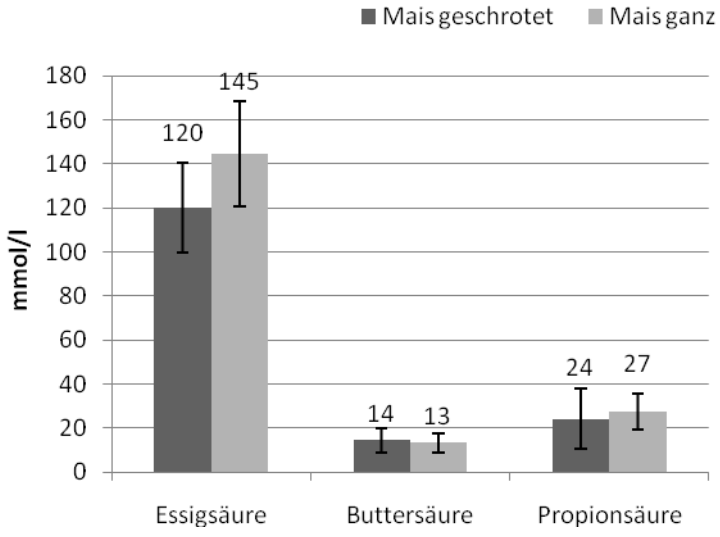



**Abb. 4**: Flüchtige Fettsäuren im Pansensaft

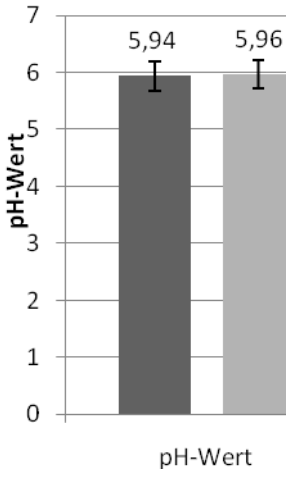



**Abb. 5**: pH-Wert im Pansensaft

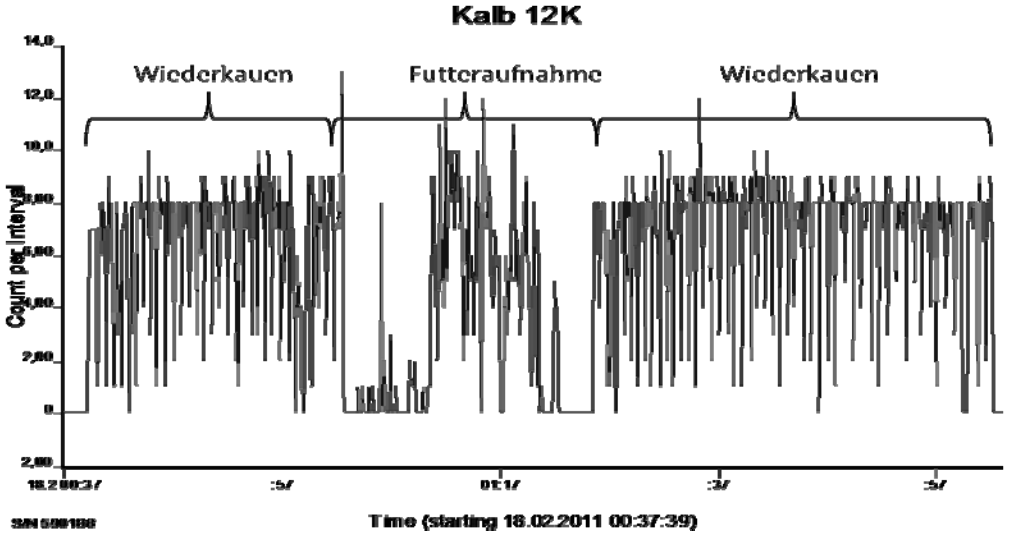



**Abbildung 6**: Ausschnitt aus Aufzeichnung der Kauaktivitätsmessung

**Tabelle 4**: Kauaktivitätsparameter über beide Fütterungsgruppen hinweg über einen Messzeitraum von 24 Stunden

| | n=6 Tiere | Kauparameter adulter Wiederkäuer * |
|---|---|---|
| Alter bei Messung (Tage) | 103 ± 7 | |
| LM bei Messung (kg) | 141 ± 10 | |
| Kauschläge (n) | 45.002 ± 8.443 | 50.000 – 60.000 |
| Kauzeit (min) | 733 ± 110 | 660 – 960 |
| Gesamte Wiederkauzeit (min) | 327 ± 85 | 360 – 480 |
| Wiederkauanteil an Gesamtkauzeit (%) | 44 ± 8 | |
| Wiederkauschläge (n) | 25.182 ± 6.544 | |
| Wiederkauperioden (n) | 19 ± 4 | 12 – 15 |
| Bolusanzahl (n) | 300 ± 56 | |
| Wiederkauschläge pro Bolus (n) | 84 ±16 | 40 - 60 |
| Wiederkauschläge / Sekunde (n) | 1,29 ± 0,04 | |

*nach VAN ACKEREN (2006)

# Zusammenfassung

Während der Tränkeperiode gab es keine Gruppenunterschiede hinsichtlich Trockenmasse- und damit auch Energie- und Proteinaufnahme. Die Tageszunahmen unterschieden sich in diesem Zeitraum nicht signifikant, jedoch lag die TZ der Versuchsgruppe ca. 5% über der der Kontrolltiere. Dies spiegelt sich in einem leicht geringeren Energie- und Proteinaufwand der Gruppe mit ganzen Maiskörnern wider. Nach dem Absetzen das MAT stieg die TM-Aufnahme der Kontrollgruppe etwas stärker an im Vergleich zur Versuchsgruppe, konnte aber nicht in höhere Lebendmassezunahmen umgesetzt werden. Diese Tendenzen könnten die Theorie einer verbesserten Pansenentwicklung bekräftigen.

Am 54. Versuchstag wurden 3 repräsentative Kälber jeder Gruppe mit einer mittleren Lebendmasse von ca. 100 kg geschlachtet und der Pansen entnommen. An Hand der Parameter Pansenwanddicke, Pansenzottenzahl, Pansenzottenlänge sowie Pansengewicht konnten keine signifikanten Unterschiede bestimmt werden. Dies deckt sich auch mit einer Studie von LESMEISTER und HEINRICHS 2004, die ebenfalls keine Unterschiede beim Einsatz ganzer Maiskörner feststellen konnten. Obgleich bei subjektiven Betrachtung die dunklere Pansenfärbung der Versuchsgruppe auffällig war. Frühere eigene Untersuchungen zeigten stets, dass eine dunklere Färbung des Pansens mit einer fortgeschrittenen Pansenentwicklung einhergehend (DUSEL et al. 2007). Jedoch im Gegensatz zu LESMEISTER und HEINRICHS 2004, die bei ganzem Mais höhere Pansen-pH-Werte sowie geringere Mengen flüchtiger Fettsäuren im Pansensaft belegten, konnten auch bei diesen Parametern keine signifikanten Behandlungsunterschiede bestimmt werden. Der pH-Wert lag im physiologischen Bereich von 6,2±0,5 (VAN SOEST, 1994). Im Gegensatz dazu zeigte sich die Menge an Essigsäure in der Versuchsgruppe um 20% (p= 0,173) erhöht.

Ein Rückschluss auf die Behandlung war hinsichtlich der Kauaktivität auf Grund der geringen Datenlage nicht möglich. Es zeigte sich jedoch, dass das Wiederkauverhalten der Kälber im Alter von ca. 14 Lebenswochen schon gut ausgeprägt war.

Die Kotauswaschung zeigte, dass im Mittel mit der 12. Lebenswoche, jedoch stark tierindividuell zwischen der 9. und 15. Woche variierend, große bis hin zu ganzen Maiskörnern sichtbar wurden, so dass in etwa mit dem Absetzen die Umstellung von ganze auf geschrotete Maiskörner erfolgen sollte.

Auch wenn diese Studie zu einer belegbaren Einsatzempfehlung ganzer Maiskörner nicht ausreicht, so zeigt sich doch eine Tendenz, dass der Einsatz ganzer Maiskörner bis zum Absetzen positive Effekte bringen kann. Ein negativer Effekt bei Zulage ganzer Maiskörner ist nach vorliegenden Daten nicht zu erwarten.

## Literatur

Dusel, G., J. Trautwein , A. Vikari (2007): Einfluss von VITACEL Rohfaserkonzentrat auf zootechnische Leistungsparameter, den Gesundheitszustand und die Entwicklung des Gastrointestinaltraktes beim Kalb, Tagungsband 6. BOKU Symposium Tierernährung 2007 in Wien, 122-130

Fürll, M. (2005): Spezielle Untersuchungen beim Wiederkäuer. In: Kraft, W., U. M. Dürr (Hrsg.): Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin, 6. Auflage, Verlag Schattauer GmbH, Stuttgart, 444-474

Lesmeister, A., J. Heinrichs, (2004): Effects of corn processing on growth characteristics, rumen development, and rumen parameters in neonatal dairy calves, Journal of Dairy Science Vol. 87, No. 10, 3439-3450

Spiekers, H, H. Nussbaum, V. Potthast (2004): Erfolgreiche Milchviehfütterung, 5. Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt am Main, 401

Van Ackeren, C. (2006): Einsatz von Gesamtmischrationen in der Kälberaufzucht bei Variation von Tränkedauer und Grundfutteranteil, Dissertation Universität Hohenheim, Shaker Verlag

Van Soest, P. J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant (2ndEd.). Cornell University Press, Ithaca, NY.

## Autorenanschrift

M. Sc. Julia Trautwein
Fachhochschule Bingen/University of Applied Sciences
Fachbereich 1 – Life Sciences and Engineering
Berlinstrasse 109, D- 55411 Bingen, Germany
E-Mail: trautwein@fh-bingen.de

# Untersuchungen zu Ertragsleistung und Verdaulichkeiten von Hirsesilagen

**Thomas Ettle[1], Joachim Eder[2], Markus Landsmann[2] und Anton Obermaier[1]**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
[1] Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
[2] Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung

## Einleitung

Der Anbau von Sorghumhirse zu Futterzwecken wird insbesondere in Regionen, in denen der Befall mit dem Westlichen Maiswurzelbohrer zu einer Reduzierung des Maisanbaus zwingt, diskutiert. Nach dem bisherigen Stand der Erkenntnisse wird Sorghumhirse nicht von diesem Schädling befallen und kann somit maisbetonte Fruchtfolgen auflockern. Die bisherigen Erfahrungen mit der Verfütterung von Silagen aus der Gesamtpflanze von Sorghumhirse waren nicht sehr vielversprechend, die Energiegehalte lagen meist auf einem für die Wiederkäuerfütterung wenig geeigneten, sehr niedrigen Niveau.

Allerdings sind mittlerweile auch bei Sorghumhirse neuere Züchtungen mit verbesserten Anbaueigenschaften verfügbar. Darüber hinaus befinden sich „Brown Midrib-Typen" auf dem Markt, die sich durch einen verringerten Ligningehalt auszeichnen und dementsprechend verbesserte Verdaulichkeiten und Energiegehalte erwarten lassen.

Vor diesem Hintergrund wurde vorliegender Versuch angelegt, um die Anbaueignung und Qualität von drei Hirsesorten für die Fütterung in einem Anbau- und Verdauungsversuch zu überprüfen.

## Material und Methoden

Es wurden folgende 3 Sorten (Art: Sorgum bicolor) der Züchterhäuser KWS-Saat AG und Monsanto für den Anbau ausgewählt: Grazer N (Monsanto), Inka (KWS), Branco (KWS). Bei Branco handelt es um eine Sorte vom Typ "Brown Midrib", erkennbar an einer orange bis bräunlichen Verfärbung der Mittelrippe der Blätter.

Der Versuch wurde als randomisierte Blockanlage am 2.6.2009 am Versuchsfeld der LfL am Standort Freising mit einer Aussaatstärke von 35 Körnern/m² auf einem feinkrümeligen Saatbeet angelegt. Nach ca. 16 Tagen liefen alle drei Sorten relativ schlecht auf. Die Zeit nach der Saat war geprägt von kühlen Nachttemperaturen, an manchen Tagen bis 8°C, und ergiebigen Niederschlägen, was ein sehr lückiges Auflaufen der Saat zur Folge hatte. Gedüngt wurden im Versuch 100 kg N/ha in Form von Kalkammonsalpeter am 02.07.2009. Die Unkrautbekämpfung erfolgte am 01.07.2009 mit 4l/ha Gardo Gold (Wasseraufwandmenge von 400l/ha). Hohe Temperaturen von über 30 °C ab 20. Juli ließen dann doch einen ansehnlichen Bestand heranwachsen. Das Wachstum wurde beendet durch Nachtfrost am 15.10.2009. Schneefall am darauffolgenden Tag führte zu verstärktem Lager. Der Versuch wurde am 21.10.2009 geerntet und das Material umgehend in Versuchssilos mit je 100l Fassungsvermögen einsiliert.

Nach 19 Wochen Silierdauer wurden von den Silagen die im Verdauungsversuch jeweils benötigten Tagesmengen in der Stoffwechselanlage des Instituts für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub der LfL eingefroren. Die Silagen wurden in der Stoffwechselanlage der LfL in Grub nach den Leitlinien der GfE (1991) im Differenzversuch mit Sojaextraktionsschrot auf die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe an

Hammeln geprüft. Vor der Verfütterung wurden die Hirsesilagen über jeweils etwa 24 h aufgetaut. Hirsesilage und Sojaextraktionsschrot wurden für die Tagesportionen getrennt abgewogen und gemeinsam in zwei Mahlzeiten vorgelegt. Ergänzend erhielten die Tiere ein spezielles Mineralfutter. Die Tagesrationen deckten etwa den 1,2-fachen Erhaltungsbedarf der Tiere. Die Verdaulichkeiten des Sojaextraktionsschrotes wurden den DLG-Futterwerttabellen für Wiederkäuer (DLG, 1997) für ungeschälte Saat, dampferhitzt, entnommen. Nach einer zweiwöchigen Vorperiode wurden Futter und Kot sieben Tage lang erfasst. Die Proben wurden nach VDLUFA-Methoden (Naumann und Bassler, 2007) untersucht. Auf Basis der verdaulichen Rohnährstoffe wurden die Gehalte an ME und NEL nach den Vorgaben der GfE (1995) kalkuliert. Für jede zu testende Hirsesilage wurden 4 Hammel eingesetzt. Wegen eines Tierausfalles kamen für die Sorte Inka Daten von 3 Tieren zur Auswertung. Die Verdaulichkeiten und Energiegehalte wurden mit dem Statistikprogramm SAS (proc glm) einer Varianzanalyse unterzogen. Bei signifikanten P-Werten ($P<0,05$) wurde mit dem SNK-Test überprüft, welche Mittelwerte sich voneinander unterscheiden.

# Ergebnisse und Diskussion

In Tabelle 1 sind die agronomischen Eigenschaften und die Ertragsleistung der Sorten dargestellt. In der Wuchshöhe unterschieden sich die Sorten kaum. Das festgestellte Lager zur Ernte war bei Branco etwas weniger stark ausgeprägt als bei den anderen beiden Sorten. Hinsichtlich des zur Ernte erreichten Wachstumsstadiums gab es erhebliche Unterschiede zwischen den Sorten Inka und Grazer N auf der einen Seite und der Sorte Branko. Inka und Grazer N waren deutlich weiter in der Entwicklung, Stadium 64/65, Branko blieb Stadium 59. Auch beim Frischmasseertrag gab es eindeutige Sortenunterschiede. Branko schnitt mit 461 dt/ha am schwächsten ab. Die ertragreichste Sorte war Grazer N mit 587 dt/ha. Die Trockensubstanzgehalte zur Ernte lagen bei allen drei Sorten recht niedrig, maximal wurden 21,9 % (Grazer N) erreicht. Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant. Die tendenziell spätreifste Sorte war Branco mit 20,3 %TM. Aufgrund der nur geringfügigen Differenzierung in den TM-Gehalten zeigte sich beim Trockenmasseertrag eine ähnliche Abstufung wie bei der Frischmasse. Die ertragreichste Sorte war Grazer N mit 128 dt/ha, Branco war mit 94,1 dt/ha die schwächste. Eine erniedrigte Ertragsleistungen bei Hirse mit der BMR-Mutation wird auch von anderen Autoren beschrieben (Casler et al., 2003). Allerdings weisen die vorliegenden Daten auch darauf hin, dass die BMR-Sorte in vorliegendem Versuch bei vergleichsweise früherem Reifestadium geerntet wurde, so dass bei günstigen Witterungsbedingungen und etwas späterem Erntezeitpunkt unter Umständen eine höhere Ertragsleistung auch bei der Sorte Branco möglich wäre. Insgesamt bleibt allerdings auch festzuhalten, dass das Ertragsniveau mit einem Maximum von etwa 130 dt TM/ha bei der Sorte Grazer N weit unter den im selben Jahr an verschiedenen Standorten in Bayern beobachteten Ertragsleistungen bei Mais zum Silieren lag (z.B. Köhler et al. 2010). Um in dieser Hinsicht eine echte Alternative zum Mais zu bieten ist dementsprechend noch umfangreiche Zuchtarbeit notwendig.

**Tabelle 1**: Agronomische Eigenschaften und Ertragsleistung der geprüften Sorten (Mittelwerte)

| Sorte | Pflanzenlänge (cm) | Lager bei Ernte (%) | Entwicklungsstadium bei Ernte (BBCH) | Ertrag (dt FM/ha) | TM (%) | Ertrag (dt TM/ha) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Branco | 277 | 3,7 | 59 | 462[a] | 20,3[a] | 94[a] |
| Inka | 293 | 6,3 | 64 | 510[ab] | 21,7[a] | 110[ab] |
| Grazer N | 290 | 6,3 | 65 | 587[b] | 21,9[a] | 129[b] |

[a,b] Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($P<0,05$)

In Tabelle 2 sind verschiedene Gärparameter der Silagen ausgewiesen. Der niedrige pH-Wert und Essigsäuregehalt zeigen für alle Silagen eine gute Vergärung an. Buttersäure und Propionsäure wurden nicht nachgewiesen.

**Tabelle 2**: Gärparameter

| Sorte | pH | Milchsäure | Essigsäure | Puffer | $NO_3$ | $NH_3$-N |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | g/kg TM | | g MS/100g TM | mg/kg TM | % des Gesamt-N |
| Branco | 3,68 | 31,3 | 17,7 | 1,51 | 2997 | 4,23 |
| Grazer N | 3,84 | 29,5 | 16,5 | 2,04 | 1776 | 3,45 |
| Inka | 3,77 | 28,2 | 17,9 | 2,49 | 2893 | 4,41 |

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Rohnährstoffanalytik an den Silagen (n=2 je Silage) dargestellt. Die XA- und XP-Gehalte bewegen sich im Bereich von ausgereiften Maissilagen, die XF-Gehalte sind allerdings erheblich höher. Im Vergleich der Sorten zeigen sich keine größeren Unterschiede. Im Gegensatz zur Rohfaser zeigen die Sorten beim ADForg und NDForg-Gehalt etwas größere Unterschiede. Reduzierte NDF-Gehalte von BMR-Sorten im Vergleich zu anderen Sorten wie im vorliegenden Versuch werden auch von anderen Autoren beschrieben (Beck et al., 2007; Cerney et al. 1990).

**Tabelle 3**: Rohnährstoffgehalte der Silagen

| Sorte | TM | XA | XP | XL | XF | ADForg | NDForg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | % der TM | | | | | |
| Branco | 19,9 | 5,94 | 8,68 | 1,74 | 31,3 | 35,6 | 62,5 |
| Grazer N | 22,8 | 5,92 | 8,82 | 1,94 | 31,1 | 40,8 | 74,1 |
| Inka | 21,6 | 5,90 | 8,73 | 1,83 | 31,4 | 40,4 | 69,0 |

Die Verdaulichkeit der OS und der XF der Silagen Grazer N und Inka liegen auf dem in den DLG-Futterwerttabellen (1997) angegebenen Niveau (Tabelle 4). Zwischen diesen beiden Sorten ergeben sich nur geringfügige Unterschiede. Die Sorte Branco weist mit 70 % eine relativ hohe Verdaulichkeit der OS auf, die nur wenig unter den in den letzten Jahren an der LfL Bayern überprüften Maissilagen (n=49; VQ OS= 74 %) liegt. Die Verdaulichkeit der XF liegt mit 75 % sogar deutlich über den geprüften Maissilagen (n=49; VQ XF=62 %). Die Verdaulichkeiten der Sorte Branco liegen dementsprechend auch über den beiden Vergleichssorten ($p<0,05$). Die Differenzen in den Verdaulichkeiten zwischen Branco und den konventionellen Sorten liegen in vorliegender Untersuchung höher, als in anderen Arbeiten (Cherney et al. 1990), was in den vergleichsweise niedrigen Verdaulichkeiten der OS und XF bei Grazer N und Inka begründet ist.

Ähnlich wie die Verdaulichkeiten entsprechen auch die Energiegehalte der Silagen Grazer N und Inka in etwa den Angaben der DLG-Futterwerttabellen (1997). Mit 9,9 MJ ME/kg TM und 5,9 MJ NEL/kg TM werden bei der Sorte Branco höhere ($p<0,05$) Energiegehalte erreicht. Die erhöhte Gasbildung bei Branco bestätigt die im Vergleich zu den anderen Sorten höheren Energiegehalte. In ähnlicher Weise kann der höhere ELOS-Wert bei der Sorte Branco interpretiert werden. Da die bestimmenden Inhaltsstoffe (XF, XL und XP) zwischen den Sorten vergleichbar sind, lassen sich die Differenzen im Energiegehalt überwiegend auf die Unterschiede in der Verdaulichkeit zurückführen. Bei der Sorte Inka ist die hohe Streuung der Verdaulichkeitswerte und Energiegehalte auffällig. Bleibt der die höhere Streuung verursachende Hammel unberücksichtigt, erhöhen sich die Energiegehalte auf 8,50 MJ ME/kg TM bzw. 4,89 MJ NEL/kg TM, so dass die Gesamtaussage über einen doch sehr niedrigen Energiegehalt unberührt bleibt. Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass BMR-Variante Branco im Vergleich zu den

anderen untersuchten Sorten wesentlich bessere Verdaulichkeiten und Energiegehalte aufweist, als die anderen untersuchten Sorten. Energiegehalte, wie sie von guten Maissilagen zu erwarten sind, werden allerdings auch bei dieser Sorte nicht erreicht. Dementsprechend ist auch erklärbar, dass in Fütterungsversuchen bei der Milchkuh bei Austausch von Maissilage durch Hirsesilage Leistungseinbußen beschrieben werden (Brunschwig und Lamy, 2008). Leistungsäquivalenz konnte im Fütterungsversuch nur nach Ausgleich der Energiedefizite in Sorghum-Rationen durch Zulagen von Körnermais erreicht werden (Colombini et al., 2010).

**Tabelle 4**: Verdaulichkeiten (VQ, %)und Energiegehalte der geprüften Hirsesilagen (Mittelwerte *± Standardabweichungen*)

| Sorte | VQ OS | VQ XL | VQ XF | VQ OR | ME | NEL | Gb* | ELOS** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | | | | MJ/kg TM | | ml/200mg TM | |
| Branco | 70[a] | 74 | 75[a] | 68[a] | 9,90[a] | 5,88[a] | 52,5 | 55,5 |
| | *±3* | *±4* | *±4* | *±2* | *±0,34* | *±0,25* | - | - |
| Grazer N | 55[b] | 72 | 54[b] | 54[b] | 7,81[b] | 4,42[b] | 36,9 | 43,2 |
| | *±2* | *±3* | *±4* | *±2* | *±0,31* | *±0,21* | - | |
| Inka | 56[b] | 71 | 54[b] | 57[b] | 8,03[b] | 4,57[b] | 41,0 | 40,6 |
| | *±6* | *±3* | *±7* | *±6* | *±0,85* | *±0,57* | - | - |

[a,b] Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant (P<0,05)
* Gb = Gasbildung
** ELOS = Enzymlösliche organische Substanz

# Fazit

Vorliegender Verdauungsversuch erbrachte für die Sorte Branco im Vergleich zu den Sorten Inka und Grazer N signifikant erhöhte Verdaulichkeiten und Energiegehalte. Trotzdem ist auch die Sorte Branco im energetischen Futterwert guten Maissilagen weit unterlegen.

Die verbesserten Verdaulichkeiten der Sorte Branco gehen mit einer verringerten Ertragsleistung (dt TM/ha) einher, wobei jedoch aus Sicht der Tierernährung eine hohe Energiekonzentration je Einheit Futter im Vordergrund steht. Allerdings sind bei allen 3 untersuchten Hirsesorten die ha-Erträge weit von den im Mittel erzielbaren Maissilageerträgen entfernt.

Insgesamt lässt sich also festhalten, dass durch Neuzüchtungen wie die brown-midrib-Sorte Branco im Vergleich zu anderen Hirsesorten bezüglich des Futterwertes deutliche Fortschritte erzielt wurden. Ein Futterwert und eine Ertragsleistung, wie sie von Silomais zu erwarten ist, wird jedoch nicht erzielt.

## Literatur

Beck, P.A., Hutchison, S., Gunter, S.A., Losi, T.C., Stewart, C.B., Capps, P.K., Phillips, J.M. (2007) Chemical composition and in situ dry matter and fiber disappearance of sorghum x Sudangrass hybrids. J. Anim. Sci. 84, 545-555

Brunschwig, P., Lamy, J.M. (2008): Evaluation of immature cereals-legumes mixtures and sorghum silages for dairy cows diets in dry situation. 15èmes Recontres autour des Recherches sur les Ruminants, Paris, les 3 et 4 décembre 2008, 205-208

Casler, M.D., Pederson, J.F., Undersander, D.J. (2003): Forage yield and economic losses in associated with the brown-midrib trait in sudangrass. Crop Sci. 43, 782-789

Cherney, D.J.R., Patterson, J.A., Johnson, K.D. (1990): Digestibility and feeding value of pearl millet as influenced by brown-midrib, low-lignin trait. J. Anim. Sci. 68, 4345-4351

Colombini, S., Rapetti, L., Colombo, D., Galassi, G., Crovetto, G.M. (2010): Brown midrib forage sorghum silage for the dairy cow: nutritive value and comparison with corn silage in the diet. Ital. J. Anim. Sci. 9, 273-277

DLG (1997): DLG Futterwerttabellen Wiederkäuer, DLG-Verlag Frankfurt/Main

GfE (Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie) (1991): Leitlinien zur Bestimmung der Verdaulichkeit von Rohnährstoffen an Wiederkäuern, J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 65, 229 - 234

GfE (Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie) (1995): Zur Energiebewertung beim Wiederkäuer. Proc. Soc. Nutr. Physiol. 4, 121 - 123

Köhler, B., Spiekers H., Demmel, M., Diepolder, M., Thurner, S. (2010): Effizienz der Futterwirtschaft: Erträge von Silomais und Genauigkeit der Ertrags- und Trockenmasse(TM)-Messung am Feldhäcksler. Tagungsband: Tagung des Ausschusses Futterkonservierung und Fütterung im Deutschen Maiskomitee e.V. am 16./17. März 2010 an der LfL in Grub, 63-70

Naumann, C., Bassler, R. (2007): Methodenbuch Band III. Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. 3. Auflage inklusive 1-7. Ergänzungslieferung. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

## Autorenanschrift

Thomas Ettle
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub
Prof.-Dürrwaechter-Pl. 3, 85586 Poing
E-Mail: thomas.ettle@lfl.bayern.de

Reisenberger GmbH
TIERARZNEIMITTEL & TIERGESUNDHEITSPRODUKTE

# Ihr Partner für Tiergesundheitsprodukte und Tierarzneimittel

## Unser Produktportfolio für Futtermittel-Zusatzstoffe:

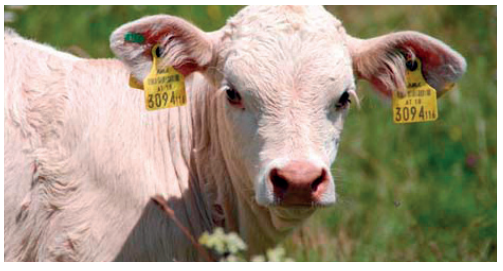
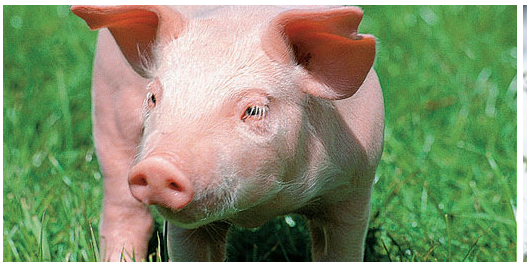
| | | |
|---|---|---|
| Aminosäuren | Aromastoffe/ Süßstoffe | Biscuitmehl |
| Enzyme | Immunmilch | Kokzidiostatika |
| L-Carnitin | Organische Spurenelemente | Phosphate |
| Phytobiotica | Pigmentstoffe | Probiotica |
| Presshilfsmittel | Säureprodukte | Vitamine |

## Unser Produktportfolio für Tierarzneimittel:

| | | |
|---|---|---|
| Antibiotika | Akarizid und Insektizid | Ergänzungsfuttermittel |
| Desinfektionsmittel | Konservierungsmittel | Nichtsteroidales Antiphlogistikum |

Wir vertreten exklusiv nur renommierte Firmen, um den hohen Anforderungen unserer Kunden gerecht zu werden

ADISSEO – Adding Difference
CaroTech
cerbios
HUVEPHARMA
kiotechagil
PHYTOBIOTICS FEED ADDITIVES
DOPHARMA INTERNATIONAL VETERINARY PHARMACEUTICALS
symrise – always inspiring more...
YARA
Lonza

Reisenberger GmbH
Stuttgarter Straße 2 • A-2380 Perchtoldsdorf • +43/1/869 9241 -0 • Fax DW -21
office@reisenberger.com • www.reisenberger.com

# Eignung der silierten Zuckerrübenpressschnitzel als Zusatzfutter für das Rotwild

**M. Vodnansky[1], M. Rajský[2], V. Foltys[2] und E. Bencová[2]**

[1] Mitteleuropäisches Institut für Wildtierökologie, Wien, Brno, Nitra
[2] Forschungszentrum für Nutztierhaltung, Nitra: Institut für Tierernährung

## Einleitung

Zuckerrübenpressschnitzel – Nebenprodukt der Zuckerherstellung – werden häufig in der Nutztierhaltung als wertvolles Futter eingesetzt. Das Ziel unserer Versuche war, die Eignung der silierten Zuckerrübenpressschnitzel als Zusatzfutter in der Winterfütterung des Rotwildes zu untersuchen.

Bei der Silage, die bei der Winterfütterung des Rotwildes oft als attraktives Saftfutter verwendet wird, ist sehr wichtig auf die gute Qualität zu achten. Einerseits wegen der Kontrolle der Abwicklung des Fermentationsprozesses und anderseits wegen möglichen Qualitätsänderungen der Silage bei der Lagerung. Der Vorteil der Silage als Ergänzungsfutter bei der Winterfütterung des Rotwildes ist ihre Geschmacksattraktivität und hoher Wassergehalt, was sehr positive Wirkung auf ihre Aufnahme vom Rotwild hat. Zugleich existiert auch Beziehung zwischen der Fütterung des Rotwildes und der Intensität Schälschäden. Die Vorlagen vom attraktiven Futter, wie gute Silage, haben eine wildschademindernde Wirkung (Rajský et. al., 2008).

## Material und Methoden

Am Anfang der Versuche wurde der Nährstoff - und Fermentationsproduktengehalt der silierten Zuckerrübenpressschnitzel (Fa. Agrana Zucker GmbH) analysiert (Tabelle 1).

**Tabelle 1**: Zusammensetzung der Zuckerrübenpressschnitzel-Silage (g/kg)

| Nährstoff | in Frischmasse | in Trockensubstanz |
|---|---|---|
| Trockensubstanz | 285.24 | - |
| Wasser | 714.76 | - |
| Rohprotein | 24.55 | 86.06 |
| Rohfaser | 57.54 | 201.74 |
| Rohfett | 1.86 | 6.51 |
| Rohasche | 26.85 | 94.12 |
| N - freie Extraktstoffe | 174.44 | 611.57 |
| Organische Masse | 258.39 | 905.88 |
| Ca | 2.25 | 7.89 |
| P | 0.21 | 0.73 |
| Na | 0.09 | 0.31 |
| K | 0.76 | 2.68 |

Die anhand der Fermentationsprodukte gewertete Qualität der silierten Zuckerrübenpressschnitzel war sehr hoch (Tabelle 2). Diesem hat auch sensorische Bewertung der Silage entsprochen. Qualität der Silage ist nach den Normen des Landwirtschaftsministeriums der Slowakischen Republik bewertet.

**Tabelle 2**: Bestimmung der Silagequalität anhand des Gehalts an Fermentationsprodukte (g/kg)

| Fermentationsprodukt | in Frischmasse | in Trockensubstanz |
|---|---|---|
| Essigsäure | 3.75 | 12.95 |
| Propionsäure | 0.12 | 0.42 |
| Buttersäure + izo | 0.19 | 0.66 |
| Valersäure + izo | 0.05 | 0.17 |
| Kapronsäure | 0.1 | 0.35 |
| Gesamte flüchtige Fettsäuren | 4.19 | 14.55 |
| Milchsäure | 12.03 | 41.77 |
| Gesamte Fettsäuren | 16.22 | 56.32 |
| Alkohole | 1.12 | 3.90 |
| Fermentationsprodukte | 17.34 | 60.22 |
| Silagebeurteilung | I. Klasse – sehr gut Qualität | |

Anmerkung: pH = 3.80

Das Ziel der Versuche war die komplexe Beurteilung der Eignung von silierten Zuckerrübenpressschnitzel als Zusatzfutter in der Winterfütterung des Rotwildes.

Die Versuche hatten folgende Schwerpunkte:

1. Bestimmung der scheinbaren Verdaulichkeit von Nährstoffen durch Differenzialmethode.

Der Versuch wurde mit 4 Stück Rotwild durchgeführt, die separat in den Bilanzboxen eingestellt waren. Im ersten Experiment haben wir die Verdaulichkeit von Nährstoffen der Ration festgestellt, die aus 1.0 Kg Luzerneheu und 4.0 Kg silierten Zuckerrübenpressschnitzel bestand. Im nachfolgenden Experiment wurde die Verdaulichkeit von Luzerneheu allein (2.0 Kg/Tag/Stück) ermittelt und anschließend die Verdaulichkeit der silierten Zuckerrübenpressschnitzel berechnet.

2. Die Ermittlung der Aufnahme der silierten Zuckerrübenpressschnitzel und ihre Präferenzen im Vergleich zu einigen anderen, in der Rotwildfütterung häufig eingesetzten Futtermitteln, wie Heu und Maissilage.

Die Versuchsgruppe bestand aus 13 Stück Rotwild (weibliches Rotwild und Jungtiere) mit einem durchschnittlichen Gewicht von 114 Kg.

3. Die Untersuchung des Einflusses von Zugabe der silierten Zuckerrübenpressschnitzel auf die Schälintensität (Aufnahme der Fichtenrinde).

Der Versuchsgruppe mit 13 Stück Rotwild wurde in erster Versuchsetappe das Wiesenheu als Alleinfutter ad libitum und jeden Tag frische Fichtenbaustämme mit Stammdurchschnitt 6-20 cm vorgelegt. In der zweiten Versuchetappe wurden zum Wiesenheu zusätzlich silierte Zuckerrübenpressschnitzel (ebenso ad libitum) gefüttert. Täglich wurden die Futteraufnahmen gewogen und die geschälte geschälte Fläche von Rinde planimetrisch gemessen. Umrechnung auf Gewichteinheiten haben wir in der Beziehung 100 $cm^2$ = 26 g durchgeführt. Die Ergebnisse wurden statistisch in der ANOVA, SAS 2002, v. 1.9 ausgewertet.

# Ergebnisse

Die vorgelegte Studie präsentiert die Ergebnisse der Untersuchung der Verdaulichkeit (scheinbarer Verdaulichkeit) silierter Zuckerrübenpressschnitzel beim Rotwild (Abbildung 1).

Die Versuchsergebnisse bei 4 Versuchtieren zeigten hohe Verdaulichkeitswerte. Die Verdaulichkeit der organischen Substanz lag bei 83.5 %. Die Verdaulichkeit der Rohfaser betrug 84.45 %. Die Verdaulichkeit der stickstofffreien Extraktstoffe war 87.02 %. Die Schwankungsbreite der Werte von festgestellten Verdaulichkeitskoeffizienten bei einzelnen Versuchstieren war minimal (SD = 1.1).

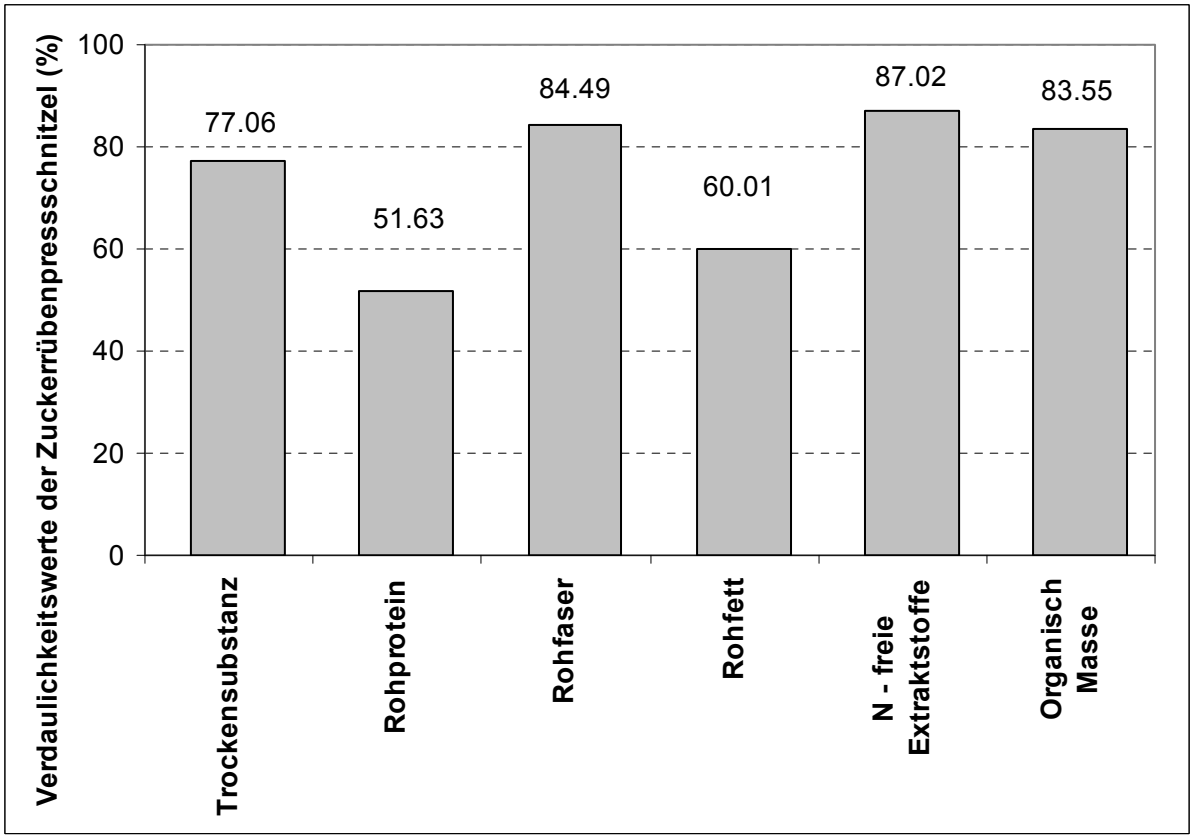



**Abbildung 1**: Verdaulichkeitswerte von Nährstoffen der Zuckerrübenpressschnitzel (%) beim Rotwild

Die in der Versuchsgruppe mit 13 Stück Rotwild erzielten Ergebnisse zeigten hohe geschmackliche Attraktivität der Zuckerrübenpressschnitzel im Vergleich zu den anderen Futtermitteln. Bei gleichzeitiger Vorlage ad libitum hat sich die durchschnittliche tägliche Aufnahme des Rotwildes in unserem Fütterungsversuch nach Umrechnung auf die Trockensubstanz mit 57 % von Zuckerrübenpressschnitzel, 23.7 % von Maissilage und 19.3 % von Heu zusammengesetzt. Die Aufnahme der Zuckerrübenpressschnitzel war im Vergleich zu Maissilage und Heu bei gleichzeitiger Vorlage ad libitum signifikant höher ($p < 0.001$) (Abbildung 2).

Wurde das Rotwild (1) ausschließlich mit Heu gefüttert, war die durchschnittliche Aufnahme von Trockensubstanz (Futter + Rinde) im Umrechnung pro Individuum 1931 g. Heu 1707 g (88.4 %), Fichtenrinde 224 g (11.6 %). In zweiter Versuchsetappe (2) wurden dem Rotwild die Zuckerrübenpressschnitzel als Zusatzfutter zum Wiesenheu vorgelegt. Bei der Vorlage der Zuckerrübenpressschnitzel ist

die Aufnahme der gesamten Trockensubstanz angestiegen. Die durchschnittliche Aufnahme der Trockensubstanz je Tier betrug 2167 g. Die Nahrungsaufnahme hatte folgende Zusammensetzung: Heu 561 g (25.9 %), Zuckerrübenpressschnitzel 1596 g (73.7 %), Fichtenrinde 8.0 g (0.4 %). Von Angaben in Abbildung 3 ergibt sich, dass die Schälaktivität des Rotwildes sich mit Zuckerrübenpressschnitzelzugabe in die Ration statistisch deutlich zurückgegangen ist. Das gleich galt auch für die Heuaufnahme ($p < 0.001$).

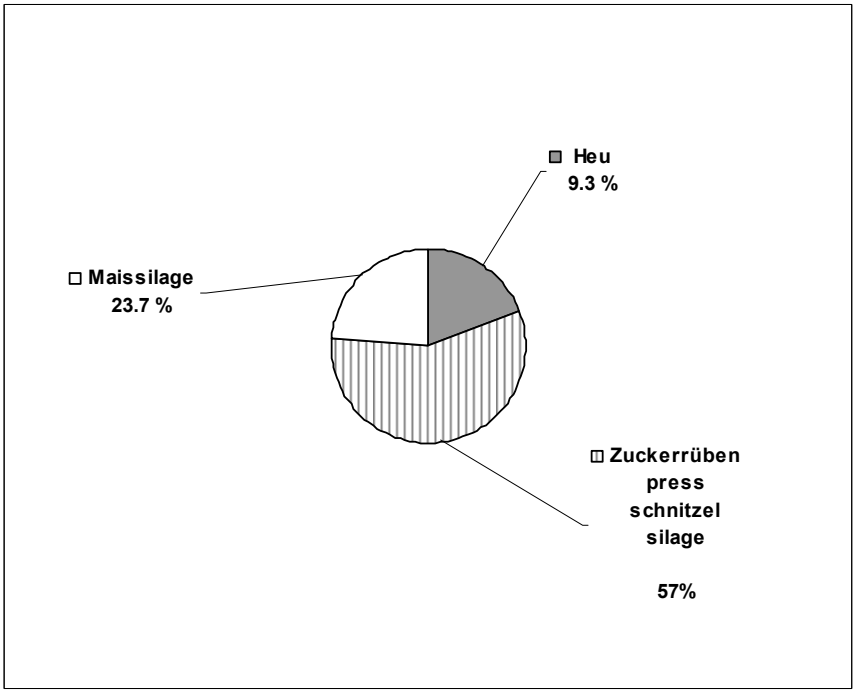



**Abbildung 2**: Anteil der Futteraufnahme beim Angebot ad libitum (in Trockenmasse ausgedrückt)

# Diskussion

Die Verdaulichkeit der silierten Zuckerrübenpressschnitzel beim Rotwild ist hoch. Die Verdaulichkeit der organischen Substanz lag bei 83.5 %. Hohe Verdaulichkeit hängt einerseits mit hoher Qualität des Futters und anderseits mit hoch verdaulicher Form der Rohfaser aufgrund des niedrigen Ligningehaltes zusammen. Dieses Futter ist energiereich. Umsetzbare Energie von 1 Kg frisches Futter für Rotwild liegt bei 3.17 $MJ.kg^{-1}$, umgerechnet auf 1 Kg der Trockensubstanz stellt es 11.12 $MJ.kg^{-1}$ vor. Bei Rind zitiert z. B. Draycote (2006) ein Wert von 12.5 $MJ.kg^{-1}$ Trockensubstanz.

Die guten Kenntnisse der Futtermittelpräferenz beim Rotwild sind bei der Winterfütterung sehr wichtig. Die Futtermittelpräferenz hängt mit dem Geschmack und dem Nährwert des Futters zusammen. Bei silierten Zuckerrübenpressschnitzeln sollte man bedenken, dass diese wenig strukturierter Faser enthalten und deswegen ist empfehlenswert, dem Rotwild gleichzeitig auch Heu von hoher Qualität zu geben.

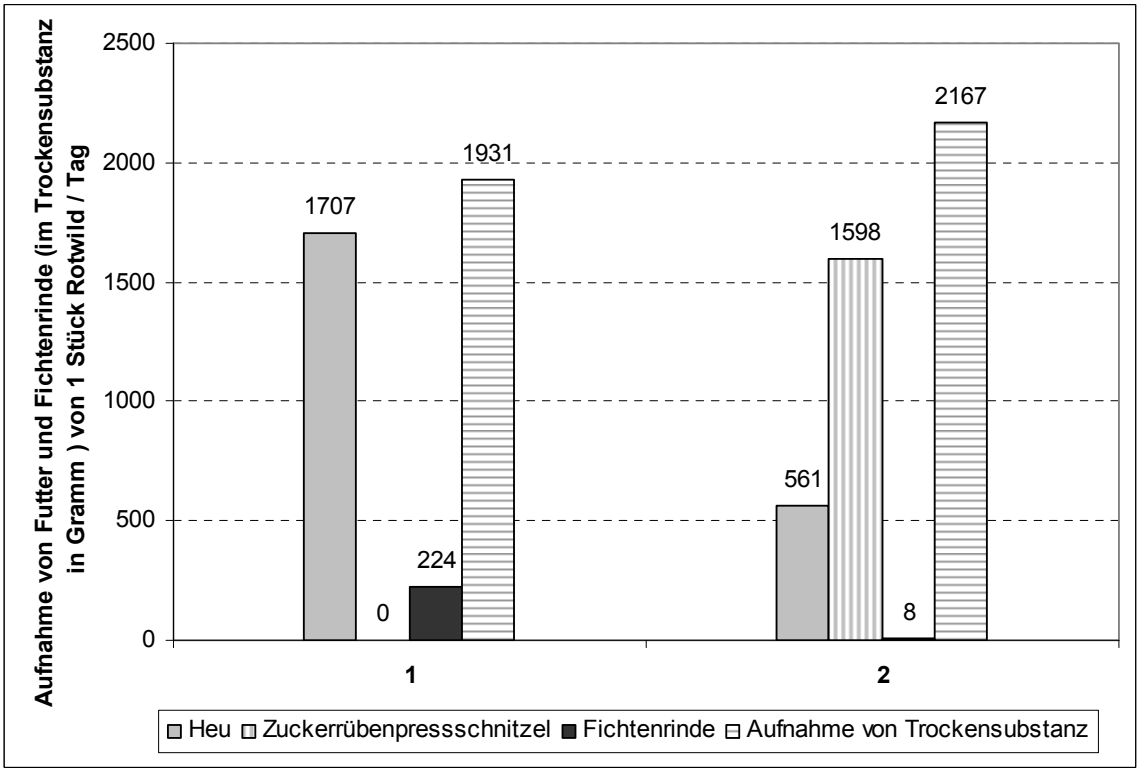



**Abbildung 3**: Anteil von aufgenommenen Futter und Rinde bei ad libidum Vorlage (Angaben in Trockenmasse). Anmerkung: 1. Heu, Fichtenrinde, 2. Heu, silierte Zuckerrübenpressschnitzel, Fichtenrinde

Bei der Fütterung des Rotwildes nur mit Wiesenheu betrug die Tagesaufnahme der Fichtenrinde bis 11,6 % der gesamten Nahrungsaufnahme (umgerechnet auf Trockensubstanz). Nach der Zugabe von schmackhaftem Zuckerrübenpressschnitzel ging der Anteil auf 0,4 % ($p < 0,001$) an geschälten Fichtenrinden zurück. Das hat die Annahme bestätigt, dass die Tiere nach der Vorlage des geschmacklich mehr attraktiven Futters dieses in erhöhtem Ausmaß aufnehmen, was ihre Schälaktivität herabsetzt. Die Zugabe von Zuckerrübenpressschnitzel hat sich auch auf der Aufnahme umsetzbarer Energie ausgewirkt. Bei der Aufnahme von Heu allein und bei dem gleichzeitigen Rindenschälen hat ein Stück Rotwild durchschnittlich insgesamt 16,02 MJ/Tag aufgenommen. Bei Zuckerrübenpressschnitzelzugabe zu dem Heu und zu der Rinde ist die Aufnahme von umsetzbarer Energie auf 22,39 MJ/Tag angestiegen.

## Literatur

Draycote, A. P. (2006): Sugar beet. Blackwell Publishing Ltd. Oxford.

Rajský, M., Vodňanský, M., Hell, P., Slamečka, J., Kropil, R., Rajský, D. (2008): Influence supplementary feeding on bark browsing by red deer (Cervus elaphus) under experimental conditions. In. Eur J Wildl Res, 4, 54, s. 701-708.

## Autorenanschrift

MVDr. Miroslav Vodnansky, PhD.
Mitteleuropäisches Institut für Wildtierökologie, Wien, Brno, Nitra
Erzherzog Karlstrasse 33/2/82, A-1220 Wien
E-Mail: vodnansky@chello.at

# Ein Strukturindex als Fortführung zur Beschreibung der Strukturwirkung mit der physikalisch effektiven NDF

**Karl Rutzmoser, Thomas Ettle, Anton Obermaier und Hubert Schuster**

Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub

## Einleitung

Wiederkäuer sind auf eine hinreichende Versorgung mit strukturwirksamen, faserigen Futtermitteln angewiesen, um über die puffernde Wirkung des Speichels beim Wiederkauen die Säuerung im Pansen abzufangen. Zu tiefe pH-Werte im Pansen über längere Zeit führen zu einer verminderten Pansenmotorik und verringern die Futteraufnahme bis hin zur Futterverweigerung. Um solche gesundheitsschädlichen und leistungsmindernden Auswirkungen zu vermeiden, ist es hilfreich, die Strukturwirkung einer Futtermischung möglichst gut einzuschätzen. Bisher gebräuchliche Maßstäbe sind die strukturwirksame Rohfaser (Piatkowski u.a., 1990) und der Strukturwert nach de Brabander u.a. (1999), welche beide jedoch erkennbare Schwachpunkte aufweisen (Steingass u. Zebeli, 2008).

Von der Arbeitsgruppe Hohenheim wurde die physikalisch effektive NDF (peNDF) als bedeutsamer Kennwert der Strukturversorgung beim Wiederkäuer heraus gearbeitet (Zebeli u.a., 2008). Als allgemein optimales Niveau wird ein Anteil von 31 +- 1,6 % (i. TM) peNDF betrachtet, der Bedarf an peNDF verändert sich aber mit der Menge an abbaubarer Stärke und der TM-Aufnahme.

Das Ziel der hier vorgestellten Überlegungen ist eine entsprechend aufgebaute Kennzahl, welche die Wirkung der strukturwirksamen Faserfraktion (peNDF) beschreiben kann und bereits die anderen Einflussgrößen (abbaubare Stärke, TM-Aufnahme) mit aufnimmt. Damit soll, aufbauend auf die Arbeiten aus Hohenheim ein Kennwert, hier als Strukturindex bezeichnet, entwickelt werden, welcher in einer Zahl die Anforderung an die Strukturversorgung umschreibt und von dem ein Richtwert (Grenzwert) angegeben werden kann, bis zu dem die normalen Pansenbedingungen mit hinreichender Wahrscheinlichkeit gesichert sind. Die Berechnungen sollen am Beispiel eines Fütterungsversuches mit Milchkühen dargestellt werden.

## Futterfaktoren und Pansen-pH

Die Arbeitsgruppe Hohenheim hat sich in umfangreichen Arbeiten mit den Fermentationsabläufen im Pansen befasst (Zebeli u.a., 2008). Als wesentliche Datenquellen wurden veröffentlichte Studien ausgewertet. Eine Zielsetzung war, azidotische Zustände im Pansen von stabilen abzugrenzen. Ausgedrückt als Tagesmittenwert ergab sich ein pH-Wert von 6,15 als Schwellenwert, der zur Vermeidung von Pansenazidose nicht unterschritten werden sollte.

Als strukturwirksame Faserfraktion wurde in diesen Arbeiten die physikalisch effektive NDF (neutrale Detergentienfaser, peNDF) verwendet. In Futtermischungen wird dafür der Anteil an NDF über einem 1,18 mm-Sieb angesetzt. Die Aufteilung in Siebanteile erfolgt dabei mit Hilfe des Penn-State-Particle-Separators, umgangssprachlich als Schüttelbox bezeichnet. Bei den Auswertungen ergaben sich als bedeutsame Futterfaktoren auf den Pansen-pH neben der physikalisch effektiven NDF (peNDF % i.TM, > 1,18 mm Partikel) auch der Anteil an abbaubarer Stärke (% i.TM, im Pansen abgebaut), sowie die Trockenmasseaufnahme (kg TM/Tag).

Der Zusammenhang des pH-Wertes im Pansen als Tagesmittenwert wird mit den beschriebenen Futterfaktoren durch folgende Gleichung dargestellt:

$$pH = 6{,}05 + 0{,}044 * peNDF - 0{,}0006 * peNDF * peNDF - 0{,}017 * \text{abbaubare Stärke} - 0{,}016 * \text{TM-Aufnahme}$$

Dabei wird ein Zielwert von pH > 6,15 bis 6,27 zur Vermeidung schädlicher, azidotischer Verhältnisse im Pansen angestrebt.

## Daten aus Fütterungsversuch

Die Bewertung der strukturwirksamen Faserfraktion mit Hilfe der peNDF und die Ermittlung des pH-Wertes im Pansen aus der Gleichung mit den Fütterungsfaktoren sollen an den Ergebnissen eines Fütterungsversuches mit Milchkühen in Grub dargestellt werden. Weiter sollen damit auch die weiteren Überlegungen zu einem Strukturindex entwickelt werden.

In diesem Fütterungsversuch wurde an eine Gruppe Grassilage verabreicht, in der anderen Gruppe diese gegen Luzernesilage ausgetauscht. Die Grundmischung als Mischration von Grund- und Kraftfutter wurde in Wiegetrögen verabreicht, zusätzliches Leistungskraftfutter wurde im Melksystem (Melkroboter) zugeteilt. In diesem Melksystem wurde auch die tägliche Milchmenge der Einzelkühe erfasst, die Milchinhaltsstoffe wurden in 2-wöchigem Abstand gemessen. Insgesamt wurden 49 Einzelkühe mit 291 2-Wochenperioden in die Auswertung aufgenommen.

Die Nährstofffraktionen wurden aus den Gehalten in den Einzelfuttermitteln und deren Mischungsanteilen berechnet. Von den Einzelfuttermitteln lagen überwiegend Werte der Weender Analyse vor. Die Gehalte an Stärke, Zucker, NDForg und ADForg wurden mangels derzeit verfügbarer Einzelanalysen mit Tabellenwerten besetzt. Mit den gespeicherten Aufnahmen an Futtermischung (Grundmischung als Mischration von Grund- und Kraftfutter) aus den Wiegetrögen und dem im Melksystem zugeteilten und aufgenommenen Leistungskraftfutter wurde die Gesamtaufnahme an Rohnährstoffen berechnet. Die strukturwirksamen Faserfraktionen wurden als deren Anteile in Grobfuttermitteln definiert, somit die physikalisch wirksame NDF (peNDF) als NDForg im Grobfutter gewertet (Steingass und Zebeli, 2010). Die im Pansen abbaubare Stärke wurde aus dem Stärkegehalt der Futtermittel und den zugehörigen Abbauraten der Stärke im Pansen nach DLG (2001) berechnet. Mit den Werten der Futterrationen der Einzelkühe in jeweils 2-Wochenperioden wurde der erwartete pH-Wert im Pansen nach der angegebenen Gleichung ermittelt.

## Strukturindex

Das Berechnungsprinzip eines Strukturindexes wird hier allgemein festgelegt aus einer Faserfraktion im Zähler und der Summe dieser Faserfraktion und Kohlenhydraten im Nenner, ausgedrückt als Index von 100:

$$\text{Strukturindex} = \text{Faserfraktion} / (\text{Faserfraktion} + \text{Kohlenhydrate}) * 100$$

Ein derartig aufgebauter Index kann nur Werte zwischen 0 und 100 erreichen und gibt auch rechenbare Werte, wenn einer der Faktoren den Betrag 0 (oder nahe 0) hat (im Gegensatz zu Verhältniszahlen, die in solchen Fällen extrem groß oder nicht definiert werden).

## Anwendung der Strukturbewertung auf den Fütterungsversuch

Mit der peNDF (NDForg im Grobfutter, % i.TM) und der im Pansen abbaubaren Stärke (pabStärke, % i.TM) sowie der Aufnahme an gesamter TM (kg/Tag) wurden für die 2-Wochenperioden der Einzelkühe die erwarteten pH-Werte im Pansen nach der oben angeführten Gleichung berechnet. Die Perioden mit pH-Werten bis 6,15 wurden der pH-Klasse 1 zugeordnet (azidotische Bedingungen), darüber liegende pH-Werte der pH-Klasse 2 (stabile Bedingungen).

In der Abbildung 1 ist die aufgenommene Menge an peNDF (in kg je Tag) der aufgenommenen Menge an pansenabbaubarer Stärke (pabStaerke in kg je Tag) gegenüber gestellt. Dabei sind die Symbole für die pH-Klassen unterschiedlich gestaltet. Die beiden pH-Klassen lassen sich gut abtrennen, im oberen Bereich die pH-Klasse 1, welche azidotische Bedingungen im Pansen annimmt, darunter die pH-Klasse 2 mit pH-Werten über 6,15. Die Gleichung, welche die Schwelle zwischen den beiden Klassen beschreibt, wurde approximativ abgeleitet und hat diese Form:

pabStaerke (pH-Schwelle) = 2,4 + 0,28 * peNDF

Mit dieser Schwelle wird die Menge an pabStaerke beschrieben, welche bei der betreffenden peNDF einen pH-Wert von 6,15 erwarten lässt. Bei höheren Mengen an pabStaerke muss mit azidotischen Bedingungen gerechnet werden. Aus der Schwellengleichung läßt sich erkennen, dass der Anstieg an „verträglicher" Stärke relativ schwach ist, je kg peNDF beträgt die Steigerung an pabStaerke 0,28 kg. Wird der Schwellenwert an pabStaerke in einen Index mit peNDF verrechnet, ergeben sich unterschiedliche Indexe bei veränderten peNDF. Die Ursache liegt im Absolutglied (2,4 kg pabStaerke) der Gleichung. Beispielsweise wäre der Index an der pH-Schwelle bei 4 kg peNDF mit 3,52 kg pabStaerke bei 4/(4+3,52)*100 = 52, bei 7 kg peNDF mit 4,36 kg pabStaerke bei 7/(7+4,36)*100 = 62.

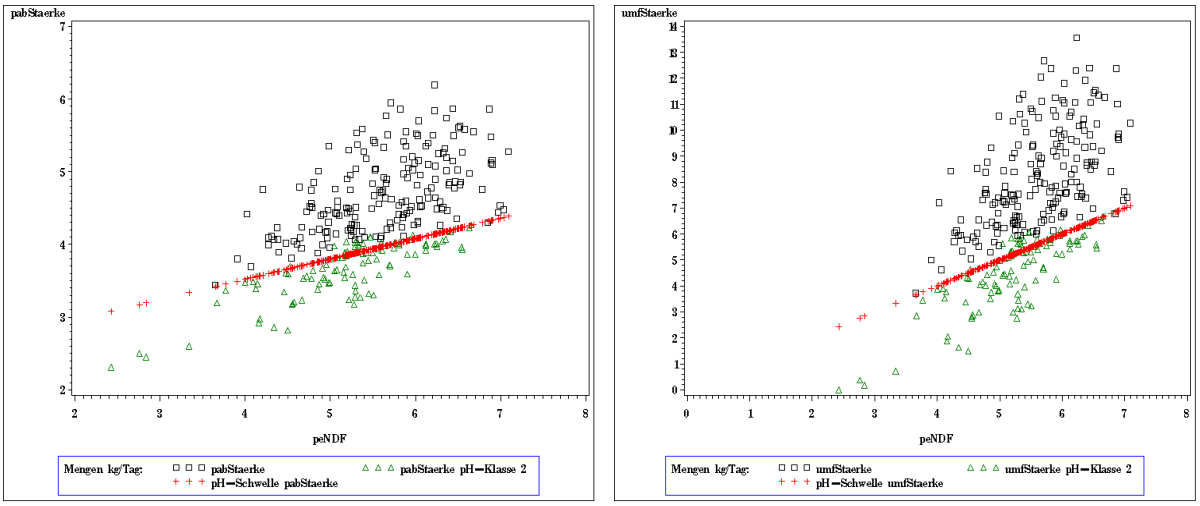



**Abbildung 1 und 2**: Aufnahme von peNDF und pansenabbaubarer Stärke(pabStaerke) (links) sowie umgeformter Stärke (umfStaerke) (rechts) in pH-Klassen und Abgrenzung der beiden Klassen mit einer pH-Schwelle (Werte in kg/Tag).

## Ableiten des Strukturindexes

Wenn die Gleichung so umgeformt wird, dass die Schwellenlinie durch den 0-Punkt geht und gleichzeitig die Diagonale bildet, bleibt der Index auf der Schwellenlinie unbeeinflusst von der Größe der peNDF beim Wert 50.

Für die genannte Ausgangsgleichung

pabStaerke (pH-Schwelle) = 2,4 + 0,28 * peNDF

kann die pabStärke in folgender Weise in die umgeformte Stärke (umfStaerke) umgerechnet werden:

umfStaerke = 1 / 0,28 * ( pabStaerke - 2,4 )

Es wird also die pabStärke um das Absolutglied (2,4) vermindert und dann mit dem Kehrwert der Steigung (1 / 0,28) mal genommen.

In der Abbildung 2 ist die umgeformte Stärke (umfStaerke aus pabStaerke) der aufgenommenen Menge an peNDF (in kg je Tag) zugeordnet und wie in Abbildung 1 die Symbole für die pH-Klassen unterschieden. Die beiden pH-Klassen werden durch die Schwellenlinie der umgeformten Stärke gut getrennt, entsprechend der Aufteilung nach pabStaerke in Abbildung 1. Die Schwellenlinie stellt die Diagonale dar, die Werte auf der x-Achse (peNDF) sind gleich der y-Achse (umfStaerke).

Es bietet sich an, auf die umgeformte Stärke und peNDF, wie in Abbildung 2 dargestellt, die Berechnung des Strukturindexes anzuwenden. Entsprechend der vorher genannten Regel ergibt sich dieser aus der Formel:

Strukturindex = peNDF / (peNDF + umfStaerke) * 100.

Bei den Werten auf der Schwellenlinie ist die umfStaerke gleich der peNDF und der Index ist gleich 50. Liegt der Wert der umfStaerke über der Schwellenlinie, wird der Nenner in der Indexformel größer und der Strukturindex kleiner 50. In solchen Fällen ist davon auszugehen, dass die aufgenommene (pansenabbaubare) Stärke im Verhältnis zur strukturwirksamen Faserfraktion (peNDF) zu groß ist und eine Pansenübersäuerung (pH unter 6,15) entstehen kann. Liegt die umfStaerke unter der Schwellenlinie, ergibt sich ein Strukturindex über 50 und es sind entsprechend stabile Pansenverhältnisse wahrscheinlich.

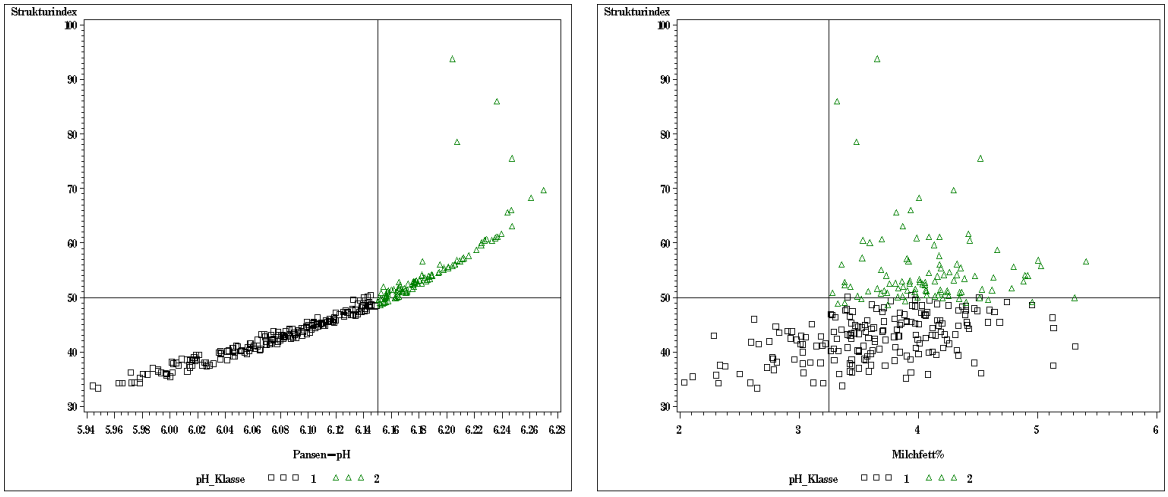



**Abbildung 3 und 4**: Strukturindex nach pH-Wert im Pansen (links) sowie Milchfettgehalt % (rechts), dargestellt in pH-Klassen

## Bewertung des Strukturindexes

Wird der Strukturindex wie beschrieben errechnet und dem pH-Wert im Pansen gegenüber gestellt, zeigt sich eine gute Abtrennung nach beiden Kriterien, wie in Abbildung 3 ersichtlich. Mit dem Strukturindex (aus peNDF und umgeformter, pansenabbaubarer Stärke) kann der erwartete Pansen-pH-Wert gut abgegrenzt werden. Es treten nur wenige Fälle einer unpassenden Zuordnung an der 6,15-pH-Schwelle auf.

In der Abbildung 4 wird der Strukturindex mit dem Milchfettgehalt in Verbindung gebracht. Auch hier ist die gute Abgrenzung von Strukturindex und pH-Klasse zu ersehen. Es weisen alle Fälle mit Milchfettgehalten unter 3,25 % auch einen Strukturindex unter 50 auf, was die Hinweise auf kritische Zustände in der Pansenfermentation bestätigt.

## Weiterführung und Anwendung

Zur Absicherung der hier mehr grundsätzlich methodisch dargestellten Vorgehensweise empfiehlt sich die Überprüfung an Datenmaterial mit direkt gemessenen pH-Werten im Pansen und der Verknüpfung mit den für die Strukturwirkung bedeutsamen Futterfaktoren, im besonderen den strukturwirksamen Faserfraktionen und den pansenabbaubaren Kohlenhydraten.

Die hier dargestellten Ableitungen zum Strukturindex beziehen sich auf die von der Arbeitsgruppe Hohenheim verwendete physikalisch effektive NDF und pansenabbaubare Stärke. Da die Datenlage zur Analytik der Futtermittel durchaus heterogen ist, können Abwandlungen angebracht sein. Im Grundsatz können die Ableitungen zum Strukturindex auf andere Faser- und Kohlenhydratfraktionen angewendet werden. Als Beispiel sei hier die Verwendung der Rohfaser im Grobfutter (GF-Rohfaser) als strukturwirksame Faser und der Summe von pansenabbaubarer Stärke und Zucker als Kohlenhydrate (pabKH) auf die Daten des bisher verwendeten Fütterungsversuches aufgezeigt.

Die Gleichung zur Beschreibung der Schwelle zwischen den pH-Klassen mit den zuletzt genannten Futterfaktoren wurde in folgender Form abgeleitet:

pabKH (pH-Schwelle) = 2,7 + 0,7 GF-Rohfaser

Entsprechend der gezeigten Regeln werden die pabKH in folgender Weise umgeformt:

umfKH = 1 / 0,7 * ( pabKH - 2,7 ).

Die Ergebnisse dieser Berechnungen, angewendet auf die Daten des Fütterungsversuches sind in den Abbildungen 5 und 6 dargestellt. Diese zeigen eine vergleichbar gute Auftrennung nach pH-Klassen wie für peNDF. Der Strukturindex errechnet sich in diesem Fall aus der Formel:

Strukturindex = GF-Rohfaser / (GF-Rohfaser + umfKH) * 100.

Wenn beispielsweise (nur) die Analysendaten für Rohfaser verfügbar sind, kann das Verfahren der Ableitung und Anwendung des Strukturindexes auf diese Faserfraktion angewendet werden. Auch dieser Strukturindex hat an der Schwellenlinie den Wert 50. In ähnlicher Weise könnte geprüft werden, wie die Genauigkeit der Aussage zum Pansen-pH mit den pansenabbaubaren Kohlenhydraten (Stärke und Zucker oder nur Stärke) verknüpft ist. Ebenso ist eine Variante mit der Bewertung der Faserfraktionen mit differenzierten „Strukturfaktoren" in Anlehnung an die strukturwirksame Rohfaser denkbar. Damit könnte beispielsweise ein möglicher Effekt unterschiedlicher Häcksellänge von Grobfutter erfasst werden.

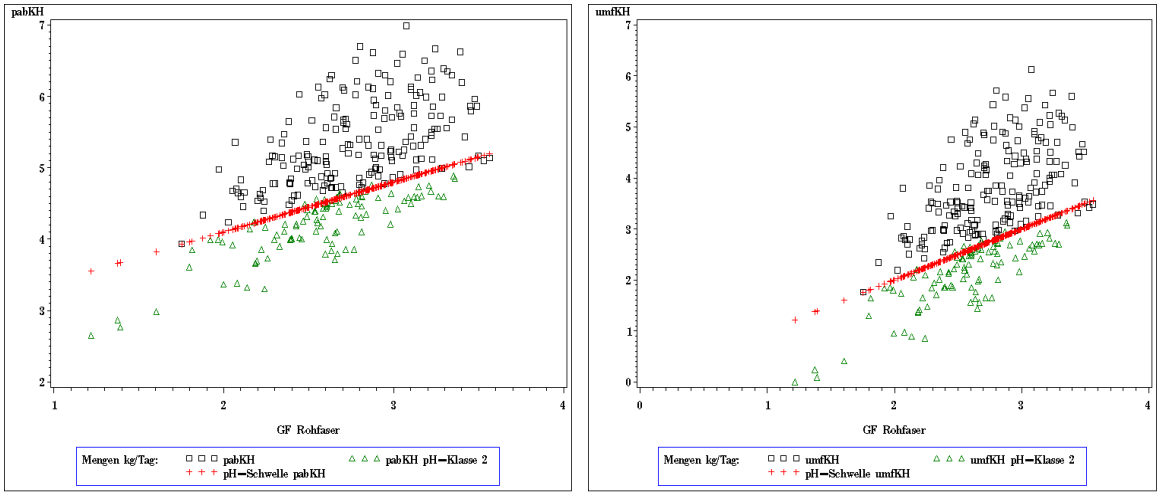



**Abbildung 5 und 6**: Aufnahme von Grobfutter-Rohfaser und pansenabbaubaren Kohlenhydraten (pabKH) (links) sowie umgeformten Kohlenhydraten (umfKH) (rechts) in pH-Klassen und Abgrenzung der beiden Klassen (Werte in kg/Tag)

Bei solchen Abwandlungen kann nach dem Grundprinzip vorgegangen werden, eine pH-Schwellenlinie in dem Diagramm der Tagesmengen von strukturwirksamer Faserfraktion gegen pansenabbaubare Kohlenhydrate zu erstellen und aus den Funktionswerten eine Umformung der KH-Werte zu berechnen. In den Index gehen dann die Beträge der Faserfraktion und umgeformten KH ein.

Der Vorschlag des Strukturindexes geht von den Tagesmengen in Gesamtrationen für Milchkühe aus. Für Einzelfuttermittel ist wegen des Absolutgliedes die Umformung der KH nicht direkt möglich. Eine brauchbare Annäherung kann die Steigung aus den mittleren Tagesmengen von Faserfraktion und KH sein, mit dessen Kehrwert der KH-Anteil im Futtermittel umgeformt wird.

## Literatur

De Brabander, D.L., De Boever, J.L., De Smeet, A.M., Vanacker, J.M., Boucoue, Ch.V. (1999): Evaluation of physikal structure in dairy cattle nutrititon in: Recent aadvances in animal nutrition, by P.C. Gansworhy and J. Wiseman (Ed.) Nottingham Univ. Press, 111-145

DLG (2001): Struktur- und Kohlenhydratversorgung der Milchkuh. DLG-Informationen 2/2001

Steingass, H., Zebeli, Q. (2008): Strukturbewertung von Rationen für Milchkühe. 36. Viehwirtschaftliche Fachtagung, 9. – 10. April 2008, 19-25, Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumbert-Gumpenstein, A-8952 Irdning

Piatkowski, B., Gürtler, H., Voigt, J., (1990): Grundzüge der Wiederkäuerernährung. Gustav-Fischer-Verlag, Jena-Stuttgart

Steingass, H., Zebeli, Q. (2010): Futterstruktur, Anforderungen an das Grobfutter für Milchkühe. BAT-Beratertagung Freising-Weihenstephan, Fachtagung 2010, Aktuelle Fragen der Fütterungsberatung, Tagungsunterlage, 53-64

Zebeli, Q., Dijkstra, J., Tafaj, M., Steingass, H., Ametaj, B.N., Drochner, W. (2008): Modeling the adequacy of dietary fiber in dairy cows based on the responses of ruminal pH and milk fat production to composition of the diet. J. Dairy Sci. 91, 2046-2066

## Autorenanschrift

Dr. Karl Rutzmoser
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub
Prof.-Dürrwaechter-Pl. 3, D-85586 Poing
E-Mail: Karl.Rutzmoser@LfL.bayern.de

# Untersuchungen zum Effekt von Saugferkelbeifütterung (Ferkelmilch) auf die Aufzuchtleistung von Ferkeln

**Bernd Birkenheyer, Katja Schiel und Georg Dusel**

University of Applied Sciences Bingen, FB 1 Life Sciences and Engineering, Berlinstrasse 109, 55411 Bingen

## Einleitung

Die Rentabilität der Ferkelproduktion hängt ganz entscheidend von den biologischen Leistungen der Sauen ab. Die Erhöhung der biologischen Leistungen in den letzten Jahren definiert sich überwiegend in einer Steigerung der Zahl lebend geborener, beziehungsweise abgesetzter Ferkel. Auch eine größere Wurfmasse und damit verbunden ein höheres durchschnittliches Geburtsgewicht der Ferkel wird angestrebt, da schwerere Ferkel vitaler sind und dadurch geringere Ferkelverluste aufweisen. Bei steigender Ferkelzahl je Wurf und steigender Aufzuchtleistung in der Säugephase bedeutet dies, dass die Milchmenge der Sauen steigen muss. Somit steigt auch die erforderliche metabolische Leistung, wobei die Futteraufnahmekapazität der Sauen den Nährstoff- und Energieinput limitiert. Es kann ein Nährstoff- und Energiedefizit entstehen, das durch den Abbau von Körpermasse kompensiert werden muss (DUSEL et. al, 2009; REVELL et al 1998; NEWCOMB et al. 1991). Erhebungen aus der Praxis zeigen, dass die Wurfleistungen in den letzten Jahren rascher gesteigert werden konnten, als die Milchleistung der laktierenden Sauen. Daraus resultiert ein Milchdefizit bei Saugferkeln aus großen Würfen mit den entsprechend negativen Folgen auf Gesundheit und Zuwachsleistung. Um dem zu begegnen werden in der Praxis verschiedenste Saugferkelbeifütterungsvarianten, angefangen von der Ammensauhaltung über den Einsatz von unterschiedlichsten Beifütterungsstrategien bis hin zum Einsatz von Ersatzmilch für Saugferkel, durchgeführt. Ziel der vorliegenden Praxisstudie war es nachfolgende Fragen zu beantworten: Werden durch den Einsatz von Ferkelmilch die Absetzgewichte gesteigert? Lassen sich die Saugferkelverluste reduzieren? Wie wirkt sich der Ferkelmilcheinsatz auf die Leistung in der Ferkelaufzucht aus? Welche Auswirkungen hat der Einsatz auf die Zuchtkondition der Sauen?

## Material und Methoden

Als Versuchsstandort wurde ein Ferkelerzeugerbetrieb mit praxisüblichen Produktionsbedingungen ausgewählt. Für die Untersuchung standen insgesamt 445 Kreuzungsferkel (Germanhybrid x Pietrain) aus 38 Würfen zur Verfügung. Die Muttersauen der Genetik Germanhybrid wurden nach Wurfnummer und Alter balanciert und auf zwei Versuchsvarianten A und B aufgeteilt.

Einen Tag vor dem errechneten Geburtstermin der Sauengruppe hatten 9% der Sauen aus der Versuchsvariante A und 11% der Sauen der Versuchsvariante B abgeferkelt. Bei den übrigen Sauen wurde durch Geburtensynchronisation die Abferkelung am 114. Trächtigkeitstag eingeleitet.

Anschließend wurde eine betriebsübliche Neugeborenenpflege durchgeführt bevor ein Wurfausgleich über die gesamte Abferkelgruppe erfolgte, so dass 224 Ferkel für die Variante A (mit Ferkelmilchbeifütterung) und 221 Ferkel für die Versuchsvariante B (ohne Ferkelmilchbeifütterung) zur Verfügung standen. Einteilung und Einteilungskriterien (Wurfnummer, Geburtsgewicht und Ferkelanzahl) der Varianten kann aus nachfolgender Tabelle 1 entnommen werden.

**Tabelle 1**: Einteilung der Versuchsvarianten A / B

| Varianten<br>n = 38 Würfe<br>n = 445 Ferkel | Sauen<br>mittlere Wurfnummer | Ferkel<br>Geburtsgewicht in kg | Ferkel / Wurf<br>Anzahl |
|---|---|---|---|
| A (Zusatzmilch + Prestarter) | 4,89 | 1,49 | 11,71 |
| B (Prestarter) | 5,14 | 1,54 | 11,63 |

Als Versuchsdesign wurden nachfolgende praxisübliche Varianten gewählt. Ferkeln der Variante A erhielten ab dem 1. Lebenstag eine Ferkelmilchbeifütterung. Ab dem 9. Lebenstag wurde die Ferkelmilch lediglich über den Tagesverlauf (12h) angeboten. Daneben erhielten die Ferkel wie in Variante B einen Prestarter zur freien Aufnahme. Das Absetzen der Ferkel erfolgte am 21. Lebenstag. Danach erhielten beide Varianten die identischen Ferkelaufzuchtfutter (FAZ) 1 und 2. In Abbildung 1 ist das gewählte Versuchsdesign dargestellt.

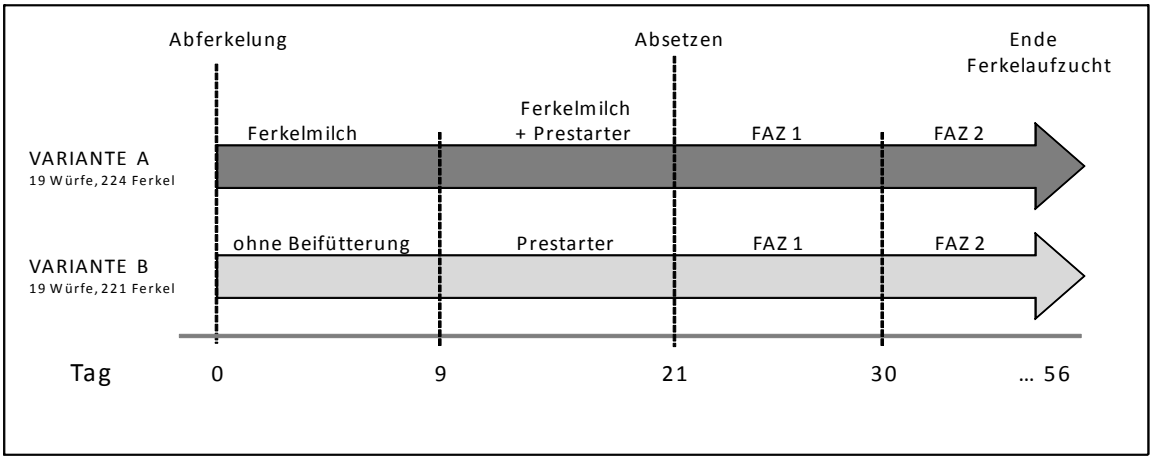



**Abbildung 1**: Durchgeführtes Versuchsdesign mit den 2 Fütterungsvarianten A (mit Ferkelmilchbeifütterung und B (ohne Ferkelmilchbeifütterung)

Die deklarierten und kalkulierten Futtermittelinhaltsstoffe der Ferkelmilch, Prestarter, Aufzuchtfutter 1 und 2 sowie das Sauenlaktationsfutter ist in Tabelle 2 dargestellt.

**Tabelle 2**: Deklarierte und kalkulierte Futtermittelinhaltsstoffe der eingesetzten Futterrationen

| Futter-varianten<br>Inhaltsstoffe | Sauenfutter Laktation | Ferkelmilch | Prestarter<br>in g/ kg Futter | Aufzucht 1 FAZ1 | Aufzucht 2 FAZ2 |
|---|---|---|---|---|---|
| XP | 168 | 200 | 175 | 178 | 164 |
| Lysin | 9,50 | 17,0 | 15,0 | 12,5 | 11,5 |
| XL | 45,0 | 200 | 100 | 73,0 | 32,0 |
| XF | 43,6 | 1,00 | 17,0 | 46,0 | 22,0 |
| XA | 55,0 | 58,0 | 42,0 | 51,0 | 69,0 |
| Ca | 8,20 | --- | 6,50 | 6,50 | 7,00 |
| P | 5,00 | 4,80 | 5,70 | 4,50 | 5,00 |
| MEs (MJ/kg) | 13,2 | --- | 16,3 | 14,3 | 13,9 |

Als Versuchsparameter wurden die zootechnischen Leistungsparameter tägl. Futteraufnahme sowie Lebendmasseentwicklung der Ferkel über den gesamten Zeitraum der Ferkelaufzucht (Saugferkel-Aufzuchtferkel-Mastferkel) erhoben. Bei den Sauen wurde während der Säugezeit ebenfalls die Futteraufnahme dokumentiert. Des Weiteren wurden Rückenspeckdickemessungen an den Terminen zwei Tage vor dem errechneten Geburtstermin, elf Tage p.p. und die dritte Messung am Tag des Absetzens (21. Tag p.p.) durchgeführt. Als weiterer Parameter erfolgte die Trächtigkeitsbestimmung als Maßstab für den Besamungserfolg (Widerbelegung der Sauen) bei den beiden Versuchsvarianten am 21. Tag nach der 2. Besamung mittels Scannertechnik.

**Tabelle 3**: Parameter bei der Datenerhebung

| SAUEN |
|---|
| Erfassung der tägl. Futteraufnahme der Sauen (individuell) |
| Messung der Rückenspeckdicke (Tag 2 a.p., Tag 11 p.p., Tag 21 p.p.) – Stambock Methode |
| Dokumentation der Besamungsergebnisse nach Wiederbelegung der Sauen am 21. Trächtigkeitstag |
| FERKEL |
| Tägliche Lebendgewichtserfassung während der Säugezeit |
| Tägliche Erfassung der Milchaufnahme (Versuchsvariante A) |
| Tägliche Erfassung der Prestarteraufnahme ab dem 9 Tag p.p. (beide Varianten) |
| Erfassung der Futteraufnahme und Lebendmasseentwicklung in der Ferkelaufzucht (nach Absetzen) |

# Ergebnisse und Diskussion

*Zootechnische Parameter Ferkel*

In den nachfolgenden Abbildungen 2 und 3 sind die Lebendgewichte sowie die tägliche Futteraufnahme (Ferkelmilch und Prestarter) in der Phase Geburt bis zum Vormastgewicht aufgeführt. Bei den täglichen Zunahmen wurde kein Effekt durch die Ferkelmilchbeifütterung erreicht. Bis zum Absetzen war die Lebendmasseentwicklung der Ferkel beider Fütterungsstrategien auf gleichem Niveau. Auch im weiteren Versuchsverlauf bis zum Vormastgewicht von 30 kg wurden keine signifikanten Effekte auf die Ferkelgewichtsentwicklungen festgestellt (Abbildung 2).

Aus Abbildung 3 ist zu entnehmen, dass die Ferkelmilchaufnahme in den ersten 8 Lebenstagen der Ferkel im Mittel von 60 bis 130 ml je Ferkel und Tag anstieg. Ab dem 8. Lebenstag wurde die Ferkelmilchbeifütterung auf die Tagesstunden (12h) reduziert. Daher ist ab diesem Zeitpunkt ein Abfall der Milchaufnahme festzustellen. Bei beiden Varianten wurde ab dem 9. Lebenstag ein handelsüblicher Ferkelprestarter zugefüttert. In beiden Fütterungsvarianten war kein signifikanter Unterschied in der Futteraufnahme des Prestarters zu ermitteln.

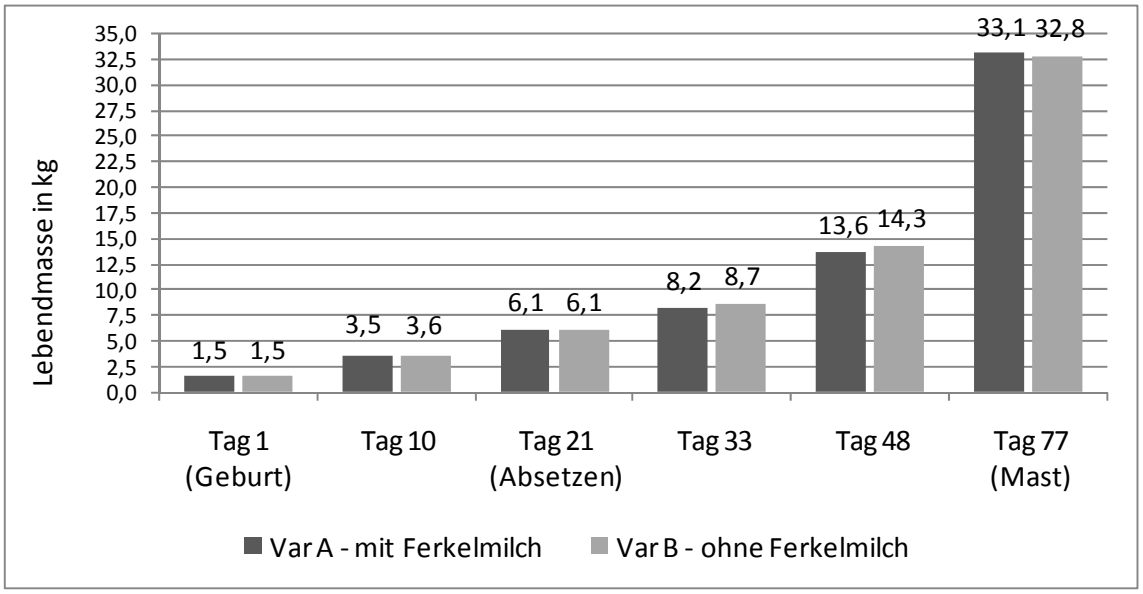



**Abbildung 2**: Mittlere tägliche Ferkelgewichte der beiden Fütterungsvarianten mit und ohne Ferkelmilchbeifütterung

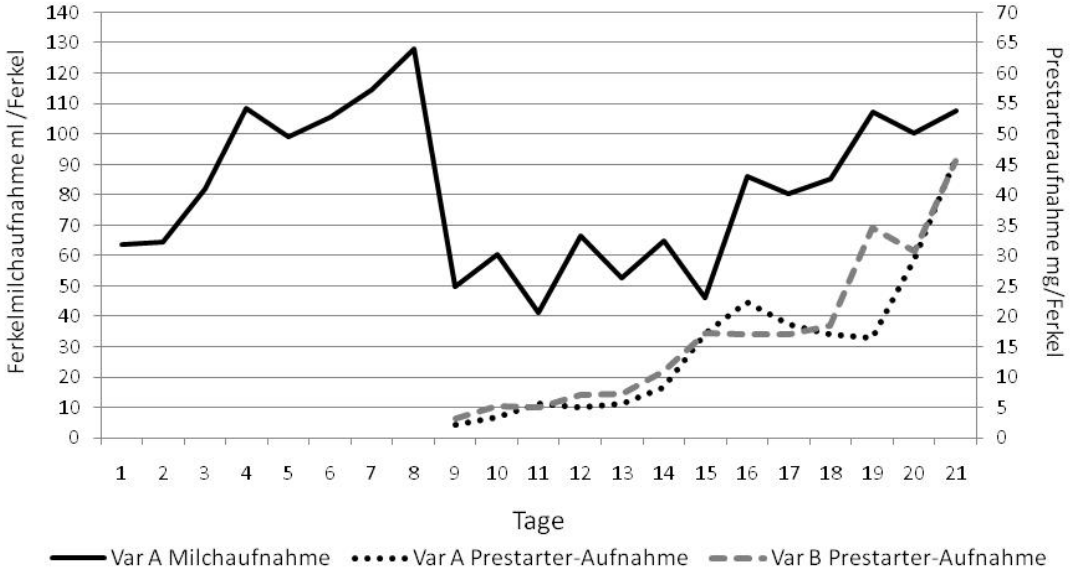



**Abbildung 3**: Mittlere tägliche Futtermittelaufnahme der beiden Fütterungsvarianten mit und ohne Ferkelmilchbeifütterung

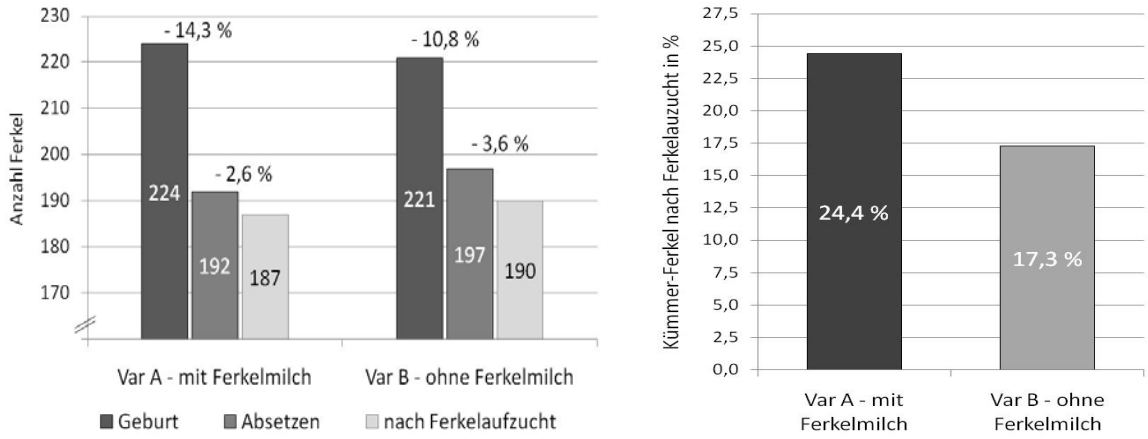



**Abbildung 4 und 5**: Gesundheitsstatus der Ferkel

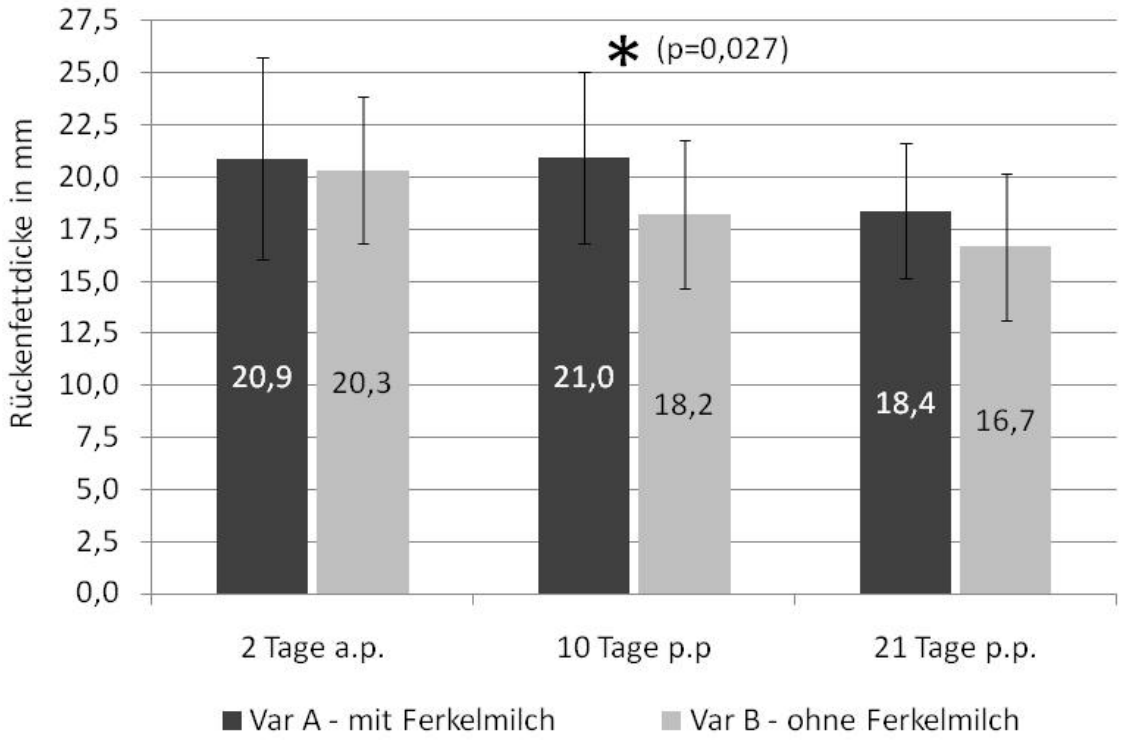



**Abbildung 6**: Entwicklung der Rückenfettdicke der Sauen von der Geburt bis zum Absetzen der Ferkel

Aus Abbildung 6 ist ein signifikanter Effekt auf die Rückenfettdickenentwicklung der Sauen durch die Beifütterung mit Ersatzmilch festzustellen. Bei der Versuchsvariante A wird durch die Zufütterung von Ferkelmilch kein Effekt auf die Rückspeckdicke in den ersten 10 Laktationstagen ermittelt. Dagegen zeigt sich in Variante B eine signifikante Abnahme der RFD in dieser Laktationsphase. Dies könnte durch ein höheres Energiedefizit auf Grund einer höheren Milchleistung der Versuchsvariante ohne Ferkelmilchzufütterung begründet sein. In Untersuchungen von AZAIN (1996) wurden keine Effekte auf

die Entwicklung von Sauengewichten und Rückenfettdicke der Sauen durch das Füttern von Ferkelersatzmilch beobachtet. Durch stärkeren katabolen Stoffwechsel und somit dem Abbau von Körperreserven könnte des Weiteren ein negativer Einfluss durch geringere Rückenfettdicken der Sauen aus Variante A auf den nachfolgenden Besamungserfolg vermutet werden. Dies wurde in vorliegender Untersuchung jedoch nicht bestätigt.

Die Saugferkelverlustrate von 14,2% bei der Versuchsvariante A und 10,8% bei der Versuchsvariante B zeigen eine tendenziell niedrigere Verlustrate in der Variante ohne Ferkelmilchzufütterung (Abbildung 4). In der Ferkelaufzuchtphase lagen die Verlustraten in beiden Varianten auf gleichem Niveau jedoch zeigt sich in Variante A (mit Ferkelmilchbeifütterung) ein um 5,1%-Punkte höherer Anteil von unterentwickelten Ferkeln („Kümmer"-Ferkel). (Abb. 5)

# Schlussfolgerung

Als Fazit aus vorliegender Untersuchung zeigt sich kein positiver Effekt durch eine Ferkelmilchbeifütterung auf die zootechnischen Parameter wie Absetzgewichte, tägliche Zunahmen und Tierverluste. Auch bei den Sauen konnte trotz der signifikant geringeren Abnahme der Rückenspeckdicke keine positive Beeinflussung der Fruchtbarkeit, durch das Beifüttern der Saugferkelmilch festgestellt werden. Die Vorteile dieser Strategie der Milchbeifütterung ist möglicherweise erst bei Wurfgrößen >13 Ferkel je Wurf und hohen Stalltemperaturen (AZIAN et.al., 1996) zu erwarten. Diese Erfahrung wird auch aus Beobachtungen in Praxisbetrieben mit hohen Leistungen >14 geborenen Ferkel berichtet (HILGERS und MASSFELLER, 2009).

## Literatur

Azian M.J., T.Tomkins, J.S. Sowinski, R. A. Arentson and D. E. Jewell 1996): Effect of supplemental pig milk replacer on litter performance – seasonal variation in reponse, J. Anim. Sci., 74: 2195-2202

Dusel G., E. Finck, M. Klaßen und K. Landfried, 2009: Untersuchung der Energie- und Nährstoffbilanzen in der Vorbereitungs- und Säugephase von Sauen, 8. BOKU-Symposium Tierernährung, 2009

Hilgers J und M. Massfeller, 2009: Ferkelammen im Praxisurteil, DLZ-Primus Schwein, Ausgabe 9/2009 S. 29-30

Newcomb, M. D., Harmon, D. L., Nelssen, J. L., Thulin, A. J., Allee, G. L. (1991): Effect of energy source fed to sows during late gestation on neonatal blood metabolite homeostasis, energy stores and composition, J. Anim Sci. 69: 230-236

Revell, D. K., Williams, I. H., Mullan, B. P., Ranford, J. L., Smits, R. J. (1998): Body composition at farrowing and nutrition during lactation affect the performance of primiparous sows: I. Voluntary feed intake, weight loss, and plasma metabolites, J. Anim Sci. 76: 1729-1737

## Autorenanschrift

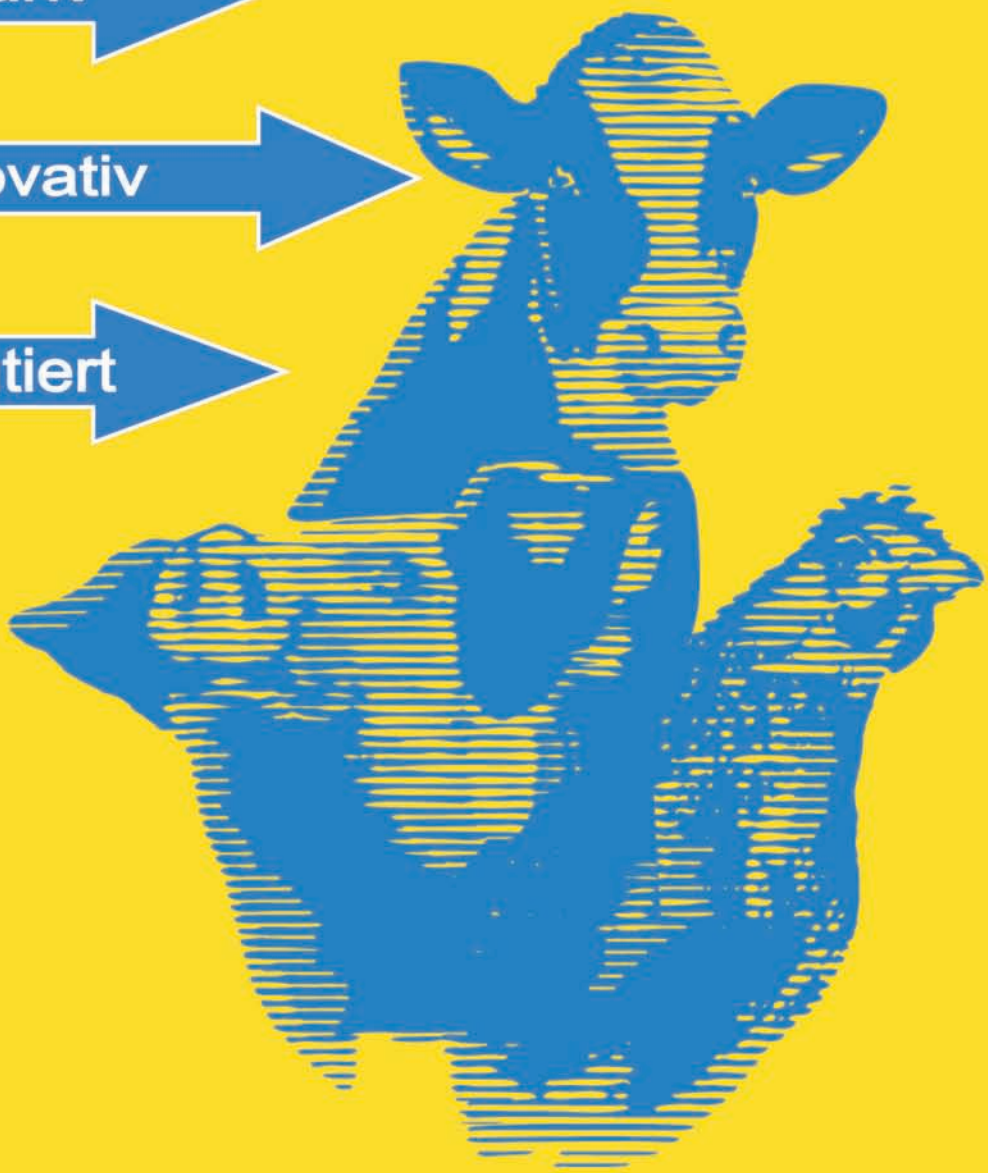
Prof. Dr. Georg Dusel
Fachhochschule Bingen/University of Applied Sciences
Fachbereich 1 – Life Sciences and Engineering
Berlinstrasse 109, D- 55411 Bingen, Germany
E-Mail: dusel@fh-bingen.de

# Entdecken Sie die Welt der Professionalität

leistungsstark

innovativ

kundenorientiert



**SCHAUMANN**
**– Erfolg im Stall**

2345 Brunn am Gebirge
Jakob Fuchs-Gasse 25-27
info@schaumann.at
☏ 022 36 / 316 41

www.schaumann.at

# „Einfache" Phasenfütterung in der Ferkelaufzucht und in der Mast

**Wolfgang Preißinger, Hermann Lindermayer und Günther Propstmeier**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub/Schwarzenau, Deutschland

## Einleitung

Sojaextraktionsschrot und Mineralfutter bzw. zusammengefasst das Ergänzungsfutter machen einen Großteil der Futterkosten aus. Wenn wirkungsvoll Kosten eingespart werden sollen, muss der Anteil dieser teuren Futterkomponenten so weit als möglich zurückgefahren werden. Dies darf natürlich nicht zu Lasten der Tiergesundheit und der tierischen Leistungen gehen. Den Grenzbereich galt es in einem Ferkelaufzuchtversuch mit anschließender Mast auf hohem Leistungsniveau auszuloten. Ausgangsbasis sollte die Einphasenfütterung in der Ferkelaufzucht sein (Kontrollgruppe). Der eventuelle Arbeits- oder Technikmehraufwand sollte dabei so gering wie möglich ausfallen. Folglich kommt nur die Zweiphasenfütterung mit zeitnahem Wechsel (bei ca. 14 bis 16 kg Lebendmasse bzw. 70 bis 80 kg Lebendmasse) vom hochwertigeren Ferkelaufzuchtfutter I auf das aminosäureärmere Ferkelaufzuchtfutter II bzw. vom Anfangsmast- zum abgespeckten Endmastfutter in Betracht. Prinzipiell stehen zwei Möglichkeiten zur einfachen Herstellung des mengenmäßig weitaus größeren aber billigeren „Endfutters" zur Wahl:

- Neue Futterrezeptur und –mischung mit entsprechender Reduzierung des Mineral- und Eiweißfutteranteils (vorhandenes Mineralfutter minus 0,5 bis 1 %-Punkt, Soja minus 2 bis 4 %-Punkte im Austausch gegen Getreide)
- Verschneiden des Ferkelaufzuchtfutter I bzw. Anfangsmastfutters mit Getreideschrot (Gerste plus Öl oder Weizen und/oder Mais).

Beide Varianten führen zu gleichwertigen Ferkelaufzuchtfutter II für die älteren Ferkel ab der 4. Aufzuchtwoche bzw. zu Endmastfutter ab der 8. Mastwoche. Im Folgenden wird nur die erste Variante beschrieben, das Verschneiden mit Getreide beim Ferkelfutter ist in einer weiteren Arbeit in diesem Tagungsband (Preißinger et al., 2011) dargestellt.

## Material und Methoden

Die Untersuchung wurde am Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum Schwarzenau durchgeführt und bestand aus einem 6-wöchigen Ferkelfütterungsversuch und einem anschließenden Mastversuch bis zu einem angestrebten Mastendgewicht von ca. 120 kg. Für den Versuch wurden 192 Ferkel der Rasse Pi x (DE x DL) nach Lebendmasse, Abstammung und Geschlecht ausgewählt und gleichmäßig auf zwei Gruppen (1-phasig bzw. 2-phasig) aufgeteilt. Die Tiere wurden in 16 Buchten zu je 12 Tieren aufgestallt, sie waren zu Versuchsbeginn im Durchschnitt 32 Tage alt und wogen 8,9 ± 1,2 kg. Die Ferkel wurden in 16 Buchten auf Kunststoffrosten ohne Einstreu gehalten. Die Buchten waren mit jeweils 12 Tieren belegt. Pro Behandlungsgruppe wurden 2 Buchten mit weiblichen Tieren, 2 Buchten mit Kastraten und 4 Buchten gemischtgeschlechtlich aufgestallt. Die Futterzufuhr erfolgte für jede Behandlungsgruppe über eine separate Spot-Mix Mini Anlage der Fa. Schauer. Dabei wurde das Futter für jede Bucht trocken verwogen, mittels Druckluft in den Stall geblasen, mit Wasser im Verhältnis 1:2 vermischt und in einen Kurztrog mit Sensor ausgetragen. Fütterungszeiten waren von 04:00 bis 11:00

Uhr und von 13:30 bis 22:30 Uhr. Anhand der Belegdichten wurden die zugeteilten Futtermengen automatisch auf die Einzeltiere pro Tag umgerechnet. Die Lebendmassen wurden wöchentlich am Einzeltier erfasst.

Nach Abschluss des Ferkelaufzuchtversuches wurden die Tiere buchtenweise in das Versuchsmastabteil, das ebenfalls 16 Buchten umfasste, umgestallt. Es ergaben sich folgende vier neue Behandlungsgruppen:

- Gruppe 11: Kontrollgruppe (1-phasige Ferkelaufzucht / 1-phasige Mast)
- Gruppe 12: Testgruppe 1 (1-phasige Ferkelaufzucht / 2-phasige Mast)
- Gruppe 21: Testgruppe 2 (2-phasige Ferkelaufzucht / 1-phasige Mast)
- Gruppe 22: Testgruppe 3 (2-phasige Ferkelaufzucht / 2-phasige Mast)

Die Fütterung erfolgte mit separaten Fließfutteranlagen für jede Behandlungsgruppe (1- bzw. 2-phasige Mast). Die Flüssigfuttermengen wurden für jede Bucht automatisch verwogen. Die Lebendmassen wurden alle zwei Wochen am Einzeltier erfasst. Beim Erreichen von ca. 120 kg Lebendmasse wurden die Tiere nach den Vorgaben der Mastleistungsprüfung an 4 Terminen im Versuchsschlachthaus Schwarzenau geschlachtet. Die Ferkelaufzuchtfutter (FAF I, FAF II) sowie die Anfangs- (AM) und Endmastmischungen (EM) wurden in der Versuchsmahl- und Mischanlage Schwarzenau hergestellt. Die Futteruntersuchen wurden im Labor der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft in Grub nach VDLUFA-Richtlinien durchgeführt.

Die Stickstoff- und Phosphorausscheidungen wurden aus der Differenz Aufnahme mit dem Futter und Ansatz je kg Zuwachs ermittelt. Für P wurden 5 g/kg Zuwachs entsprechend den Vorgaben der GfE (2006) unterstellt, bei N wurden 25,6 g/kg angenommen (Kirchgeßner et al., 2008). Zur Bestimmung der Preiswürdigkeiten wurden aktuelle Zukaufspreise (Februar 2011) zugrunde gelegt.

**Tabelle 1**: Versuchsrationen und analysierte Inhaltswerte

| **Futter/ Inhaltsstoffe** | | **Ferkel** | | **Mast** | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | **FAF I** | **FAF II** | **Anfang** | **Ende** |
| **Weizen** | **%** | 36 | 37,5 | 30 | 42 |
| **Gerste** | **%** | 37 | 37,5 | 39 | 42 |
| **Körnermais** | **%** | -- | -- | 10 | - |
| **Sojaöl** | **%** | 1 | 1 | - | - |
| **Sojaextr.-schrot 48 %** | **%** | 21 | 20 | 18 | 14 |
| **Fumarsäure** | **%** | 1 | 1 | - | - |
| **Mineralfutter Ferkel** | **%** | 4 | 3 | | |
| **Mineralfutter Mast** | | | | 3 | 2 |
| **ME** | **MJ** | 13,78 | 13,58 | 12,96 | 12,88 |
| **Rohprotein** | **g** | 188 | 182 | 168 | 158 |
| **Lysin** | **g** | 11,8 | 10,5 | 10,7 | 8,8 |
| **Ca** | **g** | 6,8 | 6,9 | 7,2 | 6,7 |
| **P** | **g** | 5,0 | 4,8 | 5,0 | 4,7 |
| **Preis/dt** | **€** | 32,03 | 30,95 | 27,45 | 25,74 |

# Ergebnisse und Diskussion

Die Rationen und die analysierten Inhaltsstoffe inkl. Energiewerte sind in Tab. 1 zusammengestellt. Sie entsprachen den heute üblichen Zielvorstellungen und reichten für maximale Mast- und Schlachtleistungen aus. Durch gezielte Nährstoffanpassung in Fütterungsphase II ließen sich die Futterpreise bei den Ferkeln um ca. 3 %, bei den Mastschweinen um ca. 6 % reduzieren.

Das Leistungsniveau war sowohl in der Ferkelaufzucht (ca. 540 g tägliche Zunahmen, unter 1,7 kg Futteraufwand pro kg Zuwachs) als auch in der Mast (ca. 820 g tägliche Zunahmen unter 2,5 kg Futteraufwand pro kg Zuwachs) gut. Insgesamt nahmen die Tiere von 8,9 kg bis 117 kg LM 742 g zu, die Gruppe 12 mit einphasiger Aufzucht und zweiphasiger Mast lag dabei im Trend vorne (Tab. 2). Die Gruppe 22 mit durchgängig 2 Phasen fiel wegen einiger Verletzungen beim Wiegen etwas ab. Sowohl der Futter- als auch der Energieaufwand waren in allen Behandlungsvarianten nahezu gleich. Mit Phasenfütterung wurde die Aufzucht- bzw. Mastleistung keinesfalls schlechter.

Bei fast identischem Schlachtgewicht und guter Ausschlachtung (Tab. 3) deuteten alle Fleisch- und Speckmaße auf einen sehr hohen Schlachtkörperwert hin. Mit etwa 60 % Magerfleischanteil lagen alle Gruppen gleich auf. Phasenfütterung mit reduzierten Rohprotein-/Aminosäuregehalten im Verlauf des Wachstums führte nicht zu niedrigerem Fleischansatz bzw. zu höherer Verfettung.

**Tabelle 2**: Aufzucht- und Mastleistungen (LSQ-Werte)

| **Gruppen** | | **11** | **12** | **21** | **22** | **Signifik.** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Futtertypen/Phasen** | | **FAF I Mast I** | **FAF I Mast I/II** | **FAF I/II Mast I** | **FAF I/II Mast I/II** | |
| **Tierzahl Fe/Ms** | n | 87/38 | 87/38 | 92/44 | 92/44 | - |
| **Gewichte** | | | | | | |
| Beginn | kg | 8,9 | 8,9 | 8,9 | 8,9 | n.s. |
| Ferkel II | kg | - | - | 17,5 | 17,5 | n.s. |
| Mast I | kg | 32,8 | 32,1 | 31,1 | 30,9 | n.s. |
| Mast II | kg | 69,4 | 68,5 | 67,4 | 65,5 | n.s. |
| Mastende | kg | 117,2 | 117,6 | 117,2 | 116,1 | n.s. |
| **Zunahmen** | | | | | | |
| Ferkelaufzucht | g | 557 | 557 | 530 | 530 | * |
| Mast | g | 815 | 843 | 826 | 806 | n.s. |
| Gesamt (8-117 kg) | g | 739 | 760 | 741 | 728 | n.s. |
| **Futterverzehr/Tag** | | | | | | |
| Ferkelaufzucht | kg | 0,93 | 0,93 | 0,89 | 0,89 | n.s. |
| Mast | kg | 2,26 | 2,31 | 2,25 | 2,27 | n.s. |
| Gesamt | kg | 1,87 | 1,90 | 1,86 | 1,74 | n.s. |
| **Futterverzehr gesamt** | | | | | | |
| Ferkel | kg | 39,9 | 39,9 | 37,3 | 37,3 | - |
| Mast | kg | 234,0 | 234,2 | 234,5 | 239,9 | - |
| Gesamt | kg | 273,9 | 274,1 | 271,8 | 277,2 | - |
| **Futteraufwand** | | | | | | |
| Ferkel | kg | 1,67 | 1,67 | 1,68 | 1,68 | n.s. |
| Mast | kg | 2,78 | 2,74 | 2,73 | 2,82 | n.s. |
| Gesamt | kg | 2,45 | 2,42 | 2,51 | 2,50 | n.s. |
| **Energieaufwand** | | | | | | |
| Ferkel | MJ | 23,2 | 23,2 | 23,5 | 23,5 | n.s. |
| Mast | MJ | 36,0 | 35,4 | 35,4 | 36,4 | n.s. |
| Gesamt | MJ | 32,2 | 31,8 | 32,0 | 32,9 | n.s. |

Gegenüber der durchgängigen Einphasenfütterung (Gruppe 11) zeigten die 2-Phasenfütterung bei den Ferkeln (Gruppe 21), die 2-Phasenfütterung in der Mast (Gruppe 12) und die zweigeteilte Fütterung in der Ferkelaufzucht und in der Mast (Gruppe 22) Einsparungen bei den Futterkosten sowie einen reduzierten Stickstoff- bzw. Phosphoraustrag (Tab. 4). Der Beitrag der 2-geteilten Ferkelfütterung war

etwa halb so hoch wie bei der 2-Phasenmast. Im vorliegenden Versuch wurden durch die Phasenfütterung in der Ferkelaufzucht und/oder Mast je Endprodukt bis zu ca. 2,40 € Futterkosten (3 %) sowie ca. 5 % Stickstoff- und ca. 5 % Phosphoreintrag in die Umwelt vermieden. Würde man gleichen Futterverbrauch in Ferkelaufzucht und Mast unterstellen, was bei Unterschieden in der Aufzucht und Mast im Zufallsbereich gerechtfertigt ist, dann würde sich die Reduzierung der Phosphor- bzw. der Stickstoffausträge bei durchgängiger Phasenfütterung auf 6 bzw. 9 % belaufen.

Für die Phasenfütterung liegen die technischen und arbeitsorganisatorischen Voraussetzungen in den meisten Betrieben vor, meist fehlt es an einer konsequenten Umsetzung.

**Tabelle 3**: Schlachtleistungen (LSQ-Werte)

| **Gruppen** | | **11** | **12** | **21** | **22** | **Signifik.** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Futtertypen/Phasen** | | **FAF I Mast I** | **FAF I Mast I/II** | **FAF I/II Mast I** | **FAF I/II Mast I/II** | |
| Tierzahl | n | 37 | 37 | 44 | 39 | - |
| Schlachtgewicht | kg | 95,3 | 94,9 | 95,0 | 94,4 | n.s. |
| Ausschlachtung | % | 81,1 | 80,4 | 81,1 | 81,4 | |
| Fleischmaß | mm | 72 | 71 | 71 | 72 | n.s. |
| Speckmaß | mm | 15 | 14 | 14 | 14 | n.s. |
| Fleischfläche | $cm^2$ | 59,6 | 58 | 60 | 59 | n.s. |
| Fettfläche | $cm^2$ | 18 | 18 | 17 | 17 | n.s. |
| Fleisch/Fett | 1: | 31 | 31 | 29 | 29 | n.s. |
| Magerfleischanteil | % | 59,9 | 59,8 | 60,5 | 60,3 | n.s. |
| Fleischanteil Bauch | % | 55,7 | 56,2 | 57,3 | 57,1 | n.s. |

**Tabelle 4**: Futterkosten und Nährstoffausscheidungen

| **Gruppen** | | **11** | **12** | **21** | **22** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Futtertypen/Phasen** | | **FAF I Mast I** | **FAF I Mast I/II** | **FAF I/II Mast I** | **FAF I/II Mast I/II** |
| **Futterkosten** | | | | | |
| Ferkel | € | 12,78 | 12,78 | 11,67 | 11,67 |
| Mast | € | 64,23 | 61,83 | 64,37 | 63,25 |
| Gesamt | € | 77,01 | 74,61 | 76,04 | 74,92 |
| **Ausscheidungen** | | | | | |
| N-Gesamt | kg | 4,72 | 4,49 | 4,71 | 4,57 |
| P-Gesamt | kg | 0,83 | 0,79 | 0,81 | 0,80 |

# Schlussfolgerungen

Das Leistungsniveau war mit 740 g täglichen Zunahmen für den Wachstumsbereich 9 bis 117 kg LM ordentlich. Ob mit oder ohne Phasenfütterung in der Ferkelaufzucht und/oder Mast ergaben sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich Futteraufnahme, Futter- und Energieaufwand.

Phasenfütterung mit reduzierten Rohprotein-/Aminosäuregehalten im Verlauf des Wachstums führte nicht zu niedrigerem Fleischansatz bzw. zu höherer Verfettung.

Phasenfütterung nur beim Ferkel senkte die Futterkosten pro Tier um ca. 1,1 €, nur beim Mastschwein um ca. 1,8 € pro Tier und durchgängig um ca. 2,1 € für das Endprodukt. Die Stickstoff- und Phosphorentlastungen lagen im Bereich von 5 bis 10 %.

In der Gesamtschau ist die durchgängige Phasenfütterung aus Kosten- und Umweltgründen nur zu empfehlen. Die Leistungen werden dadurch keinesfalls schlechter.

## Literatur

GfE (2006): Empfehlungen zur Energie und Nährstoffversorgung von Schweinen. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere Nr. 10, DLG-Verlag Frankfurt a. Main

Kirchgeßner, M., Roth, F. X., Schwarz, F. J., Stangl, G. (2008) Tierernährung, 12. neu überarbeitete Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt a. Main

Preißinger, W., Lindermayer, H., Propstmeier, G. (2011) Einfache Multiphasenfütterung in der Ferkelaufzucht – Verschneiden, Tagungsband 10. BOKU-Symposium Tierernährung, 250-254

## Autorenanschrift

Dr. Wolfgang Preißinger
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
Dienstort Schwarzenau
D-97359 Schwarzach a. Main
Stadtschwarzacher Str. 18
E-Mail: wolfgang.preissinger@lfl.bayern.de

# Einfache Multiphasenfütterung in der Ferkelaufzucht – „Verschneiden"

**Wolfgang Preißinger, Hermann Lindermayer und Günther Propstmeier**

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft Grub/Schwarzenau

## Einleitung

Wie in der Schweinemast (vgl. DLG, 2010) ist auch in der Ferkelaufzucht die Phasenfütterung der „goldene" Weg zur Reduzierung der Stickstoff- und Phosphorausträge in die Umwelt und zum Sparen von Futterkosten. Für den Normalbetrieb kommt aus technischen und arbeitsorganisatorischen Gründen nur die Zweiphasenfütterung mit zeitnahem Wechsel (bei ca. 14 bis 16 kg Lebendmasse) vom hochwertigeren Ferkelaufzuchtfutter I auf das aminosäureärmere Ferkelaufzuchtfutter II in Frage (DLG, 2008). Prinzipiell stehen zwei Möglichkeiten zur einfachen Herstellung des mengenmäßig weitaus größeren aber billigeren „Endfutters" zur Wahl:

1. Neue Futterrezepturen und –mischungen mit entsprechender Reduzierung des Mineral- und Eiweißfutteranteils (vorhandenes Mineralfutter minus 0,5 bis 1 %-Punkt, Soja minus 2 bis 4 %-Punkte im Austausch gegen Getreide) ⇒ 2 bis 3-Phasenfütterung
2. Abgestuftes „Herunterschneiden" des Ferkelaufzuchtfutter I mit Getreideschrot (Gerste plus Öl oder Weizen und/oder Mais) ⇒ Multiphasenfütterung.

Beide Varianten führen zu gleichwertigen Ferkelaufzuchtfutter II bzw. III für die älteren Ferkel ab der 4. Aufzuchtwoche. In einem Fütterungsversuch am Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum in Schwarzenau wurde die 2. Variante getestet. Die Variante 1 ist in einem weiteren Beitrag im vorliegenden Tagungsband beschrieben (Preißinger et al., 2011).

## Material und Methoden

Die Untersuchung wurde am Lehr-, Versuchs- und Fachzentrum Schwarzenau durchgeführt und bestand aus einem 6-wöchigen Ferkelfütterungsversuch. Hierfür wurden 192 Ferkel der Rasse Pi x (DE x DL) nach Lebendmasse, Abstammung und Geschlecht ausgewählt und gleichmäßig auf folgende zwei Behandlungsgruppen aufgeteilt:

- Gruppe 1: Kontrollgruppe, einphasig (8-30 kg LM)
- Gruppe 2: Testgruppe, 6-phasig, wöchentliches Verschneiden des FAF I mit Getreide (Erhöhung des Getreideanteils um 3 % je Versuchswoche)

Die Tiere waren zu Versuchsbeginn im Durchschnitt 32 Tage alt und wogen 11 kg. Sie wurden in 16 Buchten auf Kunststoffrosten ohne Einstreu gehalten. Die Buchten waren mit jeweils 12 Tieren belegt. Pro Behandlungsgruppe wurden 2 Buchten mit weiblichen Tieren, 2 Buchten mit Kastraten und 4 Buchten gemischtgeschlechtlich aufgestallt. Die Futterzufuhr erfolgte für jede Behandlungsgruppe über eine separate Spot-Mix Mini Anlage der Fa. Schauer. Dabei wurde das Futter für jede Bucht trocken verwogen, mittels Druckluft in den Stall geblasen, mit Wasser im Verhältnis 1:2 vermischt und in einen Kurztrog mit Sensor ausgetragen. Fütterungszeiten waren von 04:00 bis 11:00 Uhr und von 13:30 bis 22:30 Uhr. Anhand der Belegdichten wurden die zugeteilten Futtermengen automatisch auf

die Einzeltiere pro Tag umgerechnet. Die Lebendmassen wurden wöchentlich am Einzeltier erfasst. Die Versuchsstrecke ging für alle Tiere über 6 Wochen beginnend mit dem 5. Tag nach der Einstallung (Tag 1) und endend mit der letzten Wiegung (Tag 42). Sämtliche Die Futtermischungen wurden in der Versuchsmahl- und Mischanlage Schwarzenau hergestellt. Die Futteruntersuchen wurden im Labor der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft in Grub nach VDLUFA-Richtlinien durchgeführt. Die Stickstoff- und Phosphorausscheidungen wurden aus der Differenz Aufnahme mit dem Futter und Ansatz je kg Zuwachs ermittelt. Für P wurden 5 g/kg Zuwachs entsprechend den Vorgaben der GfE (2006) unterstellt, bei N wurden 25,6 g/kg angenommen (Kirchgeßner et al., 2008). Zur Bestimmung der Preiswürdigkeiten wurden aktuelle Zukaufspreise (Februar 2011) zugrunde gelegt.

# Ergebnisse und Diskussion

Beide Gruppen starteten in der ersten Aufzuchtwoche mit demselben Futtermix (Tabelle 1). Die Inhaltswerte des Anfangsfutters waren auf die Einphasenfütterung der Kontrollgruppe I und auf etwa 10 kg schwere Ferkel ausgerichtet.

**Tabelle 1**: Versuchsrationen und Analysenwerte (Angaben bei 88 %T)

| **Futter/ Inhaltsstoffe** | | **Futtergruppe I** | **Futtergruppe II** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **FAF I** | **FAF I** | **FAF II** | **FAF III** | **FAF IV** | **FAF V** | **FAF VI** |
| FAF 1 | % | - | - | 97 | 94 | 91 | 88 | 85 |
| Weizen | % | 36 | 36 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| Gerste | % | 37 | 37 | | | | | |
| Sojaöl | % | 1 | 1 | | | | | |
| Sojaschrot 48 | % | 21 | 21 | | | | | |
| Fumarsäure | % | 1 | 1 | | | | | |
| Mineralfutter | % | 4 | 4 | | | | | |
| ME | MJ | 13,48 | 13,48 | 13,45 | 13,52 | 13,56 | 13,52 | 13,50 |
| Rohprotein | g | 186 | 186 | 184 | 182 | 179 | 177 | 176 |
| Lysin | g | 11,5 | 11,5 | 11,3 | 11,0 | 10,7 | 10,5 | 10,4 |
| Kalzium | g | 8,4 | 8,4 | 7,8 | 7,6 | 7,6 | 7,5 | 7,3 |
| Phosphor | g | 4,6 | 4,6 | 4,5 | 4,4 | 4,4 | 4,3 | 4,2 |
| Preis | €/dt | 32,03 | 31,73 | 31,43 | 31,13 | 30,83 | 30,53 | 30,23 |

Erwartungsgemäß blieb in der Futtergruppe II durch das Verschneiden mit wöchentlich 3 % Weizen mehr der Energiegehalt der Folgefutter gleich. Alle anderen Inhaltsstoffe wie Rohprotein, Lysin und die Mineralstoffe wurden entsprechend den Gehalten im zugelegten Weizen (zugelegter Weizen je kg: 13,67 MJ ME, 126 g Rohprotein, 3,3 g Lysin, 0,4 g Ca, 3,1 g P) verdünnt. Der Preis pro dt wurde schrittweise um 0,30 € niedriger.

In der Praxis würde man die Multiphasenfütterung vielleicht mit 12 g/kg Lysin bzw. mit einem sogenannten Absetzfutter beginnen lassen und mit 10,5 g Lysin pro kg Alleinfutter nahtlos in die Mast wechseln. Die tatsächlich erreichte Nährstoffkonzentration dürfte allerdings nicht zu Leistungseinbußen führen.

Nach 6-wöchiger Aufzucht erreichten die Ferkel knapp 35 kg Lebendmasse (Tabelle 2). Das Zunahmeniveau war mit durchschnittlich 566 g pro Tag sehr ansprechend. Allerdings lag das Anfangsgewicht bei immerhin fast 11,0 kg LM. Die Ferkel werden immer am Donnerstag abgesetzt, der Versuch begann dann arbeitsorganisatorisch bedingt und gemäß üblichem Wiegerhythmus am darauffolgenden Dienstag. Entscheidend ist, dass die Multi-Phasenfütterung mit der Kontrollgruppe bezüglich der übli-

chen Wachstumsparameter (tägliche Zunahmen, Futterverzehr, Futter-/Energieaufwand) gleich auf lag (vgl. Tab. 2). Die Multiphasenfütterung mit entsprechenden „Nährstoffverdünnungen" schadete der Leistung nicht, im Gegenteil, man lag näher am Bedarf und war so automatisch effizienter.

**Tabelle 2**: Aufzucht- und Mastleistungen (LSQ-Werte)

| **Gruppen** | | **I** | **II** | Signifik. |
|---|---|---|---|---|
| **Futtertypen/Phasen** | | **FAF I 1-phasig** | **FAF I – VI multiphasig** | |
| **Tierzahl** | n | 93 | 94 | - |
| **Lebendmasse** | | | | |
| Beginn | kg | 10,9 | 11,0 | n.s. |
| Phase/Woche 2 | | 12,8 | 13,0 | n.s. |
| Phase/Woche 3 | | 16,3 | 16,5 | n.s. |
| Phase/Woche 4 | kg | 20,4 | 20,7 | n.s. |
| Phase/Woche 5 | kg | 23,9 | 24,3 | n.s. |
| Phase/Woche 6 | kg | 29,2 | 28,5 | n.s. |
| Ende | kg | 34,8 | 34,7 | n.s. |
| **Zunahmen** | | | | |
| Phase/Woche 1 | g | 271 | 284 | n.s. |
| Phase/Woche 2 | g | 504 | 492 | n.s. |
| Phase/Woche 3 | g | 585 | 599 | n.s. |
| Phase/Woche 4 | g | 495 | 519 | n.s. |
| Phase/Woche 5 | g | 762 | 599 | 0,001 |
| Phase/Woche 6 | g | 802 | 888 | 0,001 |
| Gesamt (11-35 kg LM) | g | 569 | 563 | n.s. |
| **Futterverzehr/Tag** | | | | |
| Gesamt (11-35 kg LM) | kg | 0,91 | 0,86 | n.s. |
| **Futterverzehr gesamt** | | | | |
| Gesamt (11-35 kg LM) | kg | 38,2 | 36,3 | - |
| **Futteraufwand** | | | | |
| Gesamt (11-35 kg LM) | kg | 1,60 | 1,53 | n.s. |
| **Energieaufwand** | | | | |
| Gesamt (11-35 kg LM) | MJ | 21,7 | 20,7 | n.s. |

Wie aus Tab. 3 hervorgeht, war die Multiphasenaufzucht (II) um 0,95 € pro Ferkel billiger als die einphasig gefütterte Kontrollgruppe (I). Würde man gleichen Futterverbrauch (36,3 kg) in I und II unterstellen, was bei Unterschieden in der Aufzucht im Zufallsbereich gerechtfertigt ist, dann würde sich der echte wirtschaftliche Multiphasenvorteil auf 0,34 € pro Ferkel belaufen. Das erscheint nicht gerade ein großer Anreiz zu sein, den technischen Aufwand und die entsprechende Futterlogistik vorzuhalten. Hier kämen am ehesten spezialisierte Ferkelaufzüchter mit Rein/Rausbelegung in Frage. Ein zusätzlicher Ansporn könnte für flächenknappe Betriebe die reduzierte Stickstoff- und Phosphorausscheidung sein. Der futteraufwandkorrigierte Vorteil der mehrphasigen Ferkelfütterung liegt für Stickstoff bei 6 %, für Phosphor bei 15 % Einsparung. Ein hochwertigeres Mineralfutter mit mehr freien Aminosäuren könnte bei Stickstoff 10-15 % Einsparpotential realisieren mit entsprechend weniger Flächenbedarf für die Gülleausbringung. Entscheidend ist immer die Ausgangslage.

**Tabelle 3**: Futterkosten/Nährstoffausscheidungen

| Gruppen | | I | | II | |
|---|---|---|---|---|---|
| Futtertypen/Phasen (relativ: Gruppe I = 100) | | FAF I 1-phasig | | FAF I – VI multiphasig | |
| Futterkosten | | | | | |
| gesamt | € | 12,24 | (100) | 11,29 | (92) |
| gesamt (Gruppe I=II) | € | 11,63 | (100) | 11,29 | (97) |
| Ausscheidungen/Ferkel | | | | | |
| Stickstoff | kg | 0,53 | (100) | 0,44 | (83) |
| Stickstoff (Gruppe I=II) | kg | 0,47 | (100) | 0,44 | (94) |
| Phosphor | kg | 0,056 | (100) | 0,040 | (71) |
| Phosphor (Gruppe I=II) | kg | 0,047 | (100) | 0,040 | (85) |

# Schlussfolgerungen

Das Leistungsniveau war mit 566 g täglichen Zunahmen für den Wachstumsbereich 11 bis 35 kg LM ordentlich. Ob mit oder ohne Multiphasenfütterung in der Ferkelaufzucht ergaben sich zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede bezüglich Futteraufnahme, Futter- und Energieaufwand. Die Anpassung des Futters näher an den Bedarf - weg von den hochwertigeren und teureren Futterbestandteilen so früh als möglich - stellt kein Versorgungsproblem dar. Im Gegenteil, es findet eine bessere Enzymvorbereitung auf das folgende, nährstoffärmere Mastfutter statt. Die Multiphasenfütterung beim Ferkel senkte die Futterkosten pro Tier um ca. 0,95 € bzw. bei gleichgeschaltetem Futterverzehr um 0,34 €. Die Stickstoff- und Phosphorentlastungen lagen im Bereich von 6 bzw. 15 %.

In der Gesamtschau hat die durchgängige Phasenfütterung v.a. Umweltvorteile. Die Leistungen werden dadurch keinesfalls schlechter. Der Arbeitsmehraufwand zur ordentlichen Durchführung einer Multiphasenfütterung erscheint in Relation zu den möglichen Futterkosteneinsparungen allerdings sehr hoch zu sein. Hauptnutzer könnten deshalb v.a. spezialisierte Ferkelaufzuchtbetriebe mit guter Fütterungstechnik sein. Dem kontinuierlich laufenden „Normalbetrieb" sollte die hier gelungene Multiphasenfütterung mit frühzeitiger und fortgesetzter Herausnahme von z.B. Lysin und Phosphor die „Angst" vor der Zweiphasenfütterung nehmen.

## Literatur

DLG (2008): DLG-Information 1/2008 Empfehlungen zur Sauen und Ferkelfütterung, Herausgeber DLG-Arbeitskreis Futter und Fütterung, DLG-Verlag, Verlag Frankfurt a. Main

DLG (2010): DLG-Kompakt Erfolgreiche Mastschweinefütterung, Herausgeber DLG e.V., DLG-Verlag, Verlag Frankfurt a. Main

GfE (2006): Empfehlungen zur Energie und Nährstoffversorgung von Schweinen. Energie- und Nährstoffbedarf landwirtschaftlicher Nutztiere Nr. 10, DLG-Verlag Frankfurt a. Main

Kirchgeßner, M., Roth, F. X., Schwarz, F. J., Stangl, G. (2008) Tierernährung, 12. neu überarbeitete Auflage, DLG-Verlag, Frankfurt a. Main

Preißinger, W., Lindermayer, H., Propstmeier, G. (2011) Einfache Phasenfütterung in der Ferkelaufzucht und in der Mast, Tagungsband 10. BOKU-Symposium Tierernährung, 245-249

## Autorenanschrift

Dr. Wolfgang Preißinger
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft
Dienstort Schwarzenau, D-97359 Schwarzach a. Main
Stadtschwarzacher Str. 18
E-Mail: wolfgang.preissinger@lfl.bayern.de

pancosma
just makes sense

# Essenzielle Lösungen für alle Tierarten

## Optimale Produktlösungen zur Versorgung Ihrer Tiere

**B-TRAXIM®**
Bioverfügbare organische Spurenelemente

**XTRACT™**
Aroma und Appetit anregende Stoffe

**SUCRAM®**
Intensiv-Süssstoffe

**CMO-TEK®**
Geschmacksstoffe für junge Tiere

**CarboVet**
Natürliche Holzkohle

**PIGORTEK®**
Geschmacksstoffe für Ferkel, Sauen und Mastschweine

**COVOTEK®**
Geschmacksstoffe für Wiederkäuer

## Höchste Qualitätsstandards: 2 Zielsetzungen

### Qualitätsmanagement & Services

ISO 9001 14001 PRO CERT FAMIQS

- Rohstoff-und Produktkontrolle
- HACCP
- Kundenspezifikationen

### Produktqualität

ift iso-fusion™ technology

Zur Sicherstellung:
- einer besseren Homogenität
- eines besseren Erscheinungsbildes
- einer besseren Anwendung

## Kontakt

Besuchen Sie uns @ www.pancosma.com

pancosma
just makes sense

Kontaktieren Sie uns:

**PANCOSMA SA -** Dr. Sven Brenner
Voie des Traz,6 – 1218 Le Grand Saconnex
Geneva, Switzerland
Mobil : + 49 179 4340235 - E-mail :
sven.brenner@pancosma.ch

# Ingestion of deoxynivalenol (DON) contaminated feed alters the broilers' performance, haematological, biochemical and immune responses

**Wageha Awad[1], Khaled Ghareeb[2] and Josef Böhm[3]**

[1] Clinic for Avian, Reptile and Fish Medicine, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria
[2] Department of Animal Behaviour and Management, Faculty of Veterinary Medicine, South Valley University Qena, Egypt
[3] Institute of Nutrition, Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

## Abstract

The presence of mycotoxins in poultry feeds is a significant factor for financial losses to animal industries. Deoxynivalenol (DON) is of great importance, because it may occur in toxicologically relevant concentrations in grains, which can affect the health and productivity of farm animals. DON, a *Fusarium* toxin belonging to the trichothecene group, has been reported to produce a variety of adverse health effects in farm animals, such as inhibition of protein synthesis, reduction of feed intake, and alteration of the immune system. Although acute mycotoxicoses are rare in poultry production, chronic exposure to low levels of mycotoxins is responsible for reduced productivity and increased susceptibility to infectious diseases. Therefore, an experiment with 1-d-old male broilers was carried out to examine the effects of feeding of DON contaminated low protein diets on performance, serum biochemical parameters, and antibody titres to Infectious Bronchitis vaccination (IB) in serum. Sixteen 1-d-old broiler chicks were randomly divided into two groups. The control group was fed a non-contaminated diet. Another group of broilers was fed a diet artificially contaminated with 10 mg DON/kg diet. Birds were vaccinated at the hatchery with one dose per chick of Mild-Vac-M vaccine by coarse aerosol spray. The diets were provided *ad libitum* for 5 weeks. Feeding contaminated diets significantly decreased ($P < 0.001$) body weight (BW) during the grower phase. The feeding of contaminated diets also reduced total lymphocyte counts at wk 5. Plasma total protein and uric acid concentrations in birds fed contaminated grains were decreased compared with controls. Moreover, in birds fed contaminated feeds, there were a tendency to reduce triglycerides in plasma, suggesting that deoxynivalenol in the diets significantly affected protein and lipid metabolism in broiler chickens. Similarly, the antibody response against IB antigens was significantly decreased after feeding contaminated diets compared with controls. However, the feeding of DON-containing diets did not alter the other plasma constituents including activities of enzymes. It was concluded that broiler performance and some blood and immunological parameters were adversely affected by feedborne *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol.

## Introduction

Cereal grains and associated by-products constitute important sources of energy for poultry. There is increasing evidence that global supplies of cereal grains for animal feedstuffs are commonly contaminated with *Fusarium* mycotoxins. *Fusarium* mycotoxins are likely the most economically significant grain mycotoxins globally (Placinta et al., 1999), and annual economic losses in animal

production industries have been estimated to be as much as several hundred million dollars (Hussein and Brasel, 2001).

Deoxynivalenol (DON), commonly known as vomitoxin, is a trichothecene mycotoxin, produced by several fungal species such as *Fusarium, Myrothecium, Cephalosporium, Verticimonosporium* and *Stachybotrys* (Grove, 2000). The systemic toxic effects of DON include diarrhoea, emesis and malabsorption of nutrients (Rotter et al., 1996). DON primarily affects cells of the immune system and the GI tract and high incidence of oesophageal and gastric cancer have been reported in areas where grain has been contaminated with DON (Marasas, 1979; Sergent et al., 2006).

Acute mycotoxicosis outbreaks are rare events in modern poultry production. However, low levels of mycotoxin contamination, which very often are not detected, are responsible for reduced efficiency of production and increased susceptibility to infectious disease. These sometimes undetectable or unseen compounds can cost poultry producers a fortune, unless a radical solution for the problem is found. The problem is further complicated since in many cases molecular mechanisms of their action have not been fully elucidated. Lower doses of DON have been shown to provoke elevation of serum IgA level and are known to affect cell-mediated and humoral immunity in several animal species (Dänicke et al., 2004).

There are many published studies on the effects of feeding Fusarium mycotoxin deoxynivalenol on the performance of broilers and laying hens (Dänicke et al., 2002, 2003; Swamy et al., 2002, 2004; Chowdhury and Smith, 2004; Awad et al., 2004). However, there is a dearth of literature regarding the effects of the trichothecene mycotoxin DON on intestinal health and immune function of broilers and only a few studies have invistigated the effect of DON on the vaccinal immune response. As DON is well-known inhibitor of protein synthesis (Pestka et al., 2004). There is no information regarding the effects of DON in broilers when they fed with biological feeds in practice.

The objectives of the current study were, therefore, to investigate the effects of feeding low protein diet artificially contaminated with *Fusarium* mycotoxin DON on the performance, haematological, blood biochemical parameters, and antibody titres to Infectious Bronchitis vaccination (IB) in serum.

# Materials and methods

### *Experimental Birds and Housing*

Sixteen-day-old broilers of a commercial strain (Ross 308), procured from a commercial hatchery, were randomly divided into two groups, each comprising 8 birds. The birds were housed in four wire-bottomed pens fitted with electrical heaters during the 35 days of experimental period. The temperature started at 33 °C (from day 0 to day 3) and was gradually reduced according to normal management practice (2–3 °C/week). During the first 2 weeks, chicks were provided with 24 h of light, after which lighting was decreased gradually (2 h daily) to 20 h by the third week and remained there until the end of the trial. The permission for this experiment was granted by the Federal Ministry for Education, Science and Culture, Vienna, Austria vide letter No. BMWF-68.205/0032-II/10b/2010.

### *Treatment and Diets*

The control group was fed starter and grower diets based on corn, soya HP, fat and a premix with vitamins, minerals, amino acids, salt, and monocalcium phosphate. The DON group was fed the starter and grower diets supplemented with 10 mg feedgrade DON per kg diet. Chicks were fed the starter diets from d 1 to 13 and the grower diets from d 14 to 35. Feed and water were offered ad libitum. Representative feed samples were taken at the beginning of the starter and grower periods and were analyzed for nutrient content and *Fusarium* mycotoxins.

### *Traits*

Chicks were weighed individually, and feed consumption for each pen was measured weekly during the 5-wk experiment. Body weight (BW) gain and feed conversion were determined, whereas weekly and cumulative feed:gain ratios were calculated. DON was determined in the diets by HPLC according to the method of Valenta et al. (2002).

### *Leukocyte Count*

For absolute and differential leukocyte counts, 1 mL of well-mixed EDTA and blood of 8 chickens per group on d 35 at the end of the experiment were collected. Differential leukocyte counts were performed was made manually on 100 leukocytes by microscopic examination on Wright-Giemsa-stained blood smears to test for changes in absolute numbers of leukocytes, lymphocytes, neutrophils, monocytes, eosinophils, and basophils.

### *Antibody Titre*

Birds were vaccinated at the hatchery with one dose per chick of Mild-Vac-M vaccine by coarse aerosol spray at the first day of life. On Days 35 at the end of experiment, blood was collected from 8 chicks during slaughtering, and the serum was separated. Serum samples were frozen at −80 °C until further analysis. The antibody titres for IBV were measured by the anti-IB antibody ELISA kit.

### *Blood Biochemical Parameter*

Blood was collected in tubes with anticoagulant (Li-Heparine) from all birds at slaughtering on d 35 of the experiment for blood biochemical parameter assays. After centrifugation at 3000 × g for 10 min, the plasma were collected for determination of total protein, albumin, Uric acids, creatinine kinase (CK), cholesterol, triglycerides, lactate dehydrogenase, γ-glutamyltransferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), and alanine aminotransferase (ALT) by automatic clinical chemistry analyzer at the central Laboratory of Veterinary Medicine University (Vienna, Austria).

### *Statistical Analysis*

Statistical program SPSS (version 17; SPSS GmbH, SPSS Inc., Munich, Germany) was used for data analysis. The Kolmogorov Smirnov test was used to test the normal distribution of the data. Performance, biochemical, and hematological variables were analyzed by independent samples *t-test* was used between the two groups. The probability values of 0.05 ($p \leq 0.05$) were considered significant.

## Results

### *Effect of DON on Animal Performance*

One of the main adverse effects observed after DON exposure is reduced feed intake and body weight during the low protein grower phase (Table 1). In the present experiment, feed refusal was observed during the period of week 3 to week 5. Moreover, artificial contamination of the feed with 10 mg/kg of DON also decreased the BW gain. Contamination of broiler diet with 10 mg DON/ kg diet reduced the feed efficiency by increasing the feed conversion rate (feed to gain ratio) at 3, 4 and 5 wk compared to controls.

**Table 1:** Effect of dietary *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol on performane of broiler chickens

| Parameters | Dietary treatment | | | P Value |
|---|---|---|---|---|
| | Control | DON (10 mg/ kg) | SEM | |
| Initial body weight | 47.38 | 50.50 | 1.64 | NS |
| Weight at day 35 | 1205.75 | 996.25 | 36.03 | 0.001 |
| Cumulative body weight gain | 1158.38 | 945.75 | 35.84 | 0.001 |

### *Effect of DON on Hematological and Biochemical Variables*

At the end of the experiment, blood samples were taken from all the animals to investigate the effect of DON on hematological and biochemical variables. It was found that the feeding of contaminated diets reduced total lymphocyte counts (Table 2).

Additionally, Plasma total protein concentrations (2.00 g/dl) in birds fed contaminated diets were also decreased compared with controls (2.31 g/dl. Moreover, in birds fed contaminated grains, there were a tendency to reduce triglycerides in plasma, suggesting that deoxynivalenol in the diets significantly affected protein and lipid metabolism in broiler chickens. However, no significant effect of diet was observed for other plasma constituents including activities of enzymes (data not shown).

### *Serum Antibody Titre*

This toxin is known to modulate the immune function but only few studies have investigated the effect of DON on the vaccinal immune response. In the present experiment, the feeding of DON contaminated diets resulted in decreased ($P < 0.05$) serum antibody titres against IBV (Table 2).

**Table 2:** Effect of dietary *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol on hematological and infectious bronchitis vaccine (IBV) antibody titres of broiler chickens

| Parameters | Treatments | | SEM | P |
|---|---|---|---|---|
| | Control | DON (10 mg/ kg) | | |
| Total leukocyte count | 22.71 | 23.67 | 3.04 | 0.884 |
| Heterophil count | 44.29 | 60.33 | 3.81 | 0.026 |
| Lymphocyte count | 43.29 | 29.67 | 2.90 | 0.011 |
| IB antibody titre | 1570.00 | 801.50 | 160.42 | 0.004 |

## Discussion

*Fusarium* species produce a vast array of mycotoxins, many of which are economically important in regard to animal production. The current study demonstrated clear effects of DON on physiological and immunological functions of broilers.

Most experimental studies (Swamy et al., 2002; Kubena et al. , 1997; Harvey et al., 1997; Dänicke et al., 2002, 2003; Li et al., 2003; Sypecka et al., 2004) with poultry show a highly variable effect of DON on performance indicating that zootechnical traits might not be a sensitive indicator of toxicity of this *Fusarium* toxin. However, in the current experiment, feed refusal, reduced weight gain and feed conversion were adversely affected ($P < 0.05$) by inclusion of 10 mg/kg DON in broiler diets. This finding may be ascribed to the inhibition of protein synthesis by this toxin. We may hypothesize that when the birds are fed with low protein diets, the toxic effect of DON will be more evident.

The DON contaminated diet in the present study significantly decreased plasma level of total protein and uric acid in broiler chickens. Our results are consistent with those of Kubena et al. (1988) who found a decreased total protein level in broiler chicks exposed to a DON contaminated diet (16 mg/kg) from 1 to 3 weeks of age. They considered that these effects may be secondary to the reduced feed uptake, but the inhibition of protein synthesis may play a role. Toxic action of DON was thought to consist in the inhibition of protein synthesis (Rotter et al., 1996). Our results showed that no other blood biochemical parameters responded to DON contamination in the diet. Similar results were reported by Dänicke et al. (2004) who found that several serum characteristics, including aspartate aminotransferase, were not affected by increasing dietary DON concentrations (0; 2.3; and 4.6 mg/kg) in swine.

Concerning the haematological variables, we observed decreases in total leukocyte count and lymphocyte counts. This can be attributed to that the immune system is very sensitive to DON (Pestka et al., 2004; Pestka and Smolinski, 2005).

Determination of serum antibody titres to NDV and IBV after regular vaccination can be used to evaluate the effects of feeding *Fusarium* mycotoxin-contaminated diets on immune system competence (Dänicke et al., 2003). In the present study, the feeding of DON contaminated diets decreased antibody titres against IBV at the end of wk 5. There are no reports of the effect of feeding contaminated diets on IBV serum titres in broilers fed with biological diets, but Swamy et al. (2002) found no effect of feedborne *Fusarium* mycotoxins on IBV antibody levels in broilers after 6 wk of feeding.

In conclusion, It can be concluded that blends of feed ingredients contaminated with *Fusarium* mycotoxin DON should be fed to broiler chickens with caution because of the possible adverse effects on performance and immune status. Moreover, under field conditions with additional stress factors such as low protein diets, the toxicity of DON could be altered, thus might adversely affect the health and performance of poultry.

## References

Awad, W. A.; Böhm, J.; Razzazi-Fazeli, E.; Hulan, H. W.; Zentek, J., 2004: Effects of deoxynivalenol on general performance and electrophysiological properties of intestinal mucosa of broiler chickens. Poult. Sci. 83, 1964.

Chowdhury, S. R., and T. K. Smith. 2004. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on performance and metabolism of laying hens. Poult. Sci. 83:1849–1856.

Dänicke S., Valenta H., Klobasa F., Döll S., Ganter M., Flachowsky G. 2004. Effect of graded levels of *Fusarium* toxin contaminated wheat in diets for fattening pigs on growth performance, nutrient digestibility, deoxynivalenol balance and clinical serum characteristics. Arch Anim Nutr. 58, 1-17.

Dänicke, S., K. H. Ueberschar, S. Matthes, I. Halle, H. Valenta, and G. Flachowsky. 2002. Effect of addition of a detoxifying agent to laying hen diets containing uncontaminated or Fusarium toxin-contaminated maize on performance of hens and on carryover of zearalenone. Poult. Sci. 81:1671–1680.

Dänicke, S., S. Matthes, I. Halle, K. H. Ueberschar, S. Doll, and H. Valenta. 2003. Effects of graded levels of Fusarium toxincontaminated wheat and of a detoxifying agent in broiler diets on performance, nutrient digestibility and blood chemical parameters. Br. Poult. Sci. 44:113–126.

Grove, J. F. 2000. Non-macrocyclic trichothecenes, Part 2. Prog. Chem. Org. Nat. Prod. 69: 1–70.

Harvey, R. B., L. F. Kubena, G. E. Rottinghaus, J. R. Turk, H. H. Casper, and S. A. Buckley. 1997. Moniliformin from Fusarium fujikuroi culture material and deoxynivalenol from naturally contaminated wheat incorporated into diets of broiler chicks. Avian Dis. 41:957–963.

Hussein, H. S., and J. M. Brasel. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology 167:101–134.

Kubena, L. F., T. S. Edrington, R. B. Harvey, T. D. Phillips, A. B. Sarr, and G. E. Rottinghaus. 1997. Individual and combined effects of fumonisin B1 present in Fusarium moniliforme culture material and diacetoxyscirpenol or ochratoxin A in turkey poults. Poult. Sci. 76:256–264.

Kubena, L. F., W. E. Huff, R. B. Harvey, D. E. Corrier, T. D. Phillips, and C. R. Creger. 1988. Influence of ochratoxin A and deoxynivalenol on growing broiler chicks. Poult. Sci. 67:253–260.

Li, Y. D., M. W. A. Verstegen, and W. J. J. Gerrits. 2003. The impact of low concentrations of aflatoxin, deoxynivalenol or fumonisin in diets on growing pigs and poultry. Nutr. Res. Rev. 16:223–239.

Marasas, W. F. 1979. Incidence of Fusarium species and the mycotoxins, deoxynivalenol and zearalenone, in corn produced in esophageal cancer areas in Transkei. J. Agric. Food Chem. 27:1108–1112.

Pestka J. J., Zhou, H. R., Moon, Y., Chung, Y. J. 2004. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: unraveling a paradox. Toxicol. Lett. 153, 61-73.

Pestka, J. J., Smolinski, A. T. 2005. Deoxynivalenol: Toxicology and potential effects on humans. J. Toxicol. Environ. Health B-Crit. Rev. 8, 39-69.

Placinta, C. M., J. P. F. D'Mello, and A. M. C. MacDonald. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins. Anim. Feed Sci. Technol. 78:21–37.

Rotter, B. A. 1996. Invited Review: Toxicology of deoxynivalenol (Vomitoxin). J. Toxicol. Environ. Health A 48:1–34.

Sergent, T.; Parys, M.; Garsou, S.; Pussemier, L.; Schneide, Y.; Larondelle, Y. 2006. Deoxynivalenol transport across human intestinal Caco-2 cells and its effects on cellular metabolism at realistic intestinal concentrations. Toxicol. Lett. 164: 167–176.

Swamy, H. V. L. N., T. K. Smith, N. A. Karrow, and H. J. Boermans. 2004. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on growth and immunological parameters of broiler chickens. Poult. Sci. 83:533–543.

Swamy, H. V. L. N., T. K. Smith, P. F. Cotter, H. J. Boermans, and A. E. Sefton. 2002. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with Fusarium mycotoxins on production and metabolism in broilers. Poult. Sci. 81:966–975.

Sypecka, Z., Kelly, M., Brereton, P. P. 2004. Deoxynivalenol and zearalenone residues in eggs of laying hens fed with a naturally contaminated diet: effects on egg production and estimation of transmission rates from feed to eggs. J. Agric. Food Chem. 52, 5463-5471.

Valenta, H., S. Da¨nicke, and J. Wolff. 2002. Vergleich einer HPLC- und einer ELISA-Methode zur Bestimmung von Deoxynivalenol in Mu¨ hlensta¨uben, Kleien und Getreide. VDLUFA-Kongreßband 2002, Leipzig. VDLUFA-Schriftenreihe, Bonn.

## Corresponding author

Dr. Wageha Awad, PhD
University of Veterinary Medicine Vienna (Vetmeduni)
Department for Farm Animals and Veterinary Public Health
Clinic for Avian, Reptile and Fish Medicine
Veterinärplatz 1
A-1210 Vienna, Austria

# Mycotoxin Survey in Europe 2010

**Karin Naehrer and Ursula Hofstetter**

BIOMIN Holding GmbH, Herzogenburg, Austria

## Introduction

Mycotoxins are secondary fungal metabolites which represent a worldwide threat and can cause serious economic losses. These toxins can cause severe effects in animals that ingested contaminated feed. It is already known that it is almost impossible to totally avoid mycotoxins in raw materials and feedstuffs even with proper prevention methods, thus mycotoxins are an ever-present problem. In the year 2010, unfavourable wet weather conditions during flowering favoured heavier fungal invasions like *Fusarium* growth. Consequently, deoxynivalenol levels found in different raw materials were particularly high in comparison to previous years. Among the trichothecenes, deoxynivalenol (vomitoxin) is the most relevant mycotoxin from the agricultural point of view. It reduces feed intake, causes growth depression and digestive disorders (vomiting or diarrhoea). DON can lead to immunotoxicity (increased susceptibility of animals to diseases) already at low contamination levels. A survey was conducted to provide an insight in the occurrence of mycotoxins in Europe in 2010.

## Material and methods

Between January and December 2010, 1 166 samples (mainly from Austria, contributing 794 samples) were analyzed and a total of 2 096 analyses were carried out testing for the occurrence of the most important mycotoxins in terms of animal production in Europe. Samples tested ranged from raw materials like barley (29 %), wheat (17 %) and corn (13 %) to finished feed (20 %) and silage (10 %) samples. Data were analysed from two perspectives: firstly an overview about the occurrence of mycotoxins with regard to different European regions and secondly by means of commodity types.

The samples were tested for aflatoxins ($AfB_1$, $AfB_2$, $AfG_1$ and $AfG_2$), zearalenone (ZON), deoxynivalenol and acetyldeoxynivalenol (DON), fumonisins ($FB_1$ and $FB_2$) and ochratoxin A (OTA). For the purpose of data analysis, non-detection levels are based on detection limits. All analyzes were performed either by HPLC (high performance liquid chromatography) or ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) according to the standard procedures. For the purpose of data analysis, non-detect levels are based on the quantification limits (LOQ) of the test method for each toxin: aflatoxins 0.3 µg/kg (HPLC) or 1 µg/kg (ELISA), respectively; zearalenone 10 µg/kg (HPLC) or 40 µg/kg (ELISA), respectively; deoxynivalenol and acetyldeoxynivalenol 50 µg/kg (HPLC) or 250 µg/kg (ELISA), respectively; fumonisins 25 µg/kg (HPLC) or 250 µg/kg (ELISA), respectively; and ochratoxin A 0.2 µg/kg (HPLC) or 2 µg/kg (ELISA), respectively.

## Results and discussion

Out of the more than 1 100 samples analysed within this 12-months period, 36 % were negative for the presence of mycotoxins (below the limits of detection). As it can be seen in *Table 1*, 28 %, 23 %, 59 %, 50 % and 28 % from all survey samples tested positive for contamination with Afla, ZON, DON, FUM and OTA, respectively. Whereas the percentage of positive range within the same levels in comparison to previous years, average contamination values of all samples tested were higher for some

mycotoxins. Especially in the case of DON it increased from 404 µg/kg in the year 2009 to 907 µg/kg in the year 2010. In Europe, the situation is distinct depending on the regions. In northern Europe DON is the most prevalent mycotoxin (62 % positive), whereas mycotoxins such as Afla have greater importance in Southern Europe. It is important to point out the great incidence and high averages of DON especially in Central Europe and of DON and FUM in South Europe. From all samples tested positive for DON in central European regions, an average contamination as high as 967 ppb was analysed. Also from this region, the highest DON level of the whole survey was registered in a wheat sample from Austria.

**Table 1**: Overview of the survey

| | **Afla [ug/kg]** | **ZON [ug/kg]** | **DON [ug/kg]** | **FUM [ug/kg]** | **OTA [ug/kg]** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Number samples tested** | 74 | 759 | 1103 | 70 | 90 |
| **% Positive** | 28 | 23 | 59 | 50 | 28 |
| **Maximum** | 103 | 1045 | 49000 | 7260 | 331 |
| **Average** | 2 | 26 | 907 | 1131 | 5 |
| **Median of positive** | 1.7 | 78.4 | 560.5 | 1807 | 2.7 |

Remarkable results were gained in this survey regarding the pan-European distribution of mycotoxins and within the various contamination levels especially in the case of the type-B trichothecene DON (*Figure 1*). About 50 % of all the surveyed samples showed a DON contamination above 300 µg/kg and 20 % of all the feed samples were above the EU guidance values for DON (900 µg/kg) in complementary and complete feedingstuffs for pigs (EC, 2006) (*Figure 1*).

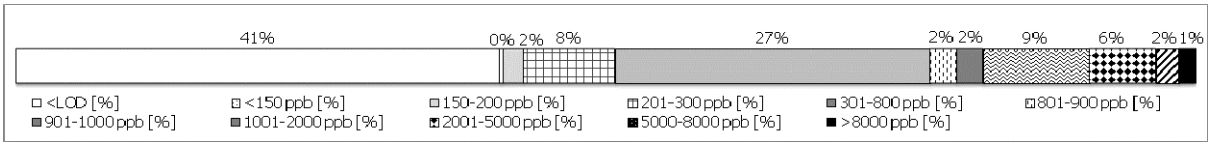



**Figure 1**: Distribution of DON contamination by different risk levels

Results by commodities are given in detail in *Tables 2 to 6*. Regarding commodities, barley was the largest part of samples tested within this survey. Most samples were analysed for the *Fusarium* mycotoxin DON and more than half of them tested positive (60%) (*Table 2*). In comparison with other tested raw materials, average contamination levels for DON (661 µg/kg) were lower than in the others. In the case of wheat, the highest DON level (49 000 µg/kg) of the whole survey was found in a wheat sample from Austria (*Table 3*). DON, FUM and ZON were identified to be the mycotoxins of higher prevalence in the analysed corn samples with 78%, 63% and 47% of positives and average contamination levels of 1 600 µg/kg, 2 463 µg/kg and 58 µg/kg, respectively (*Table 4*). In 36% of all analysed finished feed samples the mycotoxin contamination levels were below the detection limits, on the other side 17% tested positive for more than one mycotoxin (*Table 5)*. With regard to silage samples, attention must be paid to the high average DON contamination levels (1859 µg/kg) as well as occurrence, as well as the high distribution of ZON in the tested samples (*Table 6*).

**Table 2**: Mycotoxin contamination of barley samples

| Barley | Afla [ug/kg] | ZON [ug/kg] | DON [ug/kg] | FUM [ug/kg] | OTA [ug/kg] |
|---|---|---|---|---|---|
| **Number samples tested** | 2 | 180 | 324 | 1 | 12 |
| **% Positive** | 0 | 8 | 60 | 0 | 25 |
| **Maximum** | 0 | 522 | 14137 | 0 | 20 |
| **Average** | 0 | 8 | 661 | 0 | 3 |
| **Median of positive** | 0 | 53 | 604 | 0 | 10 |

**Table 3**: Mycotoxin contamination of wheat samples

| Wheat | Afla [ug/kg] | ZON [ug/kg] | DON [ug/kg] | FUM [ug/kg] | OTA [ug/kg] |
|---|---|---|---|---|---|
| **Number samples tested** | 14 | 97 | 194 | 11 | 19 |
| **% Positive** | 14 | 11 | 53 | 9 | 21 |
| **Maximum** | 2 | 282 | 49000 | 530 | 331 |
| **Average** | 0 | 11 | 1273 | 48 | 18 |
| **Median of positive** | 1 | 94 | 2397 | 530 | 85 |

**Table 4**: Mycotoxin contamination of corn samples

| Corn | Afla [ug/kg] | ZON [ug/kg] | DON [ug/kg] | FUM [ug/kg] | OTA [ug/kg] |
|---|---|---|---|---|---|
| **Number samples tested** | 6 | 123 | 146 | 13 | 7 |
| **% Positive** | 50 | 47 | 78 | 62 | 14 |
| **Maximum** | 18 | 655 | 26121 | 7260 | 1 |
| **Average** | 4 | 58 | 1600 | 2463 | 0 |
| **Median of positive** | 4 | 91 | 957 | 5349 | 1 |

**Table 5**: Mycotoxin contamination of finished feed samples

| Finished Feed | Afla [ug/kg] | ZON [ug/kg] | DON [ug/kg] | FUM [ug/kg] | OTA [ug/kg] |
|---|---|---|---|---|---|
| **Number samples tested** | 40 | 193 | 216 | 40 | 44 |
| **% Positive** | 30 | 23 | 45 | 60 | 32 |
| **Maximum** | 103 | 1045 | 2245 | 5010 | 10 |
| **Average** | 3 | 26 | 262 | 1154 | 1 |
| **Median of positive** | 2 | 79 | 379 | 2048 | 2 |

**Table 6**: Mycotoxin contamination of silage samples

| Silage | Afla [ug/kg] | ZON [ug/kg] | DON [ug/kg] | FUM [ug/kg] | OTA [ug/kg] |
|---|---|---|---|---|---|
| **Number samples tested** | 3 | 65 | 108 | 3 | 1 |
| **% Positive** | 33 | 60 | 78 | 67 | 0 |
| **Maximum** | 9 | 900 | 14326 | 346 | 0 |
| **Average** | 3 | 70 | 1859 | 147 | 0 |
| **Median of positive** | 9 | 106 | 762 | 220 | 0 |

# Conclusions

The occurrence of mycotoxins in different feed samples sourced in Europe varied from 28 %, 23 %, 59 %, 50 % and 28 % for contamination with Afla, ZON, DON, FUM and OTA, respectively. Similar to previous years, the main problems were represented by B-trichothecene contaminations; analysed samples had an average DON contamination of 907 µg/kg and a maximum level of 49 000 µg/ kg.

This ubiquitous presence of mycotoxins in animal diets represents a serious threat to their performance and health. Therefore the quality of feed is a key issue in a successful management and the paramount for success. One important point is monitoring mycotoxins in the feed or feed commodity, to control the exposure of animals to the harmful effects of these toxins.

**Corresponding author**

DI (FH) Karin Naehrer
BIOMIN Holding GmbH
Industriestrasse 21
A-3130 Herzogenburg
E-mail: karin.naehrer@biomin.net

# Influence of increasing dry matter content on silage quality and inoculant efficiency

**Karin Schöndorfer[1], Yunior Acosta Aragón[2], Alfred Klimitsch[1], Sigrid Pasteiner[2], Gudrun Böck[1] and Gerd Schatzmayr[1]**

[1] BIOMIN Research Center, Technopark 1, 3430 Tulln
[2] BIOMIN Holding GmbH, Industriestraße 21, 3130 Herzogenburg

## Introduction

Ensiling grass with elevated dry matter content is usually a challenge with regard to both acidification and aerobic stability. Challenges in aerobic stability are mostly due to insufficient compactability and consequent inclusion of air which enables survival of yeasts and moulds in the silage bulk. Lack of acidification is mostly attributed to a deficiency in free sugars and to a high osmotic pressure on the lactic acid bacteria involved in the fermentation process. This often leads to a diminished efficacy of biological silage inoculants.

The aim of this trial was testing the biological silage inoculant Biomin® BioStabil Plus for its tolerance to osmotic pressure in grass silages of varying dry matter content.

## Materials and methods

A lab scale silage trial was carried out with grass at different stages of wilting to find out about silage quality and activity of a biological silage additive (Biomin® BioStabil Plus) with increasing dry matter (DM) content (42.5, 48.7, 56.0 and 61.3% DM, respectively). The additive used consisted of homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria (blend of *Lactobacillus plantarum, Enterococcus faecium, Lactobacillus brevis*) and was applied at a concentration of 2 x $10^5$ cfu/g silage.

Total trial time was 3 months and samples were taken 3, 7, 44 and 91 days after ensiling. Sample silos were prepared in triplicate per wilting stage and day of analysis. Investigations included DM loss, organic acids and carbohydrates (HPLC), aerobic stability (according to Honig, 1990) and microbial counts.

## Results and discussion

The results showed marked differences between the different stages of wilting. DM losses rose exponentially from around 2 to 8% with increasing DM content.

Lactic and acetic acid contents diminished as DM rose, which was also reflected by the drop of the pH value, which was, in correlation with the lactic acid content (around 90, 85, 75 and 50 g/kg DM at 42.5, 48.7, 56.0 and 61.3 % DM respectively at trial end), sharper and lower in groups with lower DM content.

Conversely, ethanol contents rose with increased wilting (around 0, 3, 7 and 19 g/kg DM, respectively). 61.3 % DM impaired aerobic stability (8 vs 9 days stability on day 44 and 5.6 vs. 6.7 at trial end).

Numbers of lactic acid bacteria were smaller in drier silages (reduction by 1.5 orders of magnitude between 42.5 and 61.3% DM)

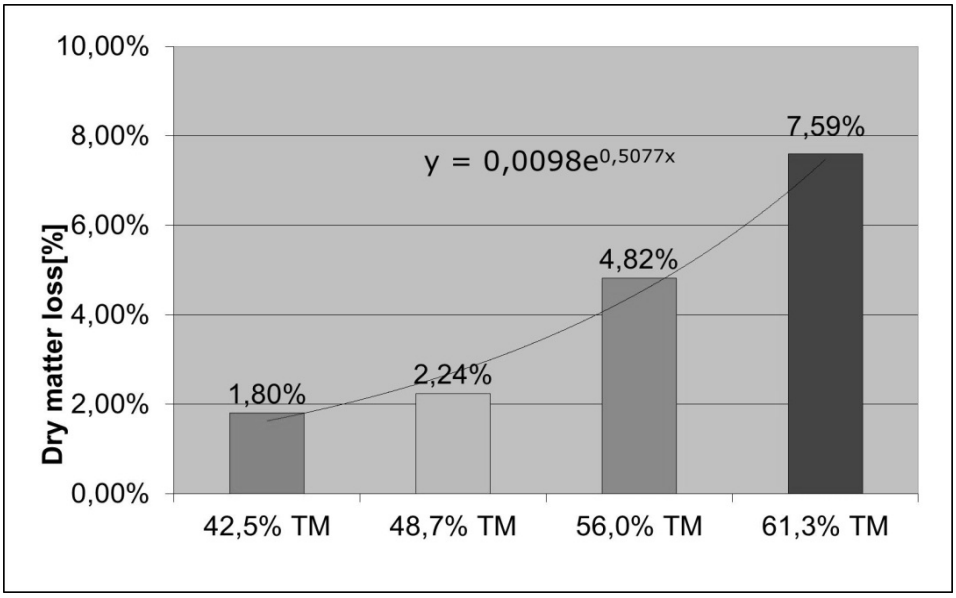



**Figure 1**: Exponential increase of dry matter loss with increasing dry matter content (n=3) after 91 days of ensiling with addition of Biomin® BioStabil Plus

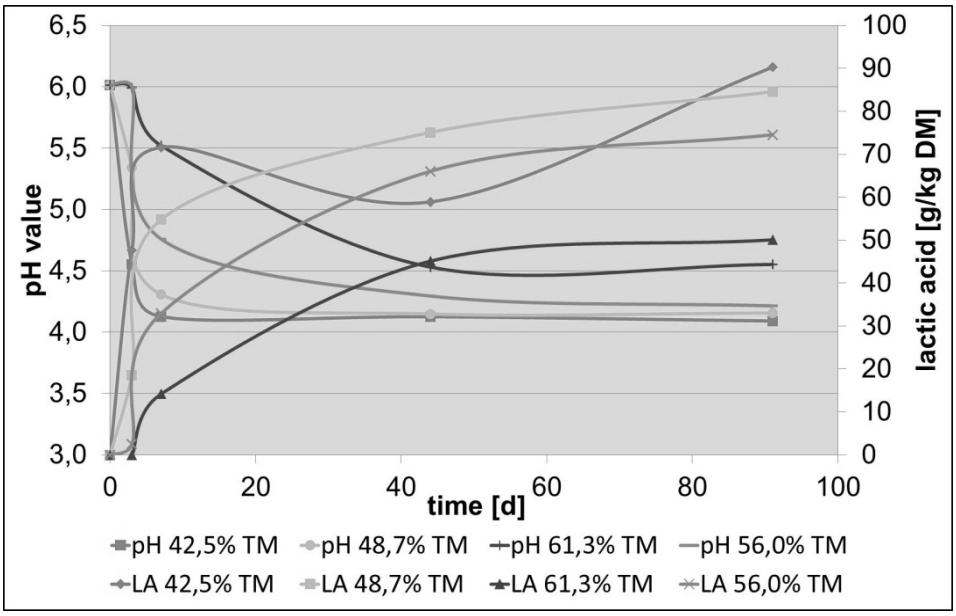



**Figure 2**: Lactic acid production and according pH decrease (n=3) over the trial period at different stages of DM content with Biomin® BioStabil Plus treatment

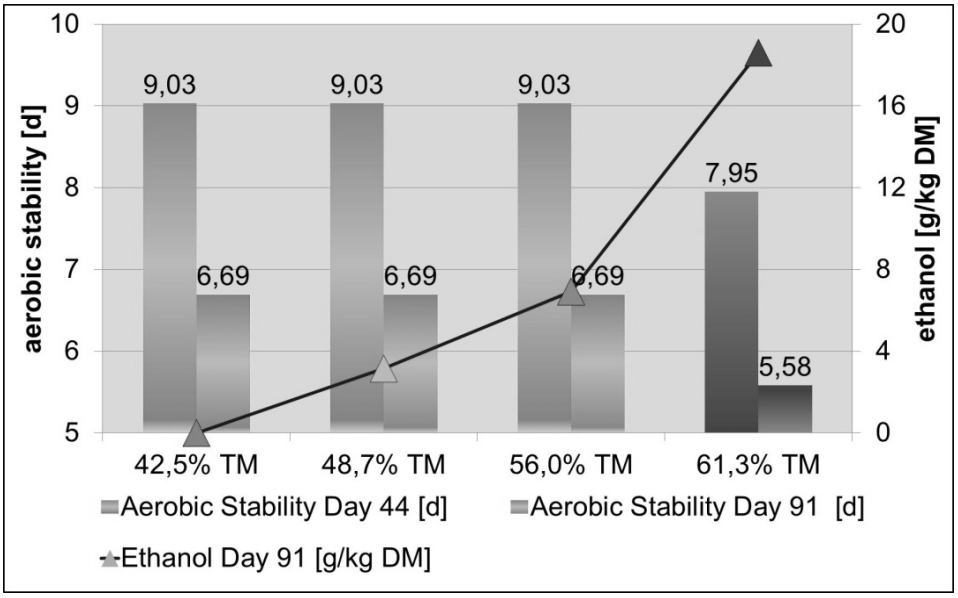



**Figure 3**: Aerobic stability (n=2) and ethanol production (n=3) in dependency of dry matter with Biomin® BioStabil Plus treatment

# Conclusion

The trial confirmed that silage quality might be impaired with regard to acidification and aerobic stability if the dry matter content is too high, and that the detrimental effect is continuously progressive with increased DM content. However, the trial also established that Biomin® BioStabil Plus is able to ferment adequately in silages wilted up to 50-55% DM at its usual dosage.

**Corresponding author**

DI(FH) Karin Schöndorfer
c/o BIOMIN Research Center
Technopark 1, A-3430 Tulln
E-mail: karin.schoendorfer@biomin.net

# Effect of linseed and CLA in pig diet on fatty acid content in meat

**Eva Václavková, Miroslav Rozkot and Petr Daněk**

Institute of Animal Science Prague, Department of Pig Breeding Kostelec nad Orlicí, Czech Republic

## Abstract

The aim of the study was to determine the effect of linseed and conjugated linoleic acid addition in feed mixture for fattening pigs on fatty acid composition of *M. longissimus dorsi* samples. Thirty crossbred gilts were divided into three groups and fed *ad libitum* with control diet (C) or diet containing linseed (L) or CLA. The highest content (P<0.001) of linoleic acid was found in CLA group, the highest amount of alpha-linolenic acid was measured in L group. The content of arachidonic acid and EPA was also affected (P<0.001) by the type of feeding mixture. Similarly, the polyunsaturated fatty acids proportion was affected (P<0.001 – 0.01) by the diet. The most favourable n-6/n-3 PUFA ratio was found in L group.

## Introduction

Lipids are important component of food. They have several functions in organism. Fat is added to the feed mixture as a source of energy. It is also source of fatty acids and can contribute to fatty acid composition in final product of animal production (Gläser et al., 1999). Feed mixture based on cereals provides n-6 fatty acids and only small amount of n-3 polyunsaturated fatty acids. The components with higher proportion of n-3 fatty acids must be added to feed in order to meat fatty acid profile alternation. The composition of feed mixture is one of the major factors, it is able to effect the most important parameters of meat quality. In pig diet, an emphasis is laid on the omega-3 fatty acids in fish oil and vegetable oils (soy, olive, linseed, sunflower, rapeseed). An interest in the composition of fatty acids of meat stems mainly from the need to find ways of producing healthier meat, i.e. with a higher ratio of polyunsaturated fatty acids (PUFA) to saturated fatty acids (SFA) and a more favourable balance between n-6 and n-3 PUFA (Wood et al., 2004). In recent years the interest in conjugated linoleic acid (CLA) which is important for human health was increased. CLA is a collective term for group of positional and geometric isomers of linoleic acid with conjugated double bond system (Hur et al., 2007).

## Material and methods

Crossbred gilts were divided into three groups (10 animals in each group) and fed with feed mixtures-control (C), linseed diet (L) with 7 % of ground linseed and mixture with 1 % of conjugated linoleic acid addition (CLA). Conjugated linoleic acid was supplemented in the form of the preparation LUTA-CLA (BASF, Germany). All mixtures had very similar content of crude protein and energy. Nutrient and chemical composition of feed mixtures is given in Table 1, fatty acid content in feed mixtures is documented in Table 2. The average live weight of gilts was 86.36 ± 11.66 kg at the start of the experiment, final live weight was 140.55 ± 11.43 kg. The samples for laboratory analysis were collected 24 hours after slaughter. Gas chromatograph Agilent Technologies HP 6890 was used for analysis of fatty

acid composition in *M.longissimus dorsi.* The lipid fraction was isolated by the method according to Folch et al. (1957), the preparation of the fatty acid methyl esters was done in accordance with CSN ISO 5509, fatty acid methyl esters were analysed by gas chromatography (6890N Agilent Technologies) according to CSN ISO 5508. The gas chromatograph was equipped with DB-23 cyanopropyl-methylpolysiloxane column (60m x 0.25 mm x 0.25 µm). Nitrogen was used as carrier gas (flow rate 0.8 ml/min). The temperature regime was following: 120°C for 6 min, the temperature was raised to 170°C (15°C/min) and then to 210°C (3°C/min). This temperature was held for 13.5 min. Subsequently, the temperature was increased to 230°C (40°C/min) and kept constant for 7 min. FID detector temperature was 260°C. Fatty acids were determined by comparison with standards (37 Component FAME Mix, PUFA No. 1, PUFA No. 2, PUFA No. 3; Sigma-Aldrich).The statistical evaluation was performed using the computer program QCExpert (TriloByte Statistical Software Ltd.)

**Table 1**: Chemical composition of feed mixtures

| Analysed chemical composition (g/kg) | Diet | | |
|---|---|---|---|
| | Control (C) | Linseed (L) | CLA |
| Dry matter | 887.47 | 886.81 | 886.25 |
| Crude protein | 146.13 | 137.02 | 146.56 |
| Fat | 48.59 | 47.58 | 45.78 |
| Fibre | 37.33 | 45.97 | 37.00 |
| Starch | 438.90 | 442.77 | 434.26 |
| Saccharose | 21.77 | 19.04 | 19.56 |
| Energy (MJ/kg) | 13.36 | 13.10 | 13.22 |

**Table 2**: Fatty acid content (g/100 g of total fatty acids) in control and experimental feed mixtures

| Fatty acid | Diet | | |
|---|---|---|---|
| | Control (C) | Linseed (L) | CLA |
| Linoleic | 32.89 | 33.33 | 32.65 |
| Alpha-linolenic | 7.61 | 29.25 | 6.74 |
| Arachidonic | 0.02 | 0.03 | 0.03 |
| CLA c9, t11 | 0.03 | 0.04 | 4.45 |
| CLA t10,c12 | 0.01 | 0.02 | 4.40 |
| EPA | 0.13 | 0.05 | 0.14 |
| DHA | 0.01 | 0.02 | 0.01 |
| SFA | 15.16 | 15.72 | 14.39 |
| MUFA | 43.80 | 21.11 | 36.68 |
| PUFA | 41.04 | 63.19 | 48.92 |
| n-6 PUFA | 33.05 | 33.61 | 32.83 |
| n-3 PUFA | 7.96 | 29.53 | 7.24 |
| n-6/n-3 | 4.15 | 1.14 | 4.53 |

SFA – saturated fatty acid, MUFA – monounsaturated fatty acid, PUFA – polyunsaturated fatty acid

# Results

The content of fatty acids was measured in the samples of *M. longissimus dorsi* of crossbred gilts from three groups (Table 3). The highest content ($P<0.001$) of essential linoleic acid was found in CLA group (11.31 ± 1.00 g/100 g of total fatty acids). The concentration of alpha-linolenic acid and ara-

chidonic acid was also significantly influenced by CLA diet (P<0.001). The isomers of CLA were deposited in muscle tissue with a different efficiency although the concentrations of c9, t11 isomer and t10, c12 isomer were almost equal in feeding mixture for CLA group. The isomer c9, t11 was found in higher amount in the samples of muscle tissue (0.37 ± 0.04 g/100 g of total fatty acids) compared to t10, c12 isomer (0.11 ± 0.01 g/100 g). The content of EPA and DHA was not influenced by the diet (P>0.05). The concentration of total saturated fatty acids was lowered by feeding CLA (P<0.05-0.01). The content of total MUFA was also reduced (P<0.001) by CLA addition to feeding mixture for fattening pigs. Linseed diet did not have a significant influence on total MUFA content compared to control diet (P>0.05). The concentration of total PUFA was enhanced (P<0.001) in CLA group (16.78 ± 1.14 g/100 g of total fatty acid) in comparison to control (10.99 ± 1.55 g/100 g) and L group (10.07 ± 1.00 g/100 g). Both the linseed and CLA diet had a positive effect on reduction of total n-6 PUFA content (P<0.001). The n-6/n-3 PUFA proportion was also affected (P<0.001) by diet, the most favourable n-6/n-3 PUFA ratio (4.47 ± 0.37) was found in L group.

**Table 3**: The content of selected fatty acids (g/100 g of total fatty acids) in *M. longissimus dorsi et thoracis* samples in control and experimental groups

| Fatty acid | Group | | |
|---|---|---|---|
| | Control (C) | Linseed (L) | CLA |
| Linoleic | 7.32 ± 0.91 $^{A}$ | 6.16 ± 0,54 $^{B}$ | 11.31 ± 1.00 $^{AB}$ |
| Alpha-linolenic | 0.79 ± 0.11 $^{A}$ | 1.12 ± 0.06 $^{B}$ | 0.88 ± 0.07 $^{AB}$ |
| Arachidonic | 1.41 ± 0.47 $^{A}$ | 1.21 ± 0.31 $^{B}$ | 2.41 ± 0.19 $^{AB}$ |
| CLA c9, t11 | 0.13 ± 0.03 $^{A}$ | 0.17 ± 0.05 $^{B}$ | 0.37 ± 0.04 $^{AB}$ |
| CLA t10, c12 | 0.02 ± 0.01 $^{A}$ | 0.03 ± 0.01 $^{B}$ | 0.11 ± 0.01 $^{AB}$ |
| EPA | 0.03 ± 0.01 | 0.04 ± 0.01 | 0.03 ± 0.01 |
| DHA | 0.08 ± 0.01 | 0.06 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 |
| SFA | 40.96 ± 1.26 $^{a}$ | 41.44 ± 0.74 $^{b}$ | 39.62 ± 0.78 $^{ab}$ |
| MUFA | 48.04 ± 0.98 $^{A}$ | 48.49 ± 0.80 $^{B}$ | 43.60 ± 1.11 $^{AB}$ |
| PUFA | 10.99 ± 1.55 $^{A}$ | 10.07 ± 1.00 $^{B}$ | 16.78 ± 1.14 $^{AB}$ |
| n-6 PUFA | 14.73 ± 1.09 $^{A}$ | 8.07 ± 0.93 $^{A}$ | 9.49 ± 1.44 $^{A}$ |
| n-3 PUFA | 1.58 ± 0.09 $^{Ab}$ | 1.80 ± 0.10 $^{bc}$ | 1.37 ± 0.15 $^{Ac}$ |
| n-6/n-3 PUFA | 9.35 ± 0.65 $^{A}$ | 4.47 ± 0.37 $^{A}$ | 6.97 ± 0.90 $^{A}$ |

SFA – saturated fatty acids, MUFA – monounsaturated fatty acids, PUFA – polyunsaturated fatty acids
Within a row, means with the same superscript letters are different:
a P<0.05; b,c P<0.01; AB P<0.001

# Discussion

Nuernberg et al. (2005) used n-3 enriched linseed oil in pig diet during the growing-finishing period. Feeding linseed oil reduced arachidonic acid content in muscle although the linoleic acid concentration was enhanced. In our experiment arachidonic acid content was not affected by linseed diet compared to control diet. But we found the effect of CLA diet on arachidonic acid concentration in muscle tissue. Sheard et al. (2000) and Hoz et al. (2003) studied the influence of linseed-rich test diet on fatty acid content in meat. The test diet resulted in higher alpha-linolenic acid level with major increase in total n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) content. The n-6 PUFA content was reduced by the test diet. The n-3 PUFA content was also enhanced and n-6 PUFA content was lowered in our experiment. These results are in accordance with findings of Rey et al. (2001). They found a higher proportion of n-3 fatty acid and 20% reduction in the n-6/n-3 ratio in meat from pigs fed linseed oil-enriched diets. The n-6/n-3 PUFA ratio was sharply reduced (from 9.88 to 2.48) when pigs were fed the linseed oil diet in an experiment conducted by D´Arrigo et al. (2002). Nutritionists criticise human diet for unfa-

vourable ratio between n-6 and n-3 which typically exceeds 10:1 and very often it is as high as 25:1, when 5:1 is regarded as ideal for good health (Weill et al., 2002). The n-6/n-3 PUFA ratio was lowered by linseed diet and it was very near to the recommended value in our experiment. We laso studied the effect of CLA in pig diet on fatty acid profile in muscle tissue. We found decline in total SFA and MUFA content but total PUFA content was enhanced. On the other hand, Bee (2001) found that addition of 1 % CLA to pig diet had increased SFA and had decreased MUFA proportion in adipose tissue. The content of arachidonic acid was decreased. The feeding CLA increased deposition of CLA isomers in tissues, especially c9, t11 isomer. Gatlin et al. (2002) found the same results in the experiment with 1 % of CLA in the diet for fattening pigs. Weber et al. (2003) used 0.6 % CLA in feeding mixture for pigs. The SFA proportion was enhanced while MUFA was decreased in the samples of backfat. In the samples of *M. longissimus dorsi* SFA content was also higher in comparison to control group of pigs but MUFA was not affected and PUFA was significantly lowered. According to Morel et al. (2008) the 0.614 % of CLA in pig diet increased deposition of c9, t11 isomer more than t10, c12 isomer in *M. longissimu dorsi*. Dunshea et al. (2005) also reported than deposition of c9, t11 isomer is more efficient than t10, c12. The isomer c9, t11 was also found in higher amount in the samples of muscle tissue compared to t10, c12 isomer in our experiment.

# Conclusion

The inclusion of linseed to pig diet had positive effect on fatty acid profile in meat. The content of n-3 PUFA was significantly enhanced and consequently the proportion of n-6/n-3 PUFA was adjusted towards recommended ratio. The addition of CLA to the feeding mixture positively affected CLA content in muscle tissue of fattening pigs. The c9, t11 isomer was effectively deposited in the tissue than t10, c12 isomer.

### Acknowledgement

The study was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic – Project No. QH71284.

### References

Bee. G. (2001). Dietary conjugated linoleic acids affect tissue lipid composition but not de novo lipogenesis in finishing pigs. Anim. Res. 50: 383-399.

D´Arrigo M., Hoz L., Lopez-Bote C. J., Cambero I., Pin C., Rey A. I., Ordonez J. A. (2002). Effect of dietary linseed oil and α-tocopherol on selected properties of pig fat. Can. J. Anim. Sci., 82, 339-346.

Dunshea F.R., D´Souza D.N., Pethick D.W., Harper G.S., Warner R.D. (2005). Effects of dietary factors and other metabolic modifiers on quality and nutritional value of meat. Meat Sci., 71: 8-38.

Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.,* 226, 497.

Gatlin. L.A.. See. M.T.. Larick. D.K.. Lin. X.. Odle. J. (2002). Conjugated linoleic acid in combination with supplemental dietary fat alters pork fat quality. J. Nutr. 132: 3105-3112.

Gläser K.R., Scheeder M.R.L., Wenk C.(1999). Fat score, an index value for fat quality in pigs-its ability to predict properties of backfat differing in fatty acid composition. 50th Meeting of the EAAP,Zurich. Session PGN 4.33: Quality of meat and fat as affected by genetics and nutrition.

Hoz L., Lopez-Bote C. J., Cambero M. I., D´Arrigo M., Pin C., Santos C., Ordonez J. A. (2003). Effect of dietary linseed oil and alpha-tocopherol on pork tenderloin (Psoas major) muscle. Meat Sci. 65, 1039-1044.

Hur S.J., Park G.B., Joo S.T. (2007). A comparison of the effects of dietary conjugated linoleic acid contents, cholesterol, lipid oxidation and drip loss in pork loin and chicken breast. J. Muscle Foods, 18 (3): 264-275.

Morel P.C.H., Janz J.A.M., Zou M., Purchas R.W., Hendriks W.H., Wilkinson B.H.P. (2008). The influence of diets supplemented with conjugated linoleic acid, selenium, and vitamin E, with or without protein, on the composition of pork from female pigs. J. Anim. Sci., 86:1145-1155.

Nuernberg K., Fischer K., Nuernberg G., Kuechenmeister U., Klosowska D., Eliminowska-Wenda G., Fiedler I., Ender K. (2005). Effects of dietary olive and linseed oil on lipid composition, meat quality, sensory characteristics and muscle structure in pigs. Meat Sci., 70, 63-74.

Rey A.I., Kerry J.P., Lynch P.B., Lopez-Bote C.J., Buckley D.J., Morrissey P.A. (2001). Effect of dietary oils and alpha-tocopheryl acetate supplementation on lipid (TBARS) and cholesterol oxidation in cooked pork. Journal of Animal Science, 79, 1201-1208.

Sheard P.R., Enser M., Wood J. D., Nute G. R., Gill B. P., Richardson R. I. (2000). Shelf life and quality of pork products with raised n-3 PUFA. Meat Sci., 55, 213-221.

Weill P., Schmitt B., Chesneau G., Daniel N., Safraou F., Legrand P. (2002). Effects of introducing linseed in livestock diet on blood fatty acid composition of consumers of animal products. Ann. Nutr. Metabol., 46, 182-191.

Wood J. D., Richardson R. I., Nute G. R.; Fisher A.V., Campo M. M., Kasapidou E., Sheard P.R., Enser M. (2004). Effects of fatty acids on meat quality: a review. Meat Sci., 66, 21-32.

## Corresponding author

Eva Václavková
Institute of Animal Science Prague Uhrineves, Czech Republic
Department of Pig Breeding, Komenskeho 1239
51741 Kostelec nad Orlicí
E-mail: vaclavkova.eva@vuzv.cz

www.ama.at

# Sicher ist sicher!

# Genuss mit Stammbaum



**Herkunftsgarantie.**
**Nur heimisches Fleisch mit lückenlos nachvollziehbarer Herkunft wird mit dem rot-weiß-roten AMA-Gütesiegel ausgezeichnet.**

Ob Rindersteak, Schweinskotelett, Putenbrust oder Hendlhaxerl – Fleisch mit dem rot-weiß-roten AMA-Gütesiegel stammt sicher aus Österreich. Die Tiere wurden in Österreich geboren und aufgezogen. Diese Herkunft wird ebenso gewissenhaft kontrolliert wie die Fleischqualität und die Einhaltung der Hygienebestimmungen. Die Überwachung erfolgt durch unabhängige Experten. Und zwar vom Stall bis ins Verkaufsgeschäft.
**Sicher ist sicher.**

Geprüfte Qualität
AMA GÜTESIEGEL
AUSTRIA

- ✓ Ausgezeichnete QUALITÄT
- ✓ Nachvollziehbare HERKUNFT
- ✓ Unabhängige KONTROLLE

# Einfluss des Polyensäurengehaltes im Mastschweinefutter auf die Fettsäurezusammensetzung im Fleisch und Fett

**Gabriela Wetscherek-Seipelt und Wolfgang Wetscherek**

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

## Einleitung

Zurzeit beschäftigt sich die Forschung intensiv mit den Anteilen verschiedener Fettsäuren im tierischen Fett. Dies wird eindrucksvoll durch die zahlreichen Veröffentlichungen demonstriert. In unterschiedlichen Versuchen wurden die Einflüsse der Fettzusammensetzung auf die sensorische Merkmale der Fleischqualität, auf Gesundheitsaspekte, ernährungsphysiologische Faktoren und Aspekte der Verarbeitungseignung betrachtet. Dabei kristallisiert sich immer wieder der Zielkonflikt zwischen den Beschaffenheitsanforderungen für die Dauerwarenherstellung und der diätischen Qualität von tierischen Lebensmitteln heraus.

Ein Polyenfettsäurengehalt von unter 12 Mol% wird als gut, ein Gehalt zwischen 12 und 13 Mol% als tolerierbar und höhere Anteile als unbefriedigend für die Herstellung von Dauerwurst, wie Salami oder Speckwaren qualifiziert (Seewer, 1996). Während also nach den Schweizer Qualitätsanforderungen mehr als 13 Mol% Polyenfettsäuren im Rückenfett für die Verarbeitung als nicht mehr geeignet betrachtet werden, sehen Fischer et al. (1990) 15 Mol% Polyenfettsäuren als obere Grenze für die Herstellung von ungegarten Fleischprodukten an.

## Versuchsanstellung

Für den Versuch wurden an der LFS-Hatzendorf 36 Kreuzungsferkel Landrasse X Pietrain auf drei Gruppen aufgeteilt. Die drei Gruppen erhielten Futtermischungen, die sich im Polyenfettsäurengehalt unterschieden (Tabelle 1). Die Futterzuteilung erfolgte ad libitum über Automaten. Die Versuchsperiode begann mit etwa 32 kg Lebendgewicht und endet mit einem Endgewicht von 110 bis 115 kg.

**Tabelle 1**: Versuchsplan

| **Merkmal** | **Versuchsgruppe** | | |
|---|---|---|---|
| | **Poly - gering** | **Poly - mittel** | **Poly - hoch** |
| Polyenfettsäurengehalt g/kg | 12 | 15 | 20 |
| Bucht, n | 1 | 1 | 1 |
| Tiere, n | 12 | 12 | 12 |

## Datenerhebung

Nach Abschluss des Mastversuches wurden bei der Zerlegung Proben vom Filz, Karreeauflagenfett und Karreefleisch gezogen, vakuumverpackt und tiefgefroren gelagert.

# Versuchsergebnisse

Wie in den Tabellen 2 dargestellt, entsprachen die Mischungen den errechneten wertbestimmenden Bestandteilen. Die Gruppen mit höherem Polyenfettsäurengehalt wiesen einen höheren Rohfettgehalt auf. Wie geplant konnte über den höheren Fettgehalt auch die gewünschten Gehalte an Polyenfettsäuren erreicht werden.

**Tabelle 2**: Analysenergebnisse der Versuchsmischungen

| **Merkmal** | | **Versuchsgruppe** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Poly - gering** | | **Poly - mittel** | | **Poly - hoch** | |
| **Mastabschnitt** | **kg** | **32-66** | **66-115** | **32-66** | **66-115** | **32-66** | **66-115** |
| Trockensubstanz | g/kg | 893 | 883 | 898 | 879 | 906 | 889 |
| Rohprotein | g/kg | 170 | 161 | 170 | 158 | 174 | 163 |
| Rohfett | g/kg | 22 | 21 | 30 | 29 | 38 | 36 |
| Rohfaser | g/kg | 31 | 29 | 35 | 31 | 36 | 32 |
| Rohasche | g/kg | 43 | 39 | 45 | 44 | 46 | 42 |
| Stärke | g/kg | 497 | 527 | 489 | 501 | 453 | 493 |
| Zucker | g/kg | 36 | 33 | 40 | 34 | 42 | 36 |
| ME | MJ/kg | 13,7 | 13,7 | 13,8 | 13,6 | 13,9 | 13,8 |
| C 14:0 | g/kg | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 |
| C 16:0 | g/kg | 2,84 | 2,60 | 3,55 | 3,28 | 4,42 | 4,02 |
| C 16:1 | g/kg | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 |
| C 18:0 | g/kg | 0,43 | 0,37 | 0,65 | 0,56 | 1,07 | 0,91 |
| C 18:1 | g/kg | 5,50 | 5,19 | 8,44 | 8,08 | 10,74 | 10,15 |
| C 18:2 | g/kg | 12,26 | 11,93 | 16,26 | 16,07 | 20,21 | 19,50 |
| C 18:3 | g/kg | 0,73 | 0,68 | 0,78 | 0,71 | 1,14 | 1,03 |
| C 20:0 | g/kg | 0,08 | 0,07 | 0,13 | 0,12 | 0,17 | 0,15 |
| C 20:2 | g/kg | 0,09 | 0,09 | 0,09 | 0,10 | 0,11 | 0,11 |
| C 22:0 | g/kg | 0,04 | 0,04 | 0,07 | 0,07 | 0,11 | 0,10 |
| Polyensäuren | g/kg | 13,08 | 12,7 | 17,13 | 16,88 | 21,46 | 20,64 |

*C x:y → x = Anzahl der Kohlenstoffatome; y = Anzahl der Doppelbindungen*

In den nachfolgenden Tabellen werden signifikante Unterschiede durch unterschiedliche hochgestellte Buchstaben dargestellt.

Betrachtet man die Ergebnisse der Fettzusammensetzung des inneren und äußeren Auflagenfettes in den Tabellen 3 und 4 ist, wie erwartet, ein starker Einfluss der Fettzusammensetzung des Futters erkennbar. Der Polyenfettsäurengehalt der Gruppe mit etwa 13 g/kg Polyenfettsäuren im Futter lag in einem Bereich der auch für die Dauerwarenherstellung in der Literatur als geeignet beschrieben wird. Das Auflagenfett der Gruppe mit hohen Polyenfettsäurengehalten im Futter (ca. 21 g/kg) erreichte mit etwa 20 % Polyenfettsäurenanteil im Auflagenfett einen Wert der sich laut Literatur nicht für die Dauerwarenherstellung eignet. Die Gruppe mit dem mittleren Polyenfettsäurengehalt erreichte Polyenfettsäurenanteile, welche leicht über den Grenzwert für die Dauerwarenherstellung lagen. Die Unterschiede zwischen den drei Gruppen sind auf starke Erhöhungen des Gehaltes an Linolensäuren und Verringerungen des Gehaltes an Palmetinsäure bzw. Stearinsäure und Ölsäure zurückzuführen.

Das innere Auflagenfett hatte gegenüber der äußeren Fettschichte einen höheren Anteil an gesättigten und geringeren Gehalt an einfach bzw. mehrfach ungesättigten Fettsäuren.

Die Darstellung der Fettzusammensetzung des Filzes in der Tabelle 5 zeigt ähnliche Einflüsse des Polyenfettsäurengehaltes im Futter wie beim Auflagenfett. Die Anteile an gesättigten Fettsäuren sind hier

aber generell höher als im Auflagenfett. Dies wird durch geringere Anteile an einfach bzw. mehrfach ungesättigte Fettsäuren kompensiert.

**Tabelle 3**: Zusammensetzung des äußeren Auflagenfettes vom Karree

| Fettsäurenanteil in % des Fettes | Versuchsgruppe | | |
|---|---|---|---|
| | Poly - gering | Poly - mittel | Poly - hoch |
| C10:0 | 0,04 | 0,05 | 0,05 |
| C12:0 | 0,07 | 0,07 | 0,07 |
| C14:0 | 1,50 [a] | 1,47 [a] | 1,42 [b] |
| C16:0 | 23,98 [a] | 23,68 [a] | 22,41 [b] |
| C16:1 | 2,93 [a] | 2,62 [b] | 2,60 [b] |
| C17:0 | 0,60 [ab] | 0,63 [a] | 0,55 [b] |
| C17:1 | 0,66 [a] | 0,64 [a] | 0,53 [b] |
| C18:0 | 11,73 [a] | 11,77 [a] | 10,76 [b] |
| C18:1 | 42,99 [a] | 41,65 [b] | 40,44 [c] |
| C18:2 | 12,99 [c] | 14,79 [b] | 18,24 [a] |
| C18:3 | 0,76 [a] | 0,78 [a] | 1,01 [b] |
| C20:0 | 0,18 | 0,18 | 0,20 |
| C20:2 | 0,69 [a] | 0,70 [a] | 0,63 [b] |
| C22:0 | 0,58 [c] | 0,65 [b] | 0,75 [a] |
| C20:4 | 0,29 [b] | 0,32 [b] | 0,35 [a] |
| gesättigte Fettsäuren | 38,68 [a] | 38,51 [a] | 36,21 [b] |
| Monoenfettsäuren | 46,58 [a] | 44,91 [b] | 43,56 [c] |
| Polyenfettsäuren | 14,73 [c] | 16,58 [b] | 20,23 [a] |

**Tabelle 4**: Zusammensetzung des inneren Auflagenfettes vom Karree

| Fettsäurenanteil in % des Fettes | Versuchsgruppe | | |
|---|---|---|---|
| | Poly - gering | Poly - mittel | Poly - hoch |
| C10:0 | 0,04 [a] | 0,05 [a] | 0,01 [b] |
| C12:0 | 0,04 | 0,07 | 0,06 |
| C14:0 | 1,42 | 1,42 | 1,40 |
| C16:0 | 25,43 [a] | 24,57 [b] | 23,69 [c] |
| C16:1 | 2,43 [a] | 2,32 [a] | 2,12 [b] |
| C17:0 | 0,53 | 0,56 | 0,48 |
| C17:1 | 0,50 [a] | 0,52 [a] | 0,42 [b] |
| C18:0 | 14,93 [a] | 13,99 [b] | 13,09 [c] |
| C18:1 | 41,61 [a] | 39,75 [b] | 38,37 [c] |
| C18:2 | 10,67 [c] | 14,27 [b] | 17,59 [a] |
| C18:3 | 0,60 [b] | 0,67 [b] | 0,90 [a] |
| C20:0 | 0,25 [a] | 0,21 [b] | 0,19 [b] |
| C20:2 | 0,80 [a] | 0,73 [b] | 0,69 [b] |
| C22:0 | 0,51 [c] | 0,63 [b] | 0,74 [a] |
| C20:4 | 0,22 [b] | 0,25 [ab] | 0,27 [a] |
| gesättigte Fettsäuren | 43,16 [a] | 41,49 [b] | 39,65 [c] |
| Monoenfettsäuren | 44,54 [a] | 42,58 [b] | 40,91 [c] |
| Polyenfettsäuren | 12,29 [c] | 15,93 [b] | 19,44 [a] |

Die Ergebnisse der Zusammensetzung des Fettes im Karreefleischmuskel werden in der Tabelle 6 aufgelistet. Auch hier wird der signifikante Einfluss des Polyenfettsäurengehaltes im Futter auf die Zusammensetzung des intramuskulären Fettes deutlich sichtbar. Die Relationen bewegen sich in ähnlichen Größenordnungen wie beim Filz.

**Tabelle 5**: Zusammensetzung des Filzfettes

| **Fettsäurenanteil in % des Fettes** | **Versuchsgruppe** | | |
|---|---|---|---|
| | **Poly - gering** | **Poly - mittel** | **Poly - hoch** |
| C10:0 | 0,07 [b] | 0,10 [a] | 0,09 [ab] |
| C12:0 | 0,06 [b] | 0,09 [a] | 0,08 [ab] |
| C14:0 | 1,57 [a] | 1,55 [a] | 1,50 [b] |
| C14:1 | 0,03 [b] | 0,08 [a] | 0,06 [ab] |
| C16:0 | 28,19 [a] | 27,31 [b] | 26,04 [c] |
| C16:1 | 2,13 [a] | 2,01 [a] | 1,76 [b] |
| C17:0 | 0,58 | 0,57 | 0,55 |
| C17:1 | 0,43 [a] | 0,40 [a] | 0,32 [b] |
| C18:0 | 18,86 [a] | 17,89 [b] | 16,90 [c] |
| C18:1 | 35,50 [a] | 34,88 [a] | 32,75 [b] |
| C18:2 | 10,63 [c] | 13,07 [b] | 17,45 [a] |
| C18:3 | 0,53 [b] | 0,55 [b] | 0,89 [a] |
| C20:0 | 0,22 | 0,23 | 0,22 |
| C20:2 | 0,59 [a] | 0,55 [ab] | 0,53 [b] |
| C22:0 | 0,37 [c] | 0,43 [b] | 0,55 [a] |
| C20:4 | 0,25 [b] | 0,28 [a] | 0,31 [a] |
| gesättigte Fettsäuren | 49,92 [a] | 48,17 [b] | 45,93 [c] |
| Monoenfettsäuren | 38,09 [a] | 37,37 [a] | 34,89 [b] |
| Polyenfettsäuren | 12,00 [c] | 14,46 [b] | 19,18 [a] |

**Tabelle 6**: Zusammensetzung des Fettes des Karreefleisches

| **Fettsäurenanteil in % des Fettes** | **Versuchsgruppe** | | |
|---|---|---|---|
| | **Poly - gering** | **Poly - mittel** | **Poly - hoch** |
| C10:0 | 0,06 [b] | 0,09 [a] | 0,07 [ab] |
| C12:0 | 0,07 [b] | 0,10 [a] | 0,10 [a] |
| C14:0 | 1,57 | 1,60 | 1,59 |
| C16:0 | 28,45 [a] | 27,51 [b] | 26,48 [c] |
| C16:1 | 2,18 [a] | 2,07 [a] | 1,79 [b] |
| C17:0 | 0,54 | 0,57 | 0,57 |
| C17:1 | 0,40 [a] | 0,42 [a] | 0,34 [b] |
| C18:0 | 18,62 [a] | 17,49 [b] | 16,83 [b] |
| C18:1 | 36,24 [a] | 34,73 [b] | 32,70 [c] |
| C18:2 | 9,95 [c] | 13,36 [b] | 17,11 [a] |
| C18:3 | 0,51 [c] | 0,61 [b] | 0,87 [a] |
| C20:0 | 0,23 | 0,21 | 0,20 |
| C20:2 | 0,61 [a] | 0,52 [b] | 0,52 [b] |
| C22:0 | 0,38 [c] | 0,45 [b] | 0,56 [a] |
| C20:4 | 0,20 [c] | 0,26 [b] | 0,29 [a] |
| gesättigte Fettsäuren | 49,92 [a] | 48,02 [b] | 46,39 [c] |
| Monoenfettsäuren | 38,82 [a] | 37,22 [b] | 34,83 [c] |
| Polyenfettsäuren | 11,26 [c] | 14,75 [b] | 18,79 [a] |

# Zusammenfassung

Der enge Zusammenhang zwischen Futterfettzusammensetzung und der Fettzusammensetzung in tierischen Geweben beim Mastschwein wurde in diesem Versuch bestätigt.

Die in der Literatur bekannten Fütterungsempfehlungen für eine Obergrenze des Polyenfettsäurengehaltes im Futter können auch für das heutige Tiermaterial mit hohem Leistungsniveau angewendet werden.

Nur durch gezielte Rationsgestaltung ist es möglich Schweinefleisch, welches den Kriterien für die Dauerwarenherstellung bezüglich der Fettqualität entspricht, herzustellen.

## Literatur

Fischer, K.; P. Freudenreich, K.-H Hoppenbrock; W. Sommer, 1990: Einflüsse von Fütterung, Mastendgewicht und Geschlecht auf die Fettqualität beim Schwein. Mitteilungsblatt der BASF *108, 130-139.*

Seewer, G.J.F., 1996: Qualität des Fettgewebes beim Schwein und beim Mastrind. Agrarforschung 3, 435-438, 1

## Autorenanschrift

DI Dr. Gabriela Wetscherek-Seipelt
Institut für Tierernährung, Tierische Lebensmittel und Ernährungsphysiologie
Universität für Bodenkultur Wien
Muthgasse 11, A-1190 Wien
E-Mail: gabriela.wetscherek-seipelt.boku.ac.at

# Über den Einfluss der Elementzusammensetzung von Legehennenfutter auf die Konzentrationen in Dotter und Eiklar

**Manfred Sager**

Kompetenzzentrum Elemente, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Wien

## Problemstellung

Mangels Multi-Elementmethoden oder gesetzlicher Vorschriften wurden in älteren Arbeiten oft nur einzelne Parameter bestimmt, ohne einen Zusammenhang mit der Fütterung herzustellen. Die vorliegende Studie zielt darauf ab, die Bandbreite der derzeitigen Eierproduktion in Österreich zu erfassen. Eier und Futtermittel wurden in den Betrieben gezogen, um gegebenenfalls Einflüsse von Fütterung und Haltung auf die Zusammensetzung der produzierten Eier feststellen zu können, was infolge verschiedenster Zuständigkeiten nur im Rahmen eines übergreifenden Projekts möglich ist.

Bei in der Literatur beschriebenen Versuchen wurde zumeist mit erhöhten Gehalten einzelner Elemente über Wochen gefüttert, was sich dann in erhöhten Konzentrationen von z.B. Jod im Dotter (Kroupova et al. 1999) im Ei widerspiegelt, aber nicht der landwirtschaftlichen Praxis entspricht.

## Material und Methode

35 frische und verkehrsfähige Chargen von Hühnereiern wurden zusammen mit den eingesetzten Futtermitteln beprobt, Dotter und Eiklar getrennt, gefriergetrocknet, und die Konzentration von 25 Elementen darin bestimmt. Es wurden Mischproben aus jeweils 2 Eiern aus einer Tagesproduktion, für 6 Proben aus Niederösterreich aus 3 Eiern, gemacht, um Zufälligkeiten in der Zusammensetzung eines einzelnen Eies zu verringern, da sie dann von verschiedenen Hennen stammen.

Hinsichtlich der Haltung der Hühner waren 11 Proben aus Freilandhaltung, 21 Proben aus Bodenhaltung und 3 aus der mittlerweile verbotenen Käfighaltung (gesammelt im November 2008), der Rest unbekannt.

## Elementgehalte

In Tabelle 1 sind die Analysenergebnisse zusammengefasst. Sämtliche Werte bewegen sich im physiologisch gesunden Bereich. Die Dotter enthielten vor allem P, Ca, Fe, Zn und J, das Eiklar hingegen Na und S. Die Gehalte an Al, As, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn und V lagen großteils unter der analytischen Nachweisgrenze der ICP-OES. In 6 Proben wurden Pb und Cd auch mit ICP-MS gemessen, und waren auch hier an bzw. unter der Nachweisgrenze. Einige Datensätze sind deutlich nicht normalverteilt, und in diesen Fällen wäre eine Angabe von Mittelwert und Standardabweichung nicht richtig; dies dient nur zur Orientierung.

**Tabelle 1**: Mittelwerte und Bereiche der gefundenen Konzentrationen in der Trockenmasse

| | N | **Mittelwert** Standardabweichung | Bereich |
|---|---|---|---|
| Ba-Dotter | 42 | **2,40 ±** 1,23 | 0,73 - 5,76 |
| Ba-Futter | 35 | **8,80 ±** 8,61 | 1,30 - 45,7 |
| Ba-Klar | 42 | **0,08 ±** 0,11 | < 0,06 - 0,61 |
| Ca-Dotter | 42 | **3034 ±** 233 | 2647 - 3522 |
| Ca-Futter | 35 | **40453 ±** 13079 | 14843 - 67376 |
| Ca-Klar | 42 | **500 ±** 152 | 338 - 1084 |
| Cu-Dotter | 42 | **4,37 ±** 2,51 | 2,77 - 13,21 |
| Cu-Futter | 35 | **18,5 ±** 6,9 | 10,1 - 33,9 |
| Cu-Klar | 42 | **1,95 ±** 1,61 | 0,87 - 8,64 |
| Fe-Dotter | 42 | **118 ±** 27 | 5,3 - 153 |
| Fe-Futter | 35 | **269 ±** 175 | 113 - 979 |
| Fe-Klar | 42 | **0,60 ±** 0,50 | 0,05 - 2,05 |
| J-Dotter | 41 | **3,40 ±** 2,01 | 0,72 - 9,16 |
| J-Futter | 34 | **1,095 ±** 0,774 | 0,160 - 3,32 |
| J-Klar | 41 | **0,606 ±** 0,622 | 0,010 - 2,19 |
| Mg-Dotter | 39 | **273 ±** 28 | 233 - 353 |
| Mg-Futter | 34 | **2548 ±** 536 | 1736 - 3672 |
| Mg-Klar | 42 | **997 ±** 102 | 865 - 1305 |
| Mn-Dotter | 42 | **1,83 ±** 0,41 | 1,17 - 2,97 |
| Mn-Futter | 35 | **120,7 ±** 34,0 | 60,8 - 228,2 |
| Mn-Klar | 42 | **0,059 ±** 0,046 | 0,011 – 0,33 |
| Na-Dotter | 42 | **1619 ±** 314 | 1108 - 2339 |
| Na-Futter | 35 | **1941 ±** 694 | 924 - 4940 |
| Na-Klar | 42 | **18139 ±** 2982 | 7614 - 25571 |
| P-Dotter | 42 | **11671 ±** 631 | 10323 - 13180 |
| P-Futter | 35 | **5861 ±** 969 | 4208 - 9122 |
| P-Klar | 42 | **1105 ±** 353 | 593 - 1870 |
| S-Dotter | 42 | **4175 ±** 700 | 2757 - 5635 |
| S-Futter | 35 | **2426 ±** 466 | 1807 - 3699 |
| S-Klar | 39 | **15314 ±** 2221 | 10453 - 18850 |
| Se-Dotter | 40 | **0,741 ±** 0,183 | 0,266 - 1,146 |
| Se-Klar | 40 | **0,389 ±** 0,155 | 0,092 - 0,705 |
| Se-Futter | 35 | **0,402 ±** 0,133 | 0,136 - 0,714 |
| Sr-Dotter | 42 | **2,32 ±** 0,95 | 1,20 - 4,95 |
| Sr-Futter | 35 | **34,0 ±** 26,2 | 8,12 - 137,8 |
| Sr-Klar | 42 | **1,05 ±** 0,51 | 0,029 - 2,37 |
| Zn-Dotter | 42 | **78,9 ±** 9,10 | 59,8 - 93,7 |
| Zn-Futter | 35 | **100,1 ±** 25,6 | 61,0 - 156,5 |
| Zn-Klar | 42 | **1,03 ±** 1,14 | 0,10 - 6,70 |
| Ca/Mg-Dotter | 32 | **11,21 ±** 1,17 | 9,33 - 14,82 |
| Ca/Sr-Klar | 34 | **582 ±** 392 | 217 - 2167 |
| Ca/Sr-Futter | 35 | **1522 ±** 599 | 436 - 2534 |

Im Alleinfutter für Legehennen werden 3-4,5% Ca, 0,45-0,60% P, 0,12-0,25% Na, sowie 40 mg/kg Mn und 60 mg/kg Zn empfohlen, weiters ein Minimum an 0,28% Methionin, was 600 mg/kg Schwefel entspricht (Kirchgeßner 1997). In Indien, wo die Hühner eigentlich herkommen, empfiehlt man 0,30% Methionin bzw. 0,55% Methionin+ Cystein für Leghorn- Hennen (Prasad, Neeraj 2008). Gemäß Tabelle 1 ist die Versorgung mit Ca, und Mn übererfüllt, während P in der Empfehlung liegt. Ob der Schwefel als Eiweiß oder als Sulfat vorliegt, lässt sich mit der angewendeten Untersuchungsmethode nicht beantworten, aber wenn ¼ als Methionin vorliegen würde, wäre es ausreichend.

Für die Ernährung des Menschen liefern Eier vor allem Jod, Selen, Natrium und Phosphor (Sager 2009; Sager 2011). Gegenüber dem weit verbreiteten Tabellenwerk Souci Fachmann Kraut wurden für das Eiklar tiefere Konzentrationen an Ca und Mn, sowie höhere Konzentrationen an Fe-Mg-Na gefunden, und im Eidotter mehr Natrium und Selen. Mit dem hier durchgeführten Gesamtaufschluss das gesamte Jod, und nicht nur extrahierbares Jodid erfasst.

# Elementbeziehungen

Jod tritt verhältnismäßig leicht in den Dotter über. Durch Erhöhung von Jod im Futter wurde nach 47 Tagen ein signifikanter Anstieg im Dotter erreicht (Kroupova et al. 1999). In den USA führte Dauerbelastung mit Blei von 80 mg/kg noch zu keiner Erhöhung der Bleikonzentrationen im Dotter (Trampel et al. 2003).

Die statistische Auswertung der vorliegenden Daten erbrachte wenige Zusammenhänge zwischen der Zusammensetzung von Dotter, Klar und Futtermittel.

Durch Faktorenanalyse kann man zeigen, welche Variablen auf zusammengefasste Komponenten zurückgeführt werden können, in diesem Falle, welche Elementkonzentrationen gemeinsame Beziehungen zueinander haben könnten. Die Komponentenmatrices zeigten völlig verschiedene Elementgruppen in Dotter, Klar und Futtermitteln. Die Faktorenanalyse der Konzentrationen im Dotter ergab 4 Komponenten mit den Beziehungen Ca-Mg-S-P, Ba-Mn, Na-Zn und Fe-J, wobei die 1. Komponente eine Proteinkomponente zu sein scheint. Im Eiklar enthält die erste Komponente je essentiellen Elemente, die gemeinsam dem Grundfutter beigemischt werden (Cu-Zn-Mg-Na), gefolgt von P, dann S-Sr, dann Ba-Fe, und dann J. Im Futtermittel entspricht die 1. Komponente den Spurenelementzusätzen Cu-Mn-Na-P-Zn, die 2. wieder einer Mineralkomponente mit Ba-Ca-Fe-Mg-Sr, die 3. einer Proteinkomponente mit S, und die 4. ist J-Se.

Strontium und Calcium sind voneinander unabhängig, während in den Futtermitteln eine klare Korrelation besteht. Als weitere Hypothese könnte Jod im Dotter überwiegend an Tyrosin gebunden, im Eiklar jedoch als Jodid vorliegen, ebenso Schwefel im Dotter als Protein, und im Eiklar als Sulfat.

Korrelationen innerhalb der gleichen Matrix findet man am ehesten bei den Futtermitteln, wie Ba-Sr, Cu-Zn, Fe-Sr, Mn-Zn, Na-Zn, Na-P und J-Se. Bei den Dottern wurden nur Ba-Mn, Ba-P, Ca-S, Cu-Mg und Mg-P gefunden, und bei den Eiklaren nur Ca-Mg, Cu-Mg, Cu-Na, Cu-Zn und Na-S.

**Tabelle 2**: Einfluss der Zusammensetzung des Futtermittels auf das Ei, als Korrelationskoeffizienten zwischen den Konzentrationen in der Trockenmasse

| Dotter - Futtermittel | | Klar - Futtermittel | Dotter - Eiklar |
|---|---|---|---|
| Alle Proben | Nur Freilandeier | | |
| Mangan) 0,4501 | 0,697 | Schwefel) 0,4544 | Strontium) 0,7068 |
| Strontium) 0,4420 | 0,830 | Strontium) 0,4385 | Kupfer) 0,6249 |
| Andere < 0,4 | | Andere < 0,4 | Jod) 0,6342 |
| | | | Natrium) 0,5404 |
| | | | Andere < 0,4 |

Betrachtet man die Konzentrationen für jedes Element einzeln, so sind die Konzentrationen von (alphabetisch) Ba-Ca-Fe-Mg-P-Se-Zn unabhängig voneinander. Nur für Sr, J, Cu und Na wurden deutliche Korrelationen zwischen den Konzentrationen im Dotter und im Klar gefunden, zwischen dem Futter und dem Dotter für Mn und Sr, und zwischen dem Futter und dem Eiklar für Schwefel und Strontium.

Die stärksten Korrelationen gibt es also für Strontium, für Calcium jedoch kaum welche. Der Organismus kann offensichtlich im Gegensatz zu einer Pflanze zwischen Calcium und Strontium unterscheiden.

# Querbeziehungen

Zuletzt wurde versucht, Beziehungen zwischen den Konzentrationen aus den verschiedenen Matrices Futter-Dotter-Eiklar herzustellen. In der Ernährungslehre gelten die Mengenelemente (Ca,P, Na, K, Cl, Mg, S) durch Futterinhaltsstoffe als kaum beeinflussbar, hingegen Jod-Fluor-Mangan sehr wohl (Abel et al. 1995).

Die Konzentrationen im Dotter und im Klar hängen kaum voneinander ab, sie sind weitgehend voneinander unabhängig. An Korrelationskoeffizienten zwischen den Konzentrationen in der Trockenmasse von Dotter und Eiklar wurde für Strontium = 0,7068, für Jod = 0,6342, für Kupfer = 0,6249, und für Natrium = 0,5404 gefunden, für andere Elemente waren sie < 0,4.

Am ehesten durch das Futter beeinflussbar scheint Strontium, Calcium hingegen aber nicht. Da in Futtermitteln Calcium und Strontium stark korreliert sind, scheint der Stoffwechsel der Henne auf Calcium und Strontium unterschiedlich zu reagieren. Dieses Ergebnis kam überraschend – sonst hätten wir die Eierschalen auch untersucht!

Der Gesamt-Selengehalt im Dotter wie auch im Eiklar gab überhaupt keine signifikante Korrelation mit anderen Elementgehalten, auch nicht mit Schwefel.

Die Fütterung hatte also auf den Inhalt des Eies kaum Einfluss. Bei Bodenhaltung streuten einige Elementkonzentrationen im Dotter stärker als bei Freilandhaltung (vgl. Tabelle 2).

Von den Hauptelementen im Futter wirkt nur der Schwefel auf Jod, Eisen und das Verhältnis Ca/Mg im Dotter, sowie auf Na und Mg im Eiklar, wobei einige Beziehungen nichtlinear erscheinen. Ob und warum Strontium im Futter Selen im Klar beeinflusste, bleibt offen.

Der Transfer vom Futter in Eidotter und Eiklar ist nicht durch eine Momentaufnahme der jeweiligen Konzentration zu erklären, sondern hängt vermutlich mit schwefelhältigen Aminosäuren wie Methionin und Cystein zusammen, was in Zukunft zu untersuchen wäre.

### Literatur

M. Kirchgeßner: Tierernährung, 10. Auflage 1997, Verlag Union Agrar, Frankfurt (Main)

H.J. Abel et al. (Hrsg.) : Nutztierernährung, Gustav Fischer Verlag Jena-Stuttgart 1995

V. Kroupova, J. Travniček, J. Kursa, P. Kratochvil, I. Kabacova: Iodine content in egg yolk during its excessive intake by laying hens. Czech Journal of Animal Science 44, 369-376 (1999)

I. Prasad, Neeraj: Principles & Practices of Animal Nutrition, Kalyani Publishers, Ludhiana- New Delhi 2008

M. Sager: Nähr- und Spurenelemente im Hühnerei, ZAG Journal 2009 (2), 30-32

M. Sager: Mengen- und Spurenelemente in österreichischen Hühnereiern, Ernährung/Nutrition, in Druck 2011

S.W. Souci, W. Fachmann, H. Kraut: Die Zusammensetzung der Lebensmittel Nährwert-Tabellen, 6. Auflage, medpharm Scientific Publishers Stuttgart 2000

D.W. Trampel, P. Immerman, T.L. Carson, J.A. Kinker, St. M. Ensley: Lead contamination of chicken eggs and tissues from a small farm flock. J. Vet. Diagn. Invest 15, 418-422 (2003)

## Autorenanschrift

Doz. Dr. Manfred Sager
Kompetenzzentrum Elemente Wien
Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
Spargelfeldstraße 191
A-1220 Wien

# Impact of sea buckthorn fruit residues and organic acids on egg quality of laying hens

**R. Gruzauskas[1], A. Semaskaite[1], V. Jarule[1], A. Raceviciute-Stupeline[1] and G. Švirmickas[2]**

[1] Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy, Kaunas, Lithuania
[2] The Institute of Animal Science of Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy, Baisogala, Radviliškis District, Lithuania

## Introduction

Sea buckthorn *(Hippophae rhamnoides* L.) is a hardy shrub, belonging to the family *Elaeganaceae*. The fruits are rich source of vitamin E, carotenoids, flavonoids, sterols including beta sitosterol, stanols, superoxide dismutase, polar lipids, tannins, minerals, vitamins, organic acids, mainly malic and oxalic acids (Lonare, 2011). Diet supplementation of organic acids reduces intestinal pH, proliferation of pathogens, improves digestibility of proteins and absorption of nutrients of layer hens (Soltan, 2008). The synergetic mode of action of Sea buckthorn fruit residues and organic acids on laying hens are not known. The aim of this study is to evaluate the effect of Sea buckthorn fruit residues and organic acids, based on formic, lactic and sorbic acids on productivity and egg quality of laying hens.

## Material and methods

The experimental materials comprised a total of 60 *Hisex Brown* laying hens, aged 252 days. The hens were randomly divided into three treatments (20 replicates in each, 1 hen = 1 replicate) and they were kept in individual cages (40 x 50 cm).

The first group was control; diet of second group was supplemented with Sea buckthorn fruit residues (10 kg/t) and third group – Sea buckthorn fruit residues (10 kg/t) and mixture of organic acids, based on fumaric, lactic and sorbic acids (0.25 kg/t). The diets, based on wheat and soyabean meal were formulated so as to meet the nutrient and energy requirements of laying hens (NRC, 2004).

The analyses on 38 week old layer hens were performed. Egg weight, albumen high, Haugh unit, intensity of egg yolk color by automatic egg quality analyzer „Egg Multi-Tester EMT-5200", hardness of eggshell by „Egg Shell Force Gauge MODEL–II" device and thickness of eggshell by electronic micrometer „MITUTOYO" was evaluated. Extraction of lipids for fatty acids was performed as described by Folch et al. (1957). The analysis of fatty acids was performed on Shimadzu GC-2010 gas chromatograph.

## Results and discussion

Effect of dietary Sea buckthorn fruit residues and organic acid mixture on egg laying intensity and egg quality parameters are presented in Table 1. The obtained data revealed that average egg laying intensity increased by 2.2% of laying hens fed basal diet supplemented with Sea buckthorn fruit residues and organic acids, when compared with the untreated one (control group), while Sea buckthorn fruit residues supplementation showed 1.7% decline, compared with the control ($p>0.05$). Yesilbag D. and Çolpan I. (2006) reported that an improvement in egg laying intensity was observed when organ-

ic acids, based on formic acid and propionic acids and their ammonium salts at the 0.5-1.5% of feed was fed to laying hens. Kallio et al. (2001) reported that the feeding of supplementary Sea buckthorn fruits residues increases egg laying capacity by 25-29% in laying hens. The results showed that feed additives improved average egg weight, compared to control. Dietary Sea buckthorn fruit residues reduced the egg shell weight and hardness, compared to control. The shell thickness had tendency to decrease in both feed additives, but when the feed for layer hens is supplemented with Sea buckthorn fruit residues and organic acid mixture, it does not significantly worsen, compared to those hens, who received diet with Sea buckthorn fruit residues alone. Yolk color is one of the most important factors for consumers. Sea buckthorn fruit residues and organic acids statistically significant improved the yolk color intensity till 5.25 points, while improvement in yolk color by 4.73 points in addition of Sea buckthorn fruit residues was observed. The changes in yolk color may be related to that Sea buckthorn fruits are rich in carotenoids including beta-carotene, beta-4-4-biketone-beta-carotene, gama-carotene, zaexanthin, lycopene and polyring-lycopene (Lonare, 2011).

**Table 1**: Egg quality parameters

| Parameter | Control | Sea buckthorn fruit residues | Sea buckthorn fruit residues + Organic acids |
|---|---|---|---|
| Egg laying intensity, % | 94.7 ± 2.07 | 93.0 ± 1.39 | 96.9 ± 0.80 |
| Egg weight, g | 50.16 ± 0.62 | 50.69 ± 1.83 | 51.23 ± 1.26 |
| Shell breaking strength, $kg/m^2$ | 3.94 ± 0.24 | 3.49 ± 0.22 | 3.96 ± 0.26 |
| Albumen height, mm | $6.33^a$ ± 0.59 | $8.00^b$ ± 0.21 | 6.64 ± 0.49 |
| Haugh unit | $80.40^a$ ± 4.59 | $92.07^b$ ± 1.11 | 82.85 ± 3.62 |
| Yolk color, points | $4.25^a$ ± 0.18 | 4.73 ± 0.19 | $5.25^b$ ± 0.18 |
| Shell weight, g | 6.17 ± 0.12 | 6.10 ± 0.34 | 6.36 ± 0.15 |
| Shell thickness, mm: sharp end | 0.38 ± 0.01 | 0.35 ± 0.02 | 0.37 ± 0.01 |
| middle | 0.37 ± 0.01 | 0.35 ± 0.01 | 0.36 ± 0.01 |
| thick end | 0.35 ± 0.01 | 0.34 ± 0.01 | 0.36 ± 0.01 |

$^{a, b}$ – values within each row with different superscripts are different at $p<0.05$

Results show that feed additives could affect fatty acids profile in egg of laying hens (Table 2). Eggs from laying hens fed with feed additives had significantly higher monounsaturated fatty acids (MUFA), but lower saturated fatty acids (SFA), polyunsaturated fatty acids (PUFA), n-3 and n-6 content than eggs from birds of control group. The higher effect on these indices in addition of Sea buckthorn fruit residues and organic acids combination was observed.

In addition of Sea buckthorn fruit residues the ratio of (n-6)/(n-3) by 1.2% was improved, compared to control group. Organic acids and/or Sea buckthorn fruit residues had no impact on atherogenic and thrombogenicity indexes, which are important for cardioviscular diseases prevention (Ulbricht and Southgate, 1991).

Both n-3 and n-6 fatty acids are precursors of eicosanoids, biological effectors such as prostaglandins, leucotriens, and thromboxanes regulating mainly the cardiovascular system and immunological processes. Eicosanoids built from n-6 fatty acids contribute to cardiovascular diseases and inflammation processes, whereas eicosanoids built from n-3 fatty acids act as opponents. The relation of n-6 and n-3 substrate is important for the effect on metabolism. The optimal ratio of n-6 to n-3 fatty acids in the human diet is 10:1 to 5:1 (Simpoulos, 1989; Nettleton, 1991; Hargis and Van Elswyk, 1993; Singer, 2000; Grashorn, 2007).

**Table 2**: Fatty acids profile in eggs of laying hens

| Parameter | Control | Sea buckthorn fruit residues | Sea buckthorn fruit residues + Organic acids |
|---|---|---|---|
| SFA | 32.32±0.21 | 32.11±0.14 | 32.22±0.15 |
| MUFA | $49.75^{a}$±0.31 | $50.66^{b}$±0.21 | 50.46±0.26 |
| PUFA | 17.73±0.30 | 17.07±0.13 | 17.13±0.13 |
| PUFA/SFA | 0.55±0.01 | 0.53±0.02 | 0.53±0.01 |
| n-3 | 1.58±0.04 | 1.51±0.01 | 1.55±0.03 |
| n-6 | 16.15±0.27 | 15.56±0.11 | 15.58±0.13 |
| (n-6)/(n-3) | 10.21±0.18 | 10.33±0.04 | 10.09±0.25 |
| C18:1 | $45.66^{a}$±0.27 | $46.84^{b}$±0.20 | $46.43^{b}$±0.22 |
| Atherogenic index | 0.38±0.01 | 0.38±0.02 | 0.38±0.01 |
| Thrombogenicity index | 0.70±0.01 | 0.70±0.01 | 0.70±0.01 |

$^{a, b}$ – values within each row with different superscripts are different at $p<0.05$

# Conclusions

We can conclude that diet supplementation with of Sea buckthorn fruit residues and organic acids had effect on egg laying intensity and egg quality of laying hens and higher impact of both feed additives was observed.

## References

Folch J., Less M., Sloane-Stanley G. H. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chemistr. 1957. Vol. 226. P. 497–509.

Grashorn M. A. Functionality of Poultry Meat. J. Appl. Poult. Res. 2007. Vol. 16. P. 99–106.

Hargis P. S., Van Elswyk M. E. Manipulating the fatty acid composition of poultry meat and eggs for the health conscious consumer. World's Poult. Sci. J. 1993. Vol. 49. 251–264.

Yesilbag D., Çolpan I. Effects of Organic Acid Supplemented Diets on Growth Performance, Egg Production and Quality and on Serum Parameters in Laying Hens. Revue Méd. Vét. 2006. Vol. 157. No. 5. P. 280–284.

Kallio H., Yang B., Wang B. W., Wang H. Y., Wang J. X., Song J. E. Animal experiments on the anti-inflammatory and analgesic effects of seabuckthorn *(Hippophae rhamnoides* L.) oils. Biologically active phytochemicals in food: analysis, metabolism, bioavailability and function. Proceedings of the Eurofoodchem XI Meeting, Norwich, UK, 26-28 Sept. 2001. P. 69–73.

Lonare M. K. Seabuckthorn – a panacea for animal health and production. http://www.hillagric.ernet.in/edu/covas/vpharma/winter%20school/lectures/24%20Seabuckthorn%20panacea.pdf.

Nettleton J. A. n-3 Fatty acids: Comparison of plant and seafood sources in human nutrition. J. Am. Diet. Assoc. 1991. Vol. 91. P. 331–337.

Nutrient Requirements of Poultry, 9 th ed, National Academy of Sciences, Washington, D.C. 2004.

Simopoulos A. P. Summary of the NATO advanced research workshop on dietary n-3 and n-6 fatty acids: Biological effects and nutritional essentiality. J. Nutr. 1989. Vol. 119. P. 521–528.

Singer P. Was sind, wie wirken Omega-3-Fettsaeuren? Umschau Zeitschriftenverlag, Bredenstein GmbH, Frankfurt/M, Germany. 2000.

Soltan M. A. Effect of dietary organic acid supplementation on egg production, egg quality and some blood serum parameters in laying hens. Int J Poult Sci. 2008. Vol. 7. P. 613–621.

Ulbricht T.L.V., Southgate D.A.T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. Lancet. 1991. Vol. 338. Issue 8773. P. 985–992.

## Corresponding author

Romas Gruzauskas
Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy,
Tilzes st. 18, LT – 47181 Kaunas, Lithuania
E-mail: gruzauskas@lva.lt

# Fortschritt durch Qualität

Wertvolle Futtermittel für die moderne Tierernährung

- **Milchaustauscher**
- **Mineralfutter**
- **Spezialprodukte**

**für eine**

- **gesunde Jungtieraufzucht**
- **optimale Milch- und Fleischleistung**

BMi Bayerische Milchindustrie

Unser Unternehmen richtet sich streng nach Qualitätsprogrammen (ISO, HACCP, QS, A-Futter, Öko-VO), die besondere Vorgaben für z.B. Kennzeichnung und Kontrollen fordern. Unser Beratungsdienst steht Ihnen jederzeit gerne zur Verfügung.

INNTALER

**Inntaler Mischfutter GmbH & Co. KG** • Klötzlmüllerstr. 140 • D-84034 Landshut

☎ +49(0)871/685 301 • 🖷 +49(0)871/685 410 • info@inntaler.info • www.inntaler-mischfutter.de

A Futter

Geprüftes HACCP-Konzept

# Quality of Japanese quail meat and eggs after feeding GM maize

**Mária Chrenková, Ľubica Chrastinová, Mária Poláčiková, Ľubomír Ondruška, Zuzana Formelová, Andrea Tomíková and Emília Hanusová**

Animal Production Research Centre, Nitra: Institute of Nutrition, Lužianky, Slovak Republic

## Introduction

GM crops with the mentioned characteristics are above all of benefit to growers. The next generations of GM crops are expected to have also direct benefits to the consumer - e.g. GM crops with a higher content or better structure of nutrients or GM crops with anti-carcinogenic effects; or of benefit for sectors other than agriculture - e.g. edible vaccines, biodegradable plastics, substitution of fossil fuels, removal of environmental pollution etc. (WHO, 1991). Maize line MON88017 was genetically modified to contain two novel genes, cry3Bb1 for insect resistance, and cp4 epsps, which confers tolerance to glyphosate. Both genes were introduced into the parental maize line LH198 by Agrobacterium-mediated plant transformation. The cry3Bb1 gene, isolated from the soil bacterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) *subspecies kumamotoensis*, produces the insect control protein Cry3Bb1, a delta-endotoxin. Cry proteins, of which Cry3Bb1 is only one, act by selective binding to specific sites localized on the lining of the midget of susceptible insect species. Following binding, pores are formed that disrupt midget ion flow, causing gut paralysis and eventual death due to bacterial sepsis. Cry3Bb1 is lethal only when eaten by the larvae of coleopteran insects (i.e., beetles), and its specificity of action is directly attributable to the presence of specific binding sites in the target insects. There are no binding sites for the delta-endotoxins of *Bacillus thuringiensis* on the surface of mammalian intestinal cells, therefore, livestock animals and humans are not susceptible to these proteins. The Cry3Bb1 protein expressed in MON88017 provides protection against the western corn rootworm *(Diabrotica vigifera)* and northern corn rootworm *(Diabrotica barberi).* Here, Bt hybrids could represent a possible solution, as in terms of visual assessment of trials, a lower level of infection by fungal diseases was ascertained in comparison with conventional hybrids.

The aim of our study was to investigate the effect of dietary used feed mixture including 40 % isogenic maize (*Zea mays L.*) and quail feed mixture including 40 % transgenic maize (MON 88017) in growing animals to 42 days of age and affecting the laying performance and egg quality of Japanese quails.

## Material and methods

The experiment was carried out with meat type and laying type of Japanese quail *(Coturnix coturnix japonica)*. Japanese quails were divided into 4 groups of 46 birds each (total 184). Birds were fed diets: quail feed mixture including 40 % isogenic maize *(Zea mays L.)* and quail feed mixture including 40 % transgenic maize (MON 88017); just the same initial lines. The growing experiment lasted for 42 days.

Experimental animals were kept in room with regulated air temperature, photoperiod (from 1$^{st}$ to 3$^{rd}$ day of age was artificial light for 24 hours non-stop; over 4$^{th}$ day of age were managed artificially according to scheme 16 hours light: 8 hours dark with maximal intensity 200 lx), and continual air hu-

midity at level of 60%. Birds were stabled to metal-plastic cages with slotted floor, feed mixtures and drinking water were accessible *ad libitum*, and feed consumption was monitored in groups.

Body weight (BW) and feed intake (FI) were measured every week. Body weight gain was calculated on weekly basis throughout the experimental period at 42 days of age and the health status was monitored once a day. Feed to gain ratio was calculated using the following ratio FI: BW.

The quality of eggs obtained from Japanese quails was determined (100 Japanese quails in total until the 58th week of layers age, were reared in battery production system- about three pieces to cage 1200cm$^2$ / cage); the laying period lasted 12 months. During the experiment were examined general health status, feed conversion, laying %, egg weight, quality of egg yolk and egg white. Proportion of egg components (yolk, white and shell of egg), determined by weighing all eggs produced daily, for one week at the end of the experiment. Cockerels of Japanese quails were slaughtered at day 42 of age (6 birds from each line) before morning feeding for determined physico-chemical characteristics in breast muscles. The samples of breast muscles were collected immediately after death and stored at 5°C for 24h and physico-chemical analyses (according to STN 57 0185) were made. Value of pH was assessed by combined glass-gel electrode and apparatus Radelkis OP-109 24 hours *post mortem*. Content of water, proteins and intramuscular fat in muscular substance was analysed by Infratec 1265 apparatus at 24 hours *post mortem* (expressed in g/100g original matter from these values). Water holding capacity was determined by pressure method as described by Grau-Hamm in an apparatus modified by Hašek and Palanská (1976). Energy value in breast muscles was calculated using the following formula:

$$EV\ (kJ/100\ g) = (16.75 \times \text{protein content}) + (37.68 \times \text{fat content}).$$

**Table 1**: Analysis results of maize corn growen on allotment in PPRC Piešťany

| Investigated parameters | Units | 1- transgenic maize MON 88017 | 2-isogenic maize DKC 5143 |
|---|---|---|---|
| Dry matter | g.kg$^{-1}$ | 872.94 | 870.02 |
| Crude protein | g.kg$^{-1}$ | 71.5 | 71.24 |
| Crude fibre | g.kg$^{-1}$ | 17.17 | 17.96 |
| Fat | g.kg$^{-1}$ | 33.08 | 36.1 |
| Ash | g.kg$^{-1}$ | 11.82 | 12.22 |
| N-Free Extract | g.kg$^{-1}$ | 739.38 | 732.5 |
| Organic matter | g.kg$^{-1}$ | 861.12 | 857.71 |
| Starch | g.kg$^{-1}$ | 645.66 | 641.12 |
| Sugar total | g.kg$^{-1}$ | 20.5 | 20.74 |
| Calcium | g.kg$^{-1}$ | 0.34 | 0.43 |
| Phosphorus | g.kg$^{-1}$ | 2.28 | 2.32 |
| ME | MJ.kg$^{-1}$ | 13.32 | 13.37 |

The feeds were analysed for DM, CP, crude fibre, ADF, NDF, fat, starch and sugars according to Decree of The Ministry of Agriculture of The Slovak republic No 2136/2004-100. The extraction of lipids for fatty acid analysis was performed with petrolether und fatty acids were determined as methyl esters by gas chromatography on GC 6890N (Agilent Technologies, Switzerland). The relative proportion of each fatty acid was expressed as the relative percentage of the sum of the total fatty acids. The amino acid composition of diet was analysed by ion-exchange chromatography on AAA 400 (Ingos Prague, Czech Republic) after acid hydrolysis with 6 M HCl. Methionine and cysteine were determined as methioninsulfone and cysteic acid, respectively, in preoxidized samples. The norleucine was used as an internal standard. For macro a micro elements analysis samples were ashed at 550°C, the ash was dissolved in 10 ml of HCl (1:3) and minerals were determined by AAS Solar 939 (Unicam, Cam-

bridge, UK) Phosphorus content was determined by molybdatovanadato reagent on Camspec M501 (Spectronic Campes Ltd, UK). Metabolizable energy in the feeding mixtures was calculated (according to Hoffmann and Schiemann, 1980). Obtained results were processed mathematically, and statistically analysed by the procedure of SAS/STAT 1999-2001 ver. 82. The results were quoted as mean ±standard deviation (SD), statistical evaluation of the results was performed by the one-way ANOVA and Tukey test.

**Table 2**: Ingredients and chemical analysis of the experimental diets of Japanese quails

| Ingredients | % | Chemical analysis ($g.kg^{-1}$) | 1- with MON 88017 transgenic maize | 2-with DKC5143 isogenic maize |
|---|---|---|---|---|
| Maize | 40 | Dry matter | 882.90 | 881.70 |
| Soybean meal (48%RP) | 22.5 | Crude protein | 204.15 | 204.05 |
| Rapeseed meal (36%RP) | 7 | Crude fibre | 48.19 | 48.51 |
| Sunflower meal (34%RP) | 4.5 | Fat | 63.29 | 64.45 |
| Malt sprouts (23% RP) | 3 | Ash | 127.29 | 127.5 |
| Fish meal (60%RP) | 3 | N-Free Extract | 439.98 | 437.19 |
| Wheat | 4.5 | Organic matter | 755.61 | 754.20 |
| Calcium carbonate | 9.5 | Starch | 305.25 | 303.43 |
| Animal fat | 4 | Sugar total | 42.12 | 42.21 |
| Monocalciumphosphate | 1 | Calcium | 10.3 | 10.2 |
| Vitamin-mineral premix * | 0.7 | Phosphorus | 6.59 | 6.59 |
| Sodium chloride | 0.3 | Lysine | 11.7 | 11.4 |
| Ronozyme and mycosorb | 16g/100kg | ME ($MJ.kg^{-1}$) | 12 | 12 |

*Provided per kg premix: lys. 5 g/kg; met. 3 g/kg; Ca 25 g/kg; P 4 g/kg; Na 1 g/kg; Mn (E5) 25 mg/kg; Cu (E4) mg/kg; Zn (E6)15 mg/kg; Vit. A (672) 10000 m.j./kg; vit. D3 (E671) 2000 m.j.; Vit E (α-tokoferol) 20mg/kg; (1) 6-phytase **(**EC 3.1.3.26) Phyt. min 800, Ronozyme P 5000 (CT) E1614(i), Movozymes A/S a-208-G752710, Mycosorb: Altech Ireland Ltd. aIEMHA00234

# Results and discussion

Chemical analyses revealed that by its composition, genetically modified maize did not differ from unmodified maize (Table 1). There exists only very slight difference between the basic parameters, which were statistically not significant except for fat. Also regarding the content of metabolisable energy no significant differences were observed (13.32 and 13.37 MJ $ME.kg^{-1}DM$). One of the typical insufficiencies of maize is its low level of minerals, mainly Ca. Certain differences could be observed within the standard interval of contents of substances in maize grain. In the published literature no significant differences between transgenic and isogenic crops were reported (Aulrich et al., 2001; Chrenková et al., 2007; Chrenková et al., 2008; Křistková, 2010).

**Table 3**: Physico-chemical characteristics of breast muscles in meat line and layer lines of Japanese quail of 7 weeks age

| Parameters (n=6) | | 1- with MON 88017 transgenic maize | | 2-with DKC5143 isogenic maize | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Meat type | Layer type | Meat type | Layer type |
| Total of water | ($g.100g^{-1}$) | 73.80 | 74.70 | 74.10 | 73.90 |
| Total proteins | ($g.100g^{-1}$) | 22.95 | 22.70 | 22.80 | 22.60 |
| Proportion EAA | % | 56.61 | 55.31 | 56.47 | 55.62 |
| Proportion NEAA | % | 43.39 | 44.69 | 43.53 | 44.38 |
| Total fat | ($g.100g^{-1}$) | 2.25 | 1.60 | 2.10 | 2.50 |
| Water holding capacity | ($g.100g^{-1}$) | 24.85 | 26.25 | 26.77 | 29.96 |
| Energy value | ($kJ.100g^{-1}$) | 469.19 | 440.51 | 461.03 | 472.75 |

**Table 4**: Fatty acid pattern and content of mineral elements of breast muscles in meat line and layer lines of Japanese quail of 7 weeks age

| Parameters (n=6) | | 1- with MON 88017 transgenic maize | | 2-with DKC5143 isogenic maize | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Meat type | Layer type | Meat type | Layer type |
| SFA (%) | | 34.7 | 35.71 | 35.55 | 33.58 |
| MUFA (%) | | 43.7 | 41.70 | 45.01 | 47.14 |
| PUFA (%) | | 21.6 | 22.59 | 19.44 | 19.28 |
| Total ω 6 | | 19.23 | 19.14 | 17.38 | 15.76 |
| Total ω 3 | | 2.32 | 3.44 | 2.06 | 3.52 |
| ω 6/ω 3 | | 8.30 | 5.56 | 8.44 | 4.47 |
| Unsaturation index (UI) | | 1.88 | 1.80 | 1.81 | 1.98 |
| PUFA/ saturated FA | | 0.62 | 0.63 | 0.54 | 0.57 |
| Comparison of minerals elements | | | | | |
| Calcium | ($g.1000g^{-1}$) | 0.26 | 0.20 | 0.27 | 0.19 |
| Phosphorus | ($g.1000g^{-1}$) | 2.54 | 2.68 | 2.67 | 2.64 |
| Magnesium | ($g.1000g^{-1}$) | 0.28 | 0.30 | 0.30 | 0.31 |
| Natrium | ($g.1000g^{-1}$) | 0.37 | 0.40 | 0.43 | 0.40 |
| Potassium | ($g.1000g^{-1}$) | 4.01 | 4.09 | 4.16 | 4.06 |
| Iron | ($mg.1000g^{-1}$) | 15.53 | 19.09 | 21.61 | 20.77 |
| Manganese | ($mg.1000g^{-1}$) | 0.33 | 0.47 | 0.50 | 0.30 |
| Zinc | ($mg.1000g^{-1}$) | 18.53 | 20.49 | 17.60 | 25.71 |
| Copper | ($mg.1000g^{-1}$) | 1.44 | 1.82 | 2.13 | 2.28 |

The unsaturation index (UI) is defined by $\sum m_i . n_i$, where $m_i$ is the percentage and $n_i$ the number of double bonds, taking into account all fatty acids with two or more double bounds.

SFA: saturated fatty acids, include $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$, $C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$, $C_{20:0}$, $C_{22:0}$, $C_{24:0}$
MUFA: monounsaturated fatty acids, include $C_{16:1\ n\text{-}7}$, $C_{18:1\ n\text{-}9c}$, $C_{22:1}$
PUFA: polyunsaturated fatty acids, include $C_{18:2\ n\text{-}6}$, $C_{18:3\ n\text{-}3}$, $C_{20:4\ n\text{-}6}$
AI: Atherogenic index = (C12+4C14+C16)/(PUFA+C18:1+other MUFA)
(Ulbricht and Southgate, 1991)

The biological experiments conducted with Japanese quails *(Coturnix coturnix japonica)* proved that there were no statistically significant differences between the animals fed mixtures containing isogenic or transgenic maize. The diet formulation for all groups is presented in Table 2. The biophysical and

chemical parameters of breast muscles in meat line and layer lines of Japanese quail from treated animals are presented in table 3 and 4. No significant effect in chemical analyses on values of total protein, water and intramuscular fat content was found. The fatty acid patterns of breast muscles demonstrated similar proportions at feeding of both maize hybrids and coincide with the results of Aulrich et al.(2001). In the published literature no significant differences between transgenic and isogenic crops were reported. Aulrich et al.(2001), Chrenková et al.(2002) performed numerous experiments (poultry, pigs, ruminants) which dealt with the substantial equivalence of transgenic products with conventional source lines.

Data presented in Table 5 showed investigated properties of internal egg quality. Based on presented data it can be concluded that genotype had effect on investigated properties of egg quality, similar to results of studies by Končeková and Baumgartner (2004); Tůmová et al. (2007). The weight of eggs, egg-white and yolk was the highest in meat lines (Faraon) compared with eggs from quails of laying type, however, weight of shell was higher in laying lines. As far as proportion of individual components in eggs is concerned higher proportion of white and lower proportion of yolk and shell out of the egg weight were found in meat quails compared with laying quails. The analyses were carried out at interval of four weeks in four groups. Generally is valid that if was increased weight of egg, was declined the share of yolk and rose proportion of egg-white with total of egg weight. In this experiment the effects of oviposition time on egg quality characteristics in Japanese quails were no investigated. The eggs collected at 8.00 h were analyzed for egg quality. Tůmová and Ebeid (2005) and Ledvinka et al. (2010) Tůmová et al. (2007) determined that oviposition time had no significant effect on most egg quality characteristics. The results of this study have demonstrated that differences in internal egg quality exist neither with diets fed in monitored groups nor between the two genotypes. Data presented in Table 6 showed the investigated properties of nutrients of egg yolk in meat line and layer lines of Japanese quail at the end of laying period.

Minimal differences were observed between groups within relocation number. No significant high differences were detected in total water and fat in the contents of egg yolk in the meat type or between groups of layer type of Japanese quail. The egg yolk had higher content of mineral elements, showed the favourable values of phosphorus content; significant was also the high content of iron and zinc as well as of other analyzed minerals (Ca, Mg, Na, K); they were present in allowed standard.

**Table 5**: Effect of feeding mixtures with 40% content of transgenic and isogenic maize on the quality characteristics in eggs of Japanese quail

| Parameters (%) | | 1- with MON 88017 transgenic maize | | 2-with DKC5143 isogenic maize | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Meat type | Layer type | Meat type | Layer type |
| Yolk | Proportion out of total egg weight | 32.5 | 31.9 | 30.5 | 30.83 |
| | Dry mater | 49.3 | 45.5 | 49.4 | 47.9 |
| | Total protein | 15.2 | 14.37 | 15.6 | 15.03 |
| | Fat | 25.9 | 23.5 | 25.6 | 25.46 |
| Egg-white | Proportion out of total egg weight | 53.7 | 52.57 | 53.3 | 54.93 |
| | Dry mater | 8.5 | 11.43 | 13.4 | 11.23 |
| | Total protein | 7.2 | 9.73 | 11.5 | 9.63 |
| Egg shell | Proportion out of total egg weight | 13.8 | 15.53 | 16.2 | 14.23 |
| Total egg weight in g | | 12.6±1.2 | 10.83 | 12.5 ±1.9 | 10.17 |

**Table 6**: Content of nutrients of egg yolk (DM) in meat line and layer lines of Japanese quail at the end of laying period

| Parameter (n=16) | | 1- with MON 88017 transgenic maize | | 2-with DKC5143 isogenic maize | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Meat type | Layer type | Meat type | Layer type |
| Total water | ($g.100g^{-1}$) | 50.63 | 55.27 | 50.65 | 55.08 |
| Total proteins | ($g.100g^{-1}$) | 15.76 | 14.01 | 15.59 | 14.08 |
| Proportion EAA | % | 55.35 | 53.63 | 54.39 | 53.81 |
| Proportion NEAA | % | 44.65 | 46.37 | 45.61 | 46.19 |
| Total fat | ($g.100g^{-1}$) | 25.89 | 21.05 | 25.61 | 23.95 |
| Energy value | ($kJ.100g^{-1}$) | 1240 | 1028 | 1226 | 1140 |
| Comparison of mineral elements | | | | | |
| Calcium, Ca | ($g.1000g^{-1}$) | 0.99 | 0.84 | 0.99 | 0.89 |
| Phosphorus, P | ($g.1000g^{-1}$) | 5.55 | 5.15 | 5.58 | 5.07 |
| Magnesium, Mg | ($g.1000g^{-1}$) | 0.11 | 0.10 | 0.10 | 0.09 |
| Natrium, Na | ($g.1000g^{-1}$) | 0.37 | 0.25 | 0.30 | 0.29 |
| Potassium, K | ($g.1000g^{-1}$) | 1.12 | 1.14 | 1.07 | 1.02 |
| Iron, Fe | ($mg.1000g^{-1}$) | 75.78 | 68.92 | 70.96 | 65.31 |
| Manganese, Mn | ($mg.1000g^{-1}$) | 1.83 | 1.92 | 1.30 | 1.32 |
| Zinc, Zn | ($mg.1000g^{-1}$) | 34.43 | 29.18 | 28.30 | 29.57 |
| Copper, Cu | ($mg.1000g^{-1}$) | 1.65 | 1.60 | 1.51 | 1.54 |

# Conclusion

The experimental results show that:

- The health status of animals was good.
- Feeding of transgenic maize and isogenic maize to Japanese quails did not negatively influence biochemical parameters of meat and zoo technical parameters and biochemical parameters of blood in animals.
- As well as it had no negative effect on growth performance of Japanese quails.
- It had no negative influence on body weight and eggs quality parameters during laying period in Japanese quails.

## References

AOAC (2000). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists17th ed. Arlington, Va, USA,

Aulrich, K. - Flachowsky, G. - Daenicke, R. - Halle, I. (2001). Bt- mais in der Tierernährung. In: Ernährungsforschung, 46, 2001, 13-20.

DECREE of The Ministry of Agriculture of the Slovak Republic No 2136/2004-100 of 23 August 2004.

Hašek, A.-Palanská, O.(1976).Determination of water holding in the meat by apparatus with constant pressure. Poultry Industry, 1976, vol. 18, p. 228-233.

Hoffmann, L.L.- Schiemann, R. (1980). Von der Kalorie zum Joule: Neue Grössenbeziehungen bei Messungen des Energieumsatzes und bei der Berechnung von Kennzahlen der energetischen Futterbewertung, Arch. Anim. Nutr., 30, 733-742.

Chrenková, M. - Chrastinová, Ľ. - Čerešňáková, Z. - Rafay, J. - Flachowsky, G. - MIHINA, Š. (2007). Assessment of nutritive value of Bt-maize using rats and rabbits. In: EAAP (2007), Books of Abstracts of 58th Annual meeting of the European association for animal production, Dublin, Ireland, August 26th - 29th, 2007, Session 20, Poster 11, 178.

Chrenková, M. - Sommer, A. - Čerešňáková, Z. - Nitrayová, S. - Prostredná, M. (2002). Nutritional evaluation of genetically modified maize corn performed on rats. Arch. Anim. Nutr., 56 (2002), 229-235.

Chrenková, M. - Čerešňáková, Z. - Bulla, J. - Sirotkin, A. - Nitrayová, S. (2008). Effect of Bt maize feeding on enzymatic and hormonal profile in animals. In: Zborník abstraktov z medzinár. ved. konferencie Days of animal nutrition. Nitra SPU, ISBN 978-80-552-0071-2, 36.

Končeková Z. - Baumgartner, J. (2004). Egg performance of the meat type Japanese quail. (In Slovak) Vaječná úžitkovosť prepelice japonskej mäsového typu. J Farm.Anim. Sci 37, 155-158.

Křistková, M. (2010): Experience with BT maize cultivation in the Czech Republic 2005-2009. Published by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, April 2010, http:// www.mze.cz, e-mail: info@mze.cz

Ledvinka, Z. - Zita, L. - Klesalová, L.(2010). Effect of oviposition time on the technological value of eggs in Japanese quail. In: Zborník z medzinár. ved konf. Drůbežárské dny 2010, Brno, 7.-8.10.2010, 54-56. Czech Republic

SAS: SAS/STAT (2001).Users guide. Statistical analysis System Inst. Cary, NC,USA

STN 46 7092 Metódy skúšania krmív (Methods of feeds analyses), Bratislava, 1985.

STN 57 0185 Skúšanie mäsa, mäsových výrobkov, mäsových konzerv a hotových jedál v konzervách. Chemické a fyzikálne metódy, Bratislava, 1989

Tůmová, E. - Ebeid, T. (2005). Effect of time of oviposition on egg quality characteristic in cages and in a litter housing system. Czech J. Anim. Sci., 50, 129-134.

Tůmová, E. - Zita, L. - HUBENÝ, M., SKŘIVAN, M. - LEDVINKA, Z. (2007). Effect of oviposition time and genotype on egg quality characteristic in egg type hens. Czech J. Anim. Sci., 52, 26-30.

Ulbricht, T.L.V. - Southgate, D.A.T. (1991). Coronary health disease: seven dietary factors. Lancet. 338, 985-992.

WHO (1991). *Strategies for Assessing the Safety of Foods Produced by Biotechnology.* Report of a Joint FAO/WHO World Health Organization, Geneva

## Corresponding author

Ing. Mária Chrenková, CSc.
Animal Production Research Centre, Nitra
Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovak Republic
E-mail: chrenkova@cvzv.sk

# Relationship between urea concentration and somatic cell count in milk of cows

**Vida Juozaitienė, Arunas Juozaitis, Jurgis Kulpys and Rolandas Stankevičius**

Lithuanian university of health sciences, Veterinary Academy, Faculty of Animal husbandry, Tilzes 18, Kaunas 47181, Lithuania

## Introduction

Milk urea is a noninvasive indicator of diet adequacy and nitrogen utilization efficiency in lactating dairy cattle (Sederevičius et al., 2008).

Intensive management of the nutrition, modern keeping and feeding system, and good environment condition reduces the spread of diseases and increases the odds of success and improves the health of the dairy cows. The health and degree of productivity of dairy cows depend on balanced and adequate quantities of all the necessary nutrients to meet their requirements for given physiological conditions (Mohebbi-Fari et al., 2007).

Nutrition, productivity, age, stage of lactation and postpartum, physiological and health state of cows had an influence on metabolic parameters and enzymes activity in blood of dairy cows (Otto et al., 2000; Aeberhard et al., 2001; Rossato et al., 2001).

Monitoring of urea concentration is an effective way to determine whether or not dietary protein and energy are in proper balance. There are two ways to test for urea concentrations: from samples of either blood or milk. Urea value in blood or milk is an indicator used as acriteria to evaluate protein/energy balance in the ration of cows (Moore, 1996).

Ultimately, urea value is a useful tool in monitoring protein utilization in dairy cattle as it acts as a signal to indicate when protein and energy are out of balance. Knowledge urea levels in milk of herd's will help detect nutritional problems, help in meeting protein requirements more precisely while reducing feed costs (Rossato et al., 2001; Mohebbi-Fari et al., 2007; Sederevičius et al., 2008).

## Materials and methods

PostgreSQL database (operating system LINUX) for data manipulation and analysis was created on the cow´s performance recording data, received from the „Centre of Agricultural Information and Rural Business Development" and the State Laboratory for Milk Control ORACLE database.

Data consisting (from year 2006 to 2010) of the test day records (n=86775) including the 6185 Holstein cows in the first three lactations (up to 12 control milking per cow to the 320$^{th}$ day of the lactation) were selected for the estimation. Data of pedigree information were collected from State Institution „Centre of Agricultural Information and Rural Business Development".

The test–day data of SCC was log transformed to base 2. This logarithmic transformation achieved normality of distribution.

By a statistic package SPSS (version 15, SPSS Inc., Chicago, IL) were evaluated coefficients of phenotypic correlations ($r_p$) of the features of all investigated cows. Statistical significance was defined as $P<0.05$.

For the estimation of heritability PEST (Groeneveld et al., 1998) and VCE software (Groeneveld, 1998) were used. Wilmik (1987) function was used to evaluate the test-day records of the lactation curve.

Heritability ($h^2$) and genetics correlation ($r_g$) were estimated using multivariate analyses. The model included the following effects:

$$Y_{ijklm} = \mu + b_1 \times dim + b_2 \times e^{-0.05 \times dim} + HTD_i + YS_j + L_k + a_l + pe_m + e_{ijklm}$$

where yijklm = dependent variable, μ - general mean; dim - time between calving and date of sample, HTD – herd * lactation day (random); YS – year * season (random - 4 classes for season of calving: winter, spring, summer, autumn ); L – lactation (fixed); a – random additive genetic effect of the animal; pe – random permanent environmental effect of the cow, $e_{ijklmn}$ - random residual effect.

# Results and discussion

Variation in milk urea is more affected by the environmental factors than genetic (Table 1). According to the data, the coefficient of heritability of urea concentration in milk ($h^2$=0.186±0.001) in the population of Holstein cattle was by 1.33 times lower than heritability of the milk yield. Heritability of SCC was 1.27 lower than heritability of urea in milk.

Wood et al. (2003) reported higher heritability estimates for urea concentration in milk (from 0.44 in the first lactation to 0.59 in the second lactation) than those estimated in this study. According to the investigations of Miglior et al. (2007), an average daily heritability was moderately high for urea concentration in milk (from 0.384 to 0.414).

Very similar to ours heritability coefficients of milk urea (0.15–0.22) were defined by Vallimont et al. (2003) and Mitchell et al. (2005).

Carlsson et al. (1995), Jamrozik et al. (2003) defined that in the herds of cows with higher level of productivity the average amount of urea in milk tended to be higher. Stoop et al. (2006) observed that with increasing of urea concentration, milk yield decreases (P < 0.0001).

**Table 1**: Coefficients of heritability

| Traid | $h^2$ |
|---|---|
| Urea | 0.186±0.001 |
| Milk yield | 0.249±0.001 |
| SCC | 0.147±0.001 |

The results shown in Table 2, demonstrate positive phenotypic ($r_p$=0.089; P<0.001) and genetic correlation ($r_g$=0.172; P < 0.001) of urea concentration in milk with milk yield.

Wood et al. (2003) found a similar genetic correlation ($r_g$=0.11). In the study of Stoop et al. (2006) this correlation was in the same range, although slightly higher ($r_g$=0.24).

Clinical mastitis is the most frequent and costly disease in dairy production. Somatic cell counts are used in many countries to improve mastitis resistance. Genetic correlation between urea and somatic cell count in milk found during our experiments was positive and statistically significant ($r_g$=0.301, P < 0.001).

Phenotypic correlation of urea concentration in milk, according to the data of Stoop and co-authors (2006) with somatic cell count was equal to zero. Genetic correlation between urea concentration in milk and SCC defined by the above mentioned authors (2006) was strongly positive ($r_g$=0.85) and

however, it suggests that the same genetic mechanism is associated with SCC and urea concentration in milk, e.g., possibly due to the changes in protein metabolism during episodes of mastitis.

Miglior et al. (2007) investigations revealed that the urea concentration in milk had a negative genetic correlation with SCC.

**Table 2**: Genetic and phenotypic correlation of urea concentration milk production and SCC

| Traid | $r_g$ | $r_p$ |
|---|---|---|
| Milk yield, kg | 0.172 | 0.089 |
| SCC | 0.301 | 0.113 |

# Conclusion

Milk urea nitrogen is a noninvasive indicator of diet adequacy and nitrogen utilization efficiency in lactating dairy cattle. Nutrition strategies of cows can play an important role in controlling of urea concentration in milk. Although the results of this study indicate that heritable variation of urea concentration in milk exists. The positive significant genetic relationship of urea level with somatic cell count in milk may help to improve resistance to mastitis.

## References

Aeberhard K., Bruckmaier M., Blum W. (2001): Metabolic, enzymatic and endocrine states in high-yielding dairy cows. J. Vet. Med. A. 48: 111-127.

Carlsson J., Bergstrom J., Pehrson B. (1995): Variation with breed, age, season, yield, stage of lactation herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow's milk. Acta Vet Scand. 36: 245– 254.

Groeneveld E. (1998): VCE 4 Version 4.2.5. Institute of Animal Husbandry and Animal Behavior, FAL, Mariensee, Germany.

Groeneveld E., Kovac M., Wang T. (1998): PEST Users Manual Guide. Institute of Animal Husbandry and Animal Behavior, FAL, Mariensee,Germany.

Jamrozik P. J., Jansen J., Kelton G. B. (2003): Estimation of genetic parameters for concentrations of milk urea nitrogen. J. Dairy Sci. 86: 2462–2469.

Miglior F., Sewalem A., Jamrozik J., Bohmanova J., Lefebvre D. M. , Moore R. K. (2007): Genetic analysis of milk urea nitrogen and lactose and their relationships with other production traits in Canadian Holstein cattle. J Dairy Sci. 90(5): 2468-79.

Mitchell, R. G., G. W. Rogers, C. D. Dechow, J. E. Vallimont, J. B. Cooper, U. Sander-Nielsen, and J. S. Clay. (2005): Milk urea nitrogen concentration: Heritability and genetic correlations with reproductive performance and disease. J. Dairy Sci. 88: 4434–4440.

Mohebbi-Fari M., Nazifi S., Rowghani E., Namazi F. (2007):. Associations between serum mineral status and sub-optimal performance in dairy cows in Fars province. Int. J. Dairy Sci. 2 (3): 281-286.

Otto F., Vilela F., harun M., Taylor G., Baggasse P., Bogin E. (2000): Biochemical blod profile of angoni cattle in Mozambique. Isr. J. Vet. Med. 55(3): 150-159.

Rossato W., González F.H.D., Dias M.M., Riccó D., Valle S.F., Rosa V. L .La., Conceição T., Duarte F., Wald V. (2001): Number of lactations affects metabolic profile of dairy cows. Archives of Veterinary Science.6 (2): 83-88.

Sederevičius A., Dabašinskienė.A., Savickis S., Švedaitė V., Makauskas S. (2008): Milk urea nitrogen as an important indicator of dairy cow nutrition. Review. Veterinarija ir zootechnika (Vet Med Zoot). 44 (66): 23-30.

Stoop W. M., Bovenhuis H., Arendonk J. A. M. (2006): Genetic Parameters for Milk Urea Nitrogen in Relation to Milk Production Traits. J. Dairy Sci. 90:1981–1986.

Vallimont, J. E., Rogers G. W., Holden L. A., O'Connor M. L., Cooper J. B., Dechow C. D., Clay J. S. (2003): Milk urea nitrogen and conception rate: A population study using test day records. J Dairy Sci. 81. Suppl. 1: 239.

Wilmink J. B. M. (1987): Adjustment of test-day milk, fat and protein yield for age, season and stage of lactation. Int J Livest Prod Sci. 16: 335–48.

Wood G.M., Boettcher P.J., Jamrozik J., Jansen G.B., Kelton D.F. (2003): Estimation of genetic parameters for concentrations of milk urea nitrogen. J. Dairy Sci. 86: 2462–2469.

## Corresponding author

Prof. Vida Juozaitiene
Lithuanian university of health sciences, Veterinary academy
Tilzes 18, Kaunas 47181, Lithuania
E-mail: biometrija@lva.lt

# Milk and meat benefits with live yeast and organic selenium yeast

**M. Castex, L. Dussert and A. Piron**

Lallemand SAS, Frankreich

## Introduction

Today's consumers are increasingly demanding in term of nutritious and organoleptic quality of animal products. Animal nutrition plays a key role on meat or milk qualities and several trials show that natural microbial based feed additives can help optimize the quality of animal products, hence benefiting each actor of the industry, form the farmer who can increase the value of his production, to the consumer, through to the processor and the distributor.

## Live yeast (Levucell SC) improves cheese making ability of goat and sheep milk

**Levucell SC in the diet of dairy goats:**

✓increased goat milk casein level

✓tended to increase goat milk firmness of coagulation (IRTA, Spain, 2010)

Levucell SC increased milk casein and cheese-making ability parameters

Objective: To prove the effect of Levucell SC on dairy goats in early lactation on milk production and cheese making ability

**Material and methods**

Location: Research and Technology of Food and Agriculture Center (IRTA), Spain
Date: 2010
Animals: 220 freshen dairy goats during 5 months (156 days)
Trial: Comparison of Levucell SC 20 (0.2g/goat/day: $4*10^9$ CFU/cow/day) with control
Diet (DM intake): oat hay ad libitum and 2 kg/d of concentrate

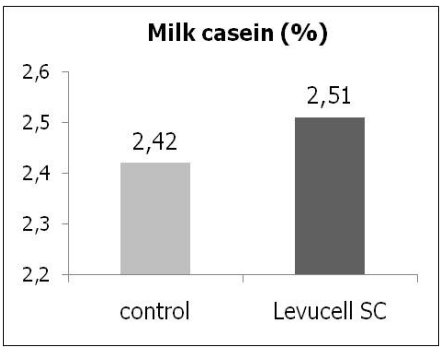
**Feeding Value of concentrate**

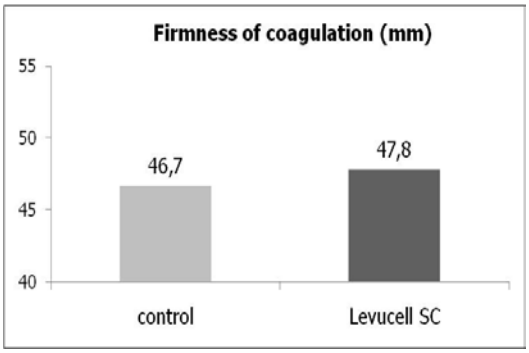
NDF (%): 32.9
Crude Protein (%): 21.4

Technical and economical interest: The early stage of lactation of dairy goats is a critical period due to a high milk production with a limited level of intake.

Every important stress in this stage may have an incidence on animals' performance (fertility, health).

Dairy goats milk is mainly used for cheese making. The milk cheese ability is an important criteria for the industry.




p<0.05 p=0.11

Conclusion:

•Levucell SC increased milk casein of dairy goat. Milk casein influenced cheese-making ability.

•Adding Levucell SC in the diet tended to improve firmness of coagulation.

**Levucell SC in the diet of dairy ewes:**

✓reduced time of coagulation of sheep milk = increased speed of coagulation

✓reduced time of firmness of sheep milk = increased speed of firmness (Univ. of Messina, Italy, 2006)

•Animals: 82 multiparous Valle del Belice ewes,

•Duration: 70 days, (2nd month of lactation).

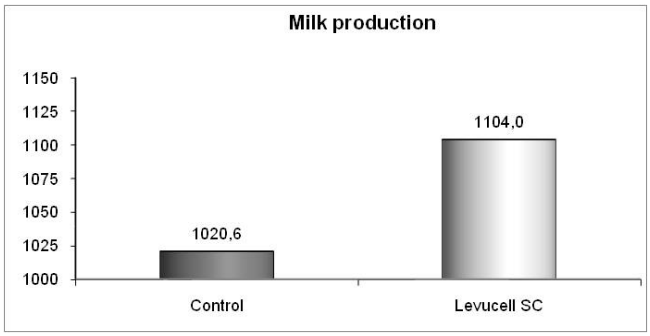
•Ration: pasture, 500 g of concentrate (33% maize, 20% peas, 15% barley, 15% horse bean, 10% barn...: CP 15%)

•Treatment: control vs. Levucell SC 10ME

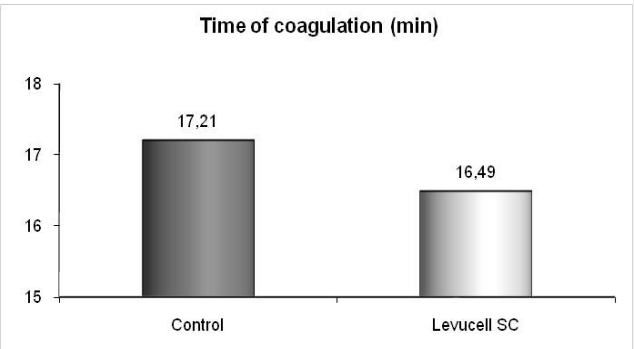
➢Increased milk production (+8%)

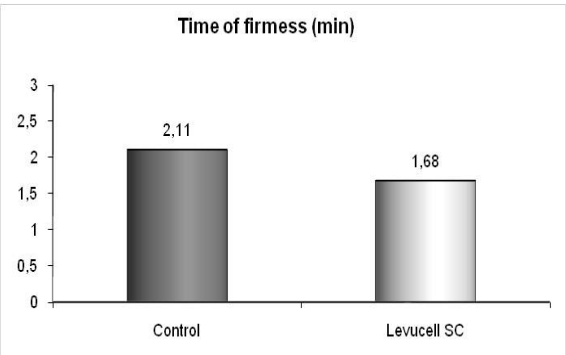
➢Improvement of cheese processing properties of milk

| | Control | Levucell SC |
|---|---|---|
| Milk Production (g/d) | 1020,55 | **1103,97 +8%** |
| Fat Milk (g/kg) | 72,3 | 75,2 |
| Protein Milk (g/kg) | 59,6 | 57,8 |
| Milk clotting time (mn) | 17,21 | 16,49 |
| Milk rate of firmness (mn) | 2,11 | 1,68 |
| Curd consistency (mm) | 48,18 | 49,01 |




p<0.01




p<0.05 p<0.01

# Organic selenium yeast (Alkosel) increased beef meat quality (University of Padova, 2010)

Alkosel in the diet of beef cattle:

✓Improved Selenium content in meat → participates to consumer's Se intake (insufficient in most part of Europe - Rayman, 2000)

✓Decreased muscle's drip loss (Longissimus thoracis) → improved yield for slaughterhouse

✓Improved meat lightness → better visual aspect for consumer

✓Reduced shear force → higher meat tenderness

} Part of meat organoleptic properties

Objective: Impact of Alkosel $^{R397}$ on meat quality of beef cattle

**Material and methods**

Location: Padova University, Italy
Date: 2010
Animals: 84 Charolais young beef cattle (initial weight = 434.2kg) during 210 days
Trial: 3 groups: Sodium Selenite; Sodium Selenite during 140 days and Alkosel R397 during 70 days; Alkosel R397
Diet: Maize silage (37.6%), maize meal (15%), corn gluten feed (10.5%), high moisture ear maize (7.9%), straw (7.2%), protein and mineral premix (9%), soya bean meal (7.2%), hydrolyzed fat 4.5%)

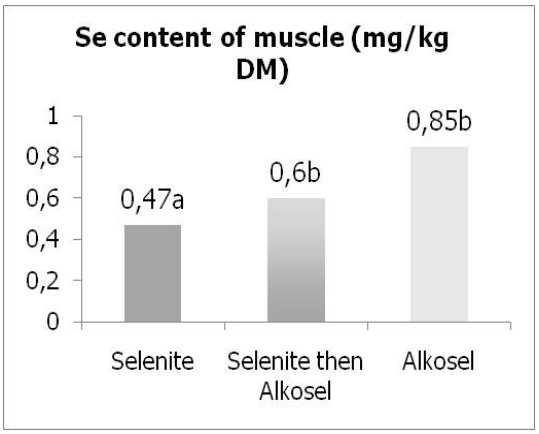
**Feeding Value of TMR**

Net Energy for Growth (Mcal/kg DM): 1.690
NDF (%): 31.9
CP (5): 13.1
Se: 0.3 mg/kg DM

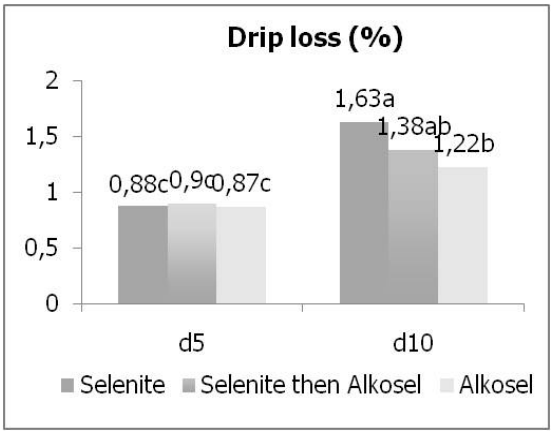
Technical and economical interest: Selenium is a key element of the antioxidant system. Animals diets are often selenium-deficient and organic selenium supply shows a better availability of this element.

Daily Selenium supply of Humans is, like for animals, limited. Selenium enriched animal product can therefore be interesting.

Improvement in Selenium content and decrease in muscles' drip loss (Longissimus thoracis) with Alkosel

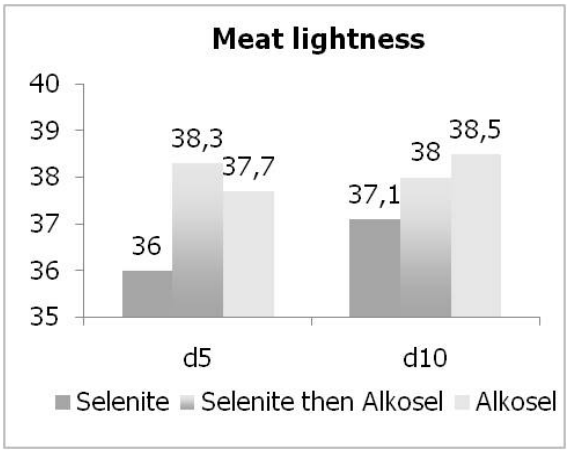



p<0.001

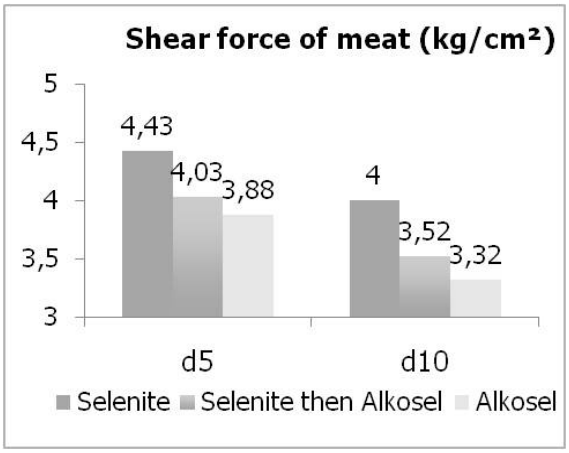



p<0.01

Improvement of visual aspect after 10 days ageing and higher meat tenderness




p<0.01




p<0.01

Conclusion:

•Continuous supply of organic Selenium with Alkosel R397 all along the fattening period increases Selenium content in muscle and reduces drip loss during ageing.

•Alkosel R397 supply also allows an improvement in the aspect and the tenderness of the meat after 10 days ageing. This effect can be a value in influencing consumer choice.

# Alkosel R397 improves milk quality (University of Ohio, 2005)

✓Alkosel R397 increased Selenium content on milk → participates to consumer's Se intake

Objective: measure the effects of organic selenium (Alkosel R397)

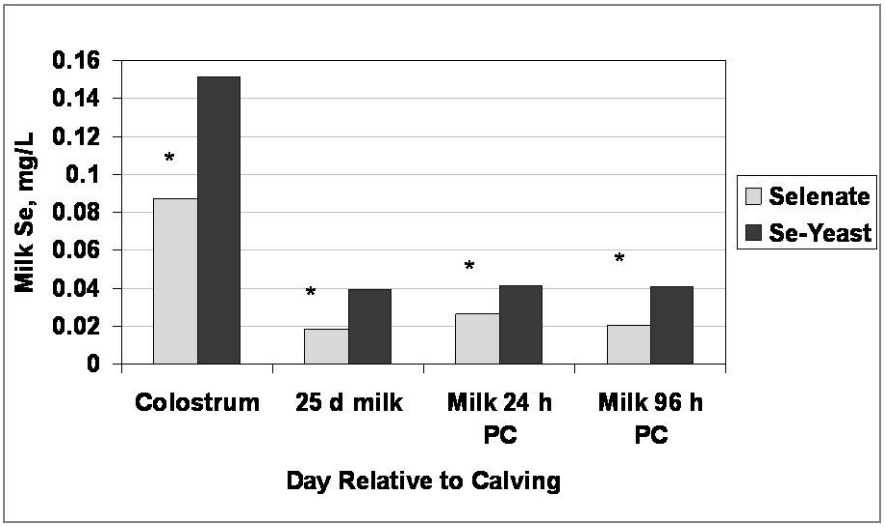
supplementation on Se status in dairy cows: milk Se levels.

Animals: 40 Holstein dairy cows and heifers, groups by parity and expected calving date.

Duration: from 60 days before calving to 30 days of lactation.

Control group: ➢ 0.3 ppm Se (sodium selenate)

Alkosel group: ➢ 0.3 ppm Se (Alkosel R397)




Supplementation with 0.3 ppm Se as Alkosel R397 significantly increases Se concentration in milk and colostrums.

# Conclusion

If Levucell SC is well documented for its rumen health and feed efficacy enhancing effects and the selenium rich yeast Alkosel R397 for its benefits on immunity, these trials show that these natural feed additive can bring additional benefits beyond the farmers, to the food processor and finally the consumer (improved organoleptic quality but also health benefits linked to extra selenium in meat and milk).

The beneficial effects of these products do not stop at the feed bunk and the animal but could be seen at the food processing step, another illustration of the 'farm-to-fork' benefits.

### Corresponding authors

M. Castex, L. Dussert and A. Piron
Lallemand SAS
19, rue des Briquetieres
31702 Blagnac Cedex, France
E-mail: animal@lallemand.com

mf metall und farben

LALLEMAND

Levucell® SB
Live yeast for sows and piglets

Levucell® SC
Rumen Specific Yeast

alkosel
The Premium Source of Bioavailable Selenium

BACTOCELL®
LACTIC ACID BACTERIA FOR MONOGASTRICS

Agrimos®
The natural protection of intestinal microflora

info.muf@lallemand.com

IHR LIEFERANT FÜR FUTTERZUSATZSTOFFE

**Metall und Farben Ges.m.b.H.**

A-1160 Wien/Austria · Ottakringer Strasse 89 · T +43 (0) 1 602 28 76 · F +43 (0) 1 602 28 76 90

# Microarray-based detection of antimicrobial resistance genes in microorganisms used as feed additives

**Sigrid Mayrhofer, Dagmar Dattler, Wolfgang Kneifel and Konrad J. Domig**

BOKU – University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna
Department of Food Science and Technology

## Introduction

The intensive use of antibiotics in animal husbandry has created a selective pressure that favored the survival and proliferation of antibiotic resistant bacteria. Furthermore, bacteria have the ability to exchange resistance genes which additionally contributes to the spread of resistance to antimicrobials. Thus, drug resistance has become a worldwide problem, which is not only demonstrated by the emergence of multidrug resistant bacteria but also by higher costs of treating infections and an increased death rate (Salyers and Whitt, 1994). To reduce the emergence and spread of resistant bacteria an effort has been made in Europe (Perreten et al., 2005). Next to the ban of antimicrobial substances for non-therapeutic purposes in animal husbandry, surveillance programs for antibiotic resistant bacteria among animal isolates have been implemented (EFSA, 2008). It has also been proposed that bacteria used as probiotics or starter cultures in feed must be free of antibiotic resistance genes (EFSA, 2008).

The Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) of the European Food Safety Authority (EFSA) maintains the safety assessment of bacteria intended for use as feed additives by evaluating the risk related to antibiotic resistance and the potential for the spread of antimicrobial resistances genes. Hence, the verification of the presence of transmissible antibiotic resistance genes is exactly described in an opinion of this panel (EFSA, 2008). Accordingly, the presence of antimicrobial resistance should be phenotypically assessed at first. The detection of an atypically resistant strain demands further molecular characterisation of the antimicrobial resistance pattern. If acquired genes coding for antibiotic resistance are detected, the risk of transfer is generally considered to be high. Strains carrying such an acquired resistance gene should not be used as feed additives (EFSA, 2008).

Numerous methods exist for the detection of antibiotic resistances in bacteria, including geno- and phenotypic techniques. Generally, antibiotic resistance is determined by phenotypic antimicrobial susceptibility testing (van Hoek et al., 2005). However, the precise identity of the responsible genes is not identified by these methods (van Hoek et al., 2005). To detect antibiotic resistance genes PCR is the most frequently used molecular tool (van Hoek et al., 2005). But, PCR only allows the detection of a limited number of genes (van Hoek et al., 2005). Thus, it constitutes a tremendous amount of work if every possible resistance gene has to be assessed (Perreten et al., 2005). Taking into account that the number of antibiotic resistance genes described in the literature so far is about 500 (van Hoek et al., 2008a), it would take quite a long time to investigate bacterial isolates by PCR. In contrast, the microarray technology is a convenient tool for the rapid and simultaneous screening of a large number of resistance genes (van Hoek et al., 2008a; Perreten et al., 2005). Therefore, it is most suitable for complementing phenotypic methods for antimicrobial susceptibility testing.

Hence, five *Bifidobacterium thermophilum* strains which were found to be multi-resistant by a previous survey (Mayrhofer et al., 2007) were tested for the presence of antimicrobial resistance genes by a microarray-based technology within this study.

# Material and Methods

Bacteria were maintained at -80°C, resuscitated in BHI broth supplemented with 0.5 g/liter cysteine-HCl (BHI-C) and sub-cultured on BHI-C agar at 37°C. All incubations were performed in an anaerobic cabinet for 48 hours. Genomic DNA was isolated according to a standard protocol.

Before hybridization it was necessary to randomly amplify and label the DNA of the examined strains. This was done using two enzymatic steps. In the first step, an enzyme was used to randomly extend the annealed primers to generate templates for the subsequent PCR. During step two, a specific primer was applied to amplify the previously generated templates. At the same time the DNA was marked as biotin-labeled dUTP was used next to dATP, dCTP, dGTP and dTTP. To ensure that the labeling amplification reaction was successful, the PCR products were run on an agarose gel.

The hybridization was performed in a standard microreaction tube in which the microarray was incorporated. The microarray consists of a 3- by 3-mm glass surface, on which more than hundred probes were spotted (CLONDIAG chip technologies GmbH). These probes are short oligonucleotides whose sequences are complementary to the sequences of the respective antibiotic resistance genes (Sachse, 2009). To equilibrate the microarray with the hybridization buffer, a prehybridization was done at first. In the meantime, the reaction products of the test strains were denaturated in hybridization buffer. By adding this solution to the microarray the proper hybridization was carried out. Complementary reaction products of the test strain hybridized to the respective probe of the microarray. Afterwards, unbound reaction products were removed by several washing steps. A blocking solution was added to avoid non-specific binding. Subsequently, a streptavidin-peroxidase complex was used to make the hybridized probes visible. Excess complexes were again removed by several washing steps. After the addition of a peroxidase substrate a black precipitate was formed. The produced blackening was recorded by a special micro-array reader (CLONDIAG chip technologies GmbH).

A preliminary evaluation was initially done visually by assigning a positive signal (= blackening) on the microarray to the appropriate probe (Figure 1). In addition, the resulting image was evaluated by a special software with an array-specific template. Hence, a gray value was specified for the coordinates of each probe (Figure 2). This allows assessing the presence or absence of an antimicrobial resistance gene in the examined strain.

# Results

Figure 1 shows an image of a microarray that was hybridized with the reaction products of strain B316. The corresponding values of the respective signals are shown in Figure 2 in the form of a graph.

Looking at the figure, the visualization with the streptavidin-peroxidase complex can be verified by the blackening of the Biotin markers (M). Furthermore, the binding of the biotin-labeled reaction products to the universal control DNA (uni) or control DNA of the genus *Bifidobacterium* (B.) present on the microarray suggests a proper hybridization.

Only clearly black colored signals were preliminarily considered to be positive by visual inspection (Figure 1). Analysing the signals with the software all signals whose values were equal or higher than 0.4 were regarded as positive (Figure 2).

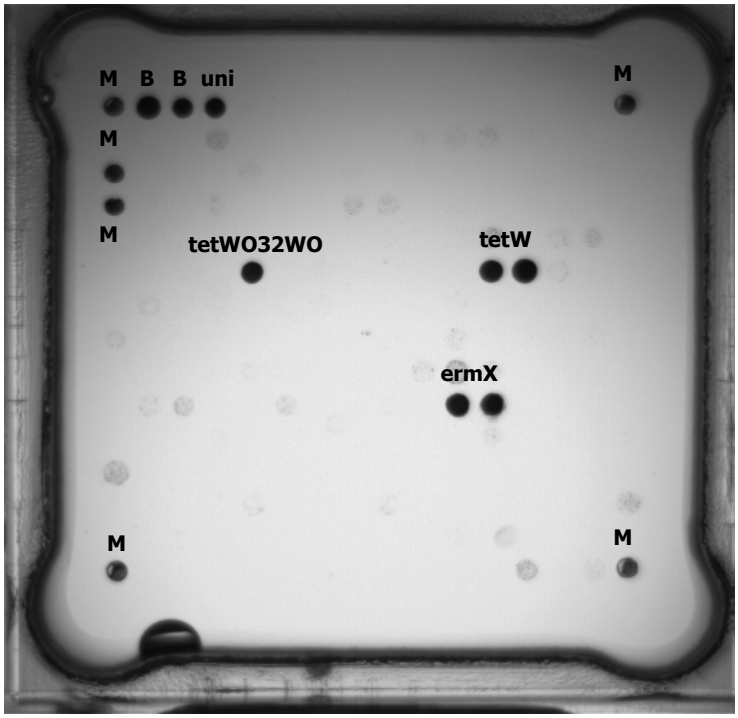



**Figure 1**: Hybridized microarray. M = Biotin marker, uni = universal DNA, B = *Bifidobacterium* DNA

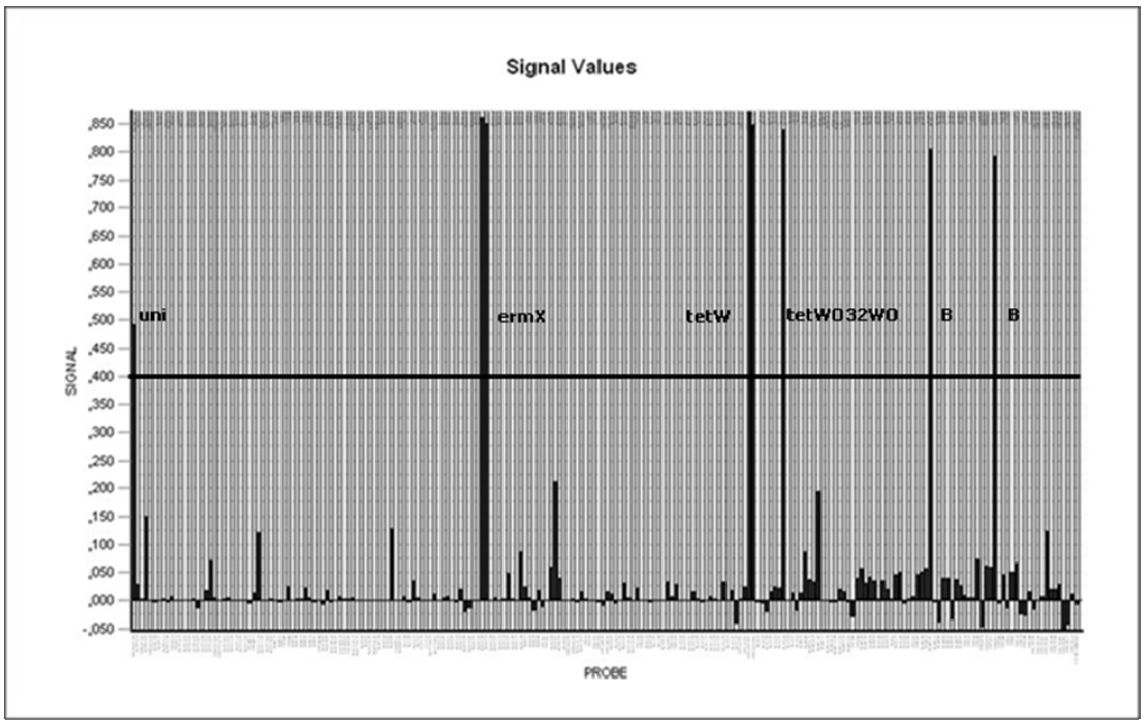



**Figure 2**: Graphic illustration of the signal values of the probes

In the image of the test strain B316 (Fig.1) the presence of the resistance genes *erm*(X) and *tet*(W) can be seen. For each of these antibiotic resistance genes, two different probes are present on the microarray and a blackening can be determined for both probes, respectively. In addition, there is a positive signal for one probe of the resistance gene *tet*(O/W/32/O/W). However, no hybridization with the second probe of this mosaic gene could be identified. These results were confirmed by analysis using the software (Fig. 2).

The same genes could be found in all other tested strains.

# Discussion

The advantages of the microtube-based array system used in this study are the short assay time and its easy handling (Anjum et al., 2007). The phenotypic antimicrobial susceptibility of the applied strains was already tested within another study (Mayrhofer et al., 2007). The higher Minimal Inhibition Concentrations (MICs) of the five strains to erythromycin as well as clindamycin suggested that the resistance will be due to a modification of the ribosomal binding site of these two antibiotics by a methylase. This enzyme is encoded by an *erm* gene. No *erm* genes were detected in bifidobacteria before, but many of them have been generally described in the literature at the time of investigation. Examining these strains for the presence of *erm* genes found in anaerobes and bifidobacteria-related genera by PCR, the *erm*(X) gene could be detected in bifidobacteria for the first time (Mayrhofer et al, 2007; van Hoek et al., 2008c). The availability of a microarray would have certainly simplified the investigations at that time.

Two different probes are present on the microarray for each resistance gene. The use of two different probes for the detection of resistance genes has the advantage of increased specificity and sensitivity of the method (Perreten et al., 2005). However, whereas both probes of the tetracycline resistance gene *tet*(W) reacted by blackening, only one probe of the tetracycline resistance gene *tet*(O/W/32/O/W) gave a positive signal. That may be due to a cross reaction because of a high level of sequence identity. Since the mosaic gene *tet*(O/W/32/O/W) includes parts of the resistance genes *tet*(O), *tet*(32) and *tet*(W) (van Hoek et al., 2008b), it can be assumed that the reacting *tet*(O/W/32/O/W) probe contains sequences of the resistance gene *tet*(W). This gene could be definitely detected in the examined strains as both corresponding probes gave a positive signal. Apparently the second probe of *tet*(O/W/32/O/W) has predominantly sequences of *tet*(O) and *tet*(32). The presence of the *tet*(W) gene in these strains could also be verified by PCR (Mayrhofer et al., 2007). In contrast no tetracycline mosaic resistance gene could be found in another study investigating these strains as well as other tetracycline resistant bifidobacteria (van Hoek et al., 2008b).

Furthermore, the microarray has the particular advantage of detecting the presence of antibiotic resistance genes that are not phenotypically expressed *in vitro* (Perreten et al., 2005). These silent antibiotic resistance genes, which might be turned on *in vivo* or spread to other bacteria, also pose a certain risk. The microarray would help to determine silent antibiotic resistance genes in probiotics and starter cultures used in food and feed industry as they must be free of transferable antimicrobial resistance determinants (Perreten et al., 2005). The requirements for microorganisms used as feed additives are especially strictly regulated by EFSA (EFSA, 2008). Consequently, the application of a microarray-based system next to MIC determination by phenotypic antimicrobial susceptibility testing would be extremely helpful.

However, molecular tests can only detect known mechanisms of resistance or unknown mechanisms that share sufficient DNA homology to allow annealing of primers or probes. Novel mechanism or highly divergent resistance genes will be missed (Woodford and Sundsfjord, 2005). According to this, the detection and characterization of new resistance genes and mechanism is of utmost importance for the future.

## Acknowledgements

Françoise Gavini and Matthias Upmann are gratefully acknowledged for providing the strains isolated in the EU project "BIFID" (CT-2000-00805).

## References

Anjum, M.F., Mafura, M., Slickers, P., Ballmer, K., Kuhnert, P., Woodward, M.J. and Ehricht, R. (2007): Pathotyping Escherichia coli by using miniaturized DNA microarrays. Appl. Environ. Microbiol. 73, 5692-5697.

EFSA (2008): Update of the criteria used in the assessment ob bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance. EFSA J. 732, 1-15.

Mayrhofer, S., Domig, K.J., Amtmann, E., van Hoek, A.H.A.M., Petersson, A., Mair, C., Mayer, H.K. and Kneifel, W. (2007): Antibiotic susceptibility of Bifidobacterium thermophilum and Bifidobacterium pseudolongum isolates from animal sources. J. Food Prot. 70, 119-124.

Perreten, V., Vorlet-Fawer, L., Slickers, P., Ehricht, R., Kuhnert, P. and Frey, J. (2005): Microarray-based detection of 90 antibiotic resistance genes of gram-positive bacteria. J. Clin. Microbiol. 43, 2291-2302.

Sachse, K. (2009): DNA-Mikroarrays in der Diagnostik von Zoonosen– Krankheitserreger schnell und genau erkennen. Forschungsreport 1, 33-35.

Salyers, A.A. and Whit, D.D. (1994): Bacterial pathogenesis: a molecular approach, ASM Press, Washington D.C., USA, pp. 168 – 184.

van Hoek, A.H.A.M., Scholtens, I.M.J., Cloeckart, A. and Aarts, H.J.M. (2005): Detection of antibiotic resistance genes in different *Salmonella* serovars by oligonucleotide microarray analysis. J. Microbiol. Methods 62, 13-23.

van Hoek, A.H.A.M. and Aarts, H.J.M. (2008a): Microarray-based detection of antibiotic resistance genes in *Salmonella*. Food Anal. Methods 1, 95-108.

van Hoek, A.H.A.M., Mayrhofer, S., Domig, K.J., Flórez, A.B., Ammor, M.S., Mayo, B. and Aarts, H.J. (2008b): Mosaic tetracycline resistance genes and their flanking regions in *Bifidobacterium thermophilum* and *Lactobacillus johnsonii*. Antimicrob. Agents Chemother. 52(1), 248-252.

van Hoek, A.H.A.M., Mayrhofer, S., Domig, K.J. and Aarts ,H.J.M. (2008c): Resistance determinant *erm*(X) is borne by transposon Tn5432 in *Bifidobacterium thermophilum* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*. Int. J. Antimicrob. Agents 31, 544-548.

Woodford, N., and Sundsfjord, A. (2005): Molecular detection of antibiotic resistance: when and where? J. Antimicrob. Chemother. 56, 259-261.

## Corresponding author

Dr. Sigrid Mayrhofer
Universität für Bodenkultur Wien
Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie
Institut für Lebensmittelwissenschaften
Arbeitsgruppe für Lebensmittelmikrobiologie und -hygiene
E-mail: sigrid.mayrhofer@boku.ac.at

# Dynamic Phenotypes of body weight in cockerels ROSS 308

**L. Novák[1], L. Zeman[1], Š. Hošková[1], M. Balabánová[1], M. Lichovníková[2] and M. Foltyn[2]**

[1] Mendel University in Brno, Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy
[2] Mendel University in Brno, Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy

## Introduction

Researchers and broiler growers are familiar with the phenomenon that the good results of the fattened flock are closely connected with the distribution of the initial body weight of individual chickens. Today's industrial character of broiler fattening does not pay attention to individual chickens. Genetic potential of individual chickens is to be evident until the flock reaches the expected carcass weight and is delivered to slaughterhouse.

In our departments were during the period from 15.08.2006 to 26.11.2010 realized experiments with cockerels the hybrid combination ROSS 308. These experiments are unique in the point that chickens provided were hatched in one date. During the second week after delivery the chickens were weighted in the age of the first, the tenth or twelfth day and supplied by the wing mark.

According Waddington (1957) development of the body weight curve expresses "the effort of individual organism" to reach the genetic goal coded in his genotype. In the case of poultry this goal is the body weight of adult sexually mature cock or hen. Development of body weight in individual chick as expression of genotype is biological phenomenon. Therefore the growth curves of individual chicks in the evaluated flock have not to be interpreted as random event by current statistical method. Statistical interpretation of the chickens body weight development in current praxis for the entire flock, by a package of tools for instance the SAS 1998, is important in the solution of the economy of the fattened flock. The probability in this case reflects the random distribution of various genotypes of chicken's gathered in the flock, but does not however describe the genotype expression of chickens as biological individuals. The curve of body weight development in individual chickens is possible by means of the Dynamic Phenotype of Body Weight (DPBW). The method of DPBW is based on construction of the growth curve, either of the logistics type, or of the Gomez's type, by means of three parameters (Novak et al. 2008, 2009, 2010).

This presentation we intend to focus the attention to the role of individual body weight measured on the $10^{th}$ or $12^{th}$ day of chicken's life to the development of the body weight up to the $40^{th}$ day of chickens life.

## Material and methods

All experiment interpreted in this paper have been done with hybrid combination of cocks ROSS 308 from 15. 8. 2006 to 26. 11. 2010. The protocols of body weight development include for each successive body weight measurement the calendar date, and the measured value of body weight. This complex number of body weight values enables to construct the curve of individual body weight development with mathematical accuracy. The following published results are included.

Lichovníková et al. (2009): fifty cocks hybrid combination ROSS 308 stabled 6/m$^2$ up to the age of 4 week in the heated stable, the floor covered with wood shavings. Since the age of 14 days the chickens had at disposal fowl run on the green. The birds had all time free access to water and feeding mixtures as indicated in Tab. 1. Individual body weight was measured weekly.

Hošková et all. 2009, 2010, one thousand cocks hybrid combination ROSS 308 stabled 10/m$^2$ on deep litter. 100 birds of control group were fed according Tab.1, food and water accessible all day. Individual body weight was measured in the age of 1, 12, 26 and 35 day.

Foltyn et al. 2010, four hundred and thirty cocks hybrid combination ROSS 308 stabled in the technology of two floor cages situated in the heated room. Birds of control group were fed according Tab.1 Feed and water accessible all day "ad libitum". Weighing of chickens was done in the age of 1, 10, 24 and 38 day.

Novak et al 2010, twelve cocks hybrid combination ROSS 308 were stabled in one floor cages situated in the tempered room and were fed according Tab.1, food and water accessible all day. Weighing was done in the age of 12, 26, and 35 day and than in intervals between one and two weeks up to the age of 135 day.

**Table 1**: Schedule of served feeding mixtures (CP – crude protein)

| Author | Age day | Feed mixture | $ME_d$ MJ/d | CP g/kg |
|---|---|---|---|---|
| Lichovníková 2009 | 1 - 14 | Starter | 11.1 | 228.6 |
| | 15 - 44 | Grower | 11.7 | 186.9 |
| | 45 - 98 | Slaughter | 11.3 | 165.5 |
| Hošková 2009, 2010 | 1 - 12 | BR1 | 13.95 | 244.5 |
| | 13 - 35 | BR2 | 14.00 | 210.8 |
| Foltýn 2011 | 1 - 10 | BR1 | 12.0 | 215.0 |
| | 11 - 38 | BR 2 | 12.7 | 195.0 |
| Novák 2010 | 1 - 12 | BR1 | 13.95 | 244.5 |
| | 13 - 135 | BR2 | 14.00 | 210.8 |

# Results and discussion

Cocks body weight measured in control groups of experiments (Lichovníková et al. 2009, Hošková et al.2010 and Novak et al 2010) are displayed in Fig. 1. Experimental values of chicken's individual body weight are presented as follows. Body weight measured in the age of 12, days are placed at the abscise (x- axis). Vertically to the point on the abscise are on the ordinate (y-axis) placed body weights of the same chick measured in the later terms of 35 or 40 days of life. These modes of presenting the data visualize the body mass increase during the experimental period between the ages of twelve to the age of thirty fifth or to the forties day, separately for each chicken. The relation between the body weights of the first measurement in the age of twelfth day and the body weight at the end of experiment has the slope line y=5.4465x + 424.99 R2= 0.7433. In Fig. 2 are to the results shown in Fig. 1 replenished by the data of later experiments realized in technology of two floor cages (Hošková et al. 2011, Foltýn et al. 2011). The great divergence is evident and has the slope line y = 8.1618x + 65.192, $R^2$= 0.3449. Comparison of results curried solely with the technology of two floor cages shown in Fig. 3, exhibit interesting differences in two points. The cause of the mentioned divergences is to be conditioned by the age of chickens in the first measurement, 11 days in Foltyns group and 12 days in Hoškovás group. Also there are differences in the age of the second measurement 35 days in Hošková group and 38 days in Foltyn group. The growing chickens markedly reflect these age differences from one to three days. The age however is not incorporated in the equation of the slope line equation.

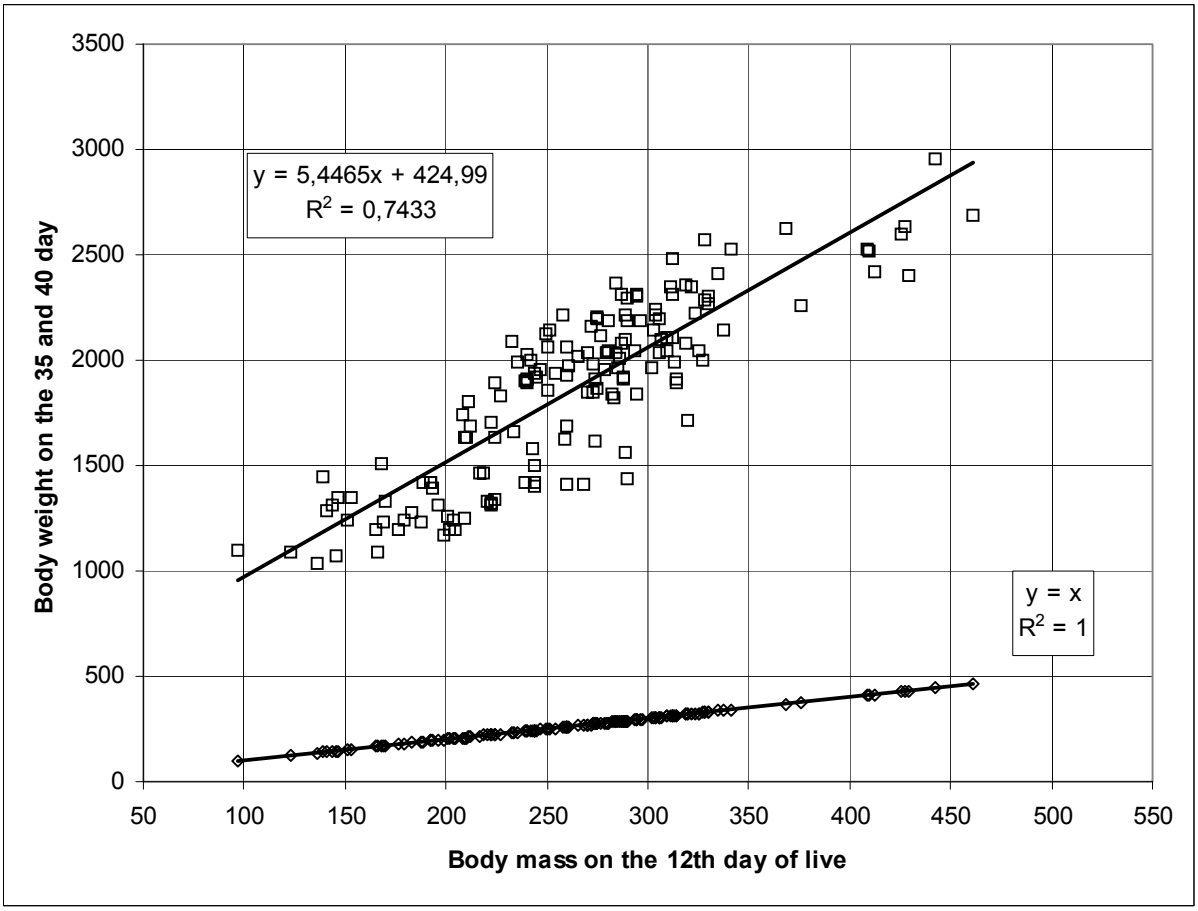



**Figure 1**: Relation between the measured body weight on the tvelth day of live (G12) to the thirty eithts day of life reached during fattening.on „deep litter" „free range" and one floor cages.

**Table 2**: Dynamic phenotype parameters for cockerels number 119, 515, 333

| Cockerel number | t0 | G0 | GLi | dGmax |
|---|---|---|---|---|
| 119 | 12 | 143 | 9000 | 90 |
| 515 | 12 | 169 | 9000 | 92 |
| 333 | 12 | 243 | 9000 | 91 |
| | | | | |

**Table 3**: Body weight in 12$^{th}$, 40$^{th}$ 61$^{st}$ 82nd and 96$^{th}$ day of cockerel's life

| Cockerel No | G12 | G40 | G61 | G82 | G96 |
|---|---|---|---|---|---|
| 119 | 143 | 1310 | 3220 | 5970 | 6960 |
| 515 | 169 | 1330 | 3390 | 5940 | 6220 |
| 333 | 243 | 1500 | 3690 | 5960 | 6340 |

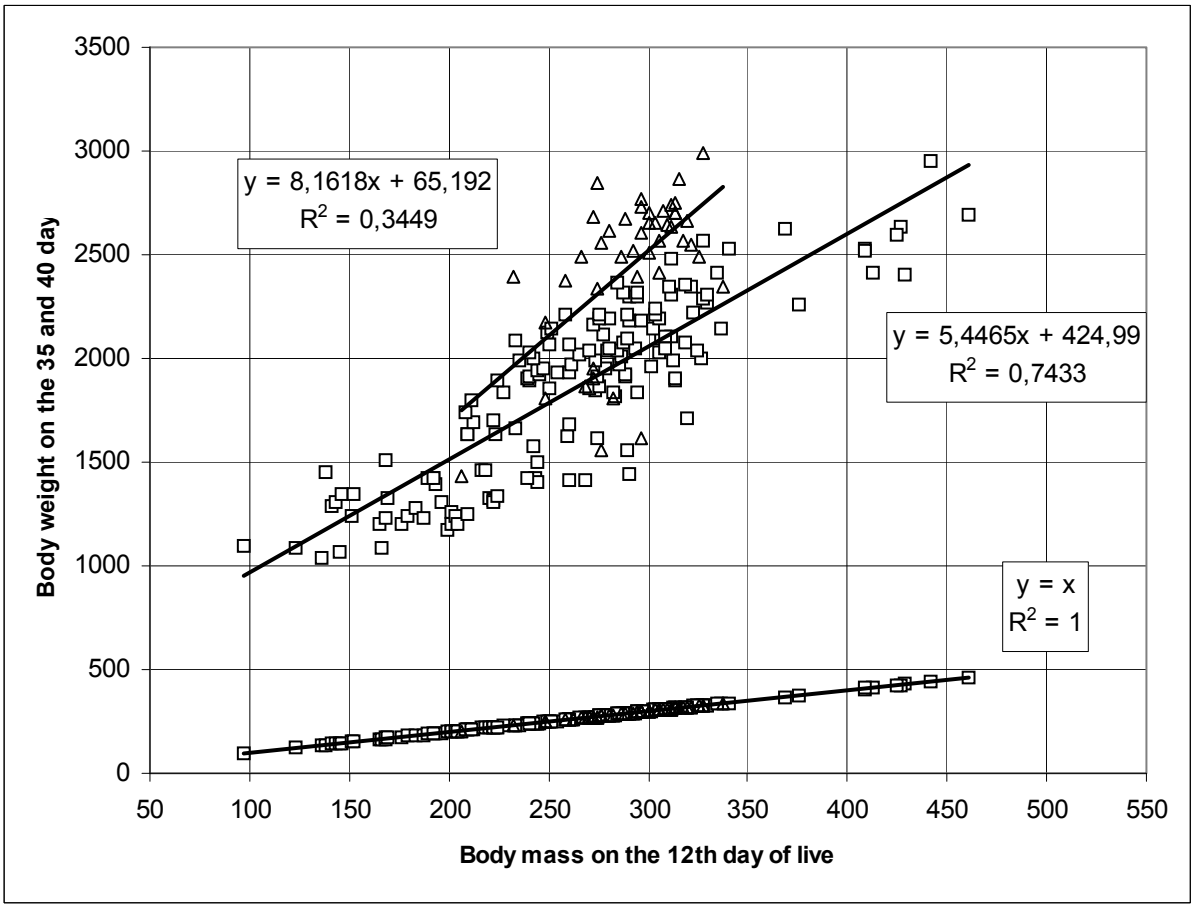



**Figure 2**: Comparison of Foltyns results with results of Lichovníková, Hošková and Novak

**Table 4**: Development of body weight in cockerels ROSS 308: No 359, No 644 and No 647

| Cockerel No | G12 | G38 | G61 | G82 | G96 |
|---|---|---|---|---|---|
| 359 | 341 | 2528 | 4738 | 6148 | 6766 |
| 644 | 427 | 2635 | 4940 | 6578 | 7682 |
| 647 | 309 | 2044 | 4392 | 6358 | 7656 |

The body weight rises with the increasing age. The growth curve either in the format of the logistic curve, or in the format of the Gompertz curve, could be therefore the appropriate tool. Suitable tool to realize such operation it seems to be ***the parametric method of dynamic phenotype*** (Novák 2010). Calculation of the dynamic phenotype curve needs three parameters familiar as to the breeder, so to the researcher. The first parameter is the body weight of the first measurement (**G0, t0**), the second parameter is the anticipated genetic limit (**GLi**), asymptote of the curve, the chickens hybrid combination has to reach and third parameter is the highest daily body weight increase the chicken would be able to produce (**dGmax**). The algorithm for growth curve calculation in the Gompertzs format for use in the spreadsheet is

**Gt = GLi.exp(-ln(GLi/G0).exp(-2,7183.dGmax/GLi.(t-t0)))**

Body weights of three cockerels No 119, No 515 and No 333, from the protocol (Lichovníková et al. 2009), are marked in the graph in Fig. 4. Marked body weight is approximated by the dynamic phenotype curves. The parameters of these curves are presented in Tab. 2.

Cockerel No 119 has the smallest initial body weight 143 gram only and its body weight remains up to the 40 day of life smallest (1310 gram), initial body weight of cockerel No 333 is higher 243 gram remains up to the 40 day of life highest (1500 g). By all three cockerels is to be seen that since the 60$^{th}$ day of life all measured values of body weight decline apparently as a result of pubertal spurt. In the age of 82 days are body weight of all thee cockerels equal and later the cockerel 119 continues to grow in tack to the genetic limit. However the growth of cockerels No 333 and No 515 decline and almost stops the growth as noted in Tab. 3 and in Fig. 4.

Parametric model of dynamic phenotype fulfills the role to visualize the future development of body weight from the parameters (G0, GLi, dGmax).

Similar picture of body weight development were observed in experiment with cockerels ROSS 308 stabled in one floor cage technology (Novák et. al. 2010).

In table 4 are for comparison presented body weight of cocks No. 361, 647 and 377.

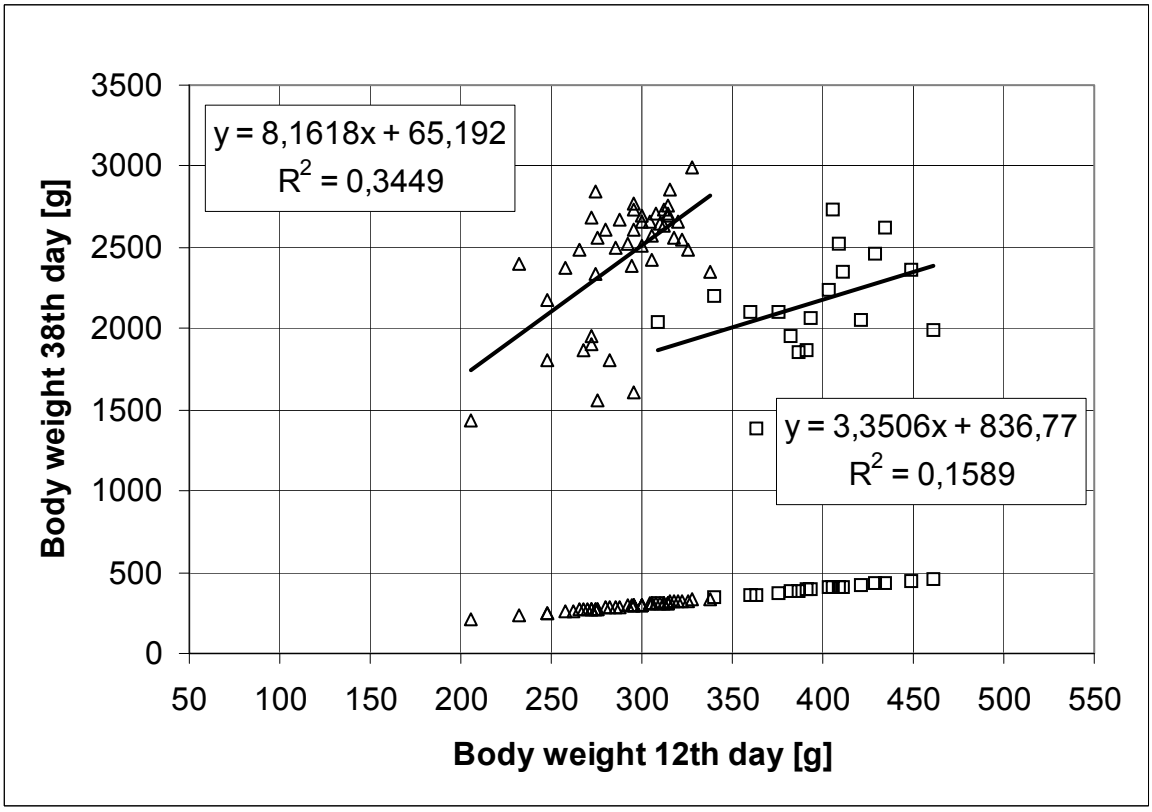



**Figure 3**: Relation between the measured body weight on the tvelth day of live (G12) to the thirty eithts day day of life reached during fattening. in the two floor cage technology. Separated results of experiments Foltýn (2011) and Hošková (2011).

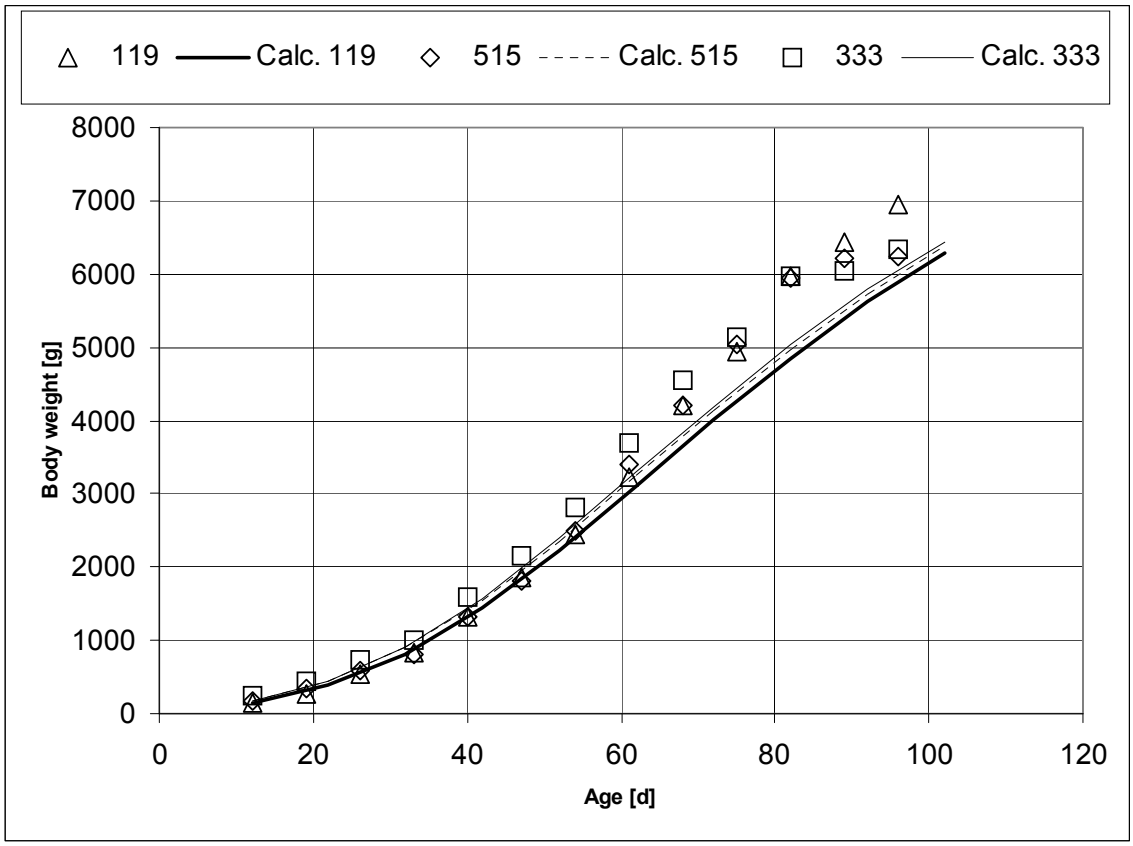



**Figure 4**: Body weight of cockereles ROSS 308 with number of wings marks $_{119,\ 515,\ 323,}$. Full lines indicate the course of growth curves of Dynamic phenotypes version Gompertz calculated for their individal parameters G0, GLi, dGmax (see Tab. 3.)

Initial body weight of cockerels in the age of 12 days, experiment of Lichovníková 2009, has the value 143 to 243 gram. Initial cockerels body weight in the experiment of Novak 2010 were 309 to 461 gram. But in both experimental groups the body weight in the age of 96 days is very close to equality and not all cocks are able from this point to proceed in the body weight growth. The body weight growth of cockerels has evidently at least two components. The component calculated in the graph Fig. 4, which corresponds to the childhood and the other component to be calculated according to the other algorithm for the period of puberty. Such methodical approach used in the study of longitudinal growth data in children and adolescents (Novak et al. 2008) was successful.

According to our opinion the division of the body weight growth of chickens into at least two components will be a good way for detailed study of relations between the body weights of chickens in their second week of life to the subsequent development of their body weight up to the genetic body weight limit (GLi).

## Acknowledgement

IGA AF MENDELU – TP2/2010, supported this project

## References

Foltyn M., Rada V., Lichovníková M. (2011): Vliv zkrmování soje (Glycine max) na intenzitu růstu u kuřat chovaných na maso. Animal Breeding, p. 82 - 88, ISBN-978-80-7375-446-4

Hošková Š., Balabánová M., Urbanová P., Hošek M, Zeman L. (2011): Vliv přídavku methioninu ve směsích pro brojlery na jejich konečnou hmotnost a jatečnou výtěžnost. Animal Breeding, , p. 40 - 42, ISBN 978-80-7375-446-4

Hošková, Š. Vašátková, A Balabánová, M. Hošek, M. Zeman, L. (2009): The effect of feeding DDGS on broiler meat composition 8. BOKU-Symposium Tierernährung p.264-267

Hošková, Š. Novák, L. Zeman, L. Balabánová, M. Vašátková, A. (2010): The effect of feeding DDGS on growth of body weight in cockerels ROSS 308 with different Dynamic Phenotypes of body weight (DPBW) 9. BOKU-Symposium Tierernährung p.121 - 127

Lichovníková, .M Jandásek, J. Jůzl, M. Dračková, E. (2009): The meat quality of layer males from free range in comparison with fast growing chickens. Czech J. Anim. Sci., 54, (11): 490-497

Novák L. Kukla, L. Čuta, M. (2008): Child and adolescent longitudinal growthdata evaluation using the logistic curve fitting with use of the Dynamic Phenotype method, Scripta medica (Brno) 81 (1) : 31-46

Novák, L. Zeman, L. Mareš,.P. (2009): Relation of dynamic phenotype parameters of body weight growth during the prefattening period of the body weight of pigs to the fattening period 8. BOKU-Symposium Tierernährung p.321 - 327

Novák, L. Zeman, L. Mareš, P. (2008):The velocity of body weight growth and dynamic phenotype expression in pigs. 7. BOKU-Symposium Tierernährung p.355 - 362

Novák, L. Hošková, Š. Zeman, L. (2010): Dynamic Phenotypes of body weight in cockerels ROSS 308 9. BOKU-Symposium Tierernährung p.350 - 356

SAS®/STAT: Statistical Analysis System Institute Inc.Cary, NC 1998

Waddington CH. (1957) The strategy of the genes. London: George Allen and Unwin.

## Corresponding author

Prof. Ing. Ladislav Zeman CSc
Department of animal nutrition and forage production
Mendel University of Agriculture and Forestry Brno
Zemedelska 1, 613 00 Brno
E-mail: zeman@mendelu.cz

# Methods for differentiating chemical attributes of intestinal mucins

**N. Reisinger[1], G. Schatzmayr[1] and T.J. Applegate[2]**

[1] Biomin Research Center, Tulln, Austria
[2] Purdue University, West Lafayette, IN, USA

## Introduction

Mucins are highly glycosylated glycoproteins, which are synthesized and secreted by goblet cells through baseline secretion and active exocytosis. Goblet cells mature as they migrate from the base of the crypt, derived from stem cells, along the crypt-villus axis and are exfoliated into the lumen. The chemical composition of the mucin produced by these specialized cells plays an important role in the protection of the animal against several pathogens and parasites, in modulating the transport of metabolites across membranes and in protecting epithelial cells from digestive enzymes of the intestinal flora.

Mucins can be divided into neutral and acidic subtypes. Acidic subtypes can further be divided into sulfated (sulfomucin) and non sulfated (sialomucin) groups. Goblet cells can produce more than one type of mucin. O-linked and N-linked oligosaccharides form up to 80% of the mucin molecule. The length of the carbohydrate side chains differs from 1 to more than 20 residues (Seregni *et al.,* 1997). The carbohydrate chains are attached to repetitive serine, proline and threonine subunits by glycoside bonds.

With biochemical methods, it is possible to determine the amount of crude mucin, and the mucin composition regarding the amount of sialic acid and O-linked oligosaccharides. Additionally, histological staining methods can be used to differentiate between goblet cells which produce different kinds of mucin.

## Material and methods

There are two main methods to detect mucin production and to identify mucin producing cells:

### Biochemical analysis

**Crude mucin determination**

This method is described by Lien *et al.* (1997). Ileal digesta or excreta samples are collected and lyophilized. 1 g of the lyophilized sample is centrifuged (10000 rcf for 20 min) with 20 ml of chilled sodium chloride solution (0.15 M sodium chloride and 0.02 M sodium azide). The supernatant is decanted and 15 ml of chilled absolute ethanol are added for extraction of mucin proteins. The mixture is extracted overnight at -20 °C. Afterwards, the mixture is centrifuged (1500 rcf for 10 min) again, the supernatant is discarded, and the mucin pellet is retained. 10 ml of chilled sodium chloride solution and 15 ml of chilled absolute ethanol are added to the pellet. The sample is again extracted overnight at -20 °C, and centrifuged. The supernatant is discarded, and the remaining water is removed by suction. The mucin pellet is weighed to obtain crude mucin amount. Crude mucin is expressed per 100 g of excreta and per kg dry matter intake (DMI).

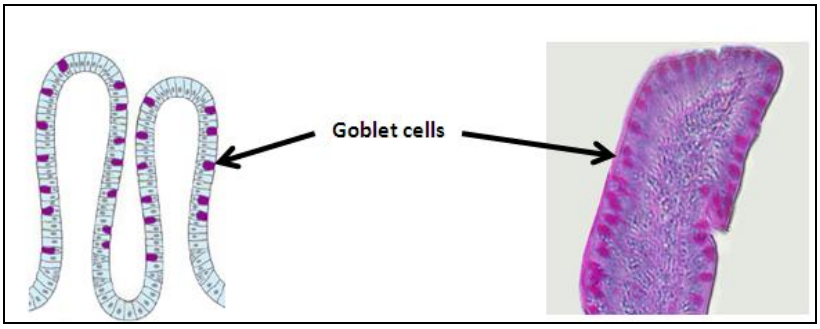



**Figure 1**: Goblet cells, which produce mucin, are orientated along the villus between other epithelial cells.

**Ferric orcinol assay for determination of sialic acid**
A modification of the ferric orcinol assay from Schauer (1978) is used to determine sialic acid concentration. Bound or free sialic acids are oxidized by HCl in the presence of heat. The oxidized sialic acids form a blue/purple chromophore. 100 µl of crude mucin solution are diluted 1:2 with distilled water. 200 µl of Bial reagent are added to the samples and incubated at 100 °C for 15 min. The samples are cooled and 1 ml of isoamyl alcohol is added before the samples are chilled on ice for 5 min. Afterwards, the samples are centrifuged (1500 rcf for 3 min) and the absorbance of the upper color phase is measured at 560 nm. N-acetylneuraminic acid is used as standard.

**Fluorometric assay for detection of O-linked oligosaccharide chains**
For determination of the O-linked oligosaccharides, 100 µl of the purified crude mucin sample, dissolved in distilled water, are mixed with 150 µl of a solution containing 2-cyanoacetamide, and incubated for 30 min at 100 °C. Afterwards, 1 ml of 0.6 M borate buffer is added, because cyanoacetamide-reducing sugar displays maximum fluorescence in the present of borate ions. The fluorescence is measured at 383 nm with excitation wavelength of 336 nm.

**Histological staining methods**
For histological staining methods, a part of the intestine is fixed with 10% neutral buffered formalin or a formalin substitute and is embedded in paraffin. Three 3 µm thick sections from different locations of the intestinal segment are placed on every slide for histological staining.

**Periodic acid Schiff (PAS) staining**
The PAS staining can be performed according to the protocol of the Armed Forces Institute of Pathology (1992). The slides have to be deparaffinized and hydrated before they are oxidized in 0.5% periodic acid. Afterwards, they are stained with the Schiff reagent to stain the goblet cells, followed by a counterstaining step with Harris' hematoxylin solution. The slides are then dehydrated, cleared and mounted with a mounting medium.

**Alcian blue (AB) staining**
The alcian blue staining method is used to stain goblet cells producing acidic mucins. After deparaffinization and hydration, slides are stained for 5 min in alcian blue staining solution (pH 2.5); nuclear fast red is used as counterstain. For identifying further specific types of acid mucins, different pH levels of the staining solution are used (strongly sulphated mucins: pH 0.2; weakly sulphated mucins - pH 2.5 or 1.0).

**PAS/AB staining**
A combination of the PAS and AB staining is used to stain acidic and neutral mucin containing goblet cells. After deparaffinization and hydration, slides are stained with alcian blue staining solution (pH 2.5) and Schiff reagent for an appropriate time (American Forces Institute of Pathology, 1992). With this method, it is also possible to detect goblet cells which produce both, acidic and neutral mucins.

**High iron diamine staining**

During high iron diamine (HID) staining, goblet cells containing sialomucins are stained in light blue and sulfomucin goblet cells are stained in black (Boshiuzen *et al.*, 2005). After deparaffinization and hydration, slides are put into a high iron diamine solution (containing: N, N-dimethyl-meta-phenylenediamine dihydrochloride, N, N-dimethyl-para-phenylenediamine dihydrochloride, ferric chloride and distilled water) for 18-24 hours, washed in running water, and are incubated in alcian blue solution for 5min (pH 2.5). Slides are counterstained with nuclear fast red.

Incubation times have to be optimized according to tissue, staining solutions and different methods. Slides are evaluated via light microscopy. Goblet cell counting can either be done directly under the microscope or with computer software.

**Table 1**: Summary of histological methods for staining goblet cells in paraffin embedded tissue.

| **Type of mucin** | | **Staining pattern** |
|---|---|---|
| NEUTRAL | | PAS + |
| ACIDIC | Strongly sulfated mucins | AB pH 0.2 + |
| | Weakly sulfated mucins | PAS +<br>AB pH 2.5 or 1.0 + |
| | Sulfated mucins | HID +<br>AB - |
| | Carboxylated mucins | HID –<br>AB pH 2.5 + |
| CONTAINING BOTH | | PAS +<br>AB pH 2.5 + |

# Results and discussion

In the small intestine, the absorptive surface is covered by a layer of mucus secreted by goblet cells. The physiological relevance of the chemical attributes of different mucin subtypes is yet not fully understood, but they seem to be correlated with the microflora and maturity of the gut.

The structure of the glycoproteins provides potential binding sites for microflora, and can prevent colonization of the mucosal surface (Forstner and Forstner, 1994).

For example, Forder *et al.* (2007) demonstrated that the goblet cell mucin composition could be affected by microflora from day 3 to 4 posthatch in poultry. A decrease in sulfated mucin and an increase in sialylated mucin content were observed. In this study, the role of the mucin composition during early posthatch development, according to the possible protective mechanism against pathogenic invasion, could be seen in the mucin profile as a response to bacterial colonization.

A decrease of sulfation in mucin seems to be a characteristic of immature goblet cells and therefore indicative of an immature gut. The switch from sulfated to sialylated can be seen as a defense mechanism against pathogens. The hydroxyl groups of the sialic acids are highly substituted by acetyl esters, which serve a protective role as they block against further glyocosidic degradation. But both sulfate and sialic acid have protective properties. If colonization increases, the need for more protection against the degradation of mucus is increased, which may leads to an increase in sialomucin production. Additionally, goblet cells containing neutral mucin seem to be more vulnerable to degradation from pathogens than acidic mucin-containing goblet cells.

But there are many additional factors, like mucin quality, quantity, digesta flow and gut motility which influence the bacterial-mucin interactions (Forstner and Forstner, 1994).

In piglets, an expansion of acidic goblet cells might be explained by increased proliferation of oligomucus progenitor cells, reduced goblet cell loss, or both. It represents a primary defense triggered by compromised epithelial renewal to prevent barrier failure. This helps to maintain a homeostasis by enriching the epithelial monolayer with longer-live and apoptosis resistant cells, which contribute sulfomucins (Conour *et al.,* 2002).

An important point which is still not well investigated is the mechanism controlling the synthesis, secretion and turnover of the mucin layer(s) and the reaction to dietary changes. To investigate these parameters molecularbiological methods, like qPCR of several genes e.g. MUC2, can be used in combination with biochemical and histological techniques.

# Conclusion

Although, the mechanism and the importance of the composition of mucins are not fully understood, they seem to be a key factor in the resistance to bacterial invasion and pathogen binding.

Several studies have shown that dietary factors, e.g. feed additives or fiber type, may affect the number of goblet cells and the composition of mucin.

These parameters which can be evaluated by biochemical and histological staining methods can have a great influence on the nutrient uptake, absorption and pathogen binding which is often strongly related to the performance of the animal.

## References

Armed Forces Institute of Pathology, 1992. AFIP Laboratory Methods in Histotechnology. E. B. Prophet, B. Mills, J. B. Arrington, L. H. Sobin, ed. Am. Regist. Pathol, Washington, DC.

Boshuizen, J. A., J. H. Reimerink, A. M. Korteland-val Male, V.J. van Ham, J. Bouma, G. J. Gerwig, M. P. Koopmans, H. A. Buller, J. Dekker, and A. W. Einerhand. 2005. Homeostasis and function of goblet cells during rotavirus infection inmice. Virology 5:210–221.

Forder, R. E. A. , G. S. Howarth, D. R. Tivey and R. J. Hughes. 2007. Bacterial Modulation of Small Intestinal Goblet Cells and Mucin Composition During Early Posthatch Development of Poultry. Poult Sci 2007. 86:2396-2403.

Forstner, J.F. and G.G. Forstner. 1994. Gastrointestinal mucus. Pp 1255 -1283 in Physiology of the Gastrointestinal Tract. L.R. Johnson, ed. Raven Press, New York.

Lien, K. A., W. C. Sauer, and M. Fenton. 1997. Mucin output in ileal digesta of pigs fed a protein-free diet. Zeitschrift fur Ernahrungswissenschaft 36:182-190.

Schauer, R. 1978. Characterization of sialic acids. Methods Enzymol. 50:64-89.

Seregni, E., C. Botti, S. Massaron, C. Lombardo, A. Capobianco, A. Bogni, and E. Bombardieri. 1997. Structure, function and gene expression of epithelial mucins. Tumori 83:625–632.

## Corresponding author

Nicole Reisinger DI
BIOMIN Holding GmbH
BIOMIN Research Center
Technopark 1
3430 Tulln, Austria
E-mail: Nicole.Reisinger@biomin.net

# Flow cytometric assay to study *Eimeria tenella* sporozoite viability

**C. Kalteis, B. Novak, A. Köstelbauer, S. Henikl, K. Teichmann and G. Schatzmayr**

BIOMIN Holding GmbH, 3430 Tulln, Austria

## Introduction

*Eimeria tenella* is a protozoan parasite which causes coccidiosis, an intestinal disease, in domestic chicken. The oocysts (Oo) undergo several stages of development before reaching the infective sporozoites stage (oocysts → sporocysts → sporozoites) (Figure 1). The parasite multiplies rapidly in intestinal walls and ruptures cells in the intestinal lining (Stokka G.L., 1996). Oo are highly resistant against disinfectants and environmental stress so they can hardly be removed from the environment because they are viable over months. Sporulated oocysts can widely spread through infected birds, insects and also via contaminated boots or clothing. Infection starts with oral uptake of oocysts (Hafez H.M., 2008). The infection is associated with loss of weight, diarrhea, dehydration and high rates of mortality in severe cases. Coccidiosis causes huge economical losses in broiler farming worldwide (Williams R.B., 1999).

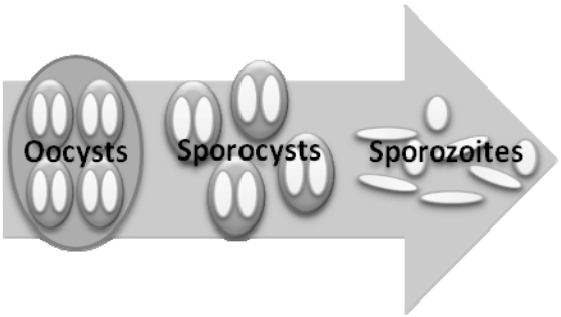



**Figure 1**: Stages of *E. tenella* development in the intestinal tract of the host and during *in vitro* purification of sporozoites

Anticoccidial drugs are commonly used to prevent this disease. However, widespread drug resistances and unintentional depositions in animal tissues (eggs, meat) occur. Therefore it is necessary to find alternative substances with anticoccidial activity, e.g. by *in vitro* bioassays.

Cell culture based *in vitro* assays with *E. tenella* for drug screening usually employ Madin Darby bovine kidney cells as hosts for parasite development. In the present study a flow cytometric sporozoites viability assay (F-SVA) without host cells was established. Briefly, *Eimeria tenella* sporozoites (Sz) were incubated with or without test substances to find a positive control for future screening experiments. Afterwards, Sz were live/dead-double stained according to Jones and Senft (1985) and viability was analyzed by flow cytometry. This should provide a simple and rapid *in vitro* screening method for anticoccidial samples.

# Materials and methods

### Purification of sporozoites

*Eimeria tenella* (WIS strain) oocysts were stored in phosphate-buffered saline (PBS) at a concentration of 1 x $10^6$ oocysts per mL at 4 °C. For the *in vitro* experiment Sz were purified by simulated digestion by chicken (Figure 1) as originally published by Schmatz D.M. et al. (1984) and Mattig F.R. et al. (1992).

Oo were washed by centrifugation (2000 rcf, 8 min) and vortexed with 0.5 mm glass beads for cracking the Oo walls. Excystation of Sz out of the sporocysts occured by incubation with trypsin (25 mg/mL) and 1% taurodeoxycholate for 2 hours at 40 °C. Oo and sporocyst (Sc) walls, debris and beads were separated from pure Sz by paper filtration. Sz were taken up in Hank´s balanced salt solution (HBSS) and seeded into a 96 well microplate (U-bottom, non-binding, 1 x $10^4$ Sz/well).

### Methods for sporozoites inactivation

Different methods for inactivating Sz were examined (Table 1). In this way various chemicals and physical conditions were tested over a specified time.

**Table 1**: Tested methods for inactivating Sz at different conditions

| Methods / Reagents | concentration [%] | condition | time [min] |
|---|---|---|---|
| NaOCl | 0,1 | | 60 |
| | 0,05 | | 60 |
| | 0,01 | | 60 |
| | 0,005 | | 60 |
| | 0,0035 | | 60 |
| Thymol dissolved in EtOH (70%) as test sample | 0,02 | | 60 |
| | 0,01 | | 60 |
| | 0,005 | | 60 |
| | 0,0025 | | 60 |
| | 0,00125 | | 60 |
| Heat | | 75 °C | 30 |
| | | 56 °C | 15 |
| | | 56 °C | 30 |
| | | 56 °C | 60 |
| Freezing/thawing | | -20 °C | 30 |

A stock solution of 1% thymol in EtOH (70%) was prepared. Working solutions of thymol and NaOCl were prepared in HBSS in a microplate (96 wells) in 2-folds of the tested concentrations.

### Incubation with test samples and live/dead-double staining

Samples were transferred to the microplate containing the Sz. Incubation was done for one hour at 40 °C and 5% $CO_2$.

Afterwards staining with FDA (Fluorescein diacetate 98% (20 mM in DMSO)) and PI (Propidium iodide staining solution 1mg/mL (43 µM in DMSO)) or 5(6)-carboxyfluorescein diacetate N-succinimidyl ester (CFDA-SE) alone for differentiation between viable and non-viable Sz was done.

### Flow cytometric measurement

The stained Sz were analyzed by flow cytometry with an autosampler for microplates (Accuri C6). First, the negative control (containing only SZ with HBSS) was measured for gating the Sz population. To distinguish between viable and non-viable SZ the FL1 channel (FDA, viable) and FL3 channel (PI, non-viable) were used. During measurement Sz were settling down on the microplate surface, so it was necessary to do an agitation step after every third well to avoid this.

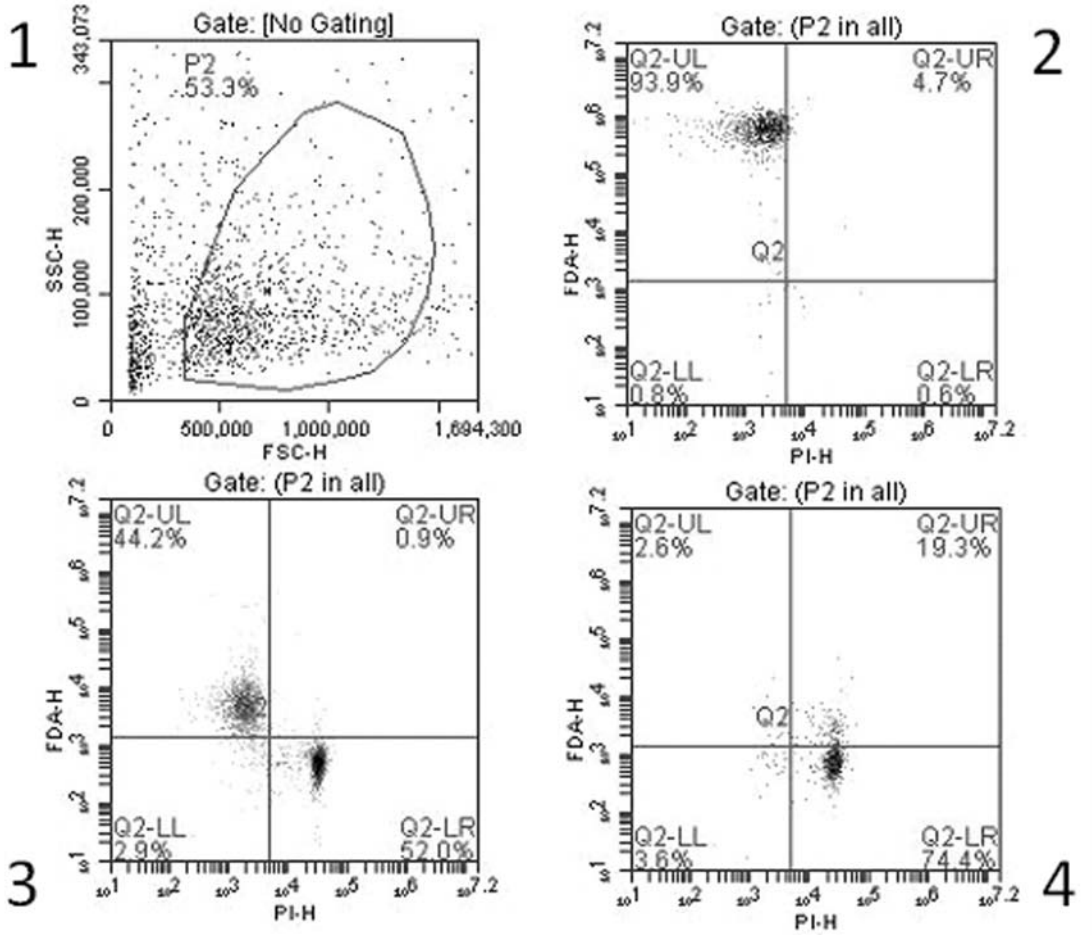



**Figure 2**: Scatterplot is shown in picture 1, gatting of Sz can be seen; x-axis of picture 1 is the forward-scatter and y-axis sideward-scatter; pictures 2-4: x-axis = PI stained Sz (non-viable), y-axis = FDA stained Sz (viable); picture 2 is a plot of a Sz population incubated with a substance without anticoccidial effect in comparison with picture 4 where an anticoccidial response is visible (74.4% Sz stained with PI); picture 3 explains 2 populations of stained Sz (Q2-LR = non-viable, Q2-UL = viable/damaged)

## Results and discussion

Differentiation between viable and non-viable Sz was clearest, when FDA and PI staining were combined (Figure 3). Additionally, populations of potentially damaged Sz were apparent. This double-staining procedure for determination of cell viability was described by Jones and Senft (1985). CFDA-

SE also provided good results in staining viable Sz primarily in lower concentrations below 0.5 pg/mL. Higher concentrations demonstrated nonspecific signals in flow cytometry (data not shown). This is the reason why FDA and PI were used in following trials.

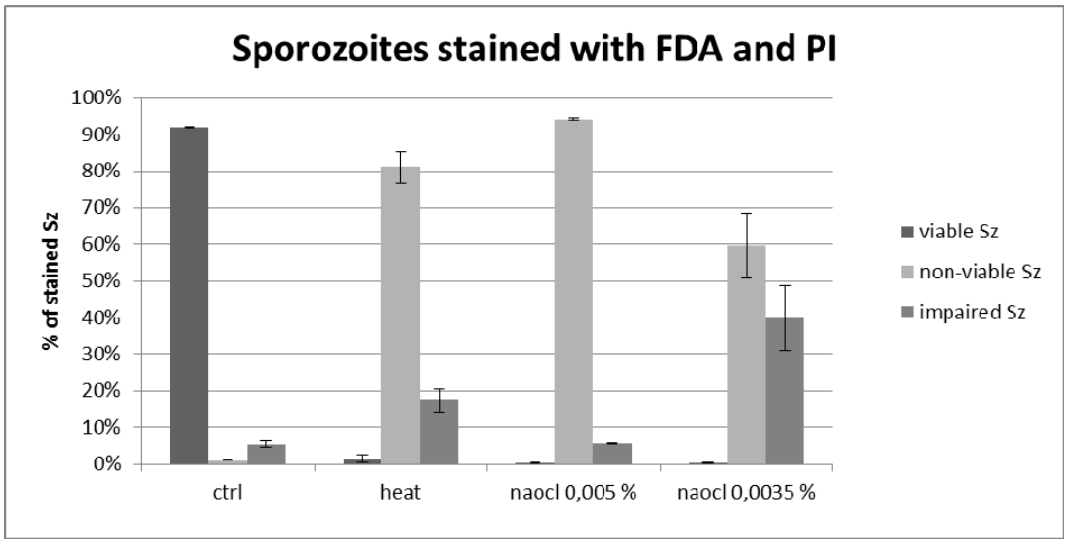



**Figure 3**: Viable Sz (ctrl) and Sz inactivated by heat (56 °C, 60 min), NaOCl (0.005% and 0.0035%) and stained by FDA and PI

Freezing and thawing did not influence the cell membrane integrity of Sz. The cell structure of Sz was destroyed by incubation with NaOCl for 60 min in concentrations higher than 0.01% (w/v). In this case no Sz population was detectable by flow cytometry anymore. 0.005% inactivated 100% and 0.0035% inactivated approximately half of the Sz population (Figure 3).

In defining a positive control also heat inactivation was tested. Temperatures above 56 °C and below 0 °C are lethal for Sz according to Hafez, H.M. (2008). After incubation at 56 °C for 15 and 30 min about 20% Sz and after 60 min about 70% were non-viable and can be used as positive control. The method of heat inactivation was also used by Mota et al. (2001) with 56 °C for 15 min to inhibit the mobility of *Plasmodium* sporozoites.

Thymol showed an effect against Sz in the highest test concentration of 200 µg/mL (Figure 4). It is proposed as positive control in future screening for natural substances.

The establishment of this assay with conventional anticoccidial drugs (for example monensin, an ionophorous antibiotic) proved to be problematic in earlier experiments (data not shown) because even high concentrations did not increase the rate of dead Sz. It is possible, that these substances do not directly reduce Sz viability, but rely on another mode of action.

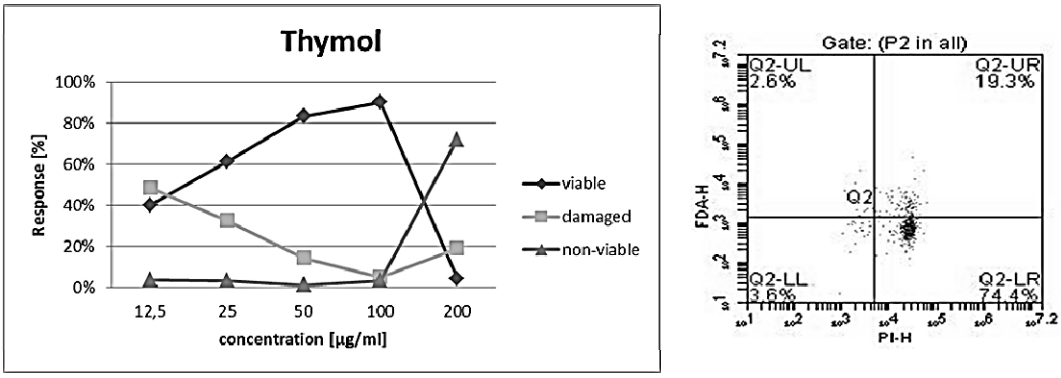



**Figure 4** left: dose-response function of Thymol; x-axis shows test concentrations in µg/mL, y-axis describes the effect in percent of concentrations on sporozoites; right: flow cytometry plot, in quarter low-right a non-viable Sz population is seen with 74.4% PI stained, a few damaged Sz are seen in quarter upper-right

# Conclusion

The validation of the flow cytometric sporozoites viability assay was successful. The assay enables a time saving rapid screening with high sample throughput in microtiter plate format without cell cultures to find novel substances with anticoccidial activity.

## References

Hafez, H.M. 2008. Poultry coccidiosis: prevention and control approaches. Archiv für Geflügelkunde, 72/1: p2-7.

Jones, K.H., Senft, J.A. 1985. An improved method to determine cell viability by simultaneous staining with fluorescein diacetate-propidium iodide. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry 33/1: p77-79.

Mattig, F.R., Drössigk, U., Entzeroth, R. 1992. A simple method for the purification of *Eimeria tenella* sporozoites. Appl. Parasitol. 34/2: p139-142.

Mota, M.M., Pradel, G.,Vanderberg, J.P., Hafalla J.C.R., Frevert, U., Nussenzweig, R.S., Nussenzweig, V., Rodríguez, A. 2001. Migration of *Plasmodium* sporozoites through cells before infection. Science 291/5501: p141-144.

Schmatz, D.M., Crane, M.S., Murray, P.K. 1984. Purification of *Eimeria* sporozoites by DE-52 anion exchange chromatography. Journal or Eukaryotic Microbiology 31/1: p181-183.

Stokka, G.L. 1996. Coccidiosis. Kansas State University.

Williams, R.B. 1999. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. International Journal for Parasitology 29/8: p1209-1229.

## Corresponding author

Carina Kalteis, M.Sc.
BIOMIN Research Center – Cell Biology
BIOMIN Holding GmbH
Technopark 1, A-3430 Tulln
E-mail: carina.kalteis@biomin.net

# Software-supported evaluation of 14 US dairy herds: A novel tool to troubleshoot and prevent lameness

**C. Rapp[1], J.M. DeFrain[2], M.T. Socha[2], D.J. Tomlinson[2] and N.B. Cook[3]**

[1] Zinpro Performance Minerals, Boxmeer, The Netherlands
[2] Zinpro Corporation, Eden Prairie, MN USA
[3] University of Wisconsin-Madison, Madison, WI USA

## Introduction

There is increasing need to address lameness in the dairy industry. Lameness affects the performance and welfare of dairy cattle and therefore continues to gain attention among producers and consumers alike. Diagnosing the predominant causes of lameness requires a systematic approach to identify the important risk factors present within each dairy. FirstStep® is a software program designed to assess key areas of a dairy known to impact lameness and provide reports that identify areas of weakness in the lameness management program. The objective of this study was to use FirstStep® to evaluate 13 dairy companies (14 facilities) in the Western US. Of the 20 different assessors possible within FirstStep®, this manuscript will provide a brief review of three key assessors required to fully utilize the program to assess specific areas of the dairy to address the factors contributing to lameness.

## Materials and methods

The study was conducted from September 2007 through October 2008. The dairies were located in 7 states in the Western United States and were comprised of free stall (5), dirt lot (5), free stall with dirt lot access (2), cross-ventilated (1), and pasture/free stall combination (1). Twelve dairies were Holstein herds and two were Jersey herds. Locomotion and hygiene scores were collected on the same two pens (avg. DIM 100-200) during each of five, quarterly visits and claw lesion records (data from 8 dairies) were analyzed when available. Overall means were determined and summarized.

## Results

*Locomotion Scoring.* Locomotion scoring (LS) of representative groups in the dairy herd is the initial step required to assess the prevalence and severity of lameness in the herd. The FirstStep® program utilizes locomotion scores to estimate the economics associated with milk loss due to lameness. The distribution of LS by farm (total observations n = 22,248) are shown in Figure 1. On average, across all dairies and time periods, 18% (range of 11 to 26%) of cows scored were considered lame (LS >2 using the 1-5 LS system; 1 = normal, 2 = mildly lame, 3 = moderately lame, 4 = lame, 5 = clinically lame). Our objective was to ascertain the ability of the participating dairies to recruit lame cows (cows with LS >2) for treatment. Relative to the target percentages noted below the x-axis in the figure, three points are noteworthy in these results: a) there were no severely lame cows (LS = 5) observed, b) all farms were adequately identifying cows with LS = 4 and c) only three farms were successfully achieving <15% of cows with LS = 3. Cows with a LS of 3 are difficult to identify as they will generally move with their herd mates to and from the parlor and generally do not sort themselves out relative to cows with a LS of 4 or 5. Therefore, it is important to educate dairy owners and their employees

how to identify cows with LS = 3 in order to proactively prevent and manage dairy lameness instead of reacting to lameness outbreaks.

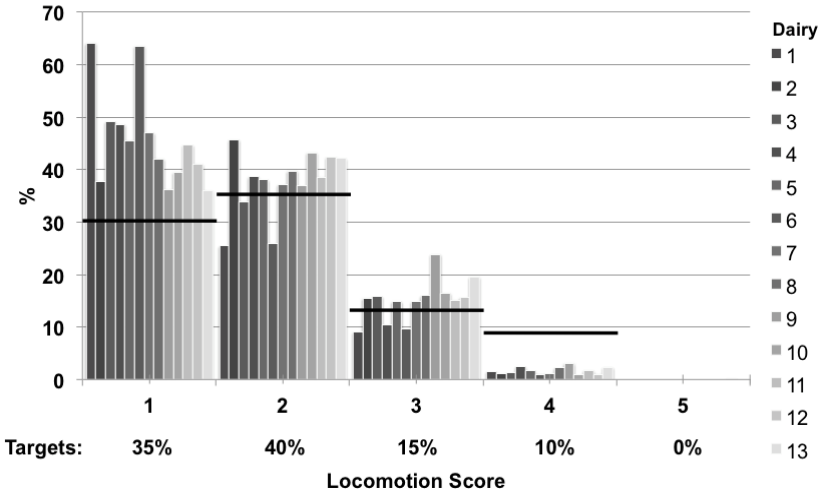



**Figure 1**: Distribution of locomotion scores by farm

*Claw Lesion Data.* Once the LS data has been gathered it is important to understand the predominate claw lesions present in the herd. The second assessor of FirstStep® allows for the input of claw lesions recorded on the dairy. The program then utilizes these data to determine which areas of the dairy are in need of a more in-depth assessment. Figure 2 summarizes the two major classes of claw lesions recorded from 8 of the 14 dairies (22,850 Holstein cows and 900 Jersey cows; range from 3 to 14 months of data per dairy) in the study under discussion herein as 6 of the dairies were not recording claw lesion data. Although the data in Figure 2 represents a small set of dairies of various types, it becomes apparent that each lameness investigation will differ from dairy to dairy and require a different set of assessors within the FirstStep® software. In other words, it is recommended that dairy consultants and advisors educate their clients on the importance of recording claw lesions to enable one to fully utilize the software to identify the areas of the dairy that are likely contributing to the claw lesions occurring on the dairy.

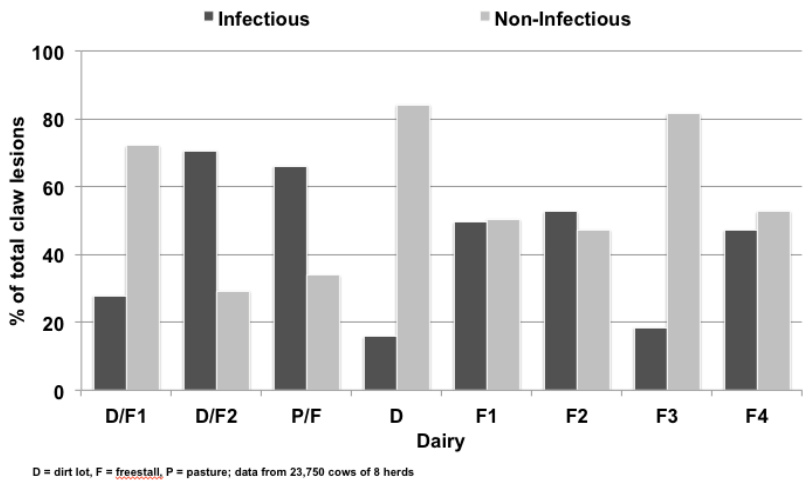



**Figure 2:** Infectious vs. non-infectious claw lesions by dairy

*Leg Hygiene Scoring.* Poor leg hygiene puts herds at risk for greater levels of infectious claw disease, namely digital dermatitis. Assessment of leg hygiene within the herd is used as a starting point for making recommendations towards the footbath protocol on the dairy to control infectious claw disease. A summary of leg hygiene observations in the herds under discussion are shown in Figure 3. The average percent of cows with leg hygiene scores of 3 or 4 (using 1-4 scoring system) were 38% with a range of 4 to 72%. Based upon the level of leg hygiene in these herds, the majority of these dairies should be foot bathing 2 days per week to control infectious claw disease. It is recommended to utilize both leg hygiene and claw lesion records to modify the footbath protocol within each dairy to ensure the level of infectious claw lesions is minimized within each herd.

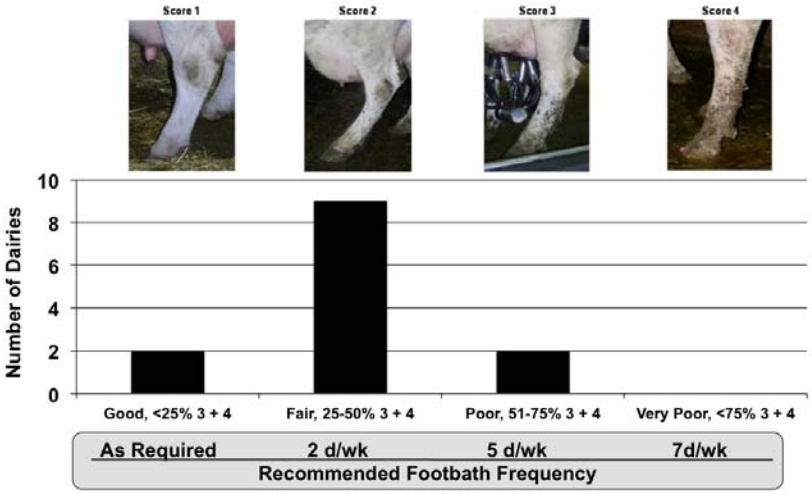



**Figure 3:** Summary of leg hygiene scores and recommended footbath frequency

# Conclusions

FirstStep® provides for a unique, methodical approach to investigating lameness on dairies of all types. Key areas to assess factors causing lameness include locomotion scoring, claw lesion records and leg hygiene. Upon collection of these data, one can utilize the software to successfully identify lameness trigger factors within the dairy. Reports summarized by the software enable owners and producers to make management changes directed toward reducing herd lameness.

**Corresponding author**

Dr. Christof Rapp
Zinpro Animal Nutrition, Inc.
Akkerdistel 2E
5831 PJ Boxmeer, The Netherlands
E-mail: christof@zinpro.com

When it comes to understanding the relationship between feet and animal performance, Zinpro leads the way. Whether it is cattle, pig, chickens, or horses - healthy feet mean less lameness, better welfare and superior performance.

Zinpro works closely with experts and universities around the world to research foot health. This has resulted in world-first programs, including First Step® and Feet First®, along with proof of the efficacy of our patented performance minerals.

**Like to know more? Visit zinpro.com, or talk to a local representative.**

ZINPRO
PERFORMANCE MINERALS®

NUTRITION FEIX FEED ADDITIVES

5R

RETURN • RESPONSE • REPEATABILITY • RESEARCH • REASSURANCE

# The values of blood parameters of high-pregnant heifers and cows two weeks forward of calving to four days after calving

**Marie Balabánová, Šárka Hošková, Pavel Horký and Ladislav Zeman**

Faculty of Agronomy – Department of Animal Nutrition and Forage Production, Mendel University in Brno

## Introduction

Blood is compound of several types blood-components (leukocytes, erythrocytes and thrombocytes - perhaps 45 % of the whole blood), the rest forms blood plasma – yellowish liquid, that is of liquid medium of blood. Blood plasma is basically water solution containing 90 % waters, 7 % plasmatic proteins; 0,9 % inorganic salts and the rest forms transmitted substanties. In protoplasm, there are trace and macro minerals, whose capacity in blood are reflected from their values of feeding dues (e.g. zinc, selenium or manganese).

White blood cells or leukocytes (3 %) are mainly part immunity system. Increased quantity of leukocytes can signalize any inflammatory process in body, vaccination or calving (JANEWAY et al., 2001). Size, form cellulate nuclei, present granule in cytoplasm and their colorations divides white blood cells to 5 types (KAJEROVÁ, FISHERMAN, TITLARK, 2006). Red blood cells or erythrocytes (96 %) haemoglobinous and distributing oxygen. Their service life moves about 120 days. Blood platelets or thrombocytes (1 %) are responsible of blood coagulation. Values of thrombocytes increases during pregnancy, at bodily pains and influence of adrenaline (JELÍNEK et al., 2003).

Into basic investigation blood count belongs to assessment blood cells and also haemoglobin (HGB) and haematocrit (HCT). HCT investigate with from blood with anticoagulation. Red and white blood cells and blood platelets are sedimentated during centrifugation. Blood plasma stay over layer of these sedentary cells. Because red blood cells are most represented (values of blood platelets and leukocytes are negligible), haematocrit value depend upon sedimentation of red blood cells and blood plasma. Increased HCT pointed to that animal is dehydrated (UTHMAN, 1997).

Hemoglobin is red transport metaloprotein of erythrocytes, whose molecule is compound from haem (are tied up ferrous iron) and from albumin (globin) his main function is transport oxygen from lungs into tissues and carbon dioxide from tissues into lungs (MURRAY et al., 2002).

Not always increased values of tracked parameters denote lustier animal. Them to a discretion breeder to make decision, what's what about on the contrary isn't desirable and on the grounds this piece of knowledge draw conclusions, who and how will not only repair, but also doing better of the total welfare animal.

## Materials and methods

Into following were to be registered two groups included 13 high-pregnant heifers and 13 high-pregnant cows of Holstein breed. Our experiment was realized on the agricultural farm Žabčice, which is possession of Mendel University in Brno. This farm is located in South Moravia 25 km south from Brno.

Feeding ration of first-calvers and cows was modified so, to in either event be like each other constitution, already either of roughage, so and concentrates and mineral supplements. Feeding ration was

totaled maize silage, sugar beet pulp silage, meadow hay and barley straw on completion roughage, soybean meat and mineral accessories (limestone, magnesium sulphate, feeding salt – Tab. 1). Same feeding ration in both groups be carefully adhere and was analyzed on basic nutrient.

We took cow blood to test tubes with K3 EDTA from *vena caudalis mediana* each of cows in 1st day after calving and 4th day after calving. These specimens of blood were mixed with contained anticoagulant K3 EDTA (for assessment blood count on ABC VET) in the test tubes and marked each ones of tubes.

The ABC Vet (Animal Blood Counter Veterinary) was used for our blood analysis. It is fully automated (Microprocessor controlled) hematology analyzer used for the in vitro diagnostic testing of blood specimens. It is untouched by human hands apparatus on assessment 8 as far as 16 blood parameters from 100 μl blood sample, e.g. WBC (white blood cells), RBC (red blood cells), HGB (haemoglobin), HCT (haematocrit) or PLT (blood platelets).

# Results and discussion

First-calvers and cows were fed the same diet, which included 16,2 % crude proteins; 5,1 % fat; 20,3 % crude fiber and 8,4 % ash in 100% dry matter of feeding ration. The blood samples of animals was bled after one month of adaptation period on modified feeding ration. Concrete components of feeding diet are introduced in Table 1.

**Table 1**: Structure feeding rations [kg fresh matter/cow/day] of first-calvers and cows in 1st day and 4th days after calving

| Components | [kg fresh matter/cow/day] |
|---|---|
| Maize silage | 7,50 |
| Sugar beet pulp silage | 6,00 |
| Alfalfa haylage | 3,00 |
| Grass hay | 1,00 |
| Alfalfa hay | - |
| Barley straw | 1,00 |
| Soybean meal (47,5 CP) | 0,25 |
| Mixture A | 0,10 |
| Mixture B | 3,50 |
| Mixture C | - |
| Mixture D | - |
| Mixture E | - |
| Glycerol | 0,25 |
| Laktofeed | 0,20 |
| Berga fat | - |
| Monocalcium phosphate | 0,06 |
| Limestone | 0,26 |
| Magnesium sulphate | 0,05 |
| Feeding salt | 0,03 |
| Soda | - |

Values of analyzed blood parameters were higher than physiological limit several times (Tab. 2).

**Table 2**: Average values of blood parameters (white and red blood cells, hemoglobin, hematocrit and blood platelets) of cows and first-calvers in 1st day and 4th day after calving

| | | | **WBC** [$10^3$/mm$^3$] | **RBC** [$10^6$/mm$^3$] | **HGB** [g/dl] | **HCT** [%] | **PLT** [$10^3$/mm$^3$] |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Physiological limits | 7,0-10,0 | 5,5-8 | 10,0-13,0 | 30-40 | 175-600 |
| 1st day after calving | First-calvers | Average | **9,2** | **6,63** | **10,7** | **31,9** | **394** |
| | | SD | 2,25 | 0,514 | 0,45 | 1,85 | 77,9 |
| | Cows | Average | **7,0** | **6,29** | **10,2** | **31,4** | **370** |
| | | SD | 1,71 | 0,538 | 0,57 | 2,26 | 105,7 |
| 4th day after calving | First-calvers | Average | **7,3** | **6,15** | **9,5** | **30,3** | **445** |
| | | SD | 1,16 | 0,377 | 0,34 | 1,18 | 138,2 |
| | Cows | Average | **7,7** | **6,11** | **9,4** | **29,5** | **254** |
| | | SD | 3,31 | 1,103 | 0,85 | 4,57 | 123,6 |

Average blood values of first-calvers and cows were in limits at 1st day after calving. But values of hemoglobin and hematocrit of high-pregnant cows at 4th day after calving and hematocrit of first-calvers at 4th day after calving were lower than limits.

First-calvers and cows drowe in physiological limits in 1st day after calving, who be representative of healthy organism. But values of leukocytes of first-calvers were higher than cows. In 4th day after calving, values of white blood cells of cows were higher than first-calvers. Physiological limits listed in Tab. 1 are reference values, that are programmed producer of The ABC Vet, but according to KAJEROVÉ, RYBÁŘE and SKŘIVANA (2006), are average funds tracked blood parameters corresponding healthy individuals. DOUBEK et al. (2007) show in minimum values of HCT 24 % and hemoglobin 8 g/dl. If we will coming out these reference values, so tracked cows moved only at minimum limits, but always yet in physiological values.

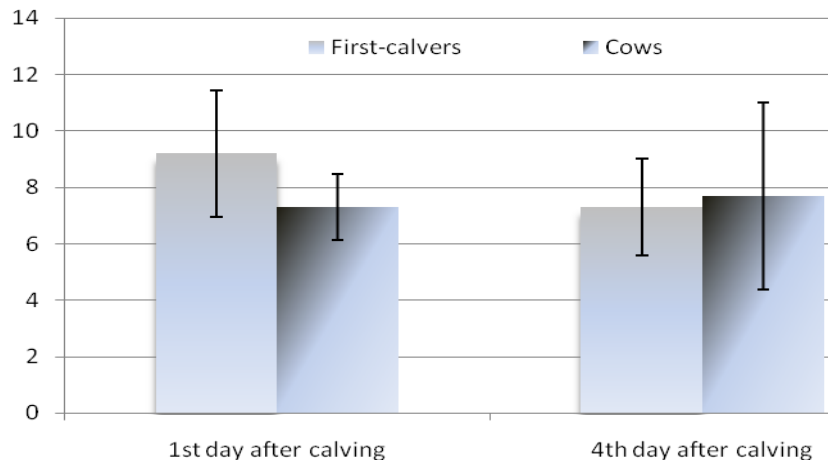



**Figure 1**: Average values of white blood cells [$10^3$/mm$^3$] of first-calvers and cows in 1st day after calving and 4th day after calving.

It is possible trace, that the measured values of blood parameters of blood counts be in drove of first-calvers in much smaller variability than in cows. Smaller scatter advent to well - balanced herd.

# Conclusion

The aim following was to find out the effect of same feeding ration on first-calvers and cow in colostral period. How they will respond age different organisms on calving and starting lactation.

From our results ensue, that the younger organism of first-calvers were in most tracked blood parameters higher than in cows, except values of white blood cells. It is possible, that WBC were higher because organism of first-calvers were overloaded with calving and possible inflammation. Decrease values of WBC could be caused of application antibiotics into 1st day after calving.

We can say that the tracked cows and first-calvers were in relatively good health.

## Acknowledgement

Financial support from grant of Mendel University in Brno TP 2/2011 is greatly acknowledged.

## References

Doubek, J., et al. Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat. 1. Brno : NOVIKO a.s., 2007. 77 s. ISBN 80-86542-16-5.

Janeway, Charles A, et al. *Immunobiology*. 5. New York : Garland Science, 2001. 672 s.

Jelínek, Pavel, Koudela, Karel et al. *Fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Brno : MZLU v Brně, 2003. 414 p. ISBN 80-7157-644-1

Kajerová, Vilma; Rybář, Jan; Skřivan, Petr. *Atlas hematologie zvířat*. 1. Hradec Králové : Střední odborná škola veterinární, 2006. 19 s.

Murray, R., Granner, D., Mayes, P., Rodwell, V. *Harperova biochemie*. 4. české vyd. Jinočany: Nakladatelství H+H 2002. 53–64 s. ISBN 80-7319-013-3

Uthman, Edward O. *Blood cells and the CBC*. [online]. 1997 [cit. 2011-01-10]. Dostupné z WWW: <http://web2.iadfw.net/uthman/blood_cells.html>.

## Corresponding author

Ing. Marie Balabánová
Department of Animal Nutrition and Forage Production
Mendel University in Brno
Zemědělská 1, 613 00, Brno, Czech Republic
E-mail: marie.balabanova@mendelu.cz

# Autorenverzeichnis


Abenthum, A. 18
Acosta Aragón, Y. 265
Ader, P. 178
Applegate, T.J. 318
Awad, W. 255
Balabánová, M. 193, 311, 331
Bauer, J. 18, 178
Bencová, E. 226
Bernscherer, M. 160
Berthiller, F. 31
Birkenheyer, B. 237
Bjedov, S. 134
Böck, G. 265
Böhm, J. 255
Brestenský, M. 172
Brož, J. 115, 172
Castex, M. 300
Chrastinová, L. 289
Chrenková, M. 289
Cook, N.B. 327
Daněk, P. 268
Dattler, D. 306
DeFrain, J.M. 327
Doležal, J. 107
Doležal, P. 107, 198
Domig, K.J. 306
Doppelreiter, F. 36
Dusel, G. 178, 213, 237
Dussert, L. 300
Eder, J. 220
Eder, K. 5
Encarnacao, P. 46
Ettle, T. 209, 220, 231
Feuerstein, D. 166, 178
Figl-Wolfsberger, T. 50
Foltyn, M. 311
Foltys, V. 226
Formelová, Z. 289
Galler, A. 36
Ganner, A. 46
Gasteiner, J. 202
Geßner, D.K. 5
Ghareeb, K. 255
Glawatz, H. 128
Gruber, L. 202
Gruzauskas, R. 284
Hanusová, E. 289
Häusler, J. 202
Heger, J. 172
Helmbrecht, A. 42
Henikl, S. 322
Hirschböck, J. 50
Hlawitschka, B. 213
Hofer, K. 18
Hofstetter, U. 261
Höller, A. 213
Horák, A. 166
Horký, P. 182, 188, 331
Hošková, Š. 193, 311, 331
Humer, E. 138
Jančíková, P. 182, 188
Jankowski, J. 42
Jarule, V. 284
Jerešiūnas, A. 63, 83

Jerešiūnienė, O. 83
Jeroch, H. 42, 57
Jöchlinger, E. 36
Juezeitis, A. 296
Jungbauer, L. 143, 149
Juozaitienė, V. 63, 296
Juskiewicz, J. 57
Kalteis, C. 322
Kampf, D. 90, 95
Kamphues, J. 25
Klimitsch, A. 265
Kluge, H. 115
Kneifel, W. 306
Koch, C. 70
Kolar, V. 36
König, J. 1
Köstelbauer, A. 322
Kozłowski, K. 42, 57
Krska, R. 31
Kulpys, J. 83, 296
Landfried, K. 213
Landsmann, M. 220
Laugalis, J. 63
Leitgeb, R. 50
Lemme, A. 42
Lichovníková, M. 311
Lindermayer, H. 244, 249
Lindner, P. 178
Lohner, C. 154
Lückstädt, C. 128
Lux, D. 213
Mair, C. 101, 160
Männer, K. 143
Mareš, P. 193
Matusevicius, P. 57
Mayrhofer, S. 306
Meyer, H. 128
Meyer, K. 18
Mikulionienė, S. 63
Milošević, N. 134
Monkevičienė, I. 63
Naehrer, K. 261
Nitrayová, S. 172
Novak, B. 322
Novák, L. 311
Obermaier, A. 209, 220, 231
Obritzhauser, W. 202
Ondruška, L. 289
Ostertag, J. 18
Pasteiner, S. 265
Patráš, P. 172
Perić, L. 134
Piron, A. 300
Plitzner, C. 101
Poláčiková, M. 289
Poštulka, R. 107, 198
Preißinger, W. 244, 249
Propstmeier, G. 244, 249
Raceviciute-Stupeline, A. 284
Rajský, M. 226
Rapp, C. 327
Reisinger, N. 318
Riemensperger, A. 122
Ringseis, R. 5
Rohrer, E. 138
Romberg, F.-J. 70
Rozkot, M. 268
Rutzmoser, K. 231

Sager, M. 279
Santos, G.A. 46
Schatzmayr, G. 265, 318, 322
Schauer, A. 202
Schedle, K. 138, 160
Schiel, K. 237
Schöndorfer, K. 265
Schuster, H. 231
Semaskaite, A. 284
Socha, M.T. 327
Stangl, G.I. 115
Stankevičius, R. 63, 296
Steiner, T. 134
Steingaß, H. 70
Südekum, K.-H. 70
Sudikas, G. 83
Švirmickas, G. 284
Szwedziak, K. 107
Teichmann, K. 322
Tenke, J. 166
Thieme, R. 154
Tischler, A. 166
Tomíková, A. 289
Tomlinson, D.J. 327
Tossenberger, J. 166
Trautwein, J. 178, 213
Tukiendorf, M. 107
Urbaityte, R. 122
Urdl, M. 202
Václavková, E. 268
van der Aa, A. 90, 95
Veit, M. 149
Vodnansky, M. 226
Vukic Vranjes, M. 134
Wendler, K. 143, 149
Wetscherek, W. 77, 274
Wetscherek-Seipelt, G. 77, 274
Wiedner, G. 50
Windisch, W. 11, 101, 138
Winkler, A. 178
Würzner, H. 36
Zdunczyk, Z. 57
Želvytė, R. 63
Zeman, L. 182, 188, 193, 311, 331
Zentek, J. 143
Zentner, E. 149

# Sponsoren

**Wir danken folgenden Firmen für ihre großzügige Unterstützung:**

Alphabetische Reihenfolge

ADDCON Europe GmbH
-Zweigniederlassung Bonn-
Kaiserstraße 1a
D-53113 Bonn

AGRANA Bioethanol GmbH
Industriegelände Pischelsdorf
A-3435 Pischelsdorf

Agrarmarkt Austria
Marketing GesmbH
Dresdner Straße 68a
A-1200 Wien

agromed Austria GmbH
Bad Haller Straße 23
A-4550 Kremsmünster

Alltech Deutschland GmbH
Wiesenstraße 21 (W21)
D-40549 Düsseldorf

BASF ChemTrade GmbH
Industriestraße 20
D-91593 Burgbernheim

BIOMIN GmbH
Industriestraße 21
A-3130 Herzogenburg

BOKU-Wien
Gregor Mendel-Straße 33
A-1180 Wien

Delacon Biotechnik GmbH
Weissenwolffstraße 14
A-4221 Steyregg

Dr. Eckel GmbH
Im Stiefelfeld 10
D-56651 Niederzissen

DSM Nutritional Products Ltd
P.O. Box 3255
CH-4002 Basel

Inntaler Mischfutter GmbH & Co. KG
Klötzlmüllerstraße 140
D-84034 Landshut

Lohmann Animal Health GmbH & Co.KG
Heinz-Lohmann-Strasse 4
D-27472 Cuxhaven

Metall und Farben Ges.m.b.H.
Ottakringer Straße 89
A-1160 Wien

Micro-Plus Konzentrate GmbH
Am Güterbahnhof 7a
D-37627 Stadtoldendorf

Pancosma S.A.
Voie-des-Traz 6
CH-1218 Le Grand-Saconnex

Reisenberger GmbH
Stuttgarterstraße 2
A-2380 Pertoldsdorf

JRS J. Rettenmaier & Söhne
GmbH+Co.KG
Holzmühle 1
D-73494 Rosenberg

H. Willhelm SCHAUMANN
GmbH & Co. KG
Jakob-Fuchs-Gasse 25-27
A-2345 Brunn am Gebirge

Zinpro Performance Minerals
Akkerdistel 2$^{E}$
NL-5831PJ Boxmeer